



UNSAM

UNIVERSIDAD
NACIONAL DE
SAN MARTÍN

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN

INSTITUTO DE INVESTIGACIÓN E INGENIERÍA AMBIENTAL

***Síntesis, caracterización y aplicaciones de partículas nanoestructuradas
de magnetita y oro***

Trabajo de Tesis para optar por el título de
Doctor en Ciencia y Tecnología Mención Química

Por: ***Lic. Paulina Lloret***

Director de Tesis: Dr. Carlos Moina

Co-director: Dr. Gabriel Ybarra

Lugar de Trabajo: Unidad Técnica Nanomateriales - Centro de Procesos
Superficiales- Instituto Nacional de Tecnología Industrial (INTI)

- 2016 -

Resumen

En las últimas décadas, la síntesis y caracterización de nanomateriales ha recibido mucho interés debido a sus propiedades únicas en la nanoescala y sus potenciales aplicaciones. Ya que estas propiedades dependen del tamaño y la forma de las nanopartículas, se ha puesto un gran esfuerzo en obtener nanomateriales con tamaño y morfología controlada. En los últimos años, han surgido nuevos avances en la preparación de mesopartículas metálicas con potenciales aplicaciones en óptica, catálisis y sensado. Este tipo de partículas generalmente están compuestas por un único material nanoestructurado como oro, cobre, semiconductores, etc. y sólo hay algunos casos en bibliografía que utilizan más de un material para crear partículas con propiedades combinadas.

En esta tesis se ha propuesto la obtención de mesopartículas nanoestructuradas de magnetita-oro de tamaño y forma controlada para uso en sensado. Para llevar a cabo la síntesis se ha desarrollado un método en dos etapas. La primera involucra la obtención de nanopartículas de magnetita en fase acuosa que luego se funcionalizan y estabilizan en fase orgánica. En la segunda etapa, se reduce una sal de oro sobre las nanopartículas magnéticas utilizadas como semillas, obteniendo partículas nanoestructuradas.

El capítulo 1 consiste en una breve introducción al tema de tesis y la descripción de los objetivos. En el capítulo 2 se presentan los métodos y materiales utilizados y una descripción detallada de cada técnica de síntesis utilizada. En el capítulo 3 se muestran los resultados experimentales de la caracterización realizada. En el capítulo 4, se presentan los resultados del estudio de la estructura interna de las partículas. En el capítulo 5, se proponen los mecanismos de formación y crecimiento; en el capítulo 6 se exponen las aplicaciones de las partículas en sensado. Por último, en el capítulo 7 se brindan las conclusiones finales y las perspectivas a futuro.

Abstract

The synthesis of nanomaterials has attracted considerable interest during the last decades due to their unique properties at nanoscale and their potential applications. Since properties depend directly on the shape, size and structure of nanoparticles, great efforts have been devoted to obtain size- and shape-controlled nanomaterials. In the last years, new advances in metallic mesoparticles synthesis have been developed with potential applications in photonics, catalysis and sensing. Mesoparticles often are composed by unique material such as gold, copper, semiconductor, etc. and only few examples of combined materials are cited in bibliography.

In this thesis, a new synthesis of nanostructured mesoparticles composed by magnetite and gold for sensing applications is proposed. Size and shape control are achieved by tuning synthesis parameters.

The synthesis was performed in two steps. In the first step, magnetite nanoparticles are obtained by coprecipitation method in aqueous phase and then stabilized in organic solvent. In the second step, gold is reduced onto magnetite nanoparticles and nanostructured mesoparticles are obtained.

The first chapter gives a brief introduction to the thesis and its aims. The second chapter presents the synthesis methods and materials used. In the third chapter, the experimental results obtained from the characterization of particles are shown. In the fourth chapter, a study of the inner structure of nanostructured particles is presented. In the fifth chapter, mechanisms of nucleation and growth of particles are proposed. In sixth chapter, potentials applications of nanostructured particles in sensing are shown. At last in chapter seven, concluding remarks and future prospects are presented.

Contenido

Capítulo 1. Introducción

1. Introducción.....	1
2. Partículas nanoestructuradas jerárquicas	4
3. Partículas de materiales combinados	5
4. Objetivos de la tesis	9
5. Referencias.....	10

Capítulo 2. Materiales y métodos

1. Reactivos	13
2. Instrumental	13
3. Obtención de nanopartículas magnéticas y partículas nanoestructuradas	
3.1 Síntesis de nanopartículas magnéticas de magnetita: Fe_3O_4	14
3.2 Síntesis de partículas nanoestructuradas de magnetita-oro: <i>Método I</i>	14
3.3 Síntesis de partículas nanoestructuradas de magnetita-oro: <i>Método II</i>	15
4. Caracterizaciones	
4.2 Microscopía electrónica de transmisión	16
4.3 Microscopía electrónica de barrido	17
4.4 Microscopía electrónica de haz dual FIB/SEM.....	17
4.5 Reconstrucción 3D	18
4.6 Espectroscopía Uv-visible	18
4.7 Difracción de rayos X	18
4.8 Magnetometrías.....	19
5. Aplicaciones de partículas nanoestructuradas en sensado	
5.1 Espectroscopía Raman	19
5.2 Biosensado basado en técnicas electroquímicas	
5.2.1 Inmovilización de biomoléculas sobre partículas.....	19
5.2.2 Electroodos, celdas e instrumentación	20
6. Referencias	22

Capítulo 3. Síntesis y caracterización de partículas nanoestructuradas magnetita y oro

1. Síntesis y caracterización de nanopartículas de magnetita	24
2. Métodos de obtención de partículas nanoestructuradas magnetita-oro	28
3. Síntesis y caracterización de partículas nanoestructuradas de magnetita-oro: <i>Método I</i>	
3.1 Síntesis.....	31
3.2 Caracterización óptica, cristalográfica y magnética	
3.2.1 Caracterización óptica	34
3.2.2 Caracterización cristalográfica	36
3.2.3 Caracterización magnética	37
3.3 Conclusiones	38
4. Síntesis y caracterización de partículas nanoestructuradas de magnetita-oro: <i>Método II</i>	
4.1 Síntesis.....	39
4.2 Caracterización óptica, cristalográfica y magnética	
4.2.1 Caracterización óptica	42
4.2.2 Caracterización cristalográfica	43
4.2.3 Caracterización magnética	44
4.3 Conclusiones	45
5. Discusión sobre el efecto de los aditivos en el control del tamaño y morfología	46
5.1 El efecto del ácido oleico.....	47
5.2 El efecto de la oleilamina	48
6.3 El efecto del bromuro de tetraoctilamonio	49
6. Conclusiones	51
7. Referencias.....	52

Capítulo 4. Estudio de la estructura interna por FIB/SEM

1. Microscopio de haz dual FIB/SEM	56
1.1 Preparación de láminas	57
2. Resultados y discusión	61
2.1 Análisis por TEM	66
2.2 Análisis de la interfaz Fe ₃ O ₄ -Au por HR-TEM	69
3. Reconstrucción tridimensional de una partícula nanoestructurada	71
4. Conclusiones	74
5. Referencias.....	75

Capítulo 5. Mecanismos de formación y crecimiento

1. Mecanismo de formación y crecimiento de partículas.....	77
2. Mecanismo de formación y crecimiento de partículas nanoestructuradas preparadas por el <i>Método I</i>	79
3. Mecanismo de formación y crecimiento de partículas nanoestructuradas preparadas por el <i>Método II</i>	90
4. Conclusiones	96
5. Referencias.....	97

Capítulo 6. Aplicaciones de partículas nanoestructuradas en sensado

1. Químico detección óptica por espectroscopía Raman de superficie	101
1.1 Experimental	105
1.2 Resultados	107
1.3 Discusión.....	111
2. Sensado con detección electroquímica	117
2.1 Experimental	117
2.2 Resultados y discusión.....	118
3. Conclusiones	120
4. Referencias.....	121

Capítulo 7. Conclusiones y perspectivas futuras..... 122

Anexo I: Funcionalización de nanopartículas de Fe₃O₄..... 127

Publicaciones.....136

Agradecimientos

A mi director Carlos Moina por haber dirigido la tesis, por su apoyo y confianza a lo largo de estos años y por creer en mí, principalmente.

A mi codirector Gabriel Ybarra, por su ayuda y paciencia a lo largo de correcciones infinitas.

A INTI y UNSAM por haberme dado el espacio y tiempo para realizar la tesis.

Al Dr. Leandro Socolovsky por todo el tiempo que dedicó en obtener lindas imágenes TEM, por su ayuda y buena onda de siempre.

A mi directora de estudio Patricia Einseberg, por su ayuda a lo largo del trabajo de tesis.

A todos los microscopistas que acosé incansablemente a lo largo de estos años: Pablo Granel, Gustavo Giménez, Claudia Marchi, Silvio Ludueña, Juan Idrobo y Gonzalo Zbilhei. Gracias totales!

A Guillermo Cozzi por los difractogramas y a Gloria Longinotti por las mediciones electroquímicas.

A Alex Fainstein, Nicolás Tognalli, Antonieta Daza Milone, Eduardo Martínez y Baptiste Auguie por su ayuda en las mediciones Raman.

A mis compañeros de Procesos Superficiales de INTI, en especial a mis compañeros de equipo Alfred, Lio y Sabri. A Caro, Lili, Dani y Sebas por el apoyo y aguante diario.

A Marcelo Schein, a Caro Pérez y Laura Luca por haberme escuchado y alentado a lo largo de estos años.

A mi familia y a mis amigos, gracias por todo el apoyo incondicional y por estar siempre.

A Cris, por ser mi sostén y mi guía en la vida (“Las palabras nunca alcanzan cuando lo que hay que decir desborda el alma”).

1

Introducción

En la actualidad existe un gran interés en las potenciales aplicaciones de los materiales con dimensiones en el orden de nanómetros. En la escala *nanométrica** los materiales poseen nuevas propiedades físicas y químicas que dependen sensiblemente de su tamaño y morfología. El gran aumento de la superficie con respecto al volumen en una nanopartícula le confiere propiedades catalíticas, ópticas y de reactividad distintas de las que posee el mismo material en la escala macroscópica.

La gran reactividad debido a su tamaño produce que las nanopartículas posean una tendencia natural a aglomerarse para reducir su energía superficial. Para evitar este fenómeno es necesario buscar una forma de estabilizar la superficie de las partículas como puede ser con moléculas afines a través de enlaces químicos o a través de una aglomeración controlada formando una mesoestructura.

Poseer el control sobre estas nuevas propiedades permite producir sistemas nanométricos *a medida* para el desarrollo de materiales con nuevas funciones y prestaciones.

Existen dos métodos de fabricación en la síntesis de nanomateriales y nanoestructuras: *top down* y *bottom up*².

El método *top down* consiste en fabricar nanoobjetos a partir de materiales macroscópicos por tratamientos mecánicos como desbastado iónico, litografía, etc.

* En general, se considera como nanoescala el rango de tamaños entre 1 y 100 nm, en tanto que la mesoescala abarca desde los 100 nm a algunos micrones¹.

Esta técnica produce materiales con defectos cristalinos ya que la interacción entre la muestra y el proceso de reducción de tamaño genera cambios en la estructura del nanomaterial y como resultado se ven afectadas sus propiedades.

El método *bottom up* abarca la construcción átomo a átomo de nanomateriales con alta cristalinidad y pureza. Este es el método más utilizado en la actualidad porque permite la obtención de materiales con menores defectos, más homogéneos en composición química y es posible controlar el tamaño y forma a través de los parámetros de síntesis.

Existe otro punto a tener en cuenta, no sólo es necesario tener el control sobre la producción de los nanoobjetos y sus propiedades sino ser capaces de manipularlos e interactuar con ellos. En otras palabras, manejar su posición espacial con el fin de crear nuevas nanoestructuras con órdenes superiores llamadas estructuras jerárquicas³.

En las estructuras jerárquicas las nanopartículas actúan como bloques de construcción de superestructuras que poseen las características intrínsecas de las nanopartículas que la componen en una dimensión de orden superior el cual le provee nuevas propiedades.

Los bloques de construcción son autoensamblados de forma espontánea en un diseño estructural dictado por la forma y tamaño de las nanopartículas que la integran (fig. 1). La nueva estructura creada posee una menor energía libre, mayor estabilidad estructural ya que son menos sensibles al efecto de agregación de las nanopartículas y son más fáciles de remover de la solución debido su tamaño.

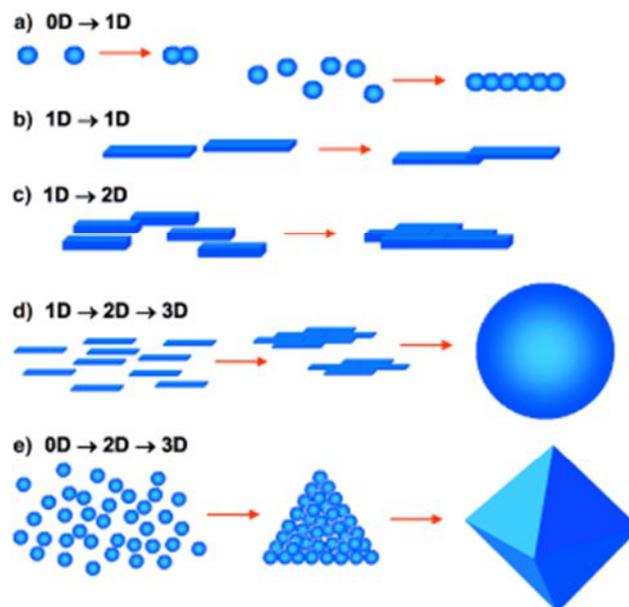


Fig.1. Distintas rutas de autoensamblado de partículas⁴ para la formación de estructuras 1D, 2D y 3D a través de un proceso de autoorganización de partículas primarias en estructuras geométricas complejas.

La fuerza motora necesaria para la autoorganización de las partículas primarias para formar una estructura jerárquica no proviene de interacciones a nivel molecular, como uniones iónicas o covalentes, sino de fuerzas existentes entre las unidades de construcción como fuerzas capilares, coloidales, elásticas, eléctricas, magnéticas, etc⁵.

Este tipo de estructuras se encuentran en la naturaleza y son objeto de fascinación por su grado de complejidad estructural como el nácar, corales, espículas de erizos, diatomeas, etc. (fig. 2).

La naturaleza utiliza un proceso *bottom up* de fabricación para crear biomateriales a partir de un componente orgánico y un componente inorgánico. El componente inorgánico, generalmente de origen mineral, es un material nanoestructurado que le da propiedades especiales como mayor dureza y resistencia a la fractura frente a estímulos externos. El componente orgánico es el responsable del ensamblado de las subunidades inorgánicas para formar el biomaterial. En el caso de los corales, la biología crea una matriz orgánica con poros de tamaño nanométrico, donde un material cristalino es confinado en su interior. Luego del proceso de mineralización poseen una orientación definida dentro de la matriz y se encuentran alineados espacialmente lo que le da mayor rigidez a la estructura.

Otro de los métodos de fabricación que utiliza la biología son las capas autoensambladas de aragonita (CaCO_3) y proteínas para formar nácar. La estructura del nácar encontrada en los moluscos bivalvos se forma a través de la permeación de iones de calcio y carbonato en la matriz orgánica con un proceso de nucleación y crecimiento lateral asistido por proteínas. La estructura formada de aragonita ensamblada por proteínas posee una dureza superior en 10 órdenes de magnitud con respecto al mineral aragonita.

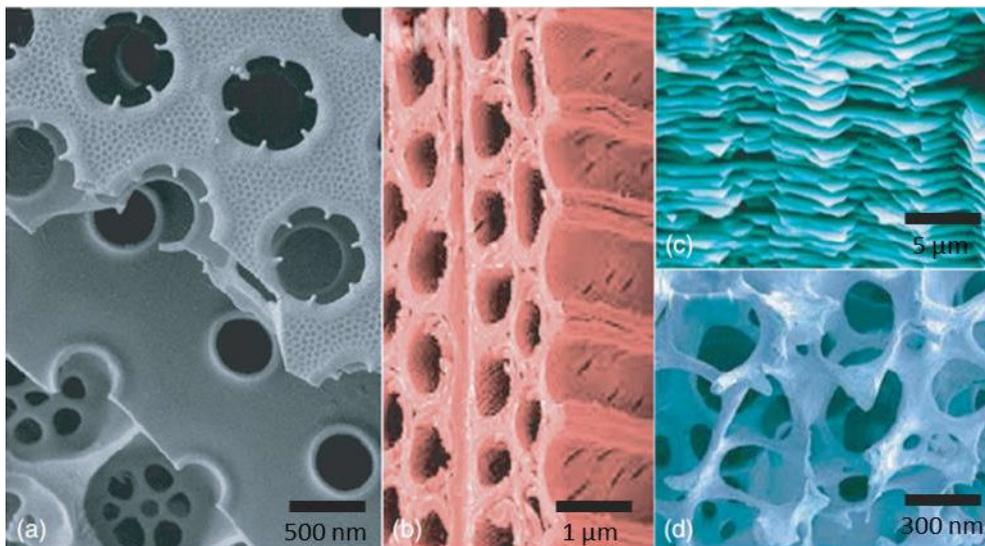


Fig. 2. Distintos biomateriales nanoestructurados a) arreglo de nanoporosde 50 nm en diatomeas b) fibras de celulosa y microfibril en madera c) hojuelas de aragonita en nácar y d) nanoestructura de la parte superior del hueso fémur⁶.

La evolución hacia la formación de estos materiales naturales es de millones de años de duración y en general no es posible emular el proceso natural de creación de las mismas estructuras pero brinda inspiración suficiente para la fabricación de estructuras jerárquicas utilizando rutas de síntesis similares.

En la actualidad, la técnica de autoensamblado es una de las más utilizadas para la fabricación de nuevos materiales con estructuras jerárquicas ya que se tiene un mayor control sobre la autoorganización de nanopartículas, sus propiedades y estructura final.

Dentro de los nuevos materiales producidos por esta técnica se encuentran las *partículas nanoestructuradas jerárquicas* que son objeto de estudio en esta tesis.

1. Partículas nanoestructuradas jerárquicas

Las partículas nanoestructuradas poseen una nanotextura en la superficie, con protuberancias y espacios intersticiales del orden de algunos nanómetros. A diferencia del mecanismo de crecimiento clásico átomo a átomo, este tipo de partículas se forman a través de un mecanismo de autoorganización de nanopartículas primarias en una estructura 3D jerárquica²⁷⁻²⁸.

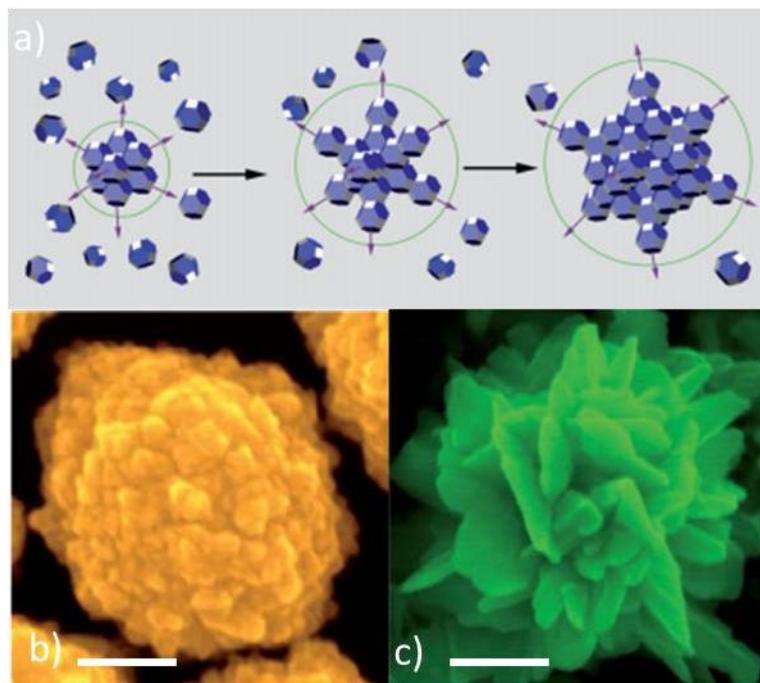


Fig. 3. a) Mecanismo de formación de mesopartículas con estructuras jerárquicas a través de una agregación ordenada¹⁴, b) y c) mesopartículas de oro con diferentes morfologías.

La obtención de partículas nanoestructuradas ha recibido gran interés los últimos años y se han publicado distintas síntesis de partículas tipo flores, erizos, etc. de plata y oro para aplicaciones ópticas, biosensado y catálisis⁷⁻¹⁵.

Las partículas nanoestructuras de oro y plata tienen un gran potencial como sustratos activos para espectroscopía Raman de superficie (SERS) por la presencia de hot spots en la superficie, que amplifican el campo electromagnético en varios órdenes de magnitud^{11,14}.

Ya que las propiedades en la nanoescala dependen de forma directa del tamaño y la forma, diversos casos en bibliografía han logrado el control de la morfología de partículas nanoestructuradas de oro^{11,12,14,15}.

J. Fang et al.¹¹ lograron sintetizar partículas nanoestructuradas de oro con morfología controlada desde partículas esféricas con superficies lisas hasta partículas tipo erizos a través de un mecanismo de nucleación y crecimiento secundario con el agregado de pequeñas concentraciones de oro en la reacción.

H. You et al.¹⁴ obtuvieron producir partículas de oro con morfologías controladas en una síntesis en la interfase de dos sistemas inmiscibles. A través de los parámetros de síntesis como la concentración de reductor, de tensioactivos y precursores, sintetizaron partículas nanoestructuradas con morfologías tipo erizo, flores, albóndigas y facetadas.

2. Partículas nanoestructuradas de materiales combinados

Las propiedades físico-químicas de los nanomateriales no sólo pueden ser controladas a través de su forma y tamaño, sino también mediante el control de su composición química. Las partículas nanoestructuradas expuestas hasta ahora, no son más que un arreglo geométrico de pequeños bloques de construcción de un mismo material.

Si consideramos la posibilidad de combinar las propiedades de diferentes componentes, se abre un amplio espectro de fabricación de nuevos materiales.

Las partículas de oro poseen propiedades ópticas características según su morfología y tamaño que pueden conjugarse con otras nanopropiedades como el *superparamagnetismo* presente en las nanopartículas de los óxidos de hierro¹⁶⁻¹⁷. Este tipo de partículas combinadas han sido preparadas anteriormente con estructuras esféricas tipo núcleo-cáscara de tamaño nanométrico¹⁸⁻²¹.

El desarrollo de partículas nanoestructuradas con estructuras jerárquicas de estos materiales combinados continúa siendo un campo de la ciencia de los nanomateriales en el cual recae un gran interés por sus potenciales aplicaciones desarrolladas a medida²²⁻²⁴.

En el año 2007, H. Chang et al.²² publicó una de las primeras síntesis de partículas nanoestructuradas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ mediante una síntesis en solución acuosa con nanopartículas de magnetita. Obtuvo partículas tipo flores con las propiedades magnéticas del óxido de hierro y las propiedades ópticas del oro de 300 nm de diámetro (fig. 4) las cuales utilizó como sustratos para SERS.

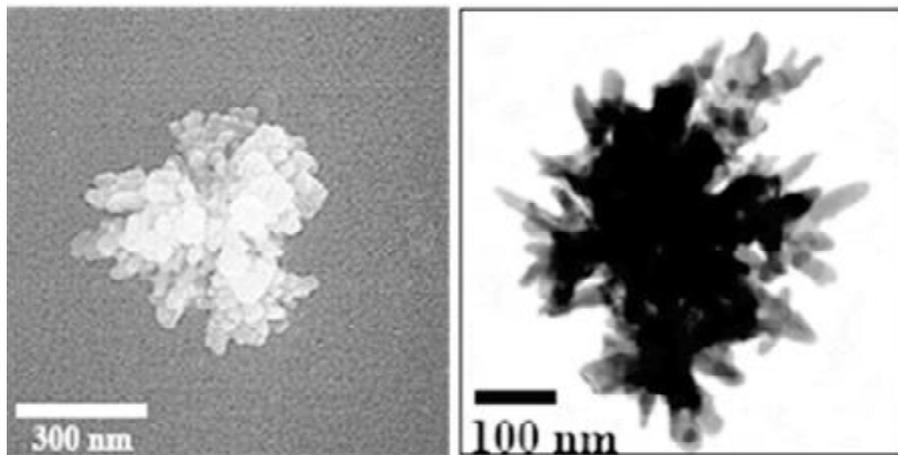


Fig. 4. Partículas nanoestructuradas tipo flores de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ ²².

Por otra parte, P. Quaresma²³ realizó la síntesis de nanoflores de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ por reducción de AuCl_4^- sobre nanopartículas de Fe_3O_4 previamente obtenidas. En su trabajo, el autor utiliza las propiedades magnéticas de las partículas tipo flores biofuncionalizadas para la separación selectiva de una proteína en un extracto celular. Se demostró el potencial uso de este tipo de partículas combinadas aplicaciones biológicas y de sensado.

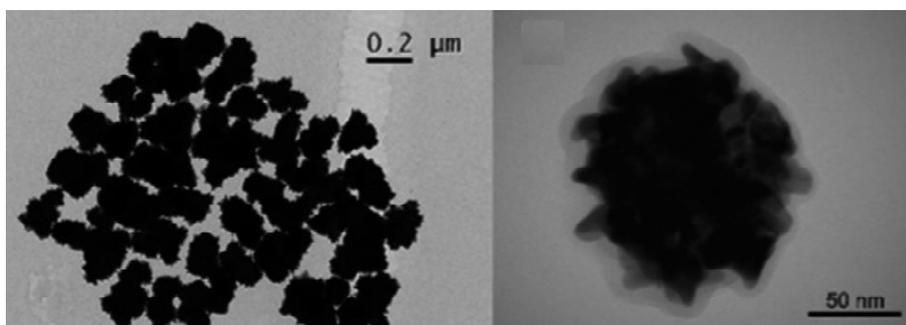


Fig. 5. Partículas nanoestructuradas tipo flores de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ ²³.

Q. Wei²⁴ obtuvo partículas tipo estrellas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ de tamaño nanométrico para aplicaciones en resolución de imágenes por *gyromagnetic imaging* o modo dinámico

de contraste óptico. En la figura 6, se muestran imágenes de las partículas y remarcado en color amarillo la posición estimada de la partícula de Fe_3O_4 en el núcleo.

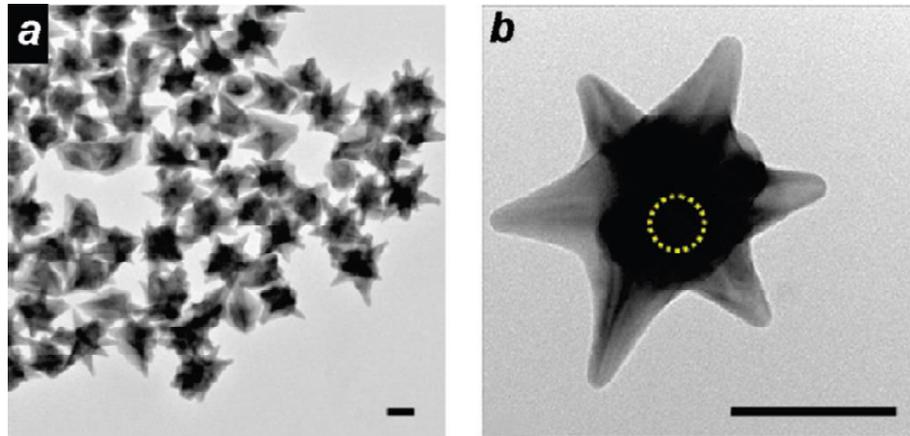


Fig. 6. Partículas tipo nanoestrellas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}^{24}$. Escala= 50 nm.

En los casos citados, no se ha estudiado en profundidad los parámetros que controlan la forma y tamaño final de la partícula.

La evidencia experimental de la etapa de crecimiento de este tipo de partículas es aún incipiente y no se encuentra debidamente documentada.

Uno de las razones por las que la caracterización estructural interna de este tipo de partículas es deficiente es debido a que la tecnología utilizada para el estudio de nanopartículas, como el microscopio electrónico de transmisión (TEM) no permite la visualización del interior de las partículas con tamaño mesoscópico ya que elementos con alto número atómico apantallan el haz de electrones incidente como se observa en las figuras 4b, 5b y 6b.

En los últimos años con el avance de la tecnología, una nueva técnica de caracterización ha sido desarrollada para el estudio y manipulación de nanoobjetos llamada tecnología de haz dual o Dual Beam.

Esta técnica permite la remoción y deposición de material de una muestra por iones enfocados de galio, mientras es observada con un microscopio electrónico de barrido. El uso de esta técnica para la caracterización de partículas nanoestructuradas no es muy común, y solo hay algunos casos en bibliografía que puedan ser citados ²⁵⁻²⁶.

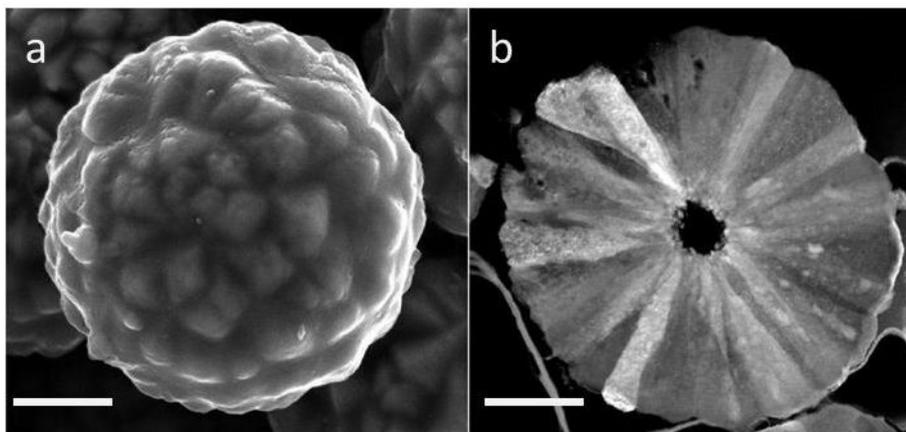


Fig. 7. a) Imagen SEM de una partícula de Fe_3O_4 y b) sección obtenida con iones de galio.

Escala= 500 nm²⁵.

Uno de los objetivos principales es utilizar esta técnica para realizar la caracterización de la estructura interna de las partículas nanoestructuradas de Fe_3O_4 -Au que se obtendrán en la tesis.

Se utilizará la tecnología de haz dual de reconstrucción digital de imágenes para analizar la disposición espacial de las nanopartículas de Fe_3O_4 dentro de la matriz de la partícula nanoestructurada. Por otra parte, se realizará un estudio estructural sobre una lámina delgada de la partícula realizada por desbastado con iones de galio. La aplicación de esta técnica experimental a sistemas mesoscópicos no cuenta con antecedentes bibliográficos sólidos y es un aporte importante de esta tesis para la comprensión de la nucleación y crecimiento en este tipo de sistemas.

3. Objetivos de la tesis

Se planteó como objetivo de la tesis la obtención de partículas nanoestructuradas de oro con propiedades superparamagnéticas.

Diseño y síntesis

Para la obtención de partículas nanoestructuradas magnéticas, se propuso seguir una síntesis utilizando semillas a través de una precipitación heterogénea de oro sobre nanopartículas de óxido de hierro previamente sintetizadas.

Caracterización

Se utilizarán distintas técnicas experimentales para la caracterización de las partículas nanoestructuradas obtenidas, entre ellas la técnica de haz dual de iones focalizados acoplada a un microscopio electrónico de barrido para estudiar la estructura interna de las partículas.

Aplicaciones en sensado

Se probará el potencial del material obtenido para su aplicación en biosensado a través de mediciones por espectroscopía Raman de superficie de una molécula de prueba. Como prueba de concepto, también se determinará la actividad de una enzima inmovilizada sobre la superficie de las partículas a través de una técnica electroquímica que consiste en un barrido de potencial.

Objetivos específicos

- 1) Sintetizar partículas núcleo-cáscara de oro con nanopartículas de Fe_3O_4 .
- 2) Estudiar los parámetros que determinan el tamaño y la forma del material obtenido.
- 3) Estudiar la estructura interna de las partículas obtenidas mediante microscopía de haz dual.
- 5) Estudiar los mecanismos de formación de las partículas.
- 6) Evaluar su potencial en aplicaciones en sensado con detección Raman y electroquímica.

4. Referencias

1. M.B. Ross, M. G. Blaber, G. C. Schatz; *Nature Communications* 5 (2014) art. 4090.
2. G. Gao; *Nanostructures & Nanomaterials Synthesis, Properties & Applications* Imperial College Press (2006).
3. G. Ozin, A. Arsenault; *Nanochemistry: A chemical approach to Nanomaterials* RSC Publishing (2005).
4. H. Yang, H. C. Zeng; *Angew. Chem., Int. Ed.* (2004) 43, 5930.
5. F. Meldrum, H. Colfen; *Chem. Rev.* (2008) 108, 4332-4432.
6. Q. Zhang, F. Wei; *Advanced Hierarchical Nanostructured Materials* Wiley-VCH (2014).
7. G. Duan, W. Cai, Y. Luo, Z. Li, Y. Li; *Applied Physics Letters* (2006) 89, 211905.
8. H. Wang, N. Halas *Advanced Materials* (2008) 20, 820-825.
9. J. Xie, Q. Zhang, J. Lee, D. Wang; *ACS NANO* (2008) Vol.2 No.12, 2473-2480.
10. H. Liang, Z. Li, W. Wang, Y. Wu, H. Xu; *Advanced Materials* (2009) 21, 4614-4618.
11. J. Fang, S. Du, S. Lebedkin, Z. Li, R. Kruk, M. Kappes, H. Hahn *Nano Letters* (2010) 21, 5006-5013.
12. W. Ahmed, S. Kooij, A. Silfhout, B. Poelsema; *Nanotechnology* (2010) 21, 125606.
13. D. Xu, J. Gu, W. Wang, X. Yu, K. Xi, X. Jia; *Nanotechnology* (2010) 21, 375101.
14. H. You, Y. Ji, L. Wang, S. Yang, Z. Yang, J. Fang, X. Song, B. Ding *Journal of Materials Chemistry* (2012) 22, 1998-2006.
15. M. Pradhan, J. Chowdhury, S. Sarkar, A. Sinha, T. Pal *Journal of Physical Chemistry C* (2012) 116, 24301-24313.
16. A. Bee, R. Massart, S. Neveu; *J. of Magnetism and Magnetic Materials* (1995) 149, 6-9.
17. Y. Kang, S. Risbud, J. Rabolt, P. Stroeve; *Chem. Mat.* (1996) 8, 2209-2211.
18. J. Lyon, D. Fleming, M. Stone, P. Schiffer, M. Williams; *Nano Letters* (2004) Vol. 4, No. 4, 719-723.
19. S. Cho, J. Idrobo, J. Olamit, K. Liu, N. Browning, S. Kauzlarich; *Chem. Mat.* (2005) 17, 3181-3186.
20. M. Mandal, S. Kundu, S. Ghosh, S. Panigrahi, T. Sau, S. Yusuf, T. Pal; *J. of Colloid and Interface Science* (2005) 286, 187-194.
21. Q. Lu, K. Lao, D. Xi, Z. Liu, X. Luo, Q. Ning; *J. of Magnetism and Magnetic Materials* (2006) 301, 44-49.
22. Z. Yang, Z. Li, C. Yang, H. Chang; *Nanotechnology* (2007) 18, 255606.
23. P. Quaresma, I. Osorio, G. Doria, P. Carvalho, A. Pereira, J. Langer, J. Araujo, I. Pastoriza-Santos, L. Liz-Marzan, R. Franco, P. Baptista, E. Pereira; *RSC Adv.* (2014) 4, 3659.
24. Q. Wei, H. Song, A. Leonov, J. Hale, D. Oh, Q. Ong, K. Ritchie, A. Wei; *J. Am. Chem. Soc.* (2009) 131, 9728-9734.
25. B. Rodríguez-González, F. Vereda, J. Vicente, R. Hidalgo-Álvarez; *J. Phys. Chem. C* (2013) 117, 5397-5406.

26. Z. Ren, Y. Guo, G. Wrobel, D. Knecht, Z. Zhang, H. Gao, P. Gao *J. Mater. Chem.* (2012) 22, 6862.
27. B. Lim, X. Lu, M. Jiang, P. Camargo, E. Cho, E. Lee, Y. Xia; *Nano Lett.* (2008) Vol. 8, No. 11, 4043-4047.
28. M. Nogami, R. Koike, R. Jalem, G. Kawamura, Y. Yang ,Y. Sasaki; *J. Phys. Chem. Lett.* (2010), 1, 568.

2

Materiales y métodos

En este capítulo se detallan los materiales y métodos utilizados para la obtención de partículas nanoestructuradas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$. En las primeras secciones se detallan los reactivos y equipos utilizados en el laboratorio. En la tercera sección, se brinda información detallada sobre las síntesis realizadas. Por último, se describen de forma abreviada las técnicas de caracterización utilizadas.

1. Reactivos

Todos los reactivos utilizados son de calidad analítica (p.a.) y han sido usados tal como fueron recibidos: $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Merck), $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (Aldrich), NH_4OH concentrado 25 % (BioPack), $\text{KAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 99,9 % (Aldrich), HCl 36% concentrado (BioPack), alcohol isopropílico (BioPack), tolueno (Cicarelli), hidroquinona (Cicarelli), bromuro de tetraoctilamonio (TOAB) (Sigma Aldrich), ácido oleico 98% (BioPack), oleilamina 70% (Sigma-Aldrich), ácido oxálico (BioPack), ácido cítrico (BioPack), ácido etilendiaminotetraacético (EDTA), sulfato de sodio anhidro (Cicarelli).

2. Instrumental usado en las síntesis

Se utilizó un agitador mecánico de hélice marca Heidolph equipado con una paleta de teflón de 2 hojas. Para el calentamiento se usó una plancha calefactora con placa cerámica Thermocientific Cimarec. Las centrífugas que se utilizaron fueron Hermle z206A y Hettich Mikro 120. Se usó un baño ultrasónico marca Lab Companion modelo UC-10.

3. Síntesis de nanopartículas y partículas nanoestructuradas

3.1. Nanopartículas o *semillas* magnéticas: Síntesis de magnetita Fe_3O_4

Se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas magnéticas de óxido de hierro para ser utilizadas luego como sitios de nucleación. Se sintetizaron partículas de óxido de hierro por el método de coprecipitación en medio acuoso según el método de Massart¹ et al. Se prepararon 100 ml de una solución acuosa conteniendo 0,06 moles de FeCl_3 y 0,03 moles de FeCl_2 en HCl 0,1% p/v. Se agregó con agitación continua de 350 rpm con paleta de teflón, 25 ml de NH_4OH 25% concentrado en un lapso de 10 minutos. Se obtuvo un sólido denso, de color negro con brillo gris metálico. El precipitado formado por nanopartículas de magnetita, se colectó con ayuda de un imán permanente y se lavó con tres porciones de 50 ml de agua destilada. Se preparó una dispersión de nanopartículas de 55 mg ml^{-1} .

Luego, la dispersión fue transferida a medio orgánico. Para ello, se tomaron 542 μl de la dispersión de magnetita en agua. Se agregaron 50 ml de alcohol isopropílico, se sonicó por 1 minuto y luego se recolectaron magnéticamente las nanopartículas descartando el sobrenadante. Este procedimiento se repitió en orden sucesivo con 50 ml de soluciones de alcohol isopropílico y tolueno en proporciones 30+20, 25+25 y 20+30, finalmente con dos volúmenes de 50 ml de tolueno dejando la dispersión de óxido de hierro en un volumen 50 ml de tolueno final. Se obtuvo una dispersión final de magnetita en agua de color negro con una concentración de Fe_3O_4 de 0,6 mg/ml.

3.2 Síntesis de partículas nanoestructuradas de magnetita y oro: *Método I*

Se disolvieron 0,13 mmoles de oro como sal KAuCl_4 en 20 ml de alcohol isopropílico y se agregaron 100 ml de tolueno en una ampolla de decantación de 250 ml formándose una solución de color amarillo. Por otra parte, sobre una dispersión de 80 ml de nanopartículas de óxido de hierro de 0,6 mg/ml, se agregaron 0,7 mmoles de ácido oleico con 0,5 mmoles de oleilamina, en ese orden de agregado. Se sonicó por 15 minutos y luego se agregó a la solución de oro de la ampolla de decantación.

Se disolvieron 1,3 mmoles de hidroquinona en 20 ml de alcohol isopropílico y se agregaron a la ampolla. Luego de 12 hs de reacción se obtuvo un precipitado marrón oscuro quedando el medio de reacción de color naranja intenso. Se recolectaron las partículas con ayuda de un imán permanente.

Se lavaron con 50 ml de tolueno por duplicado, luego con 50 ml de alcohol isopropílico dos veces. Se secaron a temperatura ambiente.

Se estudiaron los distintos efectos de los reactivos utilizados en la síntesis variando su concentración (Tabla 1):

- utilizando 5, 10 y 20 veces más concentración de ácido oleico y oleilamina manteniendo una relación 1:1,5.
- se estudió el efecto del ácido oleico y de oleilamina por separado utilizando diferentes cantidades de cada uno mientras se mantuvo al otro aditivo con concentración constante.

No. de síntesis <i>Método I</i>	ácido oleico (mM)	oleilamina (mM)
la	3,5	2,4
lb	17,5	12
lc	35	24
ld	70	48
le	3,5	1,2
lf	3,5	7,2
lg	3,5	12
lh	3,5	24

Tabla 1. Preparación de partículas nanoestructuradas de oro-magnetita por el *Método I*.

3.3 Síntesis de partículas nanoestructuradas de magnetita y oro: *Método II*

En el *Método II* de síntesis, se utilizó bromuro de tetraoctilamonio (TOAB) como agente de transferencia de oro de la fase acuosa a fase orgánica, según el método de Brust⁴. Se disolvieron 0,13 mmoles de oro como sal KAuCl_4 en 40 ml de agua destilada. Se agregó 0,3 mmoles de TOAB a 40 ml de tolueno y se extrajo en ampolla de decantación la solución acuosa de oro (solución amarilla de la figura 1a) siguiendo el método según Brust. Se descartó la fase acuosa y la fase orgánica (solución naranja de la figura 1b) se secó en papel de filtro con Na_2SO_4 anhidro. Se realizaron dos lavados con 40 ml de tolueno sobre el filtro.

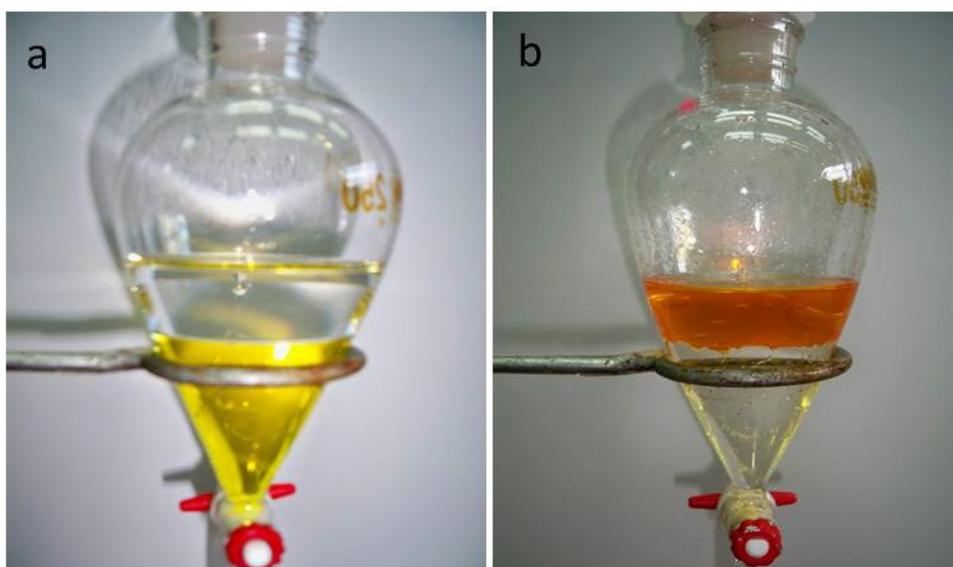


Figura 1. Extracción de AuCl_4^- por método de Brust⁴ (a) antes y (b) después del proceso.

El volumen final de 120 ml tolueno con oro se agregó a una dispersión de magnetita en 80 ml de tolueno preparada como el punto 3.1 y se realizó el proceso de reducción, agregando 1,3 mmoles de hidroquinona disueltos en 20 ml de alcohol isopropílico. Luego de 12 horas de reacción se obtuvo un precipitado homogéneo color marrón oscuro con un sobrenadante color naranja intenso.

Se estudió el efecto de cada estabilizante en la morfología superficial de las partículas sintetizadas variando la concentración de: ácido oleico, oleilamina, TOAB, manteniendo la relación 1:1,5 AO/OA se incrementó la concentración de cada uno 5 y 10 veces. Las condiciones experimentales utilizadas para las diferentes síntesis de partículas se presentan en la Tabla 2:

No. de síntesis <i>Método II</i>	ácido oleico (mM)	oleilamina (mM)	TOAB (mM)
IIa	3,5	2,4	1,5
IIb	17,5	12	1,5
IIc	35	24	1,5
IIId	3,5	1,2	1,5
IIe	3,5	12	1,5
IIIf	3,5	24	1,5
IIg	3,5	2,4	0,4
IIh	3,5	2,4	0,05

Tabla 2. Preparación de partículas nanoestructuradas de magnetita-oro por el *Método II*.

Lavado de las partículas: Se utilizó un procedimiento de lavado de las partículas⁵ nanoestructuradas de magnetita-oro para eliminar el exceso de nanopartículas magnéticas en la superficie. Se preparó 40 ml de una solución conteniendo: 0,05 M de EDTA, 0,01 M ácido cítrico y 0,015 M de ácido oxálico que se puso en contacto con las partículas obtenidas. La suspensión se llevó a 60 °C y una vez alcanzada la temperatura se continuó el calentamiento por 15 minutos. Se lavaron las partículas tres veces con 50 ml de agua deionizada y se secaron a temperatura ambiente.

El procedimiento de lavado se repitió 3 veces, observándose una coloración amarilla (sugiriendo una disolución del óxido de hierro presente en exceso). En el primer lavado se observa una solución amarilla de color intenso, de menor color en el segundo lavado e incolora en el último lavado.

4. Caracterización de las partículas

4.1. Microscopía electrónica de transmisión

Se caracterizó los diferentes tipos de partículas con un microscopio electrónico de transmisión (TEM) marca JEOL 1010 (JEOL, Japan), operado a 80 kV.

Las muestras fueron preparadas sobre una grilla de cobre, se colocó una gota de una dispersión en alcohol isopropílico de las partículas y se dejó secar a temperatura ambiente antes de introducirlas en el microscopio. Las imágenes fueron grabadas con una cámara Megaview III.

4.2. Microscopía electrónica de barrido

Se observaron las partículas bajo un microscopio electrónico de barrido (SEM) Carl Zeiss Supra 40 Scanning Electron Microscope operado en 5 y 10 kV. Para la preparación de las muestras, se utilizó una cinta de carbono doble faz sobre un taco de aluminio, donde se colocaron las partículas secas y sobre una oblea de silicio con una dispersión alcohólica de partículas.

4.3 Microscopio electrónico de haz dual (FIB/SEM)

Se realizaron distintos estudios sobre las partículas nanoestructuradas de oro-magnetita utilizando la tecnología de haz dual llamada *Dual Beam*: un haz de galio enfocado (FIB focused ion beam) acoplado a un microscopio electrónico de barrido marca FEI modelo Helios Nano. El sistema FIB permite modificación de un material por remoción por bombardeo iónico o por deposición de otro compuesto atomizado, mediante un haz de iones focalizados de galio sobre una superficie⁶.

El equipo utilizado posee un detector de electrones secundarios y un detector de electrones transmitidos que generan las imágenes. Cuenta además con micromanipuladores que permiten remover la muestra y colocarla en el detector de transmisión sin necesidad de abrir la cámara. Esto nos permitió realizar láminas muy finas menores a 100 nm de una partícula y observar la estructura interna por transmisión.

Esta técnica permite visualizar la muestra por distintos modos de electrones transmitidos: *por campo claro*, *campo oscuro* y *campo oscuro en alto ángulo*, cada uno aporta información diferente y complementaria para el análisis estructural de la muestra.

En el modo *campo claro*, el haz de electrones que atraviesa la muestra es captado por el detector. El contraste obtenido en las imágenes depende del espesor y densidad de la muestra, y que brinda información sobre la mayor o menor dificultad que encuentra el haz de electrones para atravesar la muestra.

En el modo *campo oscuro*, los electrones analizados son los dispersados al atravesar la muestra y la imagen obtenida brinda información sobre la estructura cristalina. El haz de electrones es dispersado más fuerte en las zonas donde hay dislocaciones o precipitados cristalinos ya que dependen de las condiciones de orientación y difracción del haz en la muestra. Estas zonas generan un contraste alto, que no son visibles en el modo campo claro.

Por último, una variante del modo campo oscuro es el modo de *electrones dispersados en alto ángulo* llamado HAADF (high angle annular dark field). Este modo brinda

información sobre los distintos elementos presentes en la muestra con diferentes números atómicos Z. Se observan contrastes claro-oscuro pudiendo identificar distintos elemento en la imagen.

4.4 Reconstrucción 3D

Por otra parte, esta técnica permitió realizar cortes sucesivos de una muestra, grabar la imagen obtenida y luego hacer una reconstrucción. En nuestro caso, sobre la muestra se realizaron 120 cortes sucesivos de 5 nm de espesor, tomando imágenes de cada uno para luego realizar una reconstrucción 3D de la partícula. En la figura 2 se muestra una esquematización del procedimiento:

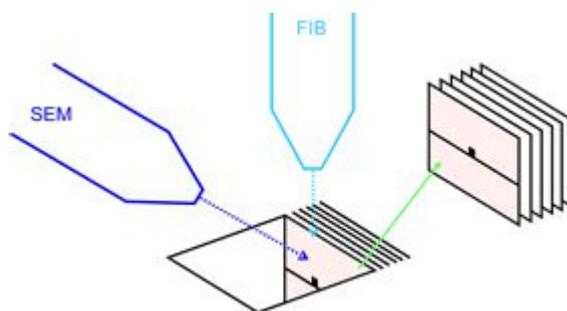


Fig. 2

Esta técnica permitió estudiar el interior y la disposición espacial de los componentes dentro de la estructura así como observar el proceso de formación de las partículas a través del análisis de su estructura. Las imágenes tomadas durante los cortes fueron utilizadas en una reconstrucción 3D de la estructura a través del software FEI Slice & View.

4.5. Espectroscopía Uv-visible

Se realizaron medidas de absorbancia Uv-visible con un espectrofotómetro doble haz Shimadzu 1610-PC UV-VIS. Se utilizaron celdas de cuarzo de 10 mm paso óptico y dispersiones acuosas de las partículas.

4.6. Difracción de rayos X

La estructura de las partículas se estudió por difracción de rayos X (DRX). Se utilizó el equipo Philips XPert equipado con un monocromador usando la línea Cu K α de radiación, con una longitud de onda de 1,54060 Å.

4.7. Magnetometrías

La caracterización magnética se realizó mediante un magnetómetro Quantum Design PPMS Magnetometer y un equipo de muestra vibrante (VSM). Se realizó el análisis midiendo las curvas de susceptibilidad magnética en función de la temperatura por la técnica cuando se aplica un campo magnético y en ausencia del mismo (Zero Field Cooling / Field Cooling ZFC-FC).

5. Aplicaciones de partículas nanoestructuradas en sensado

5.1. Espectroscopía Raman

Se realizaron mediciones de las propiedades ópticas de las partículas como sustratos activos para la espectroscopía Raman de superficie.

Se utilizó un microscopio Sistema Raman triple Jobin-Yvon T64000 con láser de Ar/Kr de 647 nm (verde) con 20 mW de potencia y tiempos de adquisición de 5 segundos por duplicado.

Las muestras fueron preparadas en dispersiones en etanol de 2 mg/100 μ l. Se depositó 10 μ l de la dispersión de partículas sobre una oblea de silicio y se secó bajo corriente de nitrógeno. Por otra parte, se preparó rodamina 6G 10 μ M en alcohol etanol y se depositó 10 μ l de esta solución sobre las partículas secas sobre la oblea. Se repitió el secado con nitrógeno.

5.2. Biosensado basado en técnicas electroquímicas

5.2.1. Inmovilización de biomoléculas sobre las partículas nanoestructuradas

Se realizó la inmovilización de una enzima peroxidasa de rábano picante (HRP horseradish peroxidase) sobre la superficie de las partículas obtenidas. Un volumen de 50 μ l de una dispersión de partículas se puso en contacto por 24 hs con ácido 3-mercaptopropiónico 40 mM en una solución 75% etanol con 25% de agua deionizada. Luego se trató la dispersión por 30 minutos con 100 μ l de una solución 0,1M de 1-etil-3(3-dimetilaminopropil) carbodiimida (EDC) y 25 mmoles de N-hidroxisuccinimida (NHS) en buffer PBS 0,1M pH 7. Se agregó 20 μ l de la enzima HRP 2,4 U μ l⁻¹ preparada en buffer PBS 0,1M pH 7.

La reacción NHS/EDC para la inmovilización de una biomolécula sobre partículas funcionalizadas con grupos ácidos se esquematiza en la fig. 3:

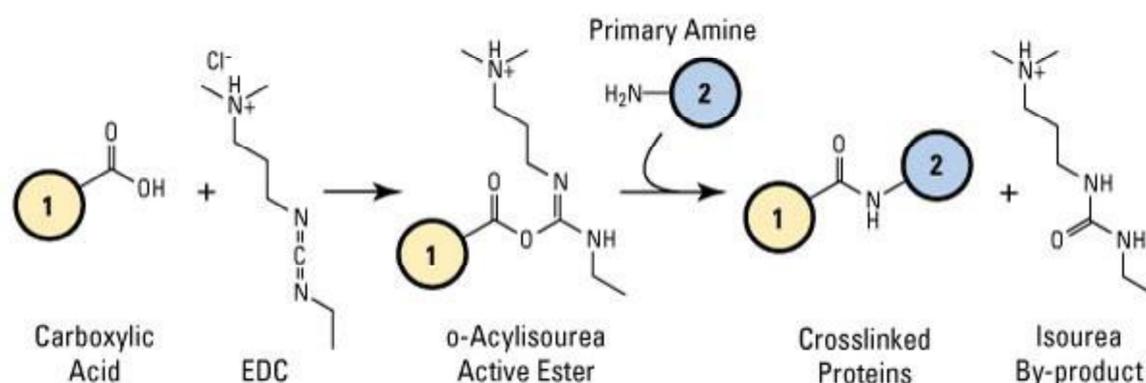


Figura 3. Inmovilización de HRP sobre las partículas modificadas con grupos ácidos a través del método de la carbodiimida⁷.

Las partículas con la HRP anclada se recolectaron magnéticamente y fueron depositadas sobre un sustrato de alúmina/oro utilizado como celda electroquímica. Se midió la actividad de la HRP utilizando partículas nanoestructuradas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ como superficie de anclaje. Para posicionar las partículas en el electrodo de oro se utilizó un imán permanente por debajo de la lámina de alúmina

5.2.2. Electrodo, celdas e instrumentación

Para fabricar los electrodos de oro sobre alúmina se utilizó una técnica convencional de serigrafía o *screen printing* (Fig. 4). Se usó una pasta comercial de oro Heraeus D5789 y sustratos de 96% $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$.

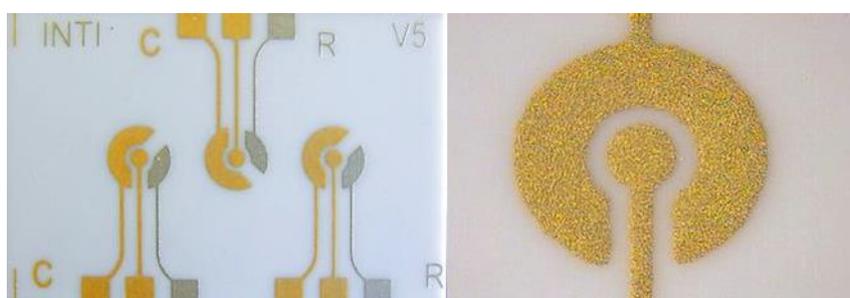


Figura 4: Imágenes de celdas electroquímicas de oro sobre un soporte de alúmina.

La impresión de los electrodos se realizó por screen printing con una malla de acero inoxidable de 400 hilos por pulgada, con un film negativo fotosensible Ulano CDF-2. La impresión de oro se llevó a cabo con un equipo EKRA Microtronic-II printer, se secó a

125 °C durante 15 minutos y luego a 580 °C. Los electrodos se lavaron con $\text{H}_2\text{SO}_4:\text{H}_2\text{O}_2$ 30% (2:1) y se enjuagaron con agua deionizada. Los electrodos fueron integrados a una celda electroquímica realizada en polimetilmetacrilato (PMMA).

El potencial del electrodo de trabajo se controló con un potenciostato EG&G PAR 273A, utilizando como electrodo de referencia $\text{Ag}|\text{AgCl}|0,1 \text{ M KCl}$. El potencial utilizado fue desde 0 a -300 mV. Las mediciones electroquímicas fueron llevadas a cabo a 25°C en buffer PBS 0,1M pH 7 y 0,1 M KCl con el agregado de 4 mmoles hidroquinona como mediador redox.

6. Referencias

1. R. Massart, *C.R. Acad. Sci. Paris, Ser. C* 291 (1980) 1.
2. S. Lefebure, E. Dubois, V. Cabuil, S. Neveu, R. Massart, *J. Mater. Res.* (1998) 13 (10) 2975.
3. S. Laurent, D. Morge, M. Port, A. Roch, C. Robic, L. Vander Elst, R. Muller *Chem. Rev.* 108 (2008) 2064.
4. M. Brust, M. Walker, D. Bethell, D.J. Schiffrin, R. Whyman, *J. Chem.Soc. Chem.Comm.* (1994) 801.
5. S.O. Lee *Int. J. Miner. Process.* 80 (2006) 144.
6. L. A. Giannuzzi, F. A. Stevie, B. Prenitzer *Introduction to Focused Ion Beams: Instrumentation, Theory, Techniques and Practice* Springer (2005).
7. G. T. Hermanson; *Bioconjugate Technique* 3rd Edition (2013).

3

Síntesis y caracterización de partículas nanoestructuradas magnéticas de magnetita-oro

En este capítulo se detalla la síntesis y caracterización de las partículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ de acuerdo a los métodos de obtención indicados en el capítulo 2 *Materiales y métodos*.

En la primera sección, se presentan los resultados de la caracterización y el estudio de las propiedades magnéticas de las nanopartículas de magnetita.

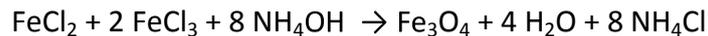
En la segunda sección, se presentan los resultados de la caracterización y propiedades de partículas nanoestructuradas de magnetita-oro obtenidas en una síntesis en tolueno llamada *Método I*.

En la tercera sección se presentan los resultados de las partículas de magnetita-oro obtenidas en una síntesis en tolueno y bromuro de tetraoctilamonio (TOAB) denominada *Método II*.

Por último, se brinda una explicación sobre el efecto de cada aditivo utilizado y su relación en el control del tamaño y morfología de las partículas.

1. Síntesis y caracterización de nanopartículas de Fe₃O₄

El método de síntesis elegido fue propuesto originalmente por Massart et al.⁵⁴ para la obtención de partículas ultrafinas de maghemita (Fe₂O₃) y magnetita (Fe₃O₄). La síntesis consiste en una coprecipitación de sales férricas y ferrosas en medio amoniacal que sigue la ecuación:



En el caso de esta tesis, se optó por obtener partículas de magnetita siguiendo el método de coprecipitación para luego recubrirlas con una nanoestructura de oro. Las partículas obtenidas se caracterizaron por las técnicas descritas con el objetivo de confirmar la estructura de magnetita de las partículas y determinar la distribución de tamaño.

La caracterización de este tipo de partículas se realizó a través de diferentes técnicas como difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica de transmisión (TEM), magnetometría de muestra vibrante (VSM) y a través de la medición de la susceptibilidad magnética en procesos de enfriamiento en presencia y ausencia de campo magnético (zero field cooling-field cooling ZFC/FC). La técnica de DRX da información sobre la cristalinidad de la muestra y el tamaño de cristal a través del cálculo de la ecuación de Scherrer⁵⁵. La microscopía TEM permite ver la distribución de tamaño de partícula y su morfología. La magnetometría de muestra vibrante permite estudiar las curvas de magnetización vs. campo magnético aplicado (H vs G). La técnica ZFC/FC permite calcular el diámetro promedio de las partículas y su magnetización con un campo magnético de 20 Oe. Todas estas características permiten conocer las propiedades de la muestra en la nanoescala.

En primer lugar, se realizó el estudio del tamaño de partícula por microscopía electrónica de transmisión (TEM), la cual permite observar nanopartículas de pocos nanómetros de tamaño. Esta técnica permite además obtener el patrón de difracción de electrones, con el cual puede conocerse la estructura. En la figura 1, se muestran los resultados obtenidos. En la imagen TEM de la figura 1a, se observa que las partículas tienen un tamaño promedio de 15 nm. En la figura 1b, se muestra el patrón de difracción de electrones obtenido, donde se observan los planos (220), (311), (400), (440) y (511) correspondiente a magnetita Fe₃O₄⁶.

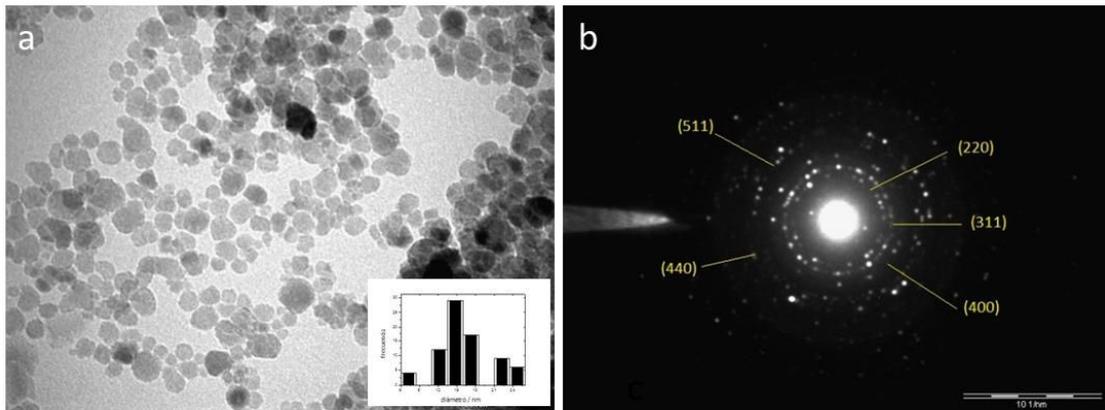


Fig. 1: a) Imagen TEM de nanopartículas de Fe_3O_4 con histograma de distribución de tamaño, b) patrón de difracción de electrones.

Las propiedades magnéticas de las partículas fueron estudiadas por magnetometría de muestra vibrante (VSM). Se determinaron los valores de magnetización (H) al aplicar un campo magnético variable (G) a temperatura constante.

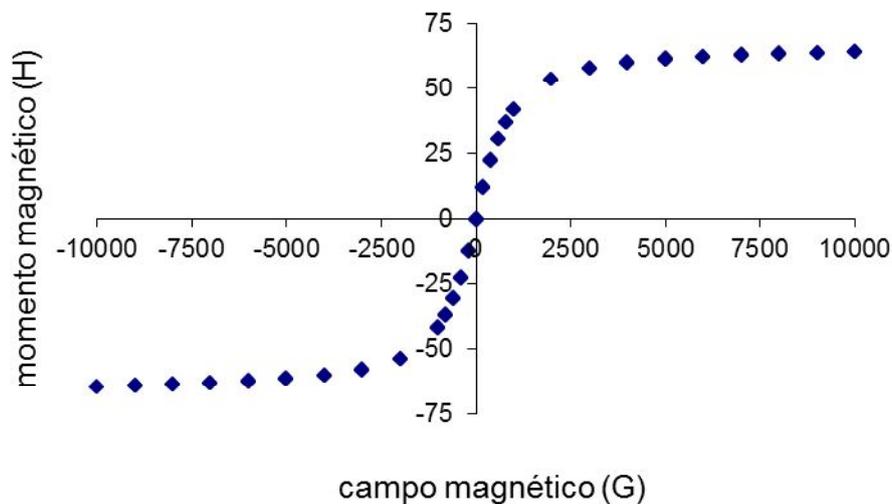


Fig. 2. Curva de magnetización (H emu/g) vs campo magnético aplicado (G gauss).

Se observó que la curva de H vs. G no presenta histéresis, lo que demuestra que la muestra de Fe_3O_4 posee una respuesta **superparamagnética**⁷ con una magnetización de saturación de 64 emu/g (fig.2).

Se obtuvo información complementaria sobre el comportamiento magnético de las nanopartículas de Fe_3O_4 mediante la medición de la susceptibilidad magnética en procesos de enfriamiento con campo magnético (field cooling, FC) y sin campo (zero

field cooling ZFC). Esta técnica permite determinar el tamaño promedio de partícula en la muestra, sus características magnéticas y si existe algún tipo de interacción entre ellas.

Para realizar estas mediciones se utilizó un procedimiento estándar donde se analizaron curvas de susceptibilidad magnética en función de la temperatura cuando se aplica un campo magnético y en ausencia del mismo.

La muestra es enfriada en ausencia del campo magnético desde temperatura ambiente a 5 K. En estas condiciones los momentos magnéticos de las partículas están orientados al azar y el valor total de magnetización tiende a cero. Se aplica un campo magnético de 20 Oe externo, y a medida que se aumenta la temperatura se mide la magnetización de la muestra (curva de ZFC). Los momentos magnéticos de las partículas comienzan a orientarse de forma paralela al campo en los ejes de fácil magnetización. Los momentos magnéticos de las partículas alcanzan un máximo de magnetización a cierta temperatura llamada *temperatura de bloqueo* (T_B)*, la cual se observa en la fig. 3. El valor máximo alcanzado es de 0,0014 emu/g.Oe a 180 K, esto indica que la muestra de Fe_3O_4 posee un comportamiento superparamagnético.

* En un sistema superparamagnético si el tiempo necesario (t_n) para cambiar la dirección de magnetización (“flip”) es inferior al tiempo de medición (t_m): $t_m > t_n$, las partículas cambiarán las direcciones de magnetización varias veces y su magnetización total tenderá a ser cero, donde se considera que el sistema se encuentra en un estado “superparamagnético”.

En cambio, si el tiempo necesario para cambiar la dirección de magnetización es superior al tiempo de medición: $T_m < T_n$, el sistema no cambiará durante la medición, la magnetización total del sistema será la misma que la inicial donde se considera que está en un estado “bloqueado”.

El estado de las nanopartículas, superparamagnético o bloqueado, dependerá del tiempo de medición utilizado. La transición entre un estado y otro se dará en $t_m = t_n$. Si el tiempo de medición se mantiene constante pero se varía la temperatura, la temperatura en la cual se produce la transición de estados se llama *temperatura de bloqueo*.

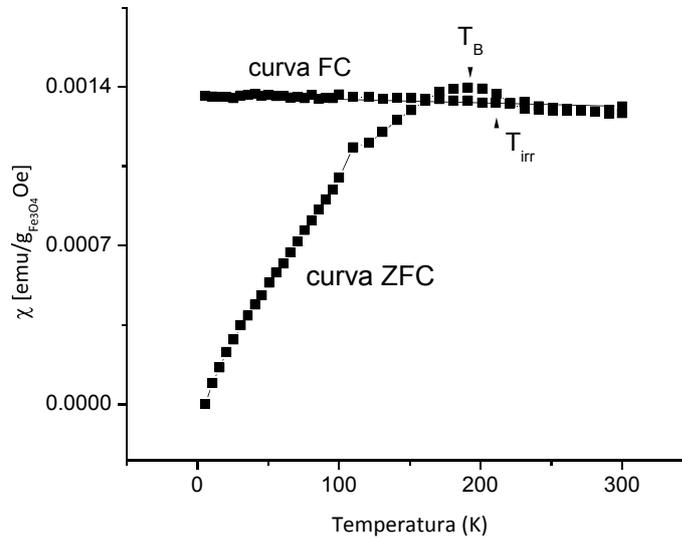


Fig. 3. Curva de susceptibilidad magnética vs temperatura (ZFC-FC) de Fe_3O_4 medido a 20 Oe.

Conociendo el valor de la T_B , puede calcularse el diámetro teórico de partícula con la siguiente ecuación:

$$T_B \approx \frac{KV_0}{25k_B} \quad \text{ecuación 1}$$

donde k_B es la constante de Boltzmann ($1,38 \cdot 10^{-16}$ erg K^{-1}), K es la constante de anisotropía y V_0 es el volumen de una nanopartícula^{8,9}.

Luego del calentamiento de la muestra, se mide la magnetización disminuyendo la temperatura hasta 5 K manteniendo el campo magnético aplicado. En este caso, se obtiene la curva FC que difiere de la curva ZFC debido a que luego de enfriar, se establece una dirección preferencial de magnetización al campo aplicado, por lo que el máximo de magnetización es alcanzado a menor temperatura.

La curva FC decrece por encima de ciertos valores de temperatura para luego unirse a la curva ZFC en un punto conocido como *punto de irreversibilidad* a un valor superior al de T_B . A mayor diferencia entre estos dos valores de temperatura mayor dispersión de tamaño en la muestra⁹ utilizando las ecuaciones y con una constante efectiva $K = 2.0 \cdot 10^5$ erg cm^{-3} , el cálculo para el diámetro promedio de partícula fue 18 nm¹⁰.

La diferencia entre T_B y T_{irr} es muy baja indicando que el grado de dispersión de tamaños en la muestra no es muy alta. El valor del diámetro de partícula calculado es muy cercano al valor observado por microscopía electrónica de transmisión.

2. Métodos de obtención de partículas nanoestructuradas de magnetita-oro

Las síntesis de partículas nanoestructuradas presentadas en esta tesis fueron realizadas en solventes orgánicos, particularmente en tolueno. Se siguieron dos rutas sintéticas bien diferenciadas detalladas en el capítulo 2, *Materiales y métodos*.

En la primera ruta de síntesis, que llamaremos *Método I*, se realizó la disolución de una sal de oro en alcohol isopropílico (IPA) y tolueno, que luego se mezcló con una dispersión de nanopartículas magnéticas. Las nanopartículas magnéticas de óxido de hierro fueron obtenidas por el método de coprecipitación y estabilizadas con aditivos en tolueno[†]. Por último, se agregó hidroquinona disuelta en alcohol como reductor suave. La reacción se dejó en reposo por 12 horas.

En la segunda ruta sintética (*Método II*), se empleó la técnica de Brust-Schiffrin⁴³ para la preparación de una solución de oro en tolueno, que implicó la utilización de un catalizador de transferencia de fase como el bromuro de tetraoctilamonio (TOAB). Luego se mezcló con la dispersión de nanopartículas magnéticas y se agregó hidroquinona disuelta en alcohol como reductor suave y se dejó en reposo por 12 horas.

En la figura 4, se muestra un esquema representativo para ambos procesos de síntesis. Como se detallará a continuación ambos métodos llevan a estructuras bien diferenciadas.

[†] Debido a que las partículas de magnetita fueron obtenidas en un medio acuoso fue necesario utilizar aditivos orgánicos para redispersarlas en el medio de reacción no polar. Para esto, se agregaron ácido oleico y oleilamina con el fin de estabilizar la superficie de las nanopartículas en tolueno. Este procedimiento ha sido descrito en detalle en el capítulo 2. Se llevó a cabo un estudio complementario por FTIR sobre la unión entre los aditivos y las nanopartículas de Fe₃O₄ que se encuentra en el Anexo I.

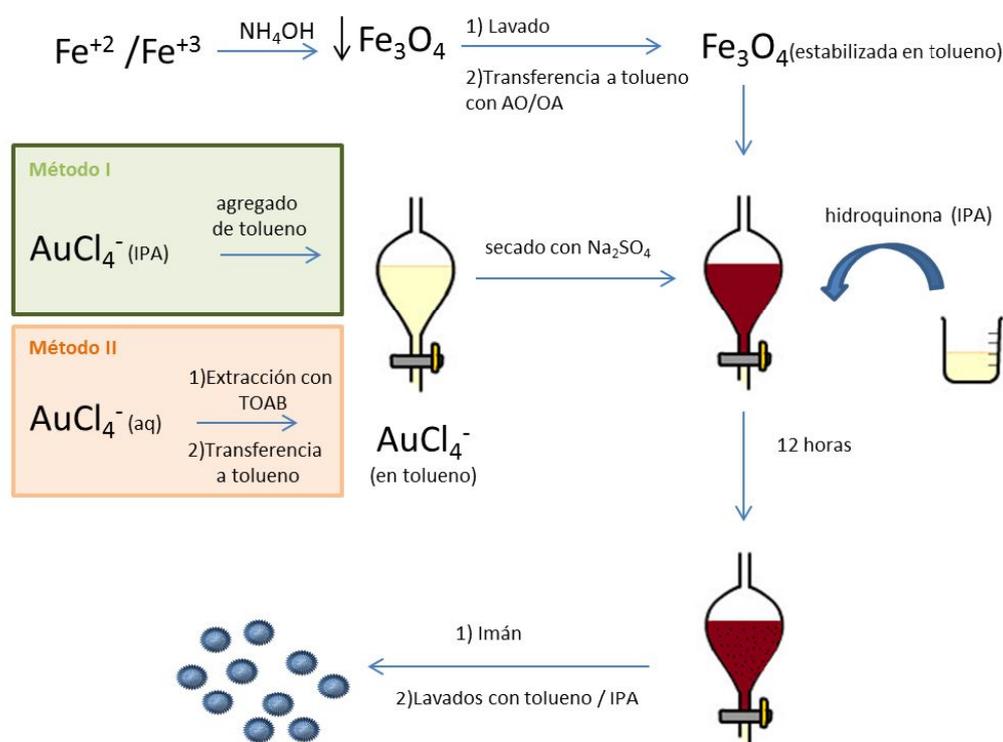


Fig. 4: Representación esquemática del proceso de obtención de partículas nanoestructuradas de Fe_3O_4 -Au por ambos métodos síntesis.

Las partículas obtenidas fueron caracterizadas por distintas técnicas como microscopía electrónica de barrido y transmisión, difracción de rayos X, magnetometrías y espectroscopía Uv-Visible. Estas técnicas brindaron información sobre las propiedades de las partículas obtenidas y permitieron estudiar el efecto de cada reactivo utilizado en la síntesis.

Se observó que la variación en la concentración de oleilamina, ácido oleico y TOAB modifica la morfología y el tamaño de las partículas. Las caracterizaciones realizadas sobre cada tipo de partícula se agruparon en dos clases según el método de síntesis. Las partículas obtenidas con distintas concentraciones de aditivos se pueden resumir en cuatro estructuras características:

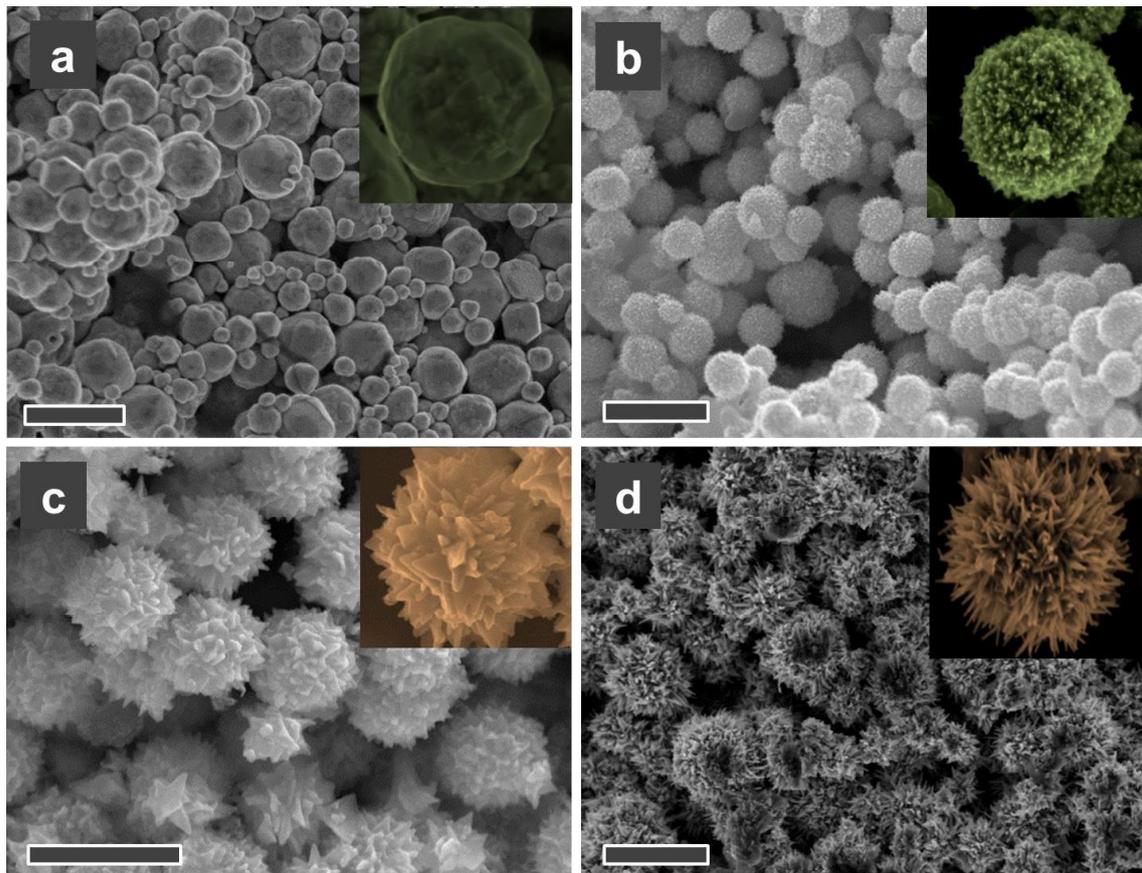


Fig. 5. Distintos tipos de partículas nanoestructuradas obtenidas: (a) y b) el *Método I* de preparación y (c) y (d) por el *Método II*.

En el caso de las partículas de la figura 5a y 5b, se obtuvieron en el *Método I* de síntesis. Las partículas de la figura 5c y 5d, fueron obtenidas con el *Método II* con bromuro de tetraoctilamonio en la síntesis. En ambos casos, las partículas fueron sintetizadas con distintas concentraciones de oleilamina en el medio.

3. Síntesis y caracterización de partículas nanoestructuradas de magnetita-oro preparadas mediante el *Método I*

3.1. Síntesis

Las partículas obtenidas por el *Método I* de síntesis fueron analizadas por microscopía electrónica de barrido (SEM). Los resultados se muestran en la figura 6:

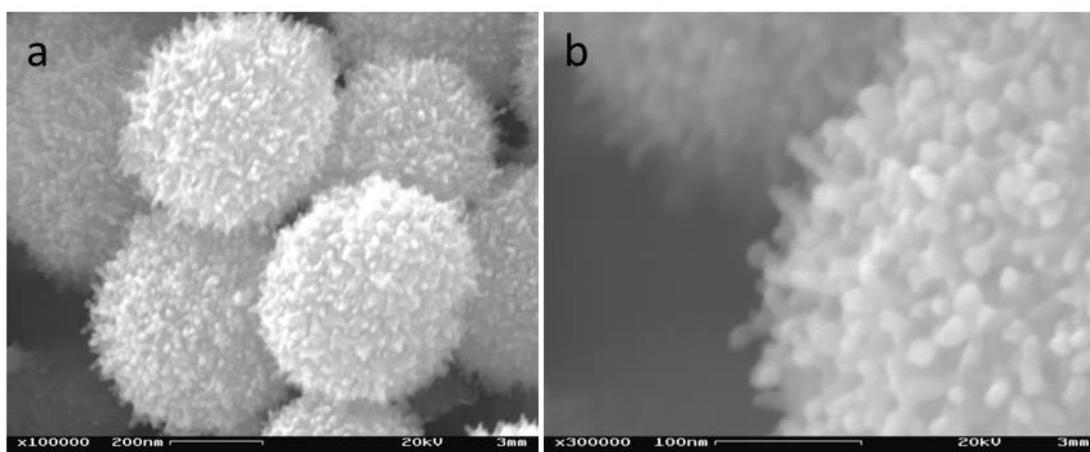


Fig. 6. (a) Imagen SEM de partículas nanoestructuradas de magnetita-oro. (b) Detalle de la superficie.

En las imágenes se observan partículas nanoestructuradas de 400 nm de diámetro. La superficie se encuentra cubierta por múltiples nanoestructuras 1D de 30 nm de largo y 10 nm de diámetro (fig. 6b).

En el proceso de síntesis se utilizaron 2,4 mM de oleilamina (OA) y 3,5 mM de ácido oleico (AO) como estabilizante. Como parte del proceso experimental, se realizó un estudio sobre el efecto de la concentración de cada aditivo en la morfología y el tamaño de partícula obtenido. Se observó un cambio en el diámetro de partícula al aumentar las concentraciones de aditivos en 5, 10 y 20 veces de la síntesis primaria, manteniendo la relación molar AO/OA en 1:1,5.

En las siguientes imágenes se muestran los resultados obtenidos al aumentar la concentración de los aditivos AO:OA en la síntesis por el *Método I*.

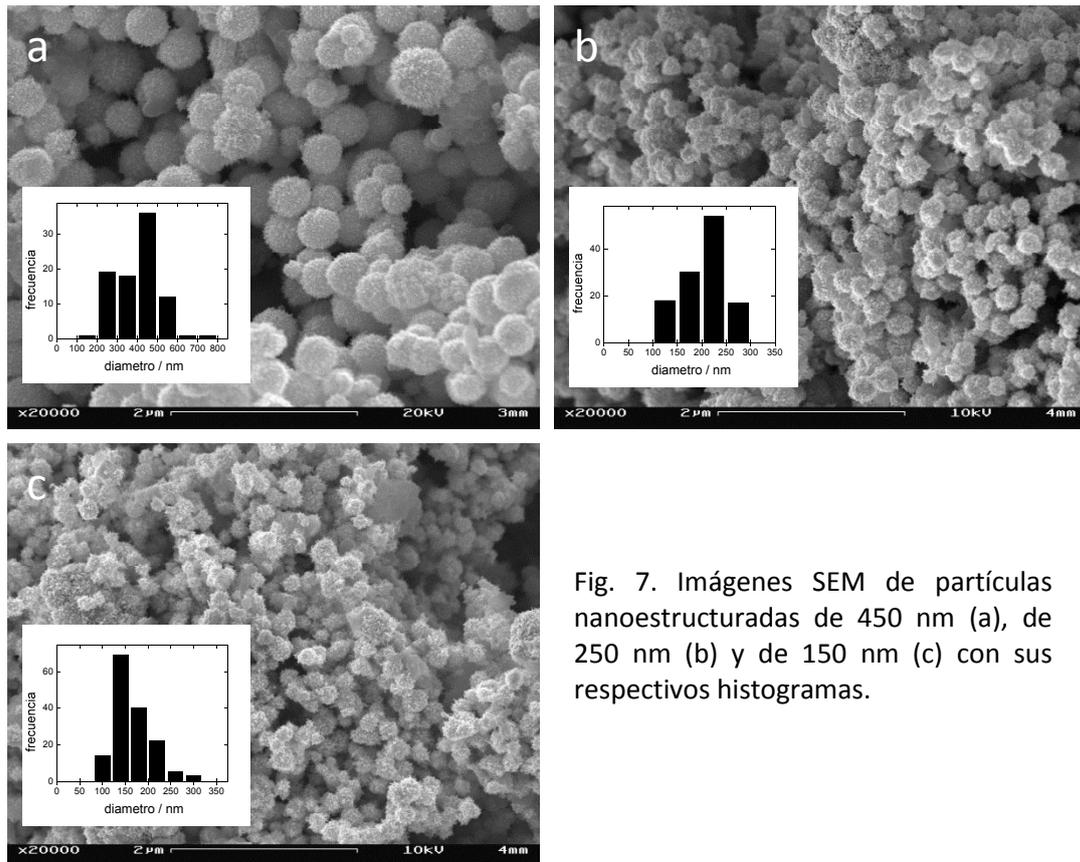


Fig. 7. Imágenes SEM de partículas nanoestructuradas de 450 nm (a), de 250 nm (b) y de 150 nm (c) con sus respectivos histogramas.

En la figura 7a, se muestran los resultados obtenidos en la síntesis primaria de partículas que se observan en la figura 6. Se obtuvieron partículas de aproximadamente 450 nm de diámetro [síntesis Ia].

En la figura 7b, se observan los resultados obtenidos con una concentración de aditivos 5 veces superior a la utilizada en el caso anterior. Se obtuvieron partículas nanoestructuradas de aproximadamente 250 nm [síntesis Ib].

Al utilizar una concentración de aditivos diez veces superior a la del primer caso (fig. 7c), el tamaño promedio de partícula obtenido es de aproximadamente 150 nm [síntesis Ic]. Se observó para una concentración de aditivos 20 veces superior al del caso de la figura 7c, el tamaño de partícula obtenido fue de alrededor de 150 nm [síntesis Id].

Los resultados obtenidos indican que el ácido oleico y la oleilamina determinan el tamaño de partícula entre 450 a 150 nm, cuando se utilizan en relaciones molares 1:1,5 y en concentraciones de 2,4-24 mM de OA y 3,5 y 35 mM de AO.

Se realizó un análisis químico elemental por microsonda de rayos X dispersivo en energía (EDS) sobre las partículas obtenidas en la figura 7. El resultado del porcentaje atómico de Au presente es de 95 % para las partículas de 450 nm, 82 % para las partículas de 250 nm y 64 % para las partículas de 150 nm. Los resultados obtenidos

indican que hay un mayor porcentaje de hierro presente en las partículas a medida que disminuye el tamaño.

Se estudió la influencia de la molécula de oleilamina en la morfología de las partículas nanoestructuradas modificando su concentración en la síntesis en 0,5; 3 y 10 veces con respecto a la síntesis en la que se utiliza 2,4 mM de OA [síntesis Ia].

En la figura 8, se muestran las imágenes obtenidas por SEM de partículas obtenidas a diferentes concentraciones de OA manteniendo la concentración de ácido oleico constante en 3,5 mM.

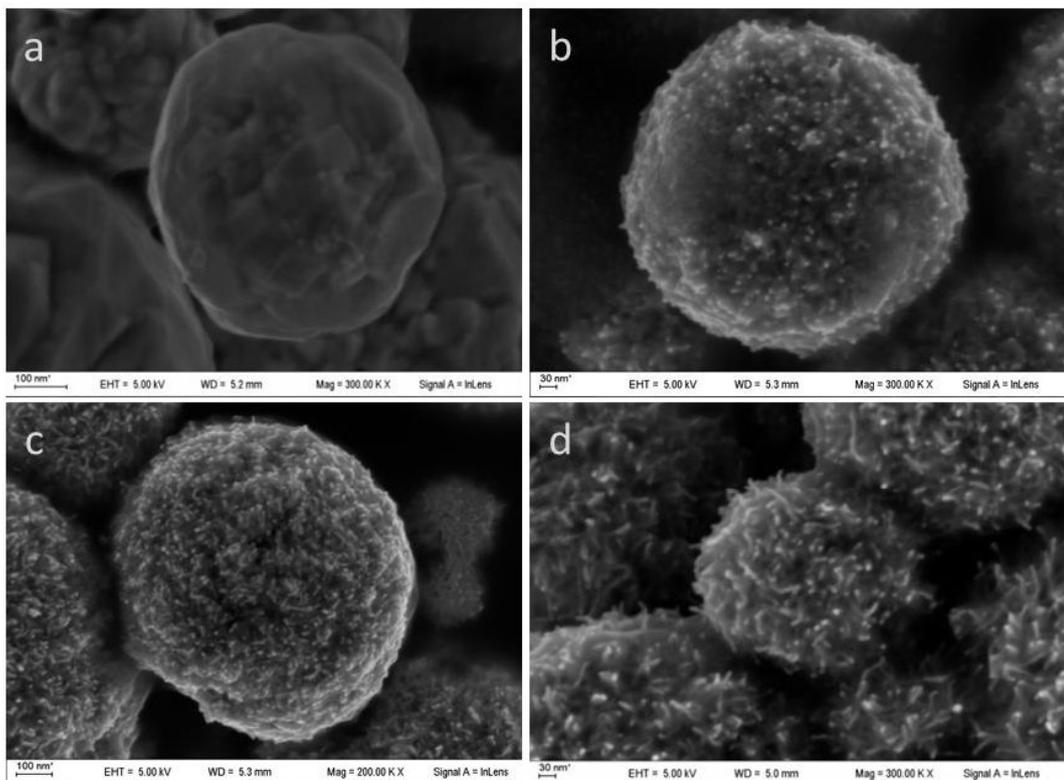


Fig. 8. (a) Imagen obtenida por microscopía SEM de partículas obtenidas con 1,2; (b) 2,4; (c) 7,2 y (d) 24 mM de OA en la síntesis.

En la figura 8a se observan partículas sintetizadas con una concentración de oleilamina de 1,2 mM. Las partículas presentan una superficie lisa sin nanoestructuras [síntesis Ia].

En la figura 8b, se observan partículas obtenidas con 2,4 mM de OA que presentan crecimientos de 30 nm de largo y 10 nm de diámetro en la superficie [síntesis Ia].

En la figura 8c, se observan partículas obtenidas con 7,2 mM de OA en la cual se observan múltiples nanoestructuras como el caso anterior [síntesis If].

Por último, en la figura 8d se observan las partículas obtenidas utilizando 24 mM de OA, con múltiples nanoestructuras tipo nanohilos de 50 nm de largo y 8 nm de diámetro [síntesis Ih].

Estos resultados sugieren que la molécula de oleilamina actúa de cierta forma como regulador de la morfología de las estructuras de la superficie.

Se realizó el mismo estudio sobre el efecto de la concentración del ácido oleico en la síntesis. No se observaron resultados significativos en la modificación de la superficie o el tamaño de partícula obtenido a una concentración de OA constante, esto sugiere que la concentración de ácido oleico no tendría influencia en la morfología final obtenida.

3.2. Caracterización óptica, cristalográfica y magnética

Se realizó el estudio de las características ópticas por espectrofotometría UV-visible y de la estructura cristalina por difracción de rayos X, de las partículas nanoestructuradas de 450, 250 y 150 nm de diámetro obtenidas por el *Método I*. Las características magnéticas de las partículas de 450 nm de diámetro fueron estudiadas por magnetometría de muestra vibrante. A continuación se detallan los resultados obtenidos.

3.2.1. Caracterización óptica

Se obtuvo el espectro UV-visible de partículas nanoestructuradas de distintos tamaños con un espectrofotómetro doble haz en cubetas de 10 mm de paso óptico. Se prepararon dispersiones acuosas de las partículas por sonicación durante 5 minutos antes de realizar la medición. En la figura 9, se muestran los espectros obtenidos para partículas nanoestructuradas de diferentes tamaños.

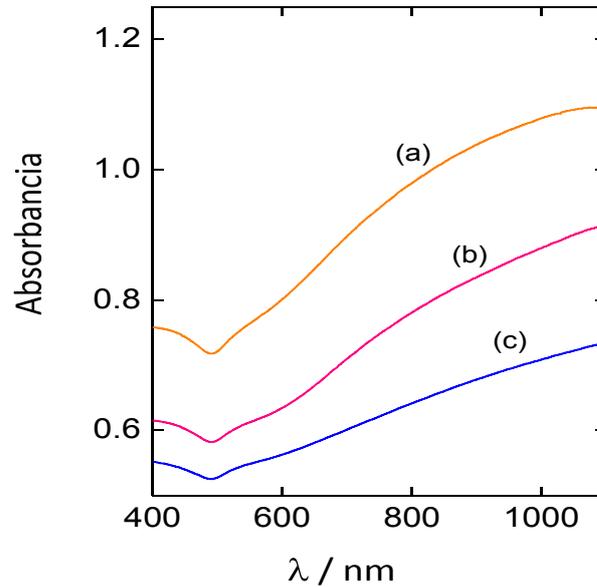


Fig. 9: Espectro UV-Vis de partículas de diferentes tamaños a) 150 nm b) 250 nm y c) 450 nm.

En la figura 9, se observa un espectro de bandas anchas con los máximos de absorción en el infrarrojo cercano los cuales no se observan por estar fuera del rango de detección. Los espectros obtenidos muestran que a medida que aumenta el tamaño de partícula, se produce un corrimiento hacia el espectro infrarrojo. Este desplazamiento hacia el rojo podría deberse a la mayor presencia de nanoestructuras irregulares en la superficie de las partículas y a la dispersión de tamaño que produce múltiples plasmones de absorción¹⁹. La generación de estos plasmones múltiples está dada por la sumatoria de modos de resonancia de órdenes más altos, que el dipolo resonante generado en el caso de una esfera³⁶⁻³⁷. En este sentido, es interesante mencionar el trabajo de Garg et al.⁵¹ que presentan simulaciones de espectros Uv-visibles para partículas esféricas con puntas. En la figura 10a, se observa un espectro simulado para una partícula con una y dos puntas en la superficie. En la figura 10b, se muestra una simulación realizada para partículas con dos puntas en la superficie con distintos ángulos de apertura y la contribución de cada plasmón asociado.

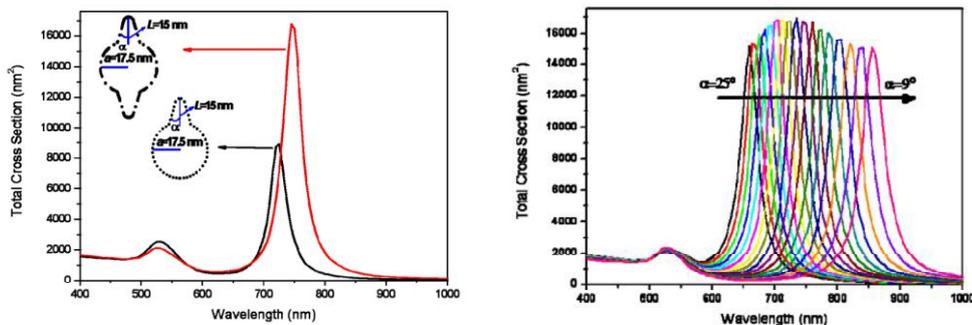


Fig. 10. a) Espectro calculado para una esfera con una y dos puntas superficiales con dimensiones de $L=15$ nm, $a=17,5$ nm, y un radio de curvatura de 3 nm. b) espectro calculado para distintos ángulos de apertura de las puntas⁵¹.

3.2.2. Caracterización cristalográfica

Con el objetivo de estudiar la estructura cristalina de las partículas se realizó un análisis por difracción de rayos X (DRX). Para el estudio se utilizaron partículas nanoestructuradas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ de diferentes tamaños. Los resultados obtenidos se presentan en la figura 11:

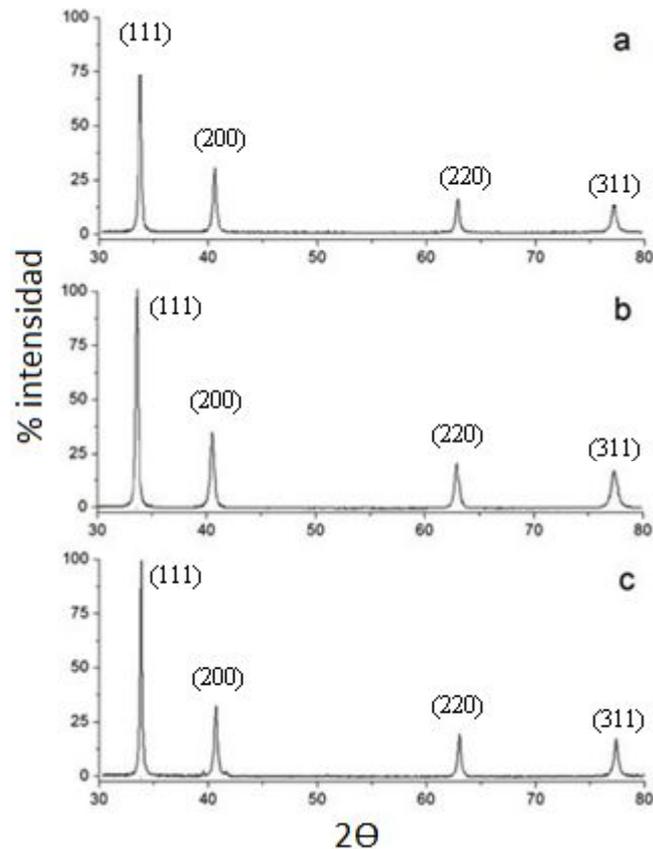


Fig. 11. Difractogramas de partículas nanoestructuradas de diferentes tamaños: (a) 450 nm (b) 250 nm (c) 150 nm.

Los resultados de difracción de rayos X obtenidos de las partículas nanoestructuradas son consistentes con el difractograma del oro puro²⁰ (“bulk”) de un sistema cúbico centrado en las caras (fcc) con picos a 2θ $38,185^\circ$ (de intensidad relativa: 100 %), $44,393^\circ$ (52 %), $64,578^\circ$ (32 %), $77,549^\circ$ (36 %), los cuales corresponden a los planos difractados (111), (200), (220), y (311) respectivamente.

Los resultados obtenidos sobre los distintos tamaños de partículas son muy similares entre sí, sin mostrar una tendencia significativa al disminuir el tamaño. Por ejemplo, para las partículas sintetizadas usando 35 mM de ácido oleico y 24 mM de oleilamina los resultados obtenidos a 2θ son $38,25^\circ$ (100 %), $44,42^\circ$ (32,31 %), $64,67^\circ$ (23,92 %), $77,63^\circ$ (24,54 %), mientras que para una concentración menor de aditivos (3,5 mM de

AO y 2,4 mM de OA) los resultados obtenidos fueron: 38,24° (100 %), 44,42° (33 %), 64,66° (27 %), 77,62° (28 %).

En los difractogramas se observa que la intensidad del pico (111) relativa al pico de difracción (200) es mayor para todas las partículas estructuradas con respecto a la intensidad relativa entre esos picos en el sistema “bulk” (Au patrón). Esto sugiere un crecimiento preferencial de los planos cristalinos {111} debido al efecto de los aditivos utilizados en la síntesis²⁰⁻²³.

En los difractogramas obtenidos se observa la ausencia de las líneas de difracción del óxido de hierro presente en la muestra. Esto podría deberse al *efecto de átomo pesado*²⁴ un fenómeno conocido en técnicas de difracción, que ocurre cuando en una muestra hay presentes átomos de número atómico alto, como el Au, y átomos de número atómico menor como el Fe. Los átomos con mayor Z producen una difracción más intensa que los átomos de menor Z, y esto conduce a que en el difractograma sólo se vean las líneas de difracción del elemento más pesado. En el caso de las partículas nanoestructuradas, el difractograma sólo muestra el patrón de difracción de oro con estructura cristalina cúbica centrada en las caras (fcc), sugiriendo que la magnetita se encuentra completamente recubierta²⁵⁻²⁸.

3.2.3. Caracterización magnética

Las características magnéticas de las partículas de 450 nm de diámetro fueron analizadas a través de curvas de susceptibilidad magnética en función de la temperatura cuando se aplica un campo magnético y en ausencia del mismo (ZFC-FC) siguiendo el mismo protocolo utilizado para las nanopartículas de Fe₃O₄ detallado en el capítulo 2.

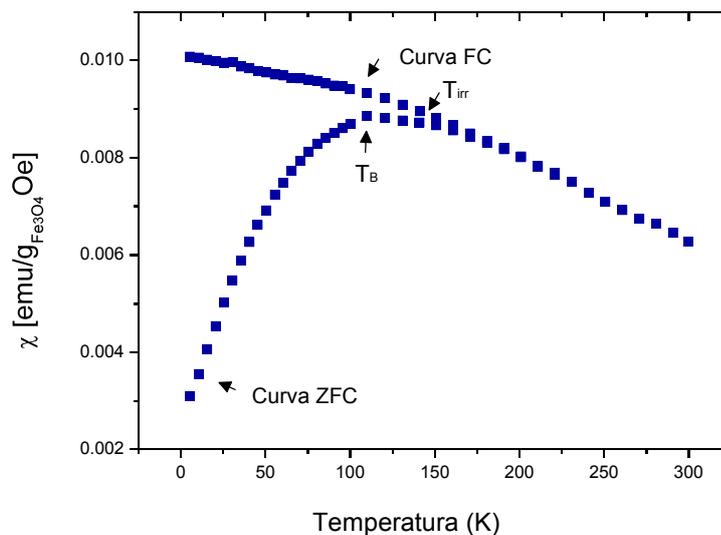


Fig. 12. Curva de susceptibilidad magnética ZFC-FC vs Temperatura para partículas nanoestructuradas de 450 nm.

Se observa un comportamiento superparamagnético del sistema correspondiente a las nanopartículas de Fe_3O_4 que fueron utilizadas. Se obtuvo un valor de temperatura de bloqueo (110 K) menor que el valor obtenido en nanopartículas de Fe_3O_4 sin recubrir (180 K). Esto es debido a la concentración de partículas en la muestra, lo que lleva a un corrimiento de la temperatura de bloqueo a menores valores⁵⁶. El tamaño de partícula obtenido utilizando la ecuación 1 fue de 15 nm, un valor similar al observado por microscopía electrónica para las nanopartículas de Fe_3O_4 .

3.3. Conclusiones

Se obtuvieron partículas nanoestructuradas de oro-magnetita por el *Método I* con tamaño controlable, a través de la concentración de AO/OA en la síntesis. Se observó que la molécula de OA determina la morfología de la partícula y un aumento de la concentración produce partículas con nanoestructuras alargadas. Por otra parte, las partículas conservan las propiedades superparamagnéticas del óxido de hierro que se utilizó como semilla, lo que sugiere que se encuentran en el interior de la partícula como lo observado en difracción de rayos X.

4. Síntesis y caracterización de partículas nanoestructuradas de oro-magnetita preparadas mediante el *Método II*

4.1. Síntesis

En esta sección se presentan los resultados obtenidos al realizar la síntesis de partículas nanoestructuradas de oro-magnetita por el *Método II*.

En primer lugar se observaron las partículas por microscopía electrónica de barrido. En la figura 13, se observan imágenes de la muestra correspondiente a la síntesis con 1,5 mM de bromuro de tetraoctilamonio (TOAB):

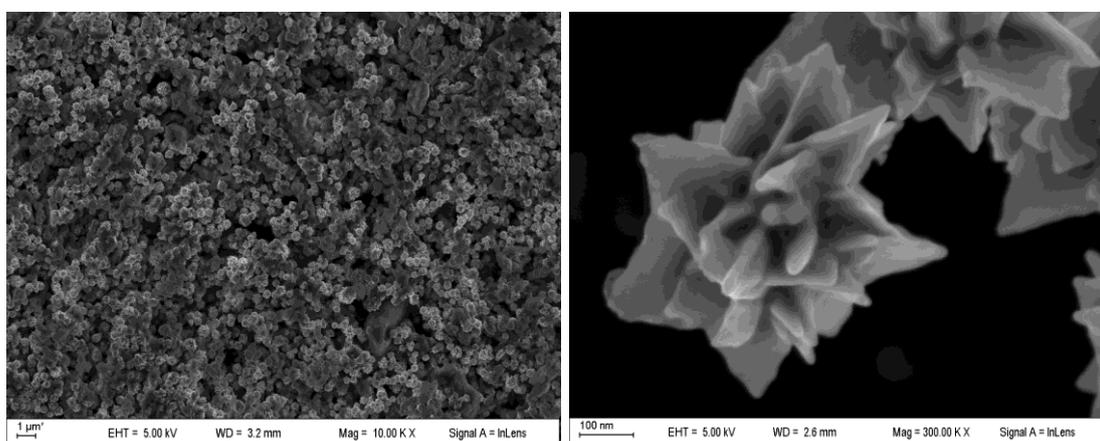


Fig. 13. Imágenes por microscopía de barrido a distintas magnificaciones de una muestra de partículas nanoestructuradas con TOAB *tipo flores*.

Se obtuvieron partículas de aproximadamente 500 nm de diámetro con múltiples puntas triangulares que se denominaron partículas *tipo flores* debido a su morfología con múltiples pétalos.

Al igual que se realizó para el *Método I*, se estudió el efecto de la concentración de aditivos en la síntesis, con la misma metodología utilizada en la síntesis de la sección anterior. Se estudió el efecto de AO:OA en relaciones molares 1:1,5 y concentraciones 5 y 10 veces superior a la concentración utilizada en la síntesis de partículas tipo flores [síntesis IIa]. La concentración de AO y OA utilizada en la síntesis fue la misma que la usada para el *Método I* 3,5 mM de AO y 2,4 mM de OA.

En las figuras 13 y 14a, se observan los resultados obtenidos en las condiciones de la síntesis primaria [síntesis IIa]. En la fig. 14b, se observa el resultado al utilizar una concentración de aditivos 5 veces superior [síntesis IIb]. En la fig. 14c, se muestra el resultado obtenido con una concentración de aditivos 10 veces superior [síntesis IIc].

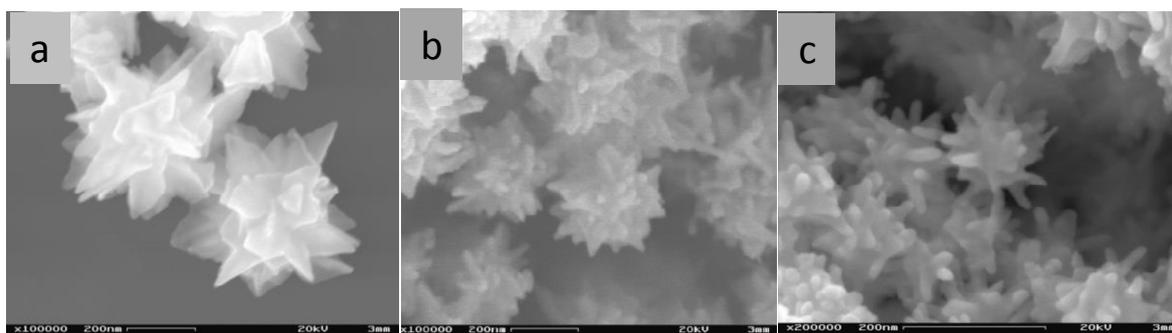


Fig. 14. Imágenes por microscopía electrónica (SEM) de partículas tipo flores sintetizadas con concentraciones de AO y OA crecientes: (a) 3,5/2,4; (b) 17,5/12 y (c) 35/24 mM de AO y OA respectivamente.

En las imágenes obtenidas se observa que las partículas poseen tamaños de alrededor de 500 nm para concentraciones de AO/OA 3,5/2,4 mM; de aproximadamente 250 nm cuando se utiliza una concentración 5 veces superior de AO/OA y de alrededor de 150 nm con una concentración 10 veces superior. Los resultados obtenidos indican que, al igual que para el caso de las partículas preparadas por el *Método I*, las concentraciones de AO/OA utilizadas en la síntesis determinan el tamaño de partícula.

Se analizó la composición química de las partículas de la figura 13 por microsonda de rayos X dispersivo en energía (EDS). Los resultados obtenidos en porcentaje atómico de Au: 83 % y de Fe 7 % para las partículas tipo flores de 500 nm de diámetro utilizando 1,5 mM de bromuro (TOAB) en la síntesis. Los resultados obtenidos indican que las partículas tipo flores obtenidas por el *Método II* de preparación tienen un mayor porcentaje de hierro en la estructura con respecto a las partículas obtenidas por el *Método I*.

Se estudió la influencia de la concentración del aditivo bromado TOAB en la síntesis en concentraciones de 1,5; 0,4 y 0,05 mM. En la figura 15, se observan imágenes obtenidas por microscopía SEM de partículas preparadas según las concentraciones de bromuro detalladas.

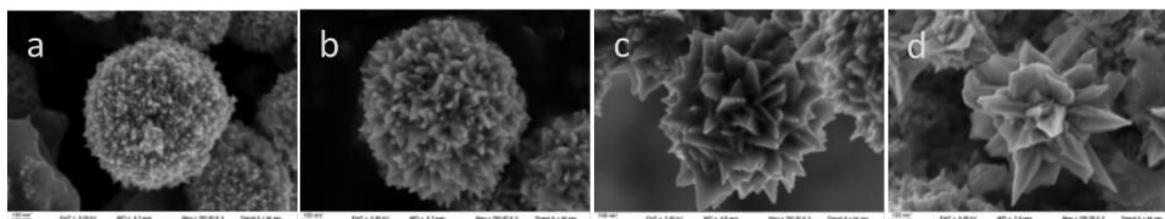


Fig. 15. Imagen por microscopía SEM de partículas con diferentes concentraciones de bromuro (TOAB): a) en ausencia de bromuro; b) con 0,05 mM; c) con 0,4 mM; d) con 1,5 mM de bromuro en solución.

En la figura 15a, se muestra una partícula obtenida sin TOAB (*Método I*) en la síntesis. Posee pequeñas nanoestructuras superficiales y características que fueron expuestas en la sección anterior de este capítulo.

En la fig. 15b se muestra el resultado obtenido con 0,05 mM de TOAB en el medio de síntesis [síntesis IIh]. Se obtuvieron partículas que conservan el tamaño (alrededor de 500 nm) con nanoestructuras superficiales de aproximadamente 80 nm de longitud y 40 nm de diámetro.

En la figura 15c, se observan partículas obtenidas con 0,4 mM de TOAB [síntesis IIg]. Las puntas superficiales tienen alrededor de aproximadamente 120 nm de longitud con secciones transversales variables entre 100 y 160 nm.

En la última figura 15d, se observan partículas *tipo flores* obtenidas con 1,5 mM de bromuro [síntesis IIa]. Se observan puntas de alrededor de 270 nm de lado y 130 nm de base.

Se estudió la influencia de la molécula de oleilamina en la morfología de las partículas nanoestructuradas con TOAB modificando su concentración en la síntesis en 0,5; 2; 3; 10 y 20 veces con respecto a la síntesis de 2,4 mM [síntesis IIId]. La concentración de ácido oleico se mantuvo constante a 3,5 mM y la concentración de TOAB en 1,5 mM.

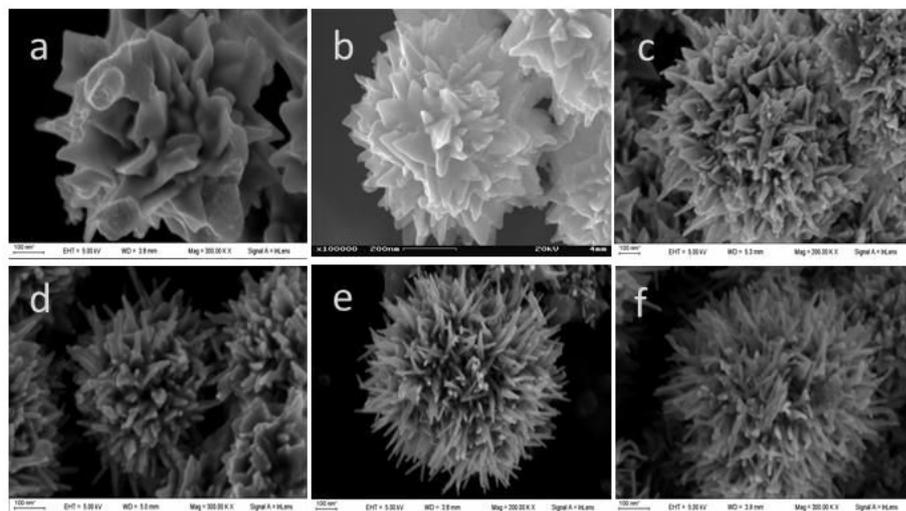


Fig. 16. Imágenes SEM de partículas con diferentes concentraciones de OA:(a) 1,2 (b) 2,4 (c) 4,8 (d) 7,2 (e) 24 y (f) 48 mM.

En la figura 16a, se observan los resultados obtenidos con 0,5 veces el valor de OA utilizado para la síntesis de las partículas primaria. Se observan puntas triangulares de valor medio aproximado de 25 nm de altura y 160 nm de base [síntesis IIId].

En la fig. 16b se muestran los resultados obtenidos en la síntesis de partículas *tipo flores*. Se observa que las puntas tienen aproximadamente 145 nm de altura y 110 nm de base [síntesis IIa].

En la fig. 16c, se observan los resultados con 2 veces la concentración de OA en la síntesis. Se observan puntas más finas de 140 nm de altura y 60 nm de base.

En las figuras 16d, e y f se muestran los resultados con 3, 10 y 20 veces la concentración de OA en la síntesis [síntesis IIId, IIe]. Se observa una disminución en el diámetro de las puntas similares a nanohilos de oro en la superficie.

Por otra parte, se estudió la influencia de la concentración de AO en la síntesis. No se observaron variaciones de tamaño o morfología significativas. El mismo efecto se observó para en la síntesis de las partículas nanoestructuradas por el *Método I*.

4.2. Caracterización óptica, cristalográfica y magnética

Se estudiaron las características ópticas por UV-visible de las partículas obtenidas por el *Método II* de 500 nm de diámetro *tipo flores* y con múltiples puntas tipo nanohilos que se muestran en las figuras 16b y 16e. Las partículas de 500 nm de diámetro *tipo flores* fueron analizadas por difracción de rayos X con el fin de estudiar su estructura cristalina y sus características magnéticas fueron analizadas por magnetometría de muestra vibrante. A continuación se detallan los resultados obtenidos.

4.2.1 Caracterización óptica

Se realizó la adquisición del espectro de absorción en el rango 190-1000 nm de las partículas *tipo flores* y partículas con puntas tipo nanohilos en la superficie. Los resultados se muestran en la figura 17:

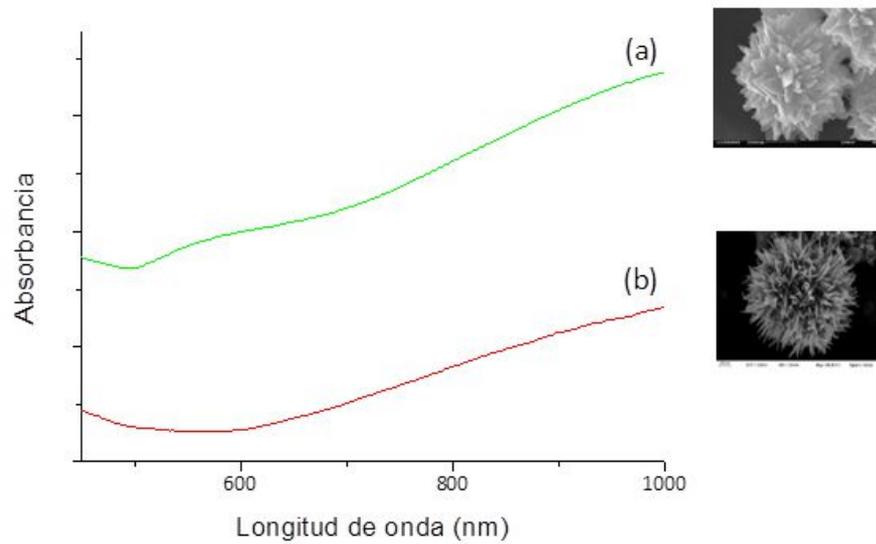


Fig. 17: Espectro de partículas nanoestructuradas sintetizadas (a) tipo flor y (b) con puntas tipo nanohilos.

En el espectro adquirido se observa un máximo de absorción en el rango del infrarrojo lejano, en una longitud de onda superior a 1000 nm para ambos tipos de partículas.

De forma semejante a lo que sucede con los espectros Uv-Visible de las partículas preparadas por el *Método I*, el espectro de absorción responde a una convolución de picos máximos correspondientes a plasmones transversales y longitudinales acoplados, típico de partículas nanoestructuradas de oro³²⁻³⁴.

4.2.2 Caracterización cristalográfica

Para conocer la estructura cristalina de las partículas tipo flores, se realizó un estudio por difracción de rayos X. En la figura 18, se muestra el difractograma obtenido:

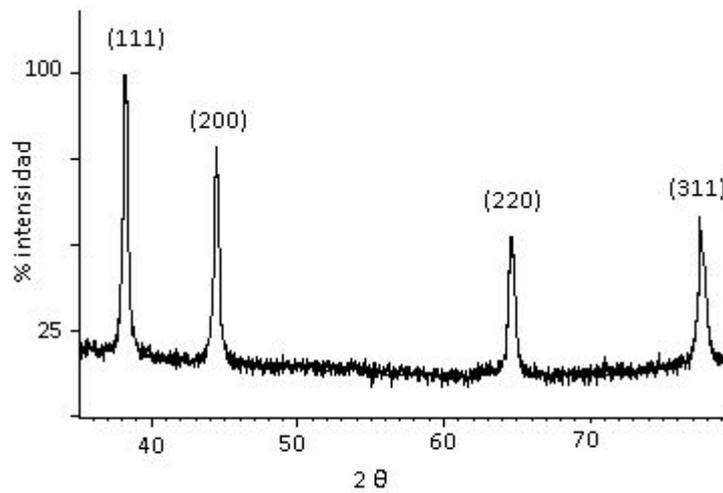


Fig. 18. Diffractograma de partículas tipo flores de 500 nm de diámetro.

Se obtuvo un diffractograma típico de oro de un sistema cúbico centrado en las caras (fcc) con picos de difracción a 2θ : $38,18^\circ$ (de intensidad relativa: 100 %); $44,39^\circ$ (75 %); $64,57^\circ$ (50%); $77,54^\circ$ (55%), los cuales corresponden a los planos difractados (111), (200), (220), y (311).

Se observa un crecimiento preferencial del plano {111} como lo observado en las partículas nanoestructurada sin TOAB. Asimismo, no se observan los picos de difracción del óxido de hierro posiblemente debido al efecto de átomo pesado²⁰ de los átomos de oro presentes en la muestra.

4.2.3 Caracterización magnética

Las características magnéticas de las partículas *tipo flores* fueron estudiadas mediante un magnetómetro de muestra vibrante (VSM). En la figura 19 se muestra el resultado obtenido:

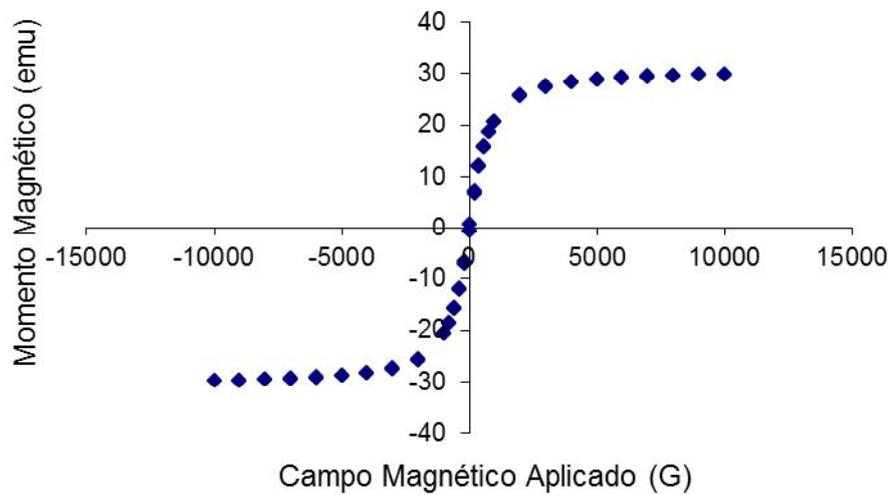


Fig. 19. Curva de magnetización de partículas tipo flores por VSM.

La magnetización de saturación de la muestra se encuentra en 30 emu de partículas de oro-magnetita. Se observa una respuesta superparamagnética del sistema, que indica que las nanopartículas de magnetita que componen la muestra conservan sus características magnéticas.

4.3. Conclusiones

Se obtuvieron partículas con morfologías tipo flores en la síntesis con un aditivo bromado por el *Método II*. Se observó que, al igual que en partículas obtenidas por el *Método I*, la concentración de OA y AO en la síntesis determina el tamaño de partícula obtenida. Por otra parte, se observó que la concentración de TOAB y OA determina la morfología de la partícula en la síntesis.

5. Discusión sobre el efecto de los aditivos en el control del tamaño y morfología

Según lo observado en ambos métodos de síntesis, la oleilamina y el bromuro de tetraoctilamonio definen la morfología de la partícula. Se llevaron a cabo síntesis con distintas concentraciones de cada uno y los resultados obtenidos se muestran en la figura 20:

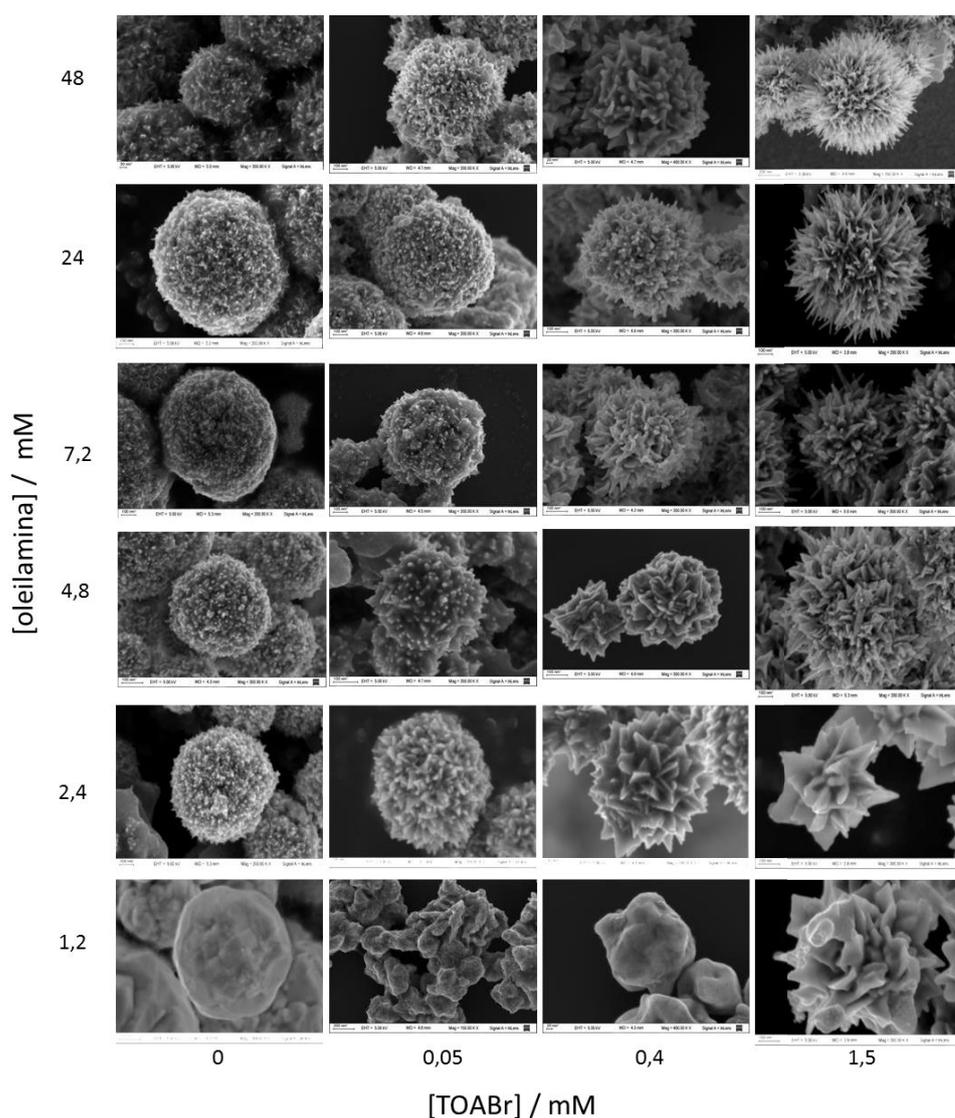


Fig. 20. Imágenes SEM de los distintos tipos de partículas nanoestructuradas sintetizadas.

En la figura 20, se observan partículas con superficies facetadas sin sobrecrecimientos al utilizar bajas concentraciones de oleilamina y sin bromuro de tetraoctilamonio en la síntesis. A medida que aumenta la concentración de OA, comienzan a ser visibles

pequeñas nanoestructuras en la superficie de las partículas con una tendencia a crecer de forma alargada cuando la concentración de OA es mayor a 24 mM.

Por otra parte, al incrementar la concentración de bromuro de tetraoctilamonio, se observan partículas con puntas triangulares más definidas a concentraciones mayores a 0,05 mM. Cuando la concentración de bromuro y la concentración de OA aumentan, se observan partículas con puntas muy finas en la superficie similares a nanohilos de oro.

En la figura 21, se muestra una representación esquemática de la morfología de la partícula según las condiciones de síntesis utilizada.

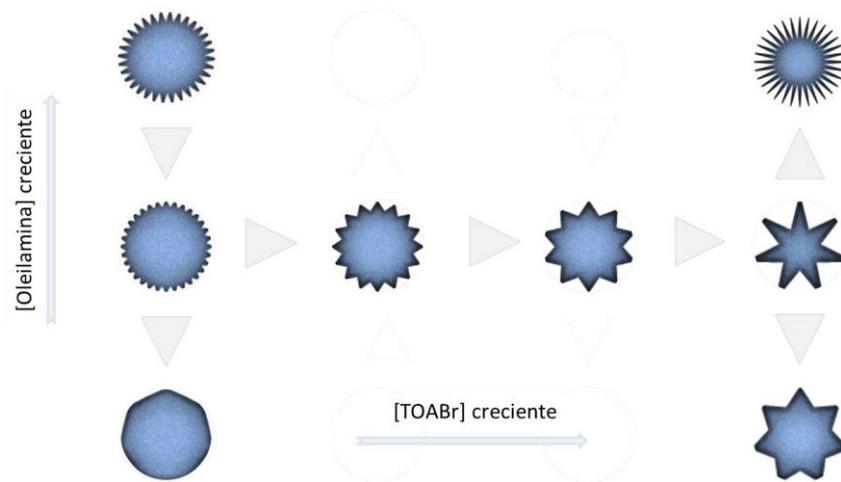


Fig. 21. Tipos de morfologías obtenidas con concentraciones variables de OA y TOAB.

5.1. El efecto del ácido oleico

El ácido oleico es muy utilizado para estabilizar partículas de óxido de hierro en solventes no polares^{40,41}. En nuestro trabajo de investigación, se utilizó con la misma finalidad para la estabilización de nanopartículas de Fe_3O_4 usadas como semillas en la síntesis de partículas nanoestructuradas de oro y magnetita.

Se estudió la influencia de la concentración de ácido oleico entre 3,5 y 35 mM sin observarse cambios en la morfología de las partículas obtenidas por ambos métodos de síntesis. En cambio, como se detalló en las secciones anteriores, la variación en conjunto de la concentración de ácido oleico y oleilamina manteniendo una relación molar 1:1,5 lleva a un control del tamaño de partícula entre 100 a 600 nm. Estos resultados coinciden con lo propuesto en el trabajo de El-Shall⁴² et al. quien observó la misma tendencia en el control de tamaño de nanopartículas de oro con ácido oleico y oleilamina.

Por otra parte, con el fin de estudiar la influencia del doble enlace que posee el ácido oleico en la estabilización de la partícula, se reemplazó con ácido esteárico sin observarse cambios en la morfología de las partículas obtenidas.

En suma, los resultados indican que el ácido oleico por sí mismo no tiene efectos significativos sobre la forma de las partículas, pero sí afecta el tamaño de las mismas en su relación respecto de oleilamina, cuyo efecto se analiza a continuación.

5.2. El efecto de la oleilamina

La molécula de oleilamina es ampliamente utilizada como estabilizante en la síntesis de nanopartículas de oro anisotrópicas^{41,43,44}. En diversas publicaciones se propone el uso de OA para la obtención de nanohilos de oro^{43, 46-48}. En el caso de la síntesis de partículas nanoestructuradas obtenidas, se aprecia un cambio en la morfología de la superficie de la estructura al aumentar la concentración de OA en la síntesis en valores superiores a 4,8 mM. El efecto de la concentración de OA se muestra en una representación esquemática de la morfología de las puntas de las partículas en la figura 22.

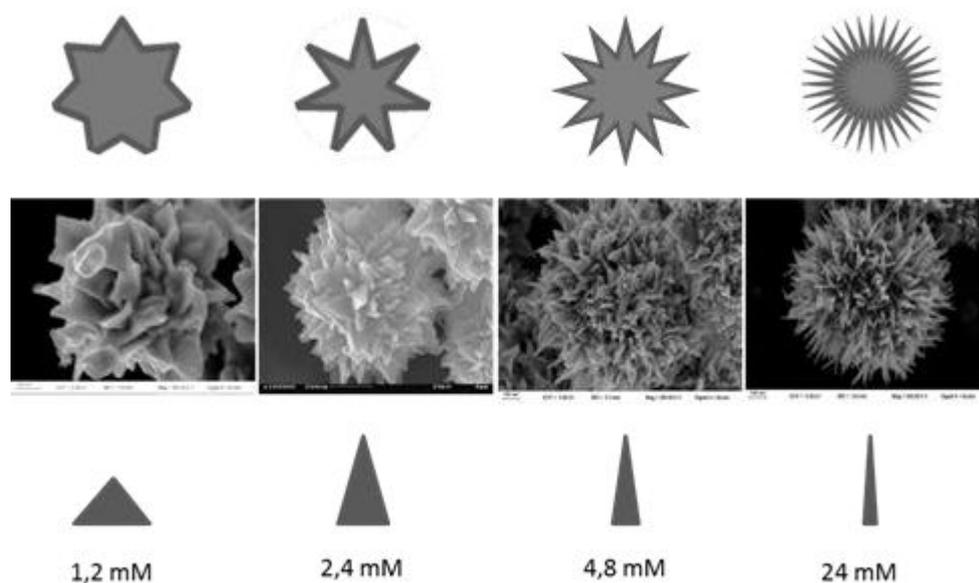


Fig. 22. Efecto de la concentración de OA en la síntesis. Arriba: representación esquemática de las partículas obtenidas; medio: imágenes SEM obtenidas; abajo: representación esquemática de las puntas de cada tipo de partícula según la concentración de OA utilizada.

5.3. El efecto del bromuro de tetraoctilamonio (TOAB)

En la síntesis de partículas de oro, el ion bromuro promueve el crecimiento preferencial de estructuras anisotrópicas. El uso de bromuro como modificador superficial es muy común en la obtención de nanopartículas de oro con crecimientos anisotrópicos²⁹⁻³⁴. Este tipo de material tiene especial interés por sus propiedades ópticas distintivas, como la presencia de plasmones múltiples. En el caso particular de los aditivos bromados como CTAB (bromuro de hexadeciltrimetilamonio) o TOAB, son utilizados en la síntesis de partículas con estructuras con caras cristalinas facetadas tipo triángulos, estrellas, varillas, cubos, etc³⁵⁻³⁷.

En nuestro caso, observamos que al utilizar bromuro en la síntesis (*Método II*) se obtienen partículas con crecimientos piramidales, y que al incrementar la concentración se obtienen partículas con puntas triangulares más definidas. En cambio, si no se utiliza bromuro en la síntesis (*Método I*), se obtienen partículas con pequeñas irregularidades en la superficie, sin puntas estrelladas como las expuestas en la primera parte de este capítulo.

Los cambios en la morfología de las puntas de las partículas se observaron a partir de concentraciones de 0,05 mM de TOAB en la reacción y partículas con puntas piramidales más prominentes a partir de 0,4 mM de bromuro.

En la figura 23, se muestra la variación de la morfología con el aumento de bromuro en la síntesis:

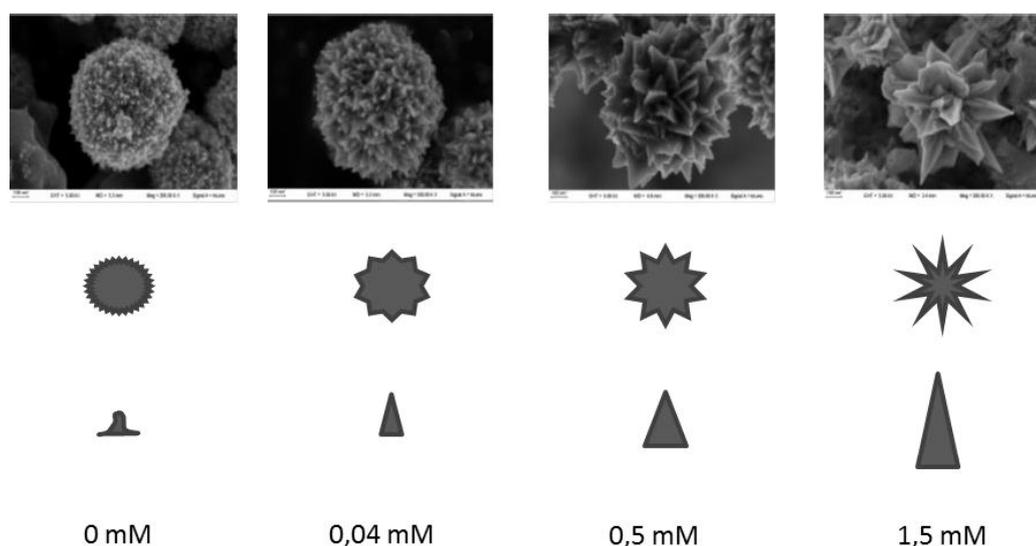


Fig. 23. Efecto de la concentración de bromuro en la síntesis. Arriba: imágenes SEM de las partículas obtenidas; medio: representación esquemática de la morfología de las partículas; abajo: representación esquemática de las puntas de las partículas obtenidas con diferentes concentraciones de TOAB.

En concentraciones de 0,04 a 1,5 mM de TOAB en el medio de reacción, se obtienen partículas con puntas de 40 a 130 nm de base y de 80 a 270 nm de altura aproximadamente.

El efecto del bromuro sobre el cambio de la morfología en partículas nanoestructuradas ha sido observado anteriormente⁴⁹⁻⁵³. Wu et al.⁴⁹ estudió la influencia de la concentración de bromuro en una solución de crecimiento de nanopartículas de oro con formas estrelladas. Llegó a la conclusión que el bromuro es un regulador efectivo en la formación de nanoestrellas de oro y partículas bipiramidales. En ausencia de bromuro obtuvo partículas tipo poliedros irregulares sin puntas superficiales similares a las partículas obtenidas en esta tesis en ausencia de TOAB.

Este efecto también ha sido observado por You et al.⁵⁰ en la síntesis de mesocristales de oro con distintas concentraciones de CTAB.

Este es el mismo efecto que observamos en las partículas con múltiples nanoestructuras 1D obtenidas en ausencia y con 1,5 mM de bromuro, partículas con múltiples puntas triangulares. Esto sugiere que de cierta forma el ion bromuro promueve el crecimiento de puntas triangulares y en su ausencia, este tipo de crecimiento se encuentra inhibido, promoviendo el crecimiento de nanoestructuras de formas irregulares en la superficie.

Por otra parte, se estudió la influencia del contraíón de la fuente de bromuro en la síntesis sustituyendo el TOAB con CTAB. Se obtuvieron partículas con puntas triangulares similares a las obtenidas con el aditivo TOAB, por lo que se observa que el contraíón del bromuro no es un factor que influya en la morfología final que toma la partícula. El mismo efecto fue observado por Garg et al.⁵¹ en la síntesis de nanobarras de oro al sustituir CTAB por NaBr como fuente de bromuro. Los resultados obtenidos demuestran que el contraíón utilizado no determina la morfología final de la partícula.

Como conclusión general, el ion Br^- en la síntesis determina un crecimiento cristalino con puntas piramidales mientras que en ausencia de bromuro, el crecimiento de otro tipo de partículas con una morfología distinta expuestas en la primera parte del capítulo. Esto sugiere que el bromuro interviene en el mecanismo de formación de las partículas nanoestructuradas magnetita-oro.

6. Conclusiones

Empleando dos métodos de síntesis distintos, se prepararon partículas nanoestructuradas de magnetita-oro con tamaño y morfología controlada a través de la concentración de los reactivos empleados en la síntesis.

En ambos casos, se observó que las propiedades superparamagnéticas de las nanopartículas de Fe_3O_4 utilizadas como sitios de nucleación se mantienen luego de proceso de formación de las partículas nanoestructuradas.

7. Referencias

1. S. Sun, H. Zen; *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 124, 28 (2002) 8204.
2. D. Forge, A. Roch, C. Robic, E. Vander, R.N. Muller; *Chemical Reviews* Vol. 108, 6 (2008) 2064.
3. S. Sun, H. Zeng, S. Raoux, P.M. Rice, S.X. Wang; *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 126, 1 (2004) 273.
4. L. A. Welo, O. Baudisch; *Phil. Mag.* 3 (1927) 396.
5. D.T. Harvey, R.W. Linton; *Analit. Chem.* 53 (1981) 1684.
6. Y. Wang, B. Li, Y. Zhou, D. Jia; *Nanoscale Res. Lett.* (2009) 4, 1041–1046.
7. Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, J. Dobson; *J. Phys. D: Appl. Phys.* 36 (2003).
8. M. Knobel, W. C. Nunes, L.M. Socolovsky, E. De Biasi, J.M. Vargas, J.C. Denardin, *J. Nanosci. Nanotech.* 8 (2008) 2836–2857.
9. J.M. Vargas, W.C. Nunes, L.M. Socolovsky, M. Knobel, D. Zanchet, *Phys. Rev. B* 72 (2005) 184428.
10. E. Lima, A.L. Brandl Jr., A.D. Arelaro, G.F. Goya, *J. Appl. Phys.* 99 (2006) 083908.
11. M. Treguer-Delapierre, J Majimel, S. Mornet, E.Duguet, S.Ravaine; *Gold Bulletin* 41/2 (2008) 195.
12. Z. Peng, H. Yang; *Nano Today* 4 (2009) 143.
13. T. Pradeep, A.Samal, T. Sreepasad, P. Sajanalal; *Nano Reviews*, Vol. 2 (2011).
14. S.K. Lim, S.N. Raja, M. Bernardi; *Nanotechnology* 21 (2010) 285607.
15. L. Marzan, H. Weller, A. Kornowski, R. Alvarez-Puebla, I. Pastoriza-Santos, L. Rodriguez-Lorenzo, A. Agrawal, S. Barbosa; *Langmuir* (2010) 26 (18) 14943.
16. M. El-Sayed, B. Nikoobakht; *Chem. Mat.* 15 (2003) 1957.
17. C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, M.A. El-Sayed; *Chem. Rev.* 105 (2005) 1025.
18. Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim, S.E. Skrabalak; *Angew. Chem. Int. Ed.* 48 (2009) 60.
19. P.S. Kumar, I. Pastoriza-Santos, B. Rodriguez-Gonzalez, F.J.G. Abajo, L.M. Liz-Marzán; *Nanotechnology* 19 (2008) 015606.
20. O.M. Bakr, B.H. Wunsch, F. Stellacci; *Chem. Mater.* 18 (2006) 3297.
21. C. J. Murphy, T.K. Sau, A.M. Gole, C.J. Orendorff, J. Gao, L. Gou, S.E. Hunyadi, T. Li; *J. Phys. Chem. B* 109 (2005) 13857.
22. M. Mandal, S.Kundu, S.K.Ghosh, S.Panigrahi, T.K. Sau, S.M. Yusulf, T.Pal; *Journal Colloid Interface Sci.* 286(2005) 187.
23. J. Xie, Q. Zhang, J.Y. Lee, D.I.C. Wang; *ACS Nano* 2 (2008) 2473.
24. M.F.Ladd, R.A. Palmer; *Structure Determination by X-Ray-Crystallography*; Kluwer: Dordrecht (1994).
25. X.Teng, D.Black, N. J.Watkins, Y.Gao, H.Yang; *Nano Lett.* Vol. 3, No. 2 (2003).
26. I. Robinson, L.D.Tung, S.Maenosono, C.Walti. N.Thanh; *Nanoscale* 2 (2010) 2624.
27. L.Y.Wang, J.Luo, Q.Fan, M.Suzuki, I.S.Suzuki, M.H.Engelhard, Y.Lin, J.Q. Wang, C.J.Zhong; *J. Phys. Chem. B* 109 (2005) 21593.

28. M.Mikhaylova, D.K.Kim, N.Bobrysheva, M.Osmolowsky, V.Semenov, T.Tsakalagos, M. Muhammed; *Langmuir* 20 (2004) 2472.
29. H. Song, Q. Wei, Q. K. Ong, A. Wei; *ACS NANO* Vol. 4, No. 9 (2010).
30. H. Yu, M. Chen, P. M. Rice, S. X. Wang, R. L. White, S. Sun, *Nano Letters*, Vol. 5, No. 2 (2005).
31. M. F. Ladd, R. A. Palmer, *Structure Determination by X-Ray-Crystallography*; Kluwer: Dordrecht, 1994.
32. H. Wu, C. Chen, M. Huang; *Chem. Mater.* 21 (2009) 110.
33. W.Ahmed, S.Kooij, A. Silfhout, B. Poelsema; *Nanotechnology* 21 (2010) 125605.
34. H.You, Y. Ji, L. Wang, S. Yang, Z. Yang, J. Fang, X. Song, B. Ding; *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 1998.
35. M.Mohamed, K.AbouZeid, V.Abdelsayed, A.Aljarash, M. El-Shall; *ACS NANO* Vol.4 No.5 (2010).
36. J.Yin, Y.Zang, B.Xu, S.Li, J.Kang, Y.Fang, Z.Wu, J.Lis; *Nanoscale* (2014).
37. R. L. Penn, J.F. Banfield *Science* Vol. 281 (1998) 969.
38. C. Kan, X. Zhu, G. Wang; *J. Phys. Chem. B* (2006) Vol. 110, No. 10, 4651-4656.
39. Y. Xiong, A. R. Siekkinen, J. Wang, Y. Yin, M. J. Kim, Y. Xia; *J Mater Chem* 17 (2007) 2600.
40. P. R. Sajanlal, T. Pradeep; *Nano Research* 2 (2009) 306–320.
41. J. Li, J. Wu, X. Zhang, Y. Liu, D. Zhou, H. Sun, H. Zhang, B. Yang; *J. Phys. Chem. C* 115 (2011) 3630–3637.
42. S.El-Shall, A. Aljarash, V.Abdelsayed, K.Abouzeid, M. Mohamed; *ACS NANO* Vol. 4 No. 5 (2010).
43. M.Brust, M.Walker, D.Bethell, D.J.Schiffrin, R.Whyman, *J.Chem.Soc. Chem.Comm.* (1994) 801.
44. G. H. Woehrie, L. E. Brown, J. E. Hutchinson; *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 2172.
45. L. Wang, J. Luo, M. M. Maye, Q. Fan, Q. Redeng, M. H. Engelhard, C. Wang, Y. Lin, C. J. Zhong; *J. Mat. Chem* 15 (2005) 1821
46. J. Lyon, D. Fleming, M. Stone, P. Schiffer, M. Williams *Nano Letters* Vol. 4 No. 4 (2004) 719-723.
47. J. Fang, J. He, E. Shin, D. Grimm, C. O'Connor, M. Jun; *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.* Vol. 774 (2003).
48. Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim, S. E. Skrabalak; *Angew Chem Int Ed Engl.* (2009) 48(1): 60–103.
49. H. L. Wu, C. H. Chen, M. Huang; *Chem. Mat.* 21 (2009) 110-114.
50. H. You, Y. Ji, L. Wang, S. Yang, Z. Yang, J. Fang, X. Song, B. Ding; *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 1998.
51. N. Garg, C. Scholl, A. Mohanty, R. Jin; *Langmuir* 26 (2010) 12, 10271-10276.
52. Y. Liu, L.Liu, R.Guo; *Langmuir* 26 (2010) 16, 13479-13485.
53. T. Huang, F. Meng, L. Qi; *Langmuir* 26 (2010) 7582-7589.
54. R. Massart, C.R. Acad. Sci. Paris, Ser. C 291 (1980) 1.
55. A. Patterson; *The Scherrer Formula for X-Ray Particle Size Determination Phys. Rev.* (1939) 56 (10): 978–982.

56. K.Rumpf, P.Granitzer, P.Morales, P.Poelt, M.Reissner; *Nanoscale Research Letters* (2012) 7:445.

4

Estudio de la estructura interna por FIB/SEM

En este capítulo se presentan los resultados obtenidos en las distintas técnicas de microscopía electrónica con el objetivo de estudiar la estructura interna de las partículas nanoestructuradas de magnetita-oro.

En la primera sección, se detalla el procedimiento utilizado para la obtención de una muestra adecuada para ser observada por microscopía electrónica de transmisión (TEM). Se utilizó un microscopio de iones focalizados o tecnología de haz dual FIB/SEM^{*}, que permitió realizar láminas delgadas de partículas con espesores menores a 100 nm a través del desbastado con un haz de iones de galio enfocado.

En la segunda sección, se presentan los resultados obtenidos por microscopías electrónicas de barrido (SEM) y de transmisión por barrido (STEM) que dieron información sobre la estructura superficial e interna de dos tipos distintos de partículas nanoestructuradas de magnetita-oro sintetizadas en el capítulo 3.

Se muestran los resultados obtenidos por microscopía TEM y de alta resolución (HR-TEM), que brindó información más detallada de la estructura y el tipo de unión entre las nanopartículas de Fe_3O_4 y Au.

En la última sección, se muestran los resultados obtenidos al realizar cortes secuenciales sobre una partícula cada 5 nm de espesor con iones de galio. Con las imágenes obtenidas, se realizó una reconstrucción tridimensional de forma digital. Los resultados obtenidos permitieron estudiar la disposición espacial de los componentes dentro de la estructura así como observar el proceso de formación de las partículas a través del análisis de su estructura.

* FIB: haz de iones focalizados (Focused Ion Beam)

SEM: microscopio electrónico de barrido (Scanning Electron Microscope)

1. Microscopio de haz dual (FIB/SEM)

Cuando se trabaja con partículas en la mesoescala se encuentran limitaciones en el alcance de las microscopías electrónicas de transmisión en cuanto a resolución de la imagen. Como se expuso anteriormente, este tipo de partículas con materiales de alto Z y tamaño mayor a 100 nm, dispersan el haz de electrones incidente y no es posible observar la estructura interna.

Con el surgimiento de nuevas microscopías que permiten interactuar con la materia, surge un nuevo escenario en las técnicas de caracterización de nanomateriales. El microscopio de doble haz es un instrumento que posibilita la remoción de material mediante un haz de iones focalizado de galio sobre una superficie (figura 1).

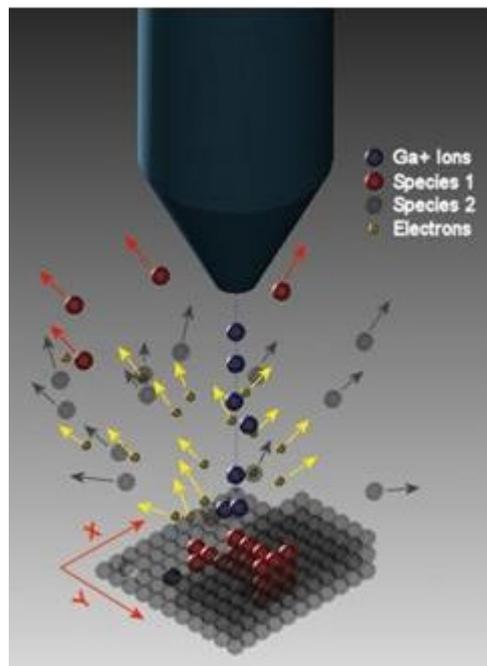


Fig. 1. Esquema de un microscopio de iones focalizados¹.

Se utiliza un haz de iones de galio (Ga^+) porque es 130.000 veces más pesado que los electrones, la interacción con la muestra es más fuerte y de menor penetración. Los iones producen la rotura de los enlaces químicos ionizando los átomos de la muestra. El haz de iones se puede focalizar y su posición puede ser controlada con gran exactitud por lo que es posible modificar un sustrato a escala nanométrica².

Cuando el haz de alta energía incide sobre la muestra se produce una erosión de la superficie del material debido a la emisión de átomos superficiales. Además se emiten

iones y electrones secundarios, por lo que es posible también obtener imágenes utilizando los detectores apropiados (fig. 2).

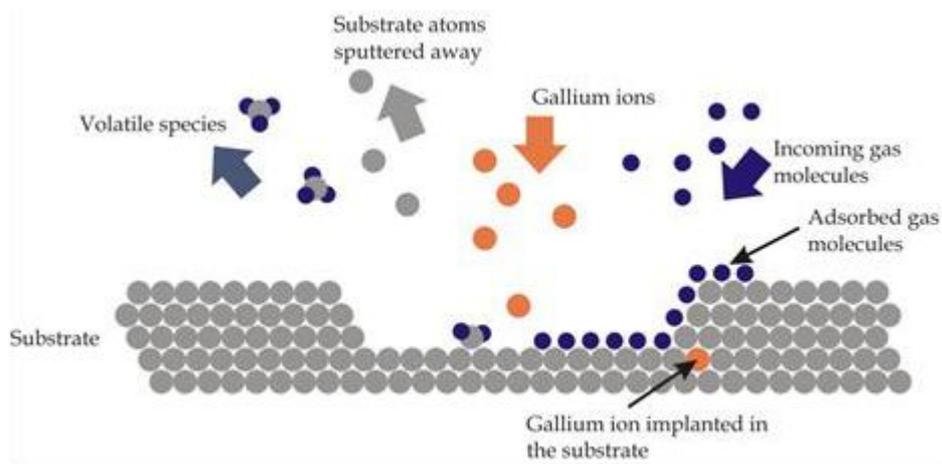


Fig. 2. Interacciones producidas por los iones de galio sobre la muestra².

El equipo utilizado para la caracterización de las partículas nanoestructuradas posee un detector de electrones secundarios y un detector de electrones transmitidos lo que permite realizar análisis estructurales de la superficie y de la estructura interna de un material.

El equipo posee *micromanipuladores* que permiten extraer la lámina delgada del sustrato y colocarla en una grilla TEM sin necesidad de abrir la cámara de vacío lo que permite realizar todo el proceso de preparación *in situ*. Se utilizó esta técnica para obtener láminas delgadas de las partículas nanoestructuradas obtenidas en la tesis cuyo procedimiento se explica a continuación.

1.1 Preparación de láminas

La microscopía electrónica convencional de transmisión no permite observar el interior de mesopartículas con materiales de alto número atómico ya que los electrones incidentes son completamente dispersados. Utilizando el haz de iones es posible obtener una lámina que sea lo suficientemente delgada para ser transparente al haz de electrones (típicamente entre 50 y 100 nm).

Para la preparación, se depositó un pequeño volumen de muestra sobre una oblea de silicio pulida y se dejó secar a temperatura ambiente.

El proceso de obtención se realizó en varias etapas:

- 1) Se eligió un área de interés sobre la muestra y se depositó una capa protectora de platino mediante deposición asistida por haz de iones (FIBID por sus siglas en inglés). Esta capa es necesaria para preservar la integridad de la superficie de interés durante la preparación (fig. 3).

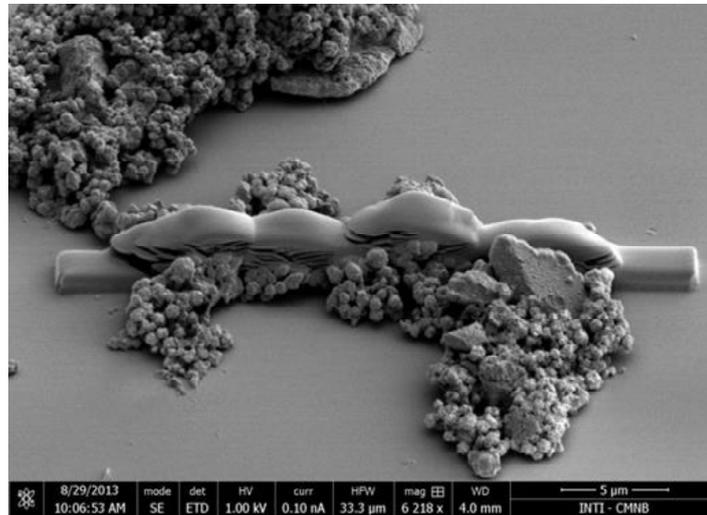


Fig. 3. Capa de platino depositada sobre la muestra.

- 2) Se realizaron trincheras en ambos lados de la región cubierta de platino, con una profundidad aproximada de 8 μm (fig. 4a). Posteriormente se hizo un primer adelgazamiento hasta un espesor de lámina de 1 μm (fig. 4b).

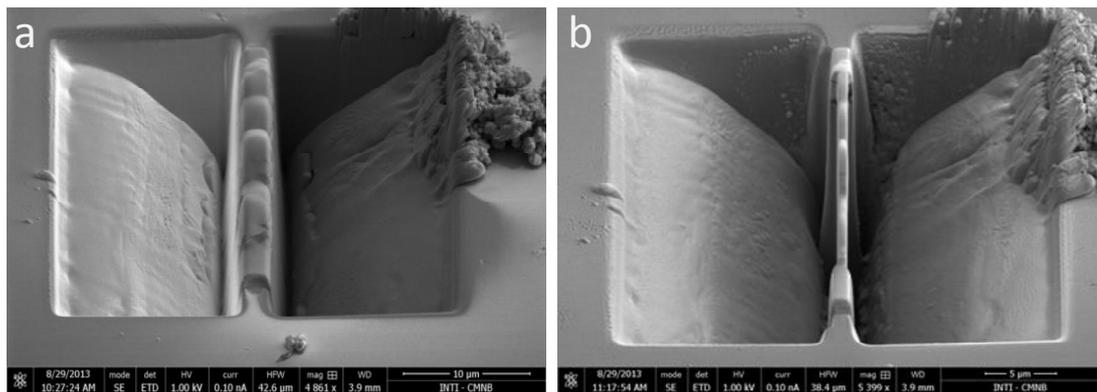


Fig. 4. a) Trincheras y b) adelgazamiento de la lámina obtenida.

- 3) En la etapa de extracción, primero se realizó un corte en forma de 'U' para liberar la lámina, que aún permanece unida al sustrato a través de dos puntos de sujeción (fig. 6a). Luego se acercó la punta del micromanipulador y mediante deposición de platino la lámina quedó soldada a la punta (Fig. 6b). Finalmente

se realizaron dos cortes para liberar completamente la lámina, que quedó sujeta al micromanipulador.

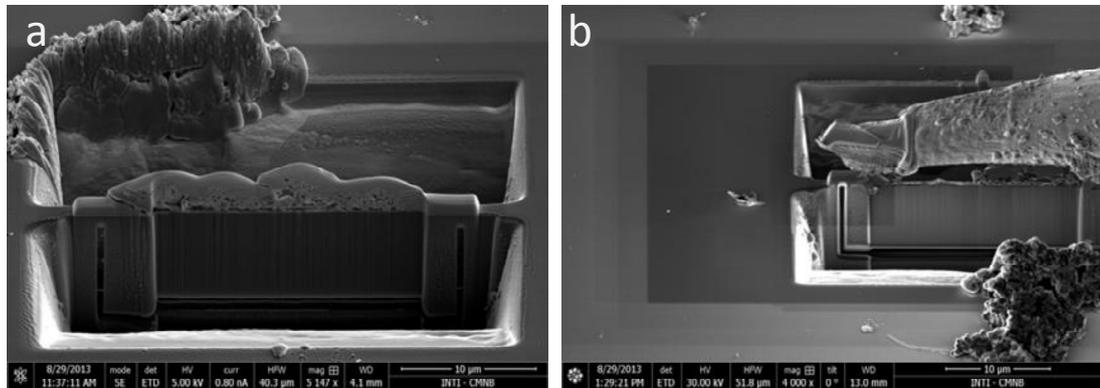


Fig. 6. a) Corte en “U” de la muestra unida al sustrato y b) remoción de la lámina con micromanipuladores.

- 4) La lámina se trasladó hacia una grilla TEM ubicada en la misma cámara de vacío (fig. 7a), y se la fijó mediante un nuevo depósito de platino. Finalmente se liberó la punta del micromanipulador realizando un corte con el haz de iones (fig. 7b).

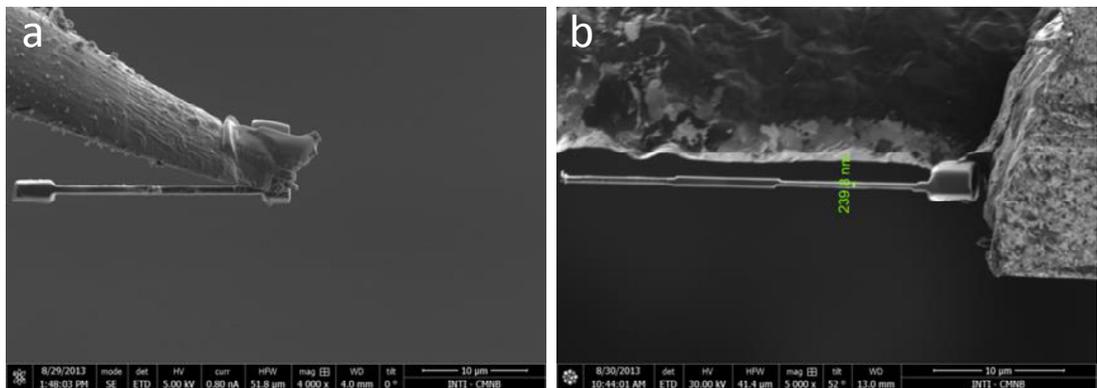


Fig. 7. a) Traslado y b) posterior unión de una lámina a una grilla TEM de cobre.

Se realizó un adelgazamiento de la lámina a espesores menores a 100 nm y para luego ser visualizada por electrones transmitidos.

- 5) Una vez en la grilla, se realizaron sucesivos pasos de adelgazamiento de la muestra hasta un espesor final de alrededor de 100 nm. Finalmente se realizó un pulido para eliminar la capa amorfa generada durante la preparación.

La muestra obtenida fue observada con distintos detectores de electrones secundarios de barrido y de transmisión como campo claro, campo oscuro y campo oscuro en alto ángulo a 30 KeV. Las imágenes obtenidas muestran una distribución de intensidades de electrones provenientes de la muestra, en las cuales cada detector aporta información diferente y complementaria de su estructura. En la figura 8, se muestra un esquema representativo del proceso de incidencia de un haz de electrones focalizados sobre una muestra, los distintos haces producidos y la ubicación de los detectores.

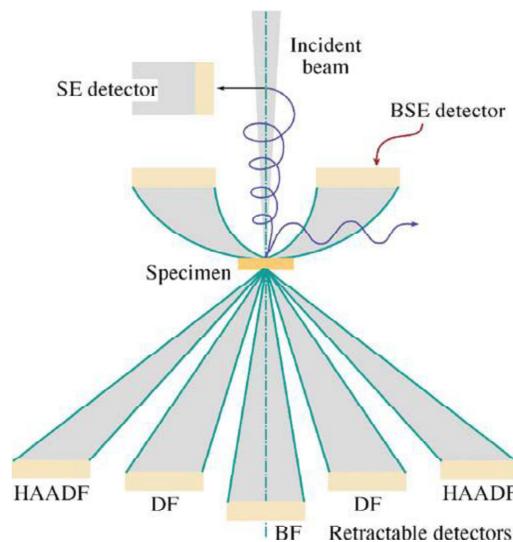


Fig. 8. Representación de un haz de electrones incidente sobre una muestra y detectores de un microscopio STEM⁴. [BF: campo claro, DF: campo oscuro, HAADF: campo oscuro de alto ángulo, SE detector: detector de electrones secundarios, BSE detector: detector de electrones retrodifundidos].

En el modo *campo claro*, el haz de electrones que atraviesa la muestra es captado por el detector. El contraste obtenido en las imágenes depende del espesor y densidad de la muestra, y brinda información sobre la mayor o menor dificultad que encuentra el haz de electrones en atravesar la muestra.

En el modo *campo oscuro*, los electrones analizados son los dispersados al atravesar la muestra y la imagen obtenida brinda información sobre la estructura cristalina. El haz de electrones es dispersado de manera más intensa en las zonas donde hay dislocaciones o precipitados cristalinos ya que dependen de las condiciones de orientación y difracción del haz en la muestra. Estas zonas generan un contraste alto en las imágenes de campo oscuro, que no son visibles en el modo campo claro.

Una variante del modo campo oscuro, es el modo de electrones dispersados en alto ángulo llamado HAADF (high angle annular dark field) o *contraste Z*. En el modo HAADF, el detector recibe información de electrones dispersados de forma elástica e inelástica por la muestra. Los electrones dispersados de forma elástica son los

producidos por la interacción electrón-núcleo sin pérdida de energía pero con un cambio en el momento y en la dirección de dispersión.

El número de electrones dispersados elásticamente depende del material sobre el que incide el haz de electrones y está relacionado con el cuadrado de su número atómico (Z^2)⁵. El contraste de la imagen que se obtiene contiene información sobre la composición química de la muestra. Se observan distintos contrastes y brillo que depende del número Z del elemento, esto permite identificar distintos componentes de un material en una imagen.

Por otra parte, el detector recibe información de los electrones difractados bajo condición de Bragg. El número de electrones de Bragg difractados depende de la orientación de la muestra con respecto al haz de electrones incidentes. Para estudiar tamaño de grano, defectos cristalinos, dislocaciones etc. presentes en la muestra, es necesario minimizar la información que recibe el detector por el contraste por difracción. Para esto la muestra debe ser alejada de la zona de electrones dispersados en bajo ángulo.

Por último, los electrones secundarios (SE) dispersados inelásticamente por la muestra, dan información de la superficie y composición como los electrones retrodifundidos (BSE). Los electrones son de baja energía y son analizados por un fotodetector de electrones secundarios. La imagen obtenida posee una gran definición en profundidad de la topografía de la muestra.

Las láminas de partículas nanoestructuradas obtenidas por el proceso de desbastado descrito fueron analizadas con los distintos detectores del microscopio utilizado. La información obtenida en cada uno se describe a continuación y brindó información estructural sobre cada tipo de partícula analizada.

2. Resultados y discusión

En esta sección se presentan los resultados obtenidos a través del proceso de tratamiento por FIB de partículas nanoestructuradas de oro y magnetita obtenidas.

El análisis de la estructura interna de mesopartículas no cuenta con antecedentes bibliográficos para el caso de las partículas nanoestructuradas metálicas como las obtenidas en esta tesis. La técnica de haz dual para estudiar mesopartículas sólo cuenta con algunas referencias en trabajos realizados sobre partículas de materiales como óxidos⁶, semiconductores⁷ y geomateriales⁸.

Con la técnica de iones focalizados FIB/SEM se obtuvieron láminas de dos tipos distintos de partículas nanoestructuradas oro-magnetita obtenidas por el *Método I* (fig.9a) y el *Método II* (fig. 9b):

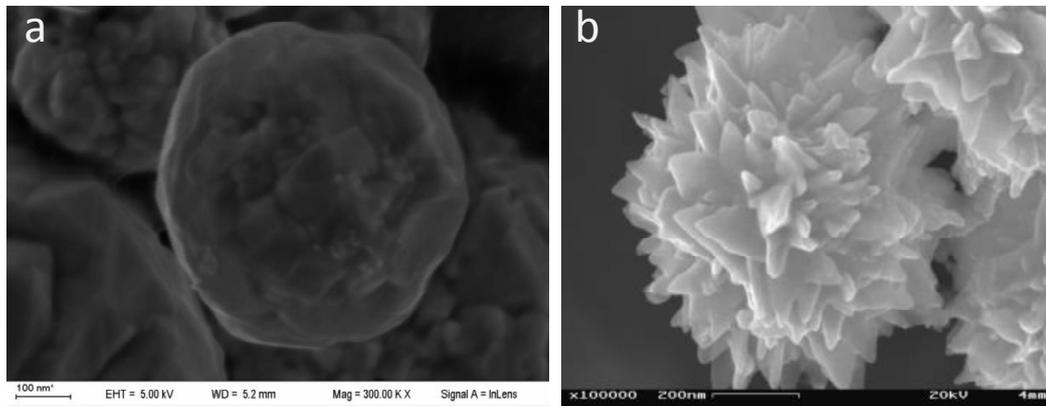


Fig. 9. Partículas nanoestructuradas de Au-Fe₃O₄ obtenidas por (a) *Método I* y (b) *Método II*.

Las láminas obtenidas fueron observadas por microscopía electrónica de barrido (SEM), que brindó información sobre la superficie de la lámina a través de electrones secundarios. En las imágenes de la figura 10 se muestra los cortes realizados sobre los dos tipos de partículas tratadas con FIB/SEM.

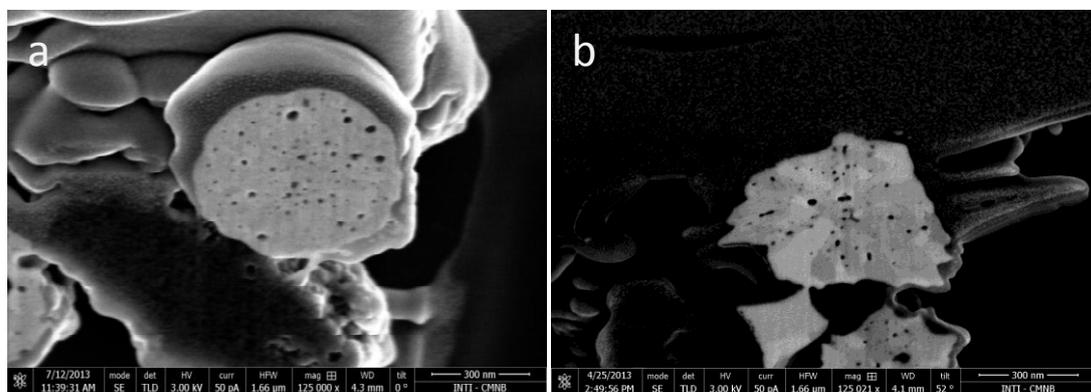


Fig. 10. Imágenes SEM de partículas obtenidas por a) *Método I* y b) *Método II*.

Se observan múltiples orificios de 15 nm en el interior de las partículas, que coinciden con el tamaño de las semillas utilizadas de nanopartículas de Fe₃O₄ en la síntesis.

Una posibilidad es que debido a una interacción del haz de iones galio con las nanopartículas de magnetita haya afectado la integridad de la nanopartícula⁹, dejando una estructura interna porosa asociada a la presencia de nanopartículas de magnetita.

Por otra parte es conocido que el modo de crecimiento *no clásico* puede producir estructuras porosas¹⁰. Sin embargo, como se verá más adelante, el interior de los orificios muestra la presencia de óxido de hierro.

En las imágenes SEM también se observan múltiples zonas claras y oscuras. Estas se corresponden con distintos crecimientos cristalinos y muestran el carácter policristalino de las mesopartículas. En un análisis más detallado se reveló la forma de crecimiento de los cristales en ambos tipos de mesopartículas por aglomeración de cristales. En los estudios de STEM se discutirá este aspecto del crecimiento con más detalle.

En la figura 11, se observan las imágenes obtenidas en campo oscuro y campo claro de alto ángulo de una partícula nanoestructurada obtenida por el *Método 1* analizada por STEM.

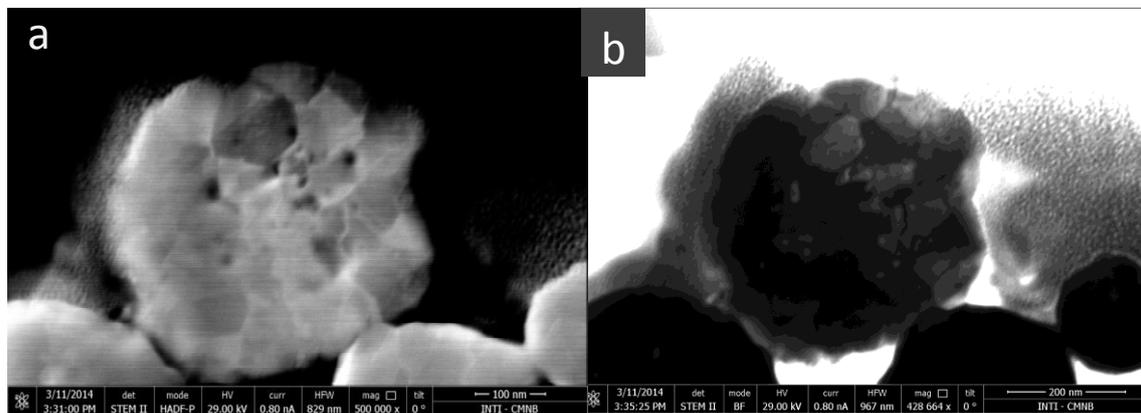


Fig. 11. Imágenes STEM de partículas *Método 1* en a) campo oscuro de alto ángulo y b) campo claro.

La partícula tiene aproximadamente 500 nm de diámetro y se observa que está compuesta por múltiples cristales agrupados de forma desordenada, tal como fue observado en la imagen de electrones secundarios de la fig. 10a.

En las imágenes STEM se observan los múltiples dominios cristalinos con un alto contraste en los bordes de grano. Este contraste, que se observa tanto en las imágenes de campo claro como en campo oscuro de alto ángulo, corresponden a las diversas orientaciones espaciales de cada cristal que integra la partícula. El haz de electrones incidente es difractado según las distintas orientaciones de cada dominio cristalino de forma distinta produciendo diferentes tonalidades en el contraste de las imágenes.

En la imagen 11a, de campo oscuro de alto ángulo (HAADF), se puede observar una mayor definición de la estructura en la parte superior de la lámina. Esto es debido a que el espesor de la misma no es uniforme y es mayor en la sección inferior de la partícula, donde no se observan con claridad los dominios cristalinos debido a una menor penetración del haz de electrones.

En la imagen 11a, también se observan puntos oscuros en la superficie de la partícula que no son visibles por el modo campo claro (11b). El contraste de colores sugiere que es un material de menor Z o que en esa zona el espesor de la partícula es menor y corresponde a un hueco en la estructura o bien las partículas fueron dañadas por el haz de iones. Este mismo efecto se observa en la imagen SEM de la figura 10a.

En la figura 12, se muestra con mayor detalle los dominios cristalinos observados por STEM en las partículas obtenidas por el *Método I*. Los cristales poseen una dimensión característica promedio de aproximadamente 50 nm de longitud y se encuentran unidos entre sí sin un orden aparente, lo que sugiere que la formación de este tipo de partícula puede darse por un mecanismo de aglomeración de partículas primarias sin orientación definida.

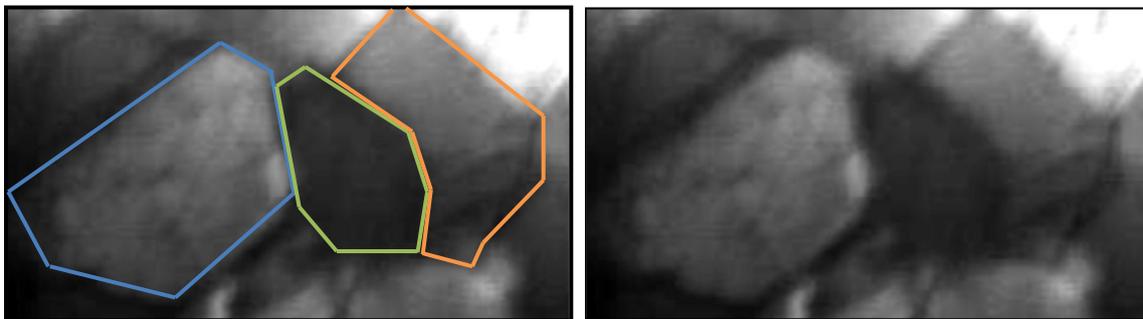


Fig. 12. Detalle de dominios cristalinos en partículas obtenidas por el *Método I*.

El tamaño de cristal obtenido por difracción de rayos X a través de la ecuación de Scherrer¹¹ es de 41 nm para este tipo de partículas obtenidas por el *Método I*. Este valor es similar al observado de forma directa por STEM de 50 nm. Por otra parte, las imágenes SEM, STEM y TEM muestran en todos los casos que las partículas son policristalinas. Las partículas presentan en su estructura múltiples cristales con distintas formas y tamaños por lo que el tamaño calculado podría ser un tamaño promedio de todos los cristales que componen la partícula

Por otra parte, en las imágenes 13 a y b se muestran los resultados obtenidos para una partícula sintetizada por el *Método II* denominadas *tipo flores*:

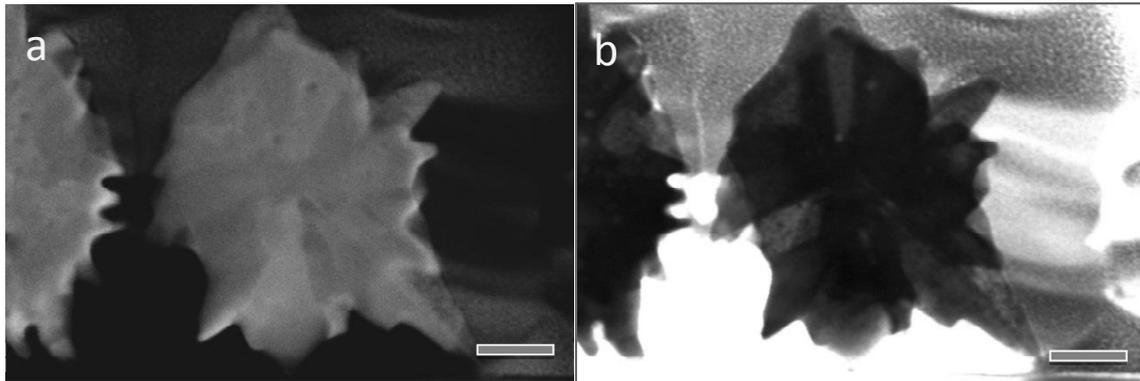


Fig. 13. Imágenes STEM de partículas *tipo flores* en a) campo oscuro de alto ángulo y b) campo claro. Escala= 100 nm.

En la figura 13 se observa un corte transversal de una partícula de aproximadamente 600 nm de diámetro. En la imagen de campo claro de la figura 13b, el contraste cristalino es alto y se observa la estructura policristalina de la partícula.

Las imágenes de la figura 13 sugieren un crecimiento de cristales con una estructura interna compacta y con un mayor grado de orden, diferente al observado en la partícula por el *Método I*.

En la imagen 13a, obtenida por HAADF, se observan distintos contrastes en los bordes de grano de los cristales que componen la partícula y algunas zonas esféricas más oscuras que podrían corresponder a nanopartículas de magnetita. En la imagen 13b, se observan estas zonas como partículas de 15 nm de diámetro promedio que se encuentran dispersas dentro de la estructura de la partícula. Se puede apreciar que el espesor de la lámina es homogéneo, ya que el contraste general de la imagen es uniforme.

En la figura 14, se muestra un mayor detalle de los distintos dominios cristalinos que componen la partícula. Los cristales que se observan poseen geometrías con puntas triangulares de 200 nm de longitud. Los cristales son más pequeños en los vértices cercanos al centro de la partícula, se observa que el tamaño aumenta a medida que se aleja del centro de la partícula y terminan en punta en la superficie. Los cristales poseen orientaciones espaciales distintas y se encuentran unidos por un plano cristalino en común.

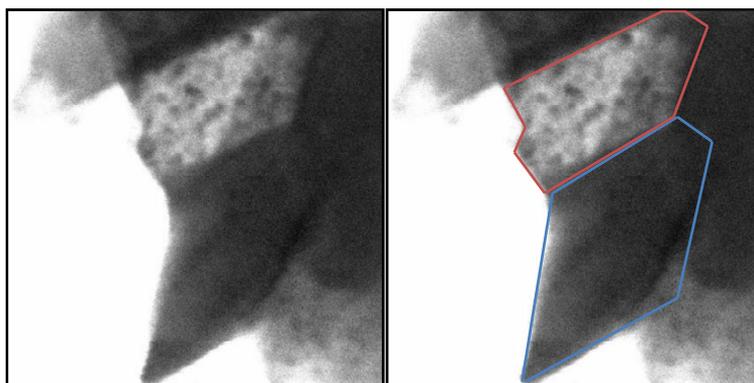


Fig. 14. Detalle de los dominios cristalinos en partículas *tipo flores*.

El tamaño de cristal calculado por la ecuación de Scherrer por DRX es de 47 nm, y el observado en las imágenes STEM es de 200 nm aproximadamente. La diferencia de valores es muy grande, y es posible que la ecuación de Scherrer que se aplica en sistemas esféricos, para el caso de las partículas tipo flores no sea válida, ya que los cristales observados poseen geometrías piramidales.

La diferencia de tamaños y morfologías entre ambos tipos de partículas puede atribuirse a las diferencias en la síntesis, en particular a la utilización de bromuro de tetraoctilamonio (TOAB). Como se mencionó en el capítulo anterior, el ion bromuro interviene en el mecanismo de formación y crecimiento produciendo morfologías piramidales como las observadas en literatura¹³⁻¹⁴. El efecto del TOAB en la reacción se discutirá con más detalle en la sección 3.

Como conclusión parcial, se puede decir que el estudio interno por FIB/SEM de este tipo de mesopartículas de oro-magnetita realizado por STEM reveló una estructura policristalina para ambos tipos de partícula y permitió la observación de una estructura porosa dentro de la estructura que podría corresponder al óxido de hierro utilizado. Para un análisis más detallado de la estructura y disposición espacial de las nanopartículas en las láminas, se realizó un estudio por microscopía electrónica de transmisión cuyo resultado se presenta a continuación.

2.1. Análisis por TEM

Se llevó a cabo un análisis por microscopía TEM para conocer en profundidad la estructura de las partículas. Se utilizó un microscopio TEM CM-200 que posee mayor resolución que el microscopio de haz dual Helios Nano utilizado, debido a la energía del haz de electrones (300kV en el TEM frente a 30kV en el SEM) y al poder de resolución que está dado por el área de incidencia del spot del haz. Esto brinda mayor

información estructural de la muestra junto con la posibilidad de adquirir el patrón de difracción de electrones que revela información sobre la cristalinidad de las partículas.

En la figura 15, se muestra la imagen TEM y el patrón de difracción de electrones obtenido de una lámina de partículas nanoestructuradas de Fe_3O_4 -Au sintetizada por el *Método I*:

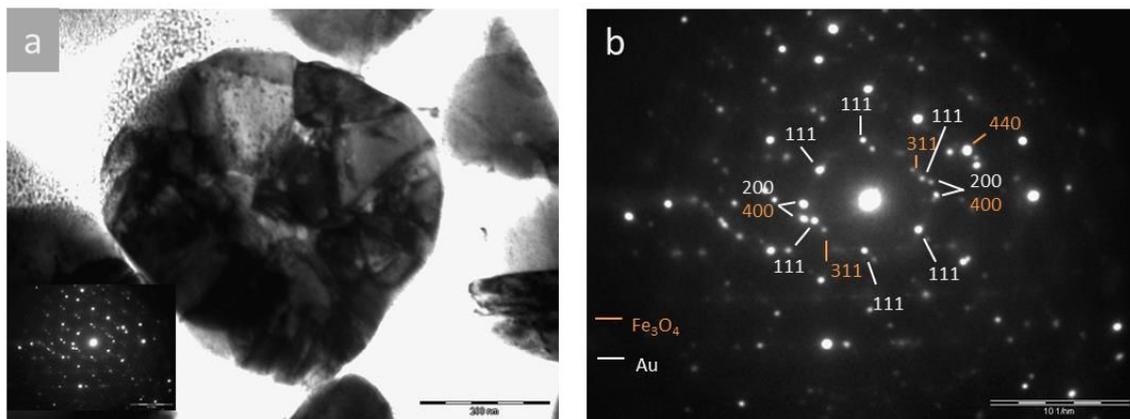


Fig. 15. a) Imagen TEM de partículas nanoestructuradas de Fe_3O_4 -Au por el *Método I* y b) patrón de difracción de electrones adquirido.

En la imagen 16, se muestran los resultados TEM obtenidos sobre una lámina de partículas tipo flores sintetizada por el *Método II* con TOAB en la síntesis y su patrón de difracción de electrones.

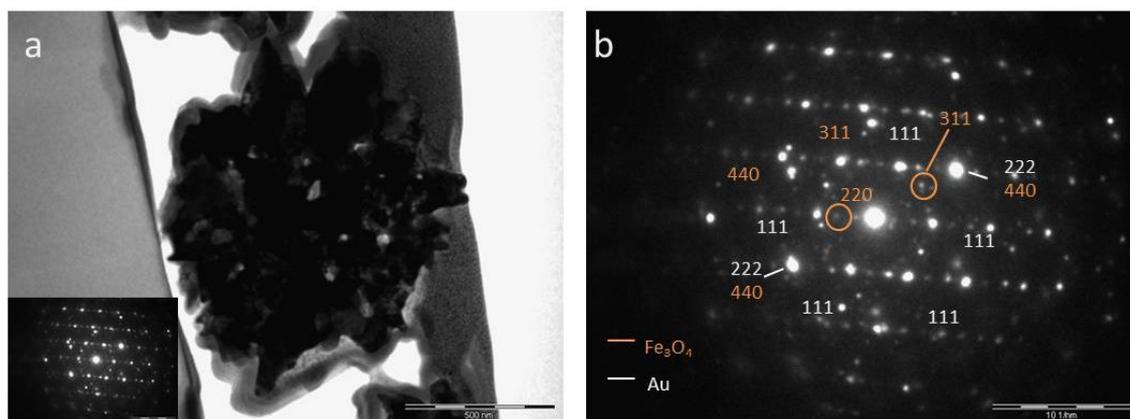


Fig. 16. a) Imagen TEM de una lámina de partículas preparadas por el *Método II* y b) patrón de difracción de electrones.

Las imágenes TEM de las figuras 15 y 16, muestran partículas con múltiples dominios cristalinos, como lo observado en las imágenes tomadas por STEM. La lámina de la partícula de la figura 15 posee un menor espesor que la lámina de la figura 16, por eso se ve de forma más clara la estructura interna policristalina de la partícula.

En la lámina de las partículas obtenidas por el *Método II*, se observan puntas triangulares en la superficie de la partícula y en el interior se observan zonas claras de mayor contraste que pueden originarse por la presencia de nanopartículas de magnetita en la estructura.

Los patrones de difracción de electrones fueron obtenidos sobre las imágenes mostradas. En ambos patrones de difracción se observa una tendencia a formar anillos en torno al punto central {000}, llamados anillos de Debye-Scherrer¹⁵. Esto se produce por la presencia de múltiples cristales con orientaciones diferentes, que al incidir un haz es difractado por los cristales con orientación en condiciones de Bragg, genera un patrón anular en el difractograma. Esto confirma el carácter policristalino de las láminas de partículas como lo observado en microscopía.

Por otra parte, los ángulos observados entre planos reflectivos y el arreglo de puntos en el patrón de difracción corresponden a una orientación del haz incidente en la dirección $\langle 011 \rangle$ para una estructura cristalina cúbica centrada en las caras (fcc).

En el patrón obtenido sobre la imagen 15a, se observa la presencia de planos reflectivos {111} y {200} correspondientes a la estructura fcc del oro. En la misma imagen se observan los planos reflectivos de magnetita {311} y {440}, confirmando la presencia de magnetita en la estructura de la partícula.

Por otro lado, el patrón de difracción obtenido para la partícula de la figura 16a, muestra los planos reflectivos de oro {111}, {222} y para la magnetita {311} y {440}. La diferencia entre ambos difractogramas puede deberse a las distintas orientaciones de los componentes en la muestra al momento de realizar el análisis.

Con el fin de cuantificar la presencia de hierro en el interior de las partículas, se realizó un estudio de la composición elemental por microsonda de rayos X dispersivo en energía sobre las láminas de ambos tipos de partículas. En la imagen de la figura 16a el resultado obtenido mostró un valor de 6 % de Fe en su estructura, confirmando la presencia de magnetita en el núcleo de la partícula tipo flores.

En cambio, en la imagen de la figura 10a, el análisis por EDS no detectó la presencia de hierro en la lámina. La técnica de EDS tiene un límite de detección entre 0,2-2% y depende fuertemente del espesor, ya que el poder de resolución depende de la potencia del haz de electrones y su área de interacción. El hecho de que no haya detectado hierro presente puede deberse al poco espesor de la muestra, como se observa en las imágenes que el espesor de la lámina de la partícula de la fig. 15a es menor a la lámina de la figura 16, correspondiente a las partículas *tipo flores*.

Para estudiar el tipo de interfaz entre el oro y las partículas de magnetita, se realizó un estudio por HR-TEM[†].

[†] La caracterización por HR-TEM fue llevada a cabo en el Laboratorio de Microscopía Electrónica del Laboratorio Nacional de Luz Síncrotron, Campinas, Brasil por el Dr. Leandro Socolovsky.

2.2. Análisis de la interfaz Au- Fe₃O₄ por HR-TEM

El proceso de formación de las partículas nanoestructuradas involucra una etapa de nucleación heterogénea de los átomos de oro en las nanopartículas de magnetita presentes en el medio de reacción. El tipo de interfaz entre ambos materiales determina el mecanismo de formación por lo que es importante analizar cómo se encuentra unido el oro al óxido de hierro.

Los mecanismos de crecimientos se encuentran agrupados en tres clases: capa por capa (Frank van der Merwe FM), crecimiento en islas (Volmer-Weber VW) y por combinación de ambos (Stranski-Krastanov SK)¹⁷ y se esquematizan en la figura 17:

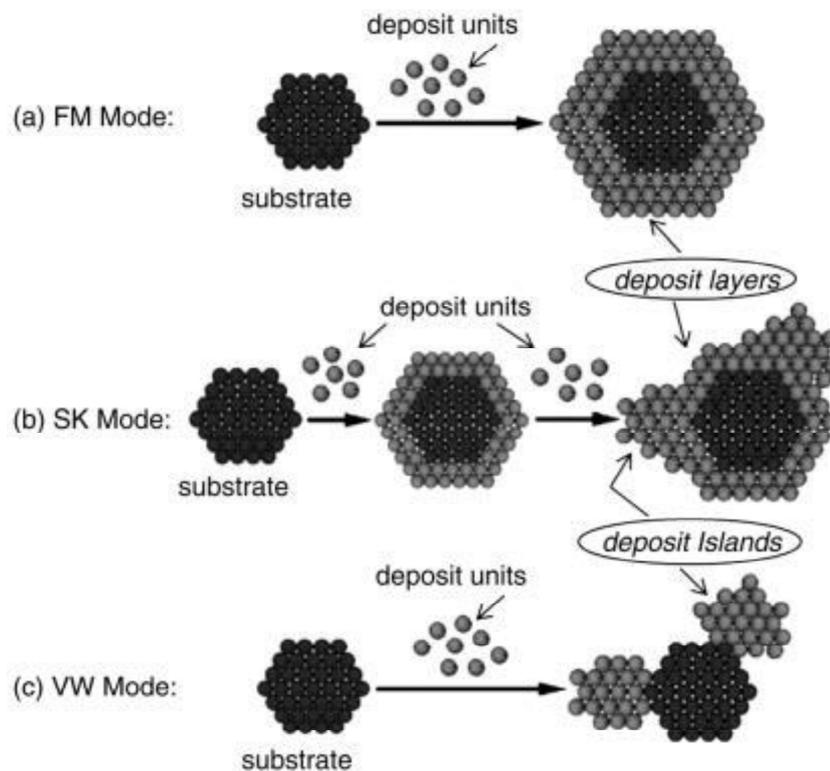


Fig. 17. Mecanismo de crecimiento¹⁷.

Estos mecanismos surgen de los balances de energía realizados teniendo en cuenta la energía superficial y de interfase de cada material. El exceso de energía libre se puede representar como:

$$\Delta\gamma = \gamma_d + \gamma_{strain} + \gamma_i - \gamma_s$$

Donde γ_d e γ_s son las energías superficiales del material que se está depositando d y del sustrato s ; γ_i es la energía de interfase entre ambos materiales y γ_{strain} corresponde a la tensión generada por la diferencia de las constantes de redes cristalinas.

Cuando la diferencia entre redes cristalinas es muy baja (0,25%) y hay una gran energía de interfase, el $\Delta\gamma$ de energía libre es negativo y se produce un crecimiento capa por capa (FM). Si la diferencia entre redes cristalinas es muy grande (>3%) y la energía

superficial del sustrato no puede compensar la energía superficial y de interfase del depósito, el balance de energía libre se vuelve positivo y bajo estas condiciones se produce una nucleación en forma de islas (VW) de manera de minimizar la energía en exceso.

En nuestro caso se estudió el tipo de crecimiento de oro sobre nanopartículas de Fe_3O_4 a través de imágenes adquiridas por microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM). El estudio se realizó con partículas *tipo flores* obtenidas por el *Método II* de síntesis.

En la figura 18a se observan nanopartículas de 15 nm de diámetro en la intersección de dos cristales de oro (resaltado con círculos) con un espaciado de la red cristalina de 4,9 Å correspondiente al plano {111} del óxido de hierro Fe_3O_4 .

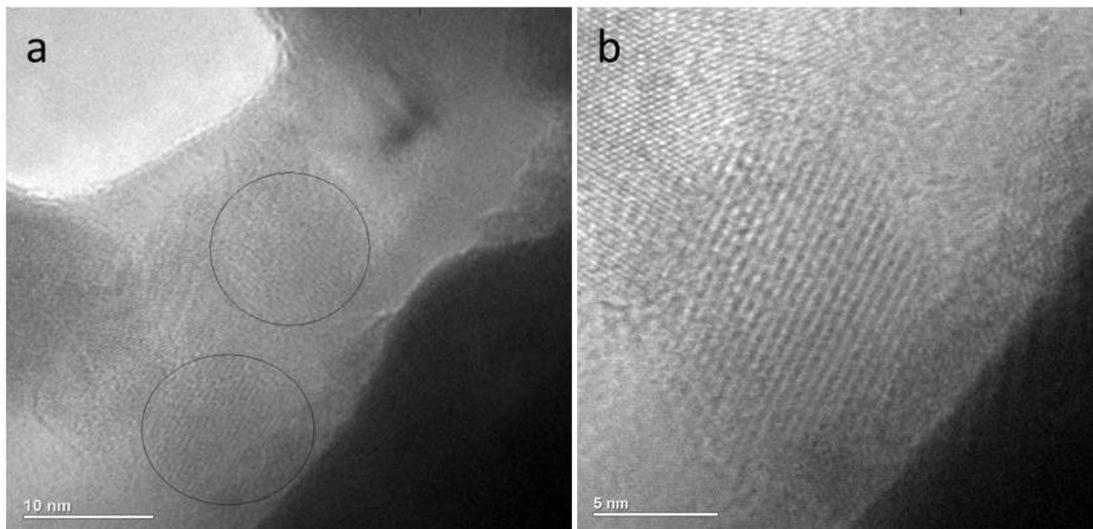


Fig. 18. (a) Imagen del interior de una partícula nanoestructurada *tipo flor* y (b) detalle de una nanopartícula de Fe_3O_4 unida a cristales de oro en la estructura interna.

En la imagen 18b se observa una distancia interplanar de 2,4 Å del plano {111} de cristales de oro puro. Esto sugiere que las nanopartículas de Fe_3O_4 se encuentran dentro de la estructura interna de las partículas nanoestructuradas unidas al oro a través de los planos {111}.

Observamos que la diferencia entre los parámetros del interespaciado de la red cristalina del oro (2,4 Å) y magnetita (4,85 Å) para los planos {111} tiene un valor nominal cercano al doble y una diferencia entre ellos menor al 3%.

Esto sugiere un mecanismo de crecimiento tipo Volmer-Weber de adición de átomos de oro en forma de islas sobre la superficie del óxido de hierro. En este caso, la energía de unión entre átomos del mismo material es más fuerte que la unión sobre un material externo, por lo que se genera un crecimiento preferencial sobre los primeros átomos de oro depositados formando una estructura 3d.

3. Reconstrucción tridimensional de una partícula nanoestructurada

Con el fin de estudiar la distribución en la partícula de los distintos dominios cristalinos observados y de las partículas de Fe_3O_4 usadas como semillas, se realizaron cortes sucesivos cada 5 nm de espesor con iones de galio. Cada imagen SEM fue capturada y procesada digitalmente para formar una reconstrucción tridimensional de la partícula analizada.

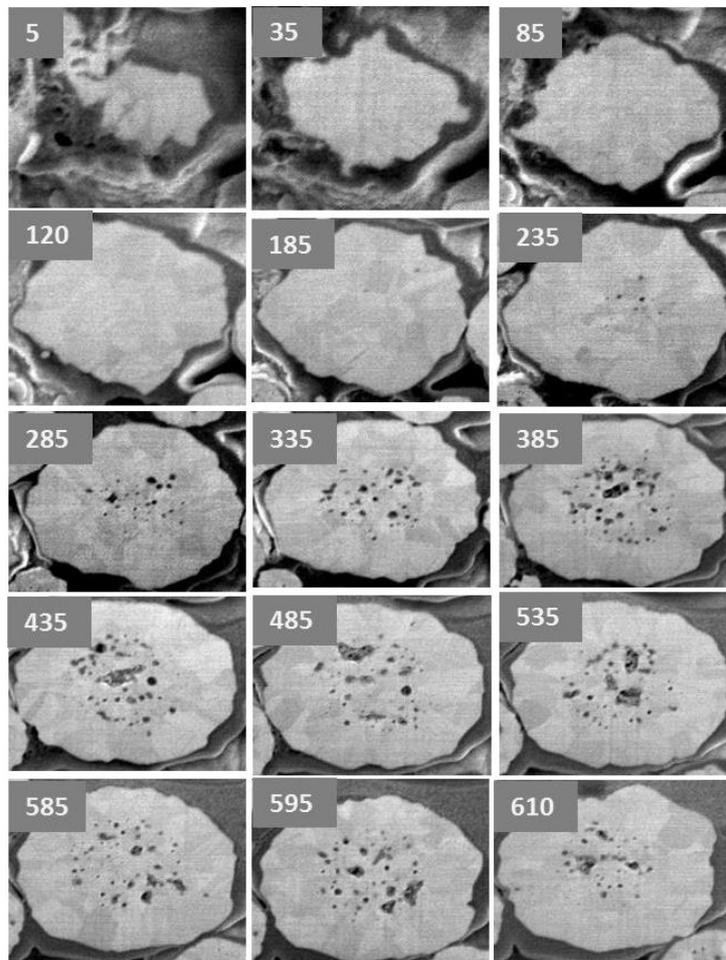


Fig. 19. Imágenes SEM de una partícula 1 μm de diámetro cortada con haz de galio.

En las imágenes de la figura 19, se muestran los distintos cortes realizados y su profundidad sobre una partícula de 1 μm de diámetro obtenida por el *Método I* de síntesis. Se eligió este tamaño de partícula para poder visualizar y delimitar con mayor facilidad los distintos dominios cristalinos que la componen sobre las imágenes SEM obtenidas.

Sobre la imagen principal (fig. 20a) se delimitaron los dominios cristalinos que componen la partícula (fig. 20b) con distintos colores para identificarlos y seguir su evolución a lo largo de la partícula. En el mismo proceso se delimitó la estructura interna porosa asociada a la presencia de magnetita que se observa en el centro de la partícula:

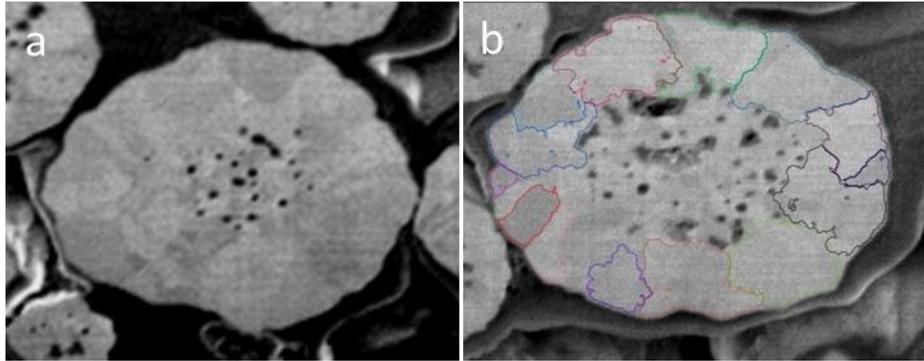


Fig. 20: a) Imagen SEM de una partícula cortada y b) marcado de los dominios cristalinos en color.

En la imagen 21 se muestra la reconstrucción digital volumétrica de la partícula y la disposición espacial interna:

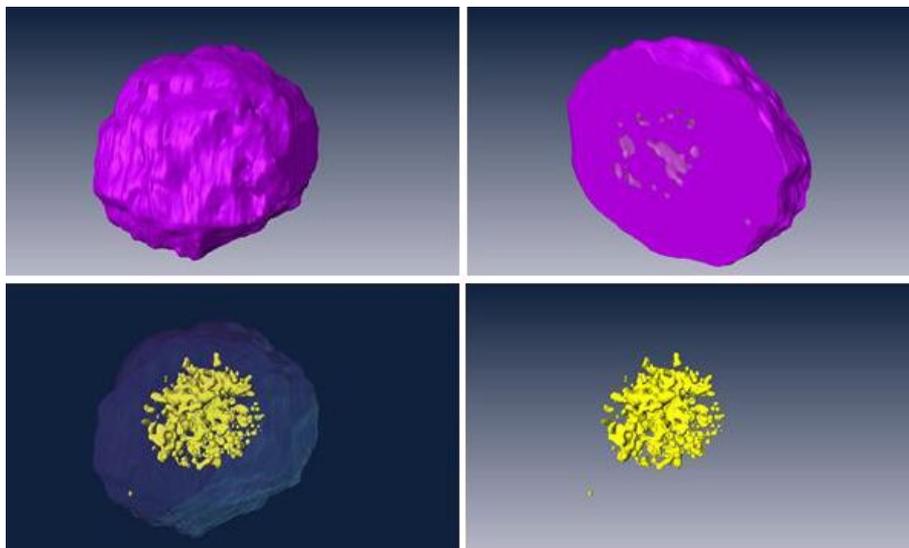


Fig. 21. Reconstrucción 3D del volumen de una partícula nanoestructurada y la disposición espacial de las nanopartículas en su interior.

La imagen 3D obtenida del núcleo y cáscara de la partícula muestra una estructura sólida exterior y una superficie irregular, mientras que en el interior se observa múltiples poros como núcleo.

Luego se realizó la reconstrucción 3D de cada dominio cristalino observado en la imagen SEM (fig. 22):

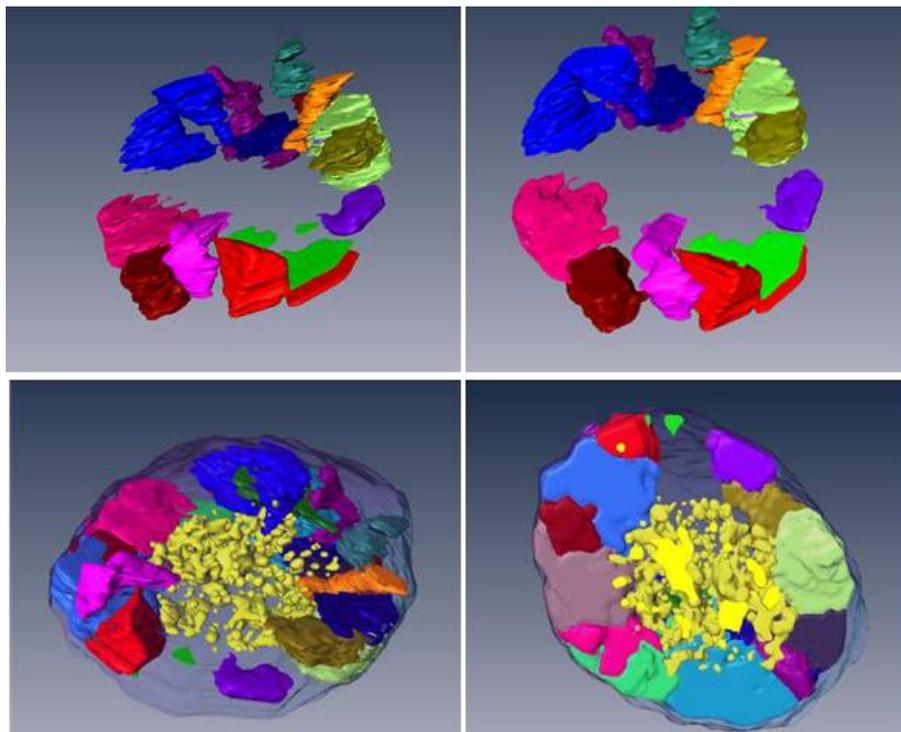


Fig. 22. Reconstrucción 3D de una partícula nanoestructurada de Fe_3O_4 -Au en distintas orientaciones.

En las imágenes se observan los múltiples cristales que integran la partícula y definen su estructura. A partir de la reconstrucción mostrada en la figura 22 aparecen claras algunas características de este tipo de partículas. En un primer lugar, esta técnica permitió la determinación del tamaño de cristal que forman las partículas de alrededor de 100 nm de longitud, que se observan en las imágenes SEM como múltiples dominios cristalinos de oro. La disposición espacial de los proto-cristales consolida una estructura de simetría esférica como se observa en la figura 21. Según lo observado en las imágenes 3D los cristales poseen tamaños y orientaciones similares, lo que sugiere que la formación de las partículas se da a través de un mecanismo de aglomeración de cristales primarios como en el caso de mesocristales¹⁹.

Por otra parte, la estructura interna que se observa, posee poros de 10-20 nm de diámetro que podrían corresponder a las nanopartículas de Fe_3O_4 utilizadas como centros de nucleación ya que poseen un tamaño promedio de 15 nm. En las imágenes TEM obtenidas se demostró la presencia de óxido de hierro en la estructura de la

partícula y en la visualización 3D se observan poros/partículas del mismo tamaño, en el centro de la partícula. Esto sugiere que las partículas se forman a partir de una aglomeración de semillas de magnetita-oro y una proto-estructura desordenada y porosa. A partir de esta estructura crece una estructura secundaria formada por cristales de morfología y tamaño similares; en la que no se observa un crecimiento según planos definidos.

Este tipo de análisis de imágenes aplicado a partículas nanoestructuradas no registra antecedentes en bibliografía y constituye un aporte novedoso de esta tesis para el estudio formación y crecimiento de este tipo de nanoestructuras.

4. Conclusiones

El estudio realizado sobre la estructura interna de las partículas nanoestructuradas obtenidas en la tesis mostró como resultado una estructura porosa compuesta por múltiples cristales de oro unidos a las nanopartículas de Fe_3O_4 utilizadas como semillas. En las imágenes por microscopía de transmisión se observó que están formadas por dominios cristalinos de oro con distintas orientaciones unidos a las partículas de magnetita en el interior de la estructura. El análisis por microscopía de transmisión de alta resolución reveló que el tipo de unión existente entre ambos materiales es a través de los planos $\{111\}$ de cada uno como lo observado en bibliografía para este tipo de partículas de materiales combinados.

Por último, el análisis FIB/SEM realizado permitió estudiar la disposición espacial de la estructura de una partícula y las partículas primarias que la componen, haciendo visible una estructura porosa interna. La visualización 3D de la morfología de los cristales que forman la partícula sugiere un mecanismo de crecimiento por aglomeración de cristales con nanopartículas de magnetita en el núcleo.

5. Referencias

1. L. A. Giannuzzi, F. A. Stevie, B. Prentner *Introduction to Focused Ion Beams: Instrumentation, Theory, Techniques and Practice* Springer (2005).
2. Focused ion beam technology, capabilities and applications Catálogo FEI Nova 200.
3. M. Sebastiani, M. Renzelli, P. Battaini, E. Bemporad *Platinum Metals Rev.*, (2014) 58, (1), 3–19.
4. D.B. Williams, C.B. Carter, *Transmission electron microscopy: A textbook for materials science*. Plenum Press (1996) 649–653.
5. J.C.H. Spence, *High-resolution electron microscopy* Oxford University Press, (2003) 237–261.
6. B. Rodríguez-González, F. Vereda, J. de Vicente, R. Hidalgo-Álvarez; *J. Phys. Chem. C* (2013) 117, 5397–5406.
7. T. Sugimoto, G. E. Dirige, A. Muramatsu; *Journal of Colloid and Interface Science* (1995) 173(1) 257-259.
8. R. Wirth; *Chemical Geology* 261 (2009) 217–229.
9. J. Orloff; L. Swanson; M. Utlaut; *High Resolution Focused Ion Beams: FIB and its Applications* Springer Science & Business Media (2012).
10. H. Colfen, M. Antonietti; *Mesocrystals and Nonclassical Crystallization* (2008) Wiley.
11. A. Patterson; "The Scherrer Formula for X-Ray Particle Size Determination". *Phys. Rev.* (1939) 56 (10): 978–982.
12. Y. Waseda, A. Muramatsu; *Morphology Control of Materials and Nanoparticles: Advanced Materials Processing and Characterization* (2010) Springer; pág. 41.
13. D.V.Ravi Kumar, Amol A. Kulkarni, B.L.V. Prasada *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 422 (2013) 181–190.
14. A. Miranda; E. Malheiro; E. Skiba; P. Quaresma; P. A. Carvalho; P. Eaton; B. de Castro; J. A. Shelnutz; E. Pereira; *Nanoscale* (2010) 2, 2209–2216.
15. V.K. Pecharsky, P. Y. Zava, *Fundamentals of Powder Diffraction and Structural Characterization of Materials* Springer (2005).
16. R. F. Egerton, *Electron Energy Loss Spectroscopy in the Electron Microscope*, 2nd ed., Plenum, New York (2006).
17. K. Oura, V.G. Lifshits, A.A. Saranin, A.V. Zotov, M. Katayama *Surface Science: An Introduction*. Berlin: Springer (2003).
18. H. Yu, M. Chen, P. M. Rice, S. X. Wang, R. L. White, S. Sun, *Nano Letters*, Vol. 5, No. 2 (2005).
19. H. Colfen, M. Antonietti; *Angew. Chem. Int. Ed.* (2005) 44, 5576 – 5591.

5

Mecanismos de formación y crecimiento

En este capítulo, se proponen los mecanismos de formación y crecimiento de las partículas nanoestructuradas obtenidas, basados en los resultados experimentales expuestos en los capítulos 3 y 4.

El mecanismo de formación de las partículas nanoestructuradas está basado en la caracterización realizada a través de las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de haz dual con iones de galio y la reconstrucción 3D realizada. De forma complementaria, con el fin de observar de forma directa los primeros estadios de la formación de partículas, se tomaron alícuotas en distintos intervalos de tiempo de reacción y las muestras fueron observadas por microscopía electrónica de barrido. De la interpretación realizada sobre los resultados obtenidos, se propone un mecanismo de formación y crecimiento para las partículas nanoestructuradas magnéticas de oro-magnetita obtenidas para ambos métodos de síntesis.

1. Mecanismos de formación de partículas

Según la teoría clásica de formación y crecimiento propuesta por La Mer et al.¹ y desarrollada en base al estudio de la formación de partículas de azufre coloidal en fase homogénea, los mecanismos de formación de partículas involucran una etapa nucleación y una etapa de crecimiento. En una primera etapa hay una generación de unidades de crecimiento que forman los *núcleos* que cuando superan un radio crítico, forman una nueva fase estable y comienza el proceso de crecimiento. En este proceso, los núcleos formados crecen a través de la adición de átomos en la superficie generando una partícula. En la figura 1, se muestra un esquema de la variación de la concentración atómica en función del tiempo para cada etapa del proceso de formación de partículas.

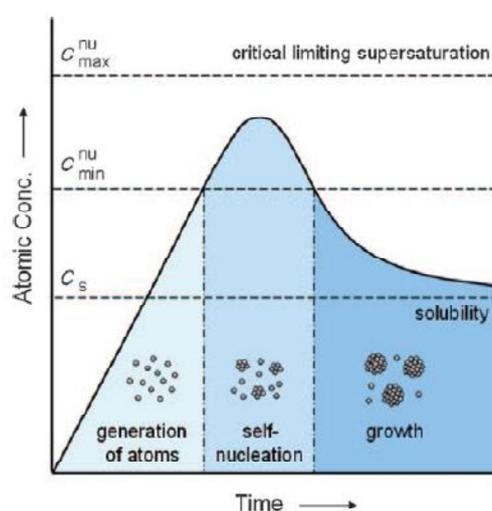


Fig. 1. Representación esquemática de la variación de la concentración atómica en función del tiempo antes y después de la nucleación¹.

En los últimos años, con el avance de las técnicas de síntesis han surgido nuevos nanomateriales más complejos²⁻⁴ cuyo proceso de formación y crecimiento no puede ser explicado por la teoría de La Mer. Estos nuevos nanomateriales tienen características distintas a las de las partículas con crecimiento clásico, tales como su tamaño, rugosidad y porosidad interna. Poseen una estructura ordenada compuesta por la aglomeración de nanopartículas en una organización espacial tridimensional. Para explicar el mecanismo de formación de estas nuevas partículas han surgido nuevas teorías denominadas *no clásicas*⁵ basadas en la formación de núcleos y crecimiento clásico de partículas, seguido por la coalescencia de los cristales formados

mediante un proceso de agregación de partículas llamado también *nucleación secundaria*.^a

Un ejemplo de la formación de este tipo de partículas es el presentado en el trabajo de Fang et al.¹¹, quienes prepararon partículas de oro con un tamaño de 400 nm y una morfología controlable según las condiciones de síntesis (figura 2).

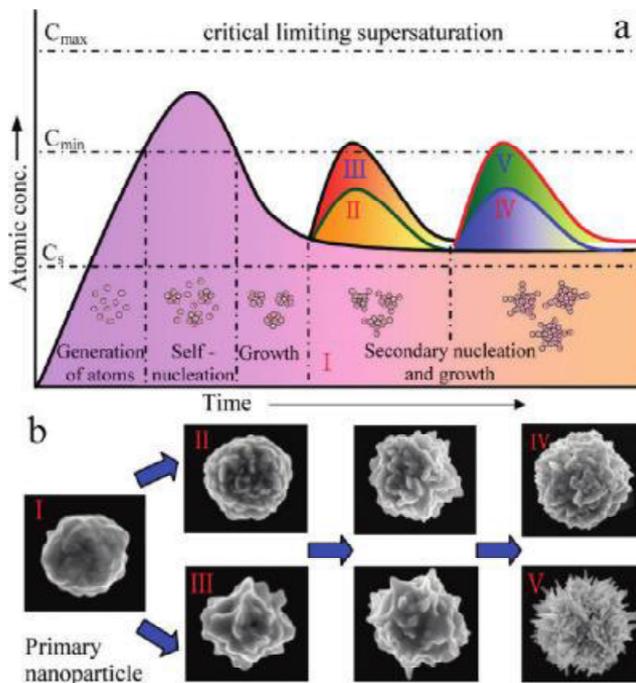


Fig. 2. a) Esquema representativo de la variación de la concentración atómica de oro en función del tiempo en el proceso de crecimiento de mesopartículas¹¹; b) evolución de la morfología de la partícula en el tiempo luego de una segunda reducción de oro.

En la figura 2, se muestran las diferentes morfologías obtenidas y un diagrama de La Mer modificado para incluir los procesos de nucleación secundaria y agregación de partículas. La síntesis se llevó a cabo por la reducción en dos etapas de una concentración de HAuCl_4 en medio acuoso con partículas de hierro. El gráfico de la figura 2a representa la concentración de Au^0 generado por el reductor en función del tiempo. Cuando la concentración alcanza el punto de supersaturación, las unidades de

^a Este tipo de partículas fueron obtenidas por Halas et al.⁶ y diversos autores⁷⁻⁹. Una de las características más interesantes de este tipo de partículas es su estabilidad frente a los cambios de pH, fuerza iónica, etc. del medio, en contraste con la alta reactividad que presentan la nanopartículas y su tendencia natural a la aglomeración. Por otra parte, el tamaño de partícula se encuentra en el orden de cientos de nanómetros lo que permite removerlas de forma más fácil del medio. Esto permite utilizarlas en distintas aplicaciones como sensado, catálisis y fotónica¹⁰.

crecimiento generadas comienzan a agregarse formando pequeños núcleos. Una vez formados, los núcleos comienzan a crecer en tamaño rápidamente formando nanocristales, mientras que la concentración de átomos de Au^0 en el medio decrece. En este punto, se agrega nuevamente reductor generando nuevos átomos de Au^0 . Esto produce una nueva etapa de *nucleación secundaria* sobre los nanocristales previamente formados. Los núcleos y nanocristales formados coalescen de forma directa formando una partícula de mayor tamaño. Dependiendo del tiempo en el que se agrega por segunda vez el reductor y de la concentración del mismo, el autor obtiene diferentes partículas mesoestructuradas (tipo II, III y IV) como se observan en la figura 2.

Este mecanismo es llamado *proceso de agregación mediado por partículas*¹¹. El crecimiento de la partícula está dado por la aglomeración de sus partículas primarias y sus propiedades están relacionadas con el ordenamiento jerárquico a un nivel mesoscópico¹².

Según lo observado en los resultados experimentales, las partículas nanoestructuradas obtenidas en la tesis siguen un mecanismo de nucleación y crecimiento por aglomeración de cristales. Esto se puede observar en las imágenes obtenidas por microscopías de transmisión de las partículas tratadas con el haz de iones focalizados del microscopio de haz dual. En las imágenes se observan dominios cristalinos individuales que corresponden a pequeños cristales aglomerados como se puede ver en la reconstrucción 3D que se realizó y cuyos resultados se exponen en el capítulo 4.

A continuación, se brinda en detalle los mecanismos de formación y crecimiento propuestos para partículas nanoestructuradas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ obtenidas por el *Método I* y *II* descritos en los capítulos anteriores.

2. Mecanismo de formación de partículas nanoestructuradas de $\text{Au-Fe}_3\text{O}_4$ obtenidas por el *Método I*

Según lo observado en los resultados experimentales, el mecanismo de formación de las partículas nanoestructuradas depende fuertemente de la concentración de aditivos utilizados. Para el caso de las partículas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ por el *Método I* de síntesis, la sal de oro se encuentra disuelta en alcohol isopropílico que luego se agrega al medio de reacción y comienza el proceso de precipitación.

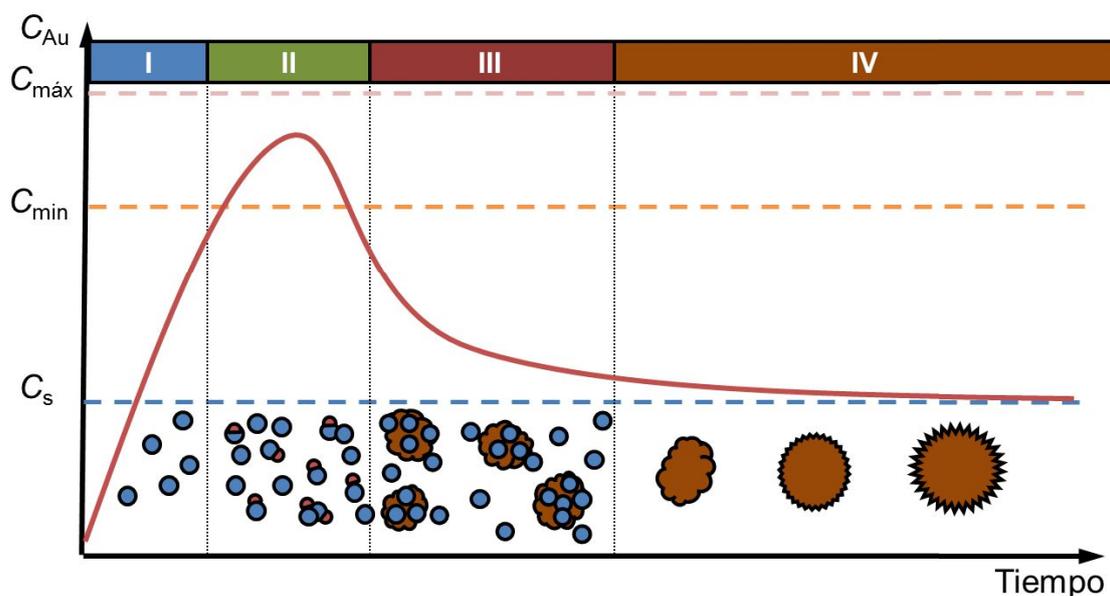


Fig. 3. Representación esquemática de la variación de la concentración de Au^0 en función del tiempo y las etapas formación de partículas nanoestructuradas de $\text{Fe}_3\text{O}_4\text{-Au}$ obtenidas por el Método I. [C_s = solubilidad, $C_{\text{mín}}$ = concentración mínima y $C_{\text{máx}}$ = concentración máxima]

En base al mecanismo presentado por Fang et al.¹¹ para la formación de mesopartículas de oro con morfología controlable que presenta varias características comunes con las partículas sintetizadas en esta tesis, se propone un mecanismo de formación de partículas nanoestructuradas de magnetita y oro.

En la figura 3 se observa un esquema representativo posible de la variación de la concentración de átomos de oro en función del tiempo, y la formación de las partículas nanoestructuradas dividida en cuatro etapas. El mecanismo de formación propuesto es un proceso que involucra una primera etapa de nucleación heterogénea de los átomos de oro sobre la superficie de magnetita.

Luego se produce el crecimiento cristalino, que da origen a cristales primarios que se aglomeran para formar una estructura de mayor tamaño. Luego de la aglomeración de las partículas ocurre un sobrecrecimiento de nanoestructuras 1D que concluye el proceso. En los siguientes párrafos se brinda un análisis más profundo de cada etapa involucrada en el mecanismo.

Etapas I: Formación del complejo OA-Au y reducción a Au^0

La solución en fase orgánica de AuCl_4^- se agrega al medio de reacción donde se encuentran nanopartículas de magnetita estabilizadas con ácido oleico y oleilamina (OA) que se mezcla con una solución alcohólica de hidroquinona como reductor.

En primer lugar, se intentó esclarecer la función de cada reactivo utilizado en la síntesis. Sobre los indicios obtenidos de las caracterizaciones realizadas modificando la concentración de cada aditivo en la síntesis se llegó a la conclusión que la molécula de oleilamina cumple un rol importante en la reducción de la sal de oro.

Existen numerosos antecedentes en bibliografía que indican que la molécula de oleilamina presente en la síntesis podría producir la reducción del Au^{+3} a Au^{+1} a través de la oxidación del grupo amino¹³⁻¹⁴. Esta reacción ha sido estudiada anteriormente¹⁵⁻¹⁷ en distintos medios e involucra, como paso intermedio, la formación de un complejo OA : Au a través de la coordinación del grupo amino de la oleilamina con el ión Au^{+3} .

Con el fin de estudiar el rol de la molécula de oleilamina en la síntesis de las partículas obtenidas en la tesis, se realizó un estudio del proceso de óxido-reducción por FTIR (espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier) y espectroscopía UV-Vis. Estas técnicas son complementarias ya que mientras que los espectros UV-Vis muestran las bandas de transferencia electrónica asociadas a la formación de los distintos complejos, la espectroscopía infrarroja permite interpretar los cambios estructurales que tienen lugar durante el proceso.

a) *Primeros estadios de la reacción: formación del complejo Au^{+3} : OA*

Se llevó a cabo un análisis por espectrofotometría UV-Vis de oleilamina, AuCl_4^- , complejo OA : Au. Se empleó como solvente una mezcla de hexano e isopropanol. Los resultados se muestran en la figura 4:

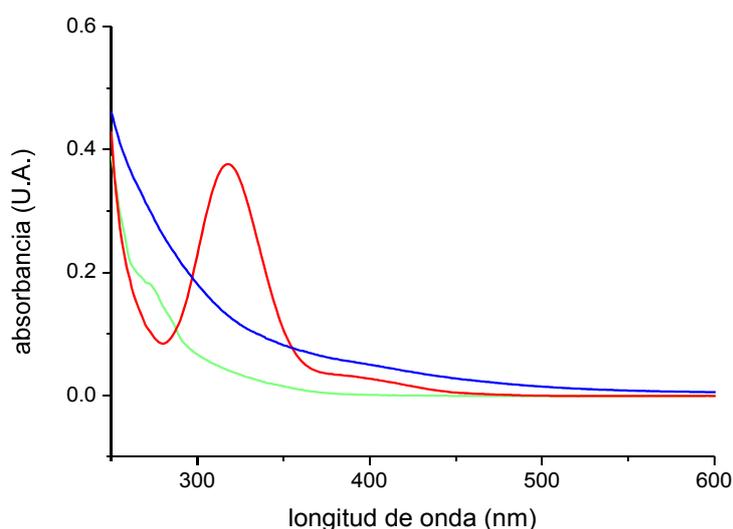


Fig. 4. Espectro UV-Vis de AuCl_4^- (rojo), oleilamina (verde), el complejo AuCl_4^- : OA (azul).

En el rango ultravioleta los complejos formados por haluros con Au^{+3} poseen dos bandas intensas características de la formación del complejo de transferencia de carga del ligando al ión metálico¹⁸. Se asignan estas bandas, λ_1 y λ_2 , a la transición electrónica entre orbitales p_σ y p_π del halógeno a los orbitales antiligantes d del oro ($d_{x^2-y^2}$)^{*}. En el espectro del AuCl_4^- se observa una banda alrededor de 320 nm correspondiente a λ_2 y una banda de absorción de mayor energía ubicada en longitudes de onda menores a 250 nm, posiblemente debida a λ_1 .

Se tomó una alícuota de una muestra conteniendo AuCl_4^- y oleilamina en tolueno inmediatamente después de ponerlos en contacto. Se observó un cambio de color¹⁹, que sugiere la formación de un compuesto entre el grupo amino de la OA y el Au^{+3} .

Luego del agregado de OA, se observa la ausencia de la banda máxima de absorción de AuCl_4^- posiblemente debido a la formación de un complejo de coordinación con el grupo amino de la molécula de OA. El proceso de formación de este complejo, fue estudiado a través del agregado sucesivo de distintas concentraciones de OA. En la figura 5 se muestran los resultados obtenidos:

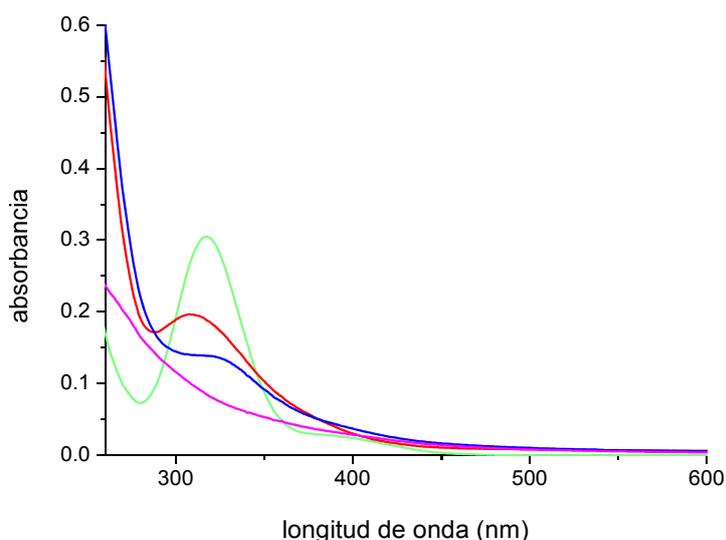


Fig. 5. Espectros UV-Vis de la reducción de 0,13 mmol de AuCl_4^- con el agregado de distintos mmoles de OA: 0,05 (rojo), 0,10 (azul), 0,50 (fucsia) y sin OA (verde).

Se observa la reducción parcial de la banda máxima de absorción del AuCl_4^- en 320 nm y la aparición de una nueva banda en longitudes de onda de mayor energía.

El corrimiento a mayores energías puede atribuirse a la formación de un complejo OA : Au ya que el potencial de ionización del grupo :N- es mayor que para el compuesto AuCl_4^- ^{19,20}.

Este mismo proceso fue estudiado a través de un análisis de los espectros obtenidos por FTIR relacionados a cambios estructurales de las moléculas involucradas. En el

espectro FTIR de la figura 6, se presentan los resultados obtenidos de una muestra de oleilamina pura.

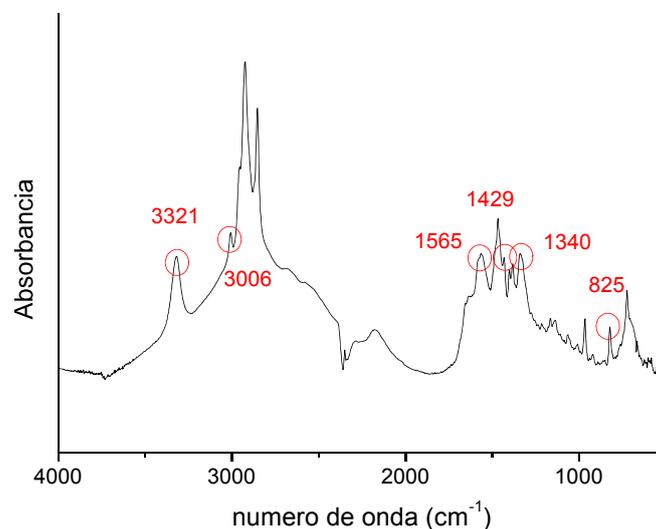


Fig. 6. Espectro infrarrojo de oleilamina.

El espectro de la molécula de oleilamina presenta bandas de absorción características de aminas alifáticas en 3321, 1565, 1340 y 825 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones del grupo NH_2 ²¹⁻²³. La banda intensa en 3321 cm^{-1} se asigna al modo de vibración ν (*stretching*) del enlace N-H. La banda de absorción en 825 cm^{-1} corresponde al modo vibracional NH_2 ω (*wagging*), mientras que las bandas a 1340 y 1565 cm^{-1} son asignables al modo vibracional δ (*bending*) del NH_2 .

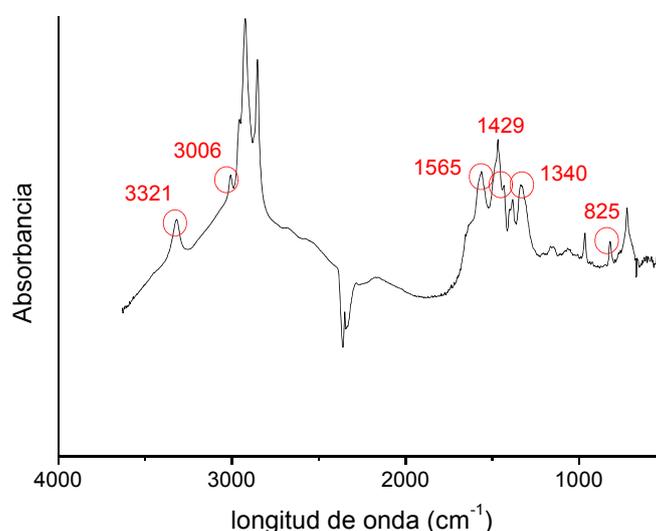


Fig. 7. Espectro infrarrojo del complejo oleilamina-oro.

En el espectro de la figura 7 correspondiente al complejo formado, se observan las mismas bandas de absorción características de la molécula de oleilamina de la figura 6. Esto sugiere que los enlaces N-H no intervienen en la formación del complejo OA : oro sino que el mismo tendría lugar a través de enlaces N-Au, como es usual en la formación de amino-complejos de los metales de transición²⁴. La formación de la unión Au-N posee bandas de absorción características del enlace Me-N²⁵ en el rango del infrarrojo lejano a números de onda menores a 400 cm⁻¹²⁴, las cuales no son observables en el rango de números de onda estudiado (4000-550 cm⁻¹).

Por otra parte, el doble enlace de la molécula de OA posee una banda vibracional característica en 3006 cm⁻¹ correspondiente al estiramiento *cis* del grupo -C=C-. Esta banda puede observarse en todos los espectros obtenidos, lo que es indicativo de que el doble enlace no estaría involucrado en el proceso de reducción-oxidación como se ha sugerido en algunos casos citados en bibliografía^{26,27}.

Dado que la reacción de reducción del Au⁺³ con la OA es lenta^{19, 28-30}, se analizó la muestra de oleilamina/ AuCl₄⁻ en tolueno luego de 24 hs de reacción. En la figura 8 se muestra el espectro IR correspondiente:

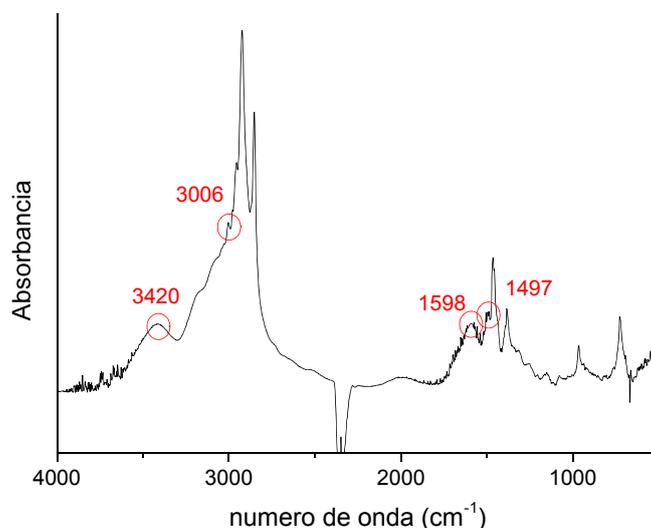


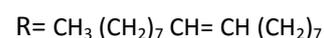
Fig. 8. Espectro infrarrojo del complejo oleilamina-oro luego de 24 hs de reacción.

En el espectro obtenido se observa la ausencia de las bandas de absorción 825, 1340 y 1565 cm^{-1} y el corrimiento de la banda de 3321 a 3420 cm^{-1} .

Como se ha mencionado, la reducción de oro por oleilamina es un proceso lento¹⁹ que implica la formación de compuestos de coordinación similares a los observados para otros metales²⁸⁻³⁰. La oxidación de los complejos metal-amina ocurre de forma espontánea en aire con la asistencia del ión metálico y da como resultado iminos compuestos más estables³¹.

b) Primera reducción de Au^{+3} a Au^{+1} promovida por OA

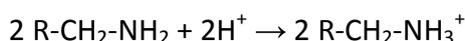
En el presente caso, el complejo inicial de Au^{+3} experimentaría un proceso de óxido-reducción en el que el grupo amino de la molécula de oleilamina se oxida a un grupo imina (OI)^{13,25,31} siguiendo la ecuación:



La formación de una imina explicaría la ausencia en el espectro de la figura 8 de las bandas correspondientes a las vibraciones de *wagging* y *bending* que implican la presencia del grupo $-\text{NH}_2$. Por su parte la presencia de una banda alrededor de 1600 cm^{-1} podría atribuirse a la formación de un doble enlace $\text{C}=\text{N}$ producido por la

oxidación de la molécula de oleilamina, tal como se ha encontrado en otros imino-complejos metálicos^{33,34}.

El corrimiento de la banda vibracional *stretching* del grupo amino de 3321 cm⁻¹ a 3420 cm⁻¹ observado en la figura 8 luego de 24 hs de reacción, puede ser atribuido a la formación de un compuesto de amonio cuaternario. La concentración de OA en la síntesis (0,5 mmol) se encuentra en exceso con respecto a la concentración de oro (0,13 mmol). Las moléculas sin reaccionar de OA, que no fueron oxidadas, son protonadas por los H⁺ generados en la reacción de reducción:

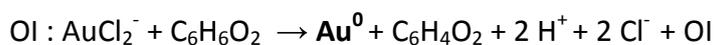


La formación de este compuesto de amonio cuaternario es el que se observa en el corrimiento de la banda vibracional del grupo amino.

Como conclusión, los resultados obtenidos en ambas técnicas confirman que en las condiciones estudiadas se formaría un complejo inicial OA : Au⁺³ el cual, en una etapa lenta de reducción del Au⁺³ por la OA, evoluciona luego a un complejo estable OI : AuCl₂⁻. El Au⁺¹ forma en general complejos lineales^{18,19,35}, que han sido propuestos como precursores de ciertas nanoestructuras como nanohilos de oro²⁸⁻³⁰.

c) Segunda reducción Au⁺¹ a Au⁰ promovido por la hidroquinona

En una etapa siguiente, el complejo formado por OI : AuCl₂⁻ se reduce a Au⁰ por la presencia de hidroquinona. La reducción en dos pasos del Au⁺³ → Au⁺¹ → Au⁰ ha sido propuesta por varios autores, tanto en presencia de uno o dos reductores^{35,36}. En el presente caso la reacción propuesta es:



Etapa II: Nucleación heterogénea

Cuando la concentración de Au⁰ supera el valor de la concentración mínima se produce precipitación de átomos de oro sobre las nanopartículas de magnetita. La deposición de los primeros átomos de oro está acompañada de un proceso de desplazamiento del ligando^{37,38} entre el ácido oleico unido al Fe₃O₄ y el Au⁰. Las moléculas de ácido oleico unidas a la superficie de las nanopartículas de magnetita^{39,40} son desplazadas por los átomos de oro reducidos por hidroquinona. Las nanopartículas de magnetita actúan como sitios de nucleación para los átomos de oro reducidos presentes en la dispersión. La concentración de Au⁰ en la solución aumenta hasta alcanzar la concentración de supersaturación y comienza la nucleación heterogénea (*Etapa II*).

Etapa III: Crecimiento y aglomeración

Una vez iniciada la nucleación heterogénea, se producen los núcleos primarios que dan origen a los primeros cristales formados. Estas partículas crecen sobre la superficie de las nanopartículas de magnetita y se aglomeran entre sí.

En la etapa de aglomeración hay una auto organización de los cristales primarios formados. El tamaño de estos cristales es de 50 nm según los resultados obtenidos por microscopía electrónica que se expusieron en el capítulo anterior. En la fig. 9 se observa una partícula en las primeras etapas de formación compuesta por cristales más pequeños:

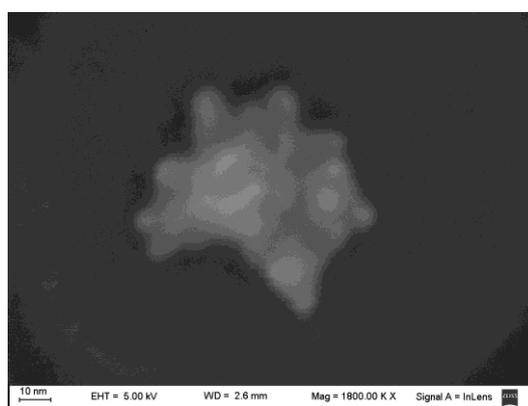


Fig. 9. Imagen SEM de una partícula primaria obtenida en las primeras etapas de reacción.

De acuerdo al esquema propuesto en la figura 10, las partículas nanoestructuradas obtenidas crecen a través de un mecanismo mediado por la aglomeración de partículas primarias y su estructura está compuesta por pequeños cristales, tal como como fue observado en los resultados de caracterización interna por microscopía electrónica de transmisión.

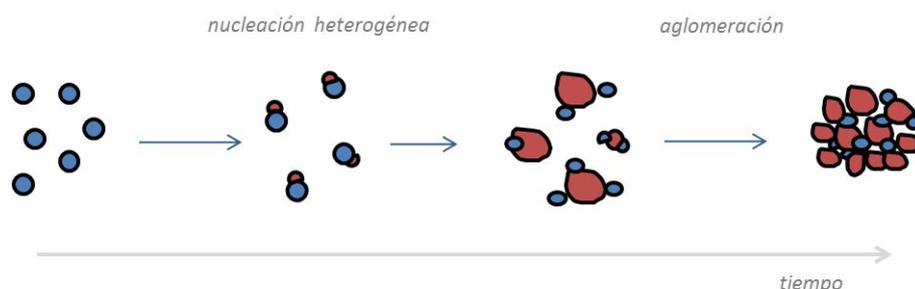


Fig. 10. Esquema del proceso de nucleación heterogénea sobre las nanopartículas de Fe_3O_4 (en azul) y aglomeración de cristales primarios.

Este mecanismo se da de forma espontánea y el proceso de aglomeración de partículas sería el determinante del tamaño de la partícula nanoestructurada.

Etapa IV: Sobrecrecimiento

En la etapa final del mecanismo de formación y crecimiento se produce un sobrecrecimiento sobre la superficie de la partícula a través del agregado de átomos de oro hasta terminar la formación de la partícula nanoestructurada.

En las imágenes SEM se observa en la superficie de las partículas pequeñas nanoestructuras 1D aproximadamente cilíndricas de 30 nm de longitud y 10 nm de diámetro (fig. 11a) como consecuencia del sobrecrecimiento. En la micrografía de HR-TEM (fig. 11b) se observan los planos cristalinos de la pared del cilindro con un espaciado de 2,4 Å. Esta distancia corresponde al espacio interplanar de los planos cristalinos {111} de oro.

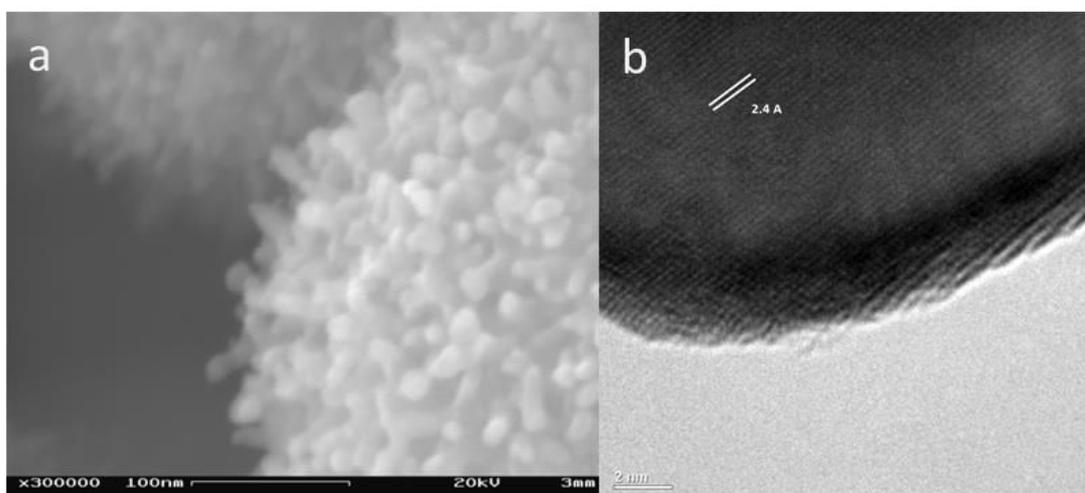


Fig. 11. a) Imagen SEM de la superficie de una partícula nanoestructurada de Au-Fe₃O₄ y b) detalle por HR-TEM de una punta.

Se observa que las nanoestructuras están compuestas por oro y no se encuentran indicios de la presencia de otro material en la estructura cristalina, lo que sugiere que las semillas de óxido de hierro se encuentran en el interior de la partícula.

Como se expuso en el capítulo 3, la presencia de oleilamina determina el crecimiento de las múltiples estructuras en la superficie de las partículas obtenidas (fig.11a). Es conocido el uso de OA en la obtención de estructuras 1D como nanohilos de oro, pero poco se conoce sobre su efecto en partículas nanoestructuradas de tamaño mesoscópico⁴¹.

La molécula de OA posee un grupo amino que tiene gran afinidad a formar complejos de coordinación con oro⁴² y como se mencionó anteriormente actúa como reductor parcial del Au⁺³ a Au⁺¹. Luego de reducir el Au⁺³ a Au⁺¹ en el medio de reacción queda un exceso de 0,37 mmol de OA sin reaccionar, que podría influir el sobrecrecimiento en la superficie de las partículas.

En cambio, para el caso de las partículas de la figura 12a (síntesis 1e), luego de la reacción en el medio quedan 0,12 mmol de OA sin reaccionar. Se observa que la partícula obtenida en estas condiciones de síntesis posee una superficie facetada. En este caso, el ligero exceso de OA sin reaccionar no sería suficiente para que pueda producir un sobrecrecimiento de oro en la superficie.

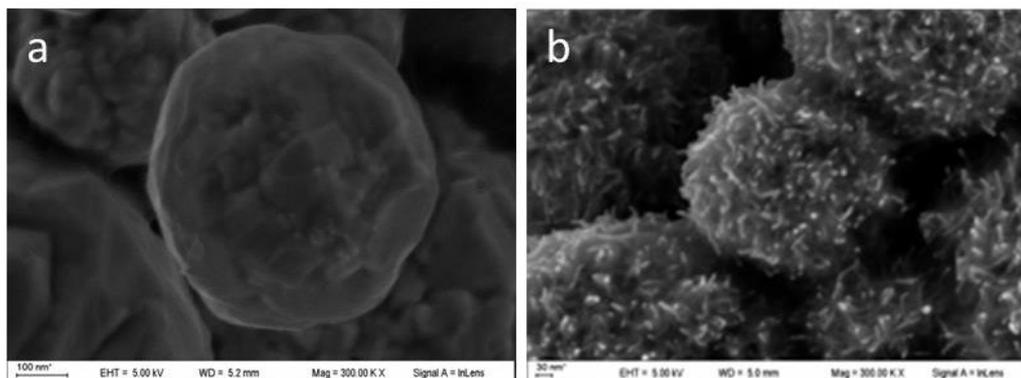


Fig. 12. Partículas nanoestructuradas obtenidas con a) 0,25 y b) 5 mmoles de OA.

En cambio, cuando se utiliza un exceso muy grande de OA (5 mmoles) en la síntesis, como en el caso de las partículas de la figura 12b (síntesis 1h), se promueve la formación de estructuras 1D tipo nanohilos sobre la superficie. El mecanismo de crecimiento de estas estructuras podría considerarse análogo al de nanocables de Cu en presencia de OA⁴³ y nanohilos de oro^{13, 14}.

La estabilidad de la molécula de OA adsorbida sobre los planos de oro (111), (100) y (110) ha sido estudiada recientemente por Ye et al.⁴³. Estos autores calcularon las energías de unión entre la molécula de OA y los distintos planos del oro. El resultado arrojó valores de -1.429 , -0.868 y -0.797 eV para el Au (111), (001) y (110); los valores negativos indican una mayor estabilidad de la molécula del adsorbato en la superficie. Como resultado, la estabilidad del sistema sigue la tendencia $(111) > (001) > (110)$.

Los valores de energía de unión de los planos (110) y (001) son muy similares y es esperable un crecimiento más favorable de esas caras cristalinas con respecto al Au (111) que encuentra limitado el crecimiento por la fuerte adsorción de la molécula de oleilamina.

Este efecto podría dar una explicación del crecimiento anisotrópico de nanoestructuras de oro en la superficie de las partículas cuando se utiliza una concentración de OA mayor 0,5 mmoles presentes en el medio de reacción. La OA en exceso se adsorbe sobre núcleos de oro depositados sobre las partículas de magnetita y direcciona el sobrecrecimiento como prolongaciones similares a nanohilos de oro.

3. Mecanismo de Formación de Partículas Au -Fe₃O₄ obtenidas por el Método II

El mecanismo de formación de las partículas nanoestructuradas obtenidas por el *Método II*, al igual que para el caso de las partículas nanoestructuradas por el *Método I*, depende fuertemente de la concentración de aditivos usados en la reacción. En este caso, se utilizó bromuro de tetraoctilamonio para la extracción de oro de la fase acuosa a la fase orgánica donde el TOAB forma un complejo estable con los átomos de oro e interviene, según lo observado experimentalmente, de forma directa en la morfología de la partícula obtenida.

Como se observó en la caracterización de la estructura interna del capítulo anterior, las partículas de Fe₃O₄-Au sintetizadas por el *Método II*, poseen una estructura con múltiples puntas triangulares en la superficie y una estructura interna porosa. El mecanismo de formación propuesto es similar al postulado para las partículas nanoestructuradas obtenidas por el *Método I*, un proceso que involucra cuatro etapas que se detalla a continuación en la figura 13.

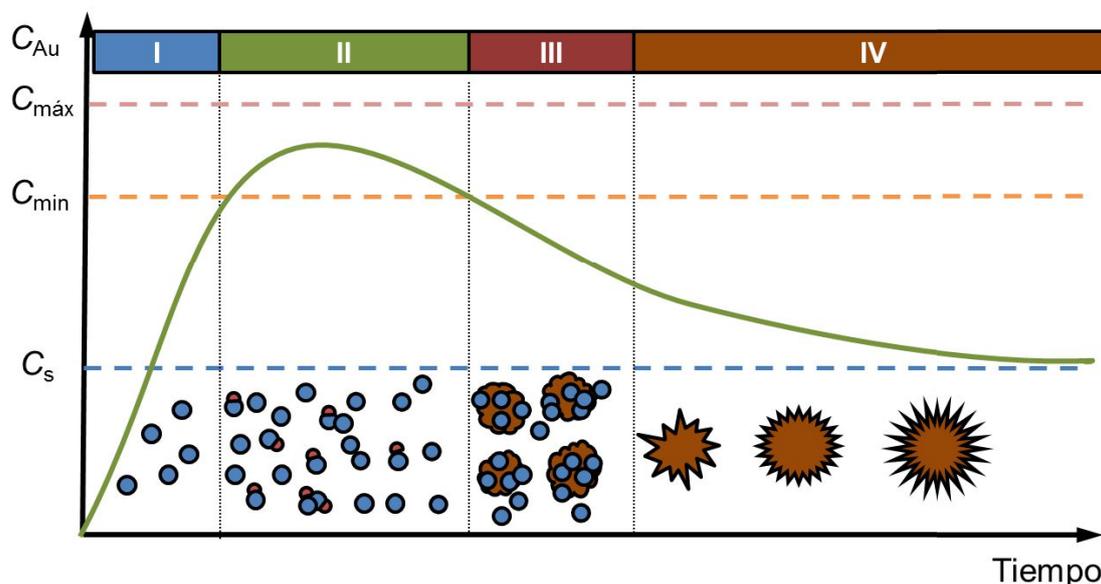
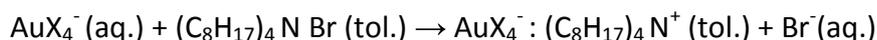


Fig. 13. Representación de la variación de la concentración de Au⁰ en función del tiempo y las etapas formación de partículas nanoestructuradas de Au-Fe₃O₄ obtenidas por el *Método II*.

Etapas I: Formación del par iónico AuX₄⁻ : TOA⁺ y reducción a Au⁰

En la primera etapa de la síntesis se realiza la extracción por el método de Brust-Schiffrin⁴⁴ del ion AuCl₄⁻ de solución acuosa a fase orgánica con bromuro de tetraoctilamonio:



El proceso de extracción involucra la formación de un par iónico $\text{AuX}_4^- : \text{TOA}^+$, que ha sido estudiado anteriormente^{45,46}. La notación "X" se refiere tanto a átomos de Cl^- como Br^- que podrían integrar el complejo con Au^{+3} , ya que la formación de este compuesto no ha sido estudiada exhaustivamente⁴⁷.

Con el fin de obtener información adicional sobre la formación del par iónico se analizaron por espectrofotometría Uv-Vis los distintos compuestos de KAuCl_4 , KAuBr_4 y TOAB formados en fase acuosa (aq.) y en tolueno (tol.).

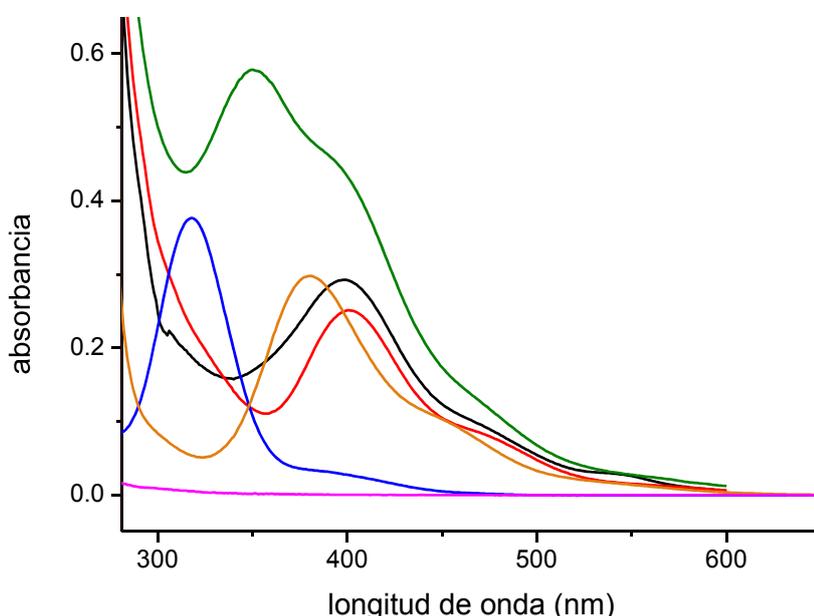


Fig. 14. Espectro Uv-Vis en agua de KAuCl_4^- (azul), KAuBr_4^- (naranja) y en tolueno de TOAB (fucsia), AuCl_4^- (verde) y los complejos $\text{AuBr}_4^- : \text{TOA}^+$ (rojo) y $\text{AuCl}_4^- : \text{TOA}^+$ (negro).

En los espectros obtenidos de la figura 14, se observa una banda con un máximo de absorción en 318 nm para el AuCl_4^- (aq.) y en 380 nm para el AuBr_4^- (aq.), en coincidencia con datos de bibliografía¹⁸.

El espectro del AuCl_4^- extraído en tolueno en ausencia de TOAB, por su parte, muestra una estructura compleja, con la banda principal corrida a 350 nm. Dicho corrimiento puede asignarse al efecto solvatocrómico debido al pasaje del complejo de un medio polar a uno no polar⁴⁸.

Por otra parte, los máximos de absorción de los compuestos de $\text{AuCl}_4^- : \text{TOA}^+$ y AuBr_4^- en tolueno se encuentran en 399 y 401 nm respectivamente.

En el espectro obtenido extrayendo AuCl_4^- (aq.) con TOAB, el máximo de absorbancia a alrededor de 400 nm ha sido atribuido a la formación del par iónico $\text{AuX}_4^- : \text{TOA}^+$ ⁴⁹. Sin embargo, el hecho que el AuBr_4^- presente un máximo a la misma longitud de onda es indicativo de la presencia de Br^- coordinado al Au en el par iónico propuesto.

El intercambio de iones Cl^- por Br^- en complejos metal-ligando ha sido observado anteriormente⁵⁰ ya que la constante de estabilidad del complejo AuBr_4^- (10^{32}) es 6 órdenes de magnitud superior a la constante del AuCl_4^- (10^{26})⁵¹. No obstante, dado la falta de información experimental complementaria⁴⁷, se mantendrá la fórmula general originalmente propuesta⁴⁹.

Luego de la extracción de la sal de oro de fase acuosa a fase orgánica, se agregan nanopartículas de magnetita estabilizadas con ácido oleico y oleilamina. Para estudiar la influencia de la molécula de OA en la síntesis, se analizaron espectros Uv-Vis del avance de la reacción de AuX_4^- : TOA^+ y oleilamina. En la figura 15, se muestran los resultados obtenidos:

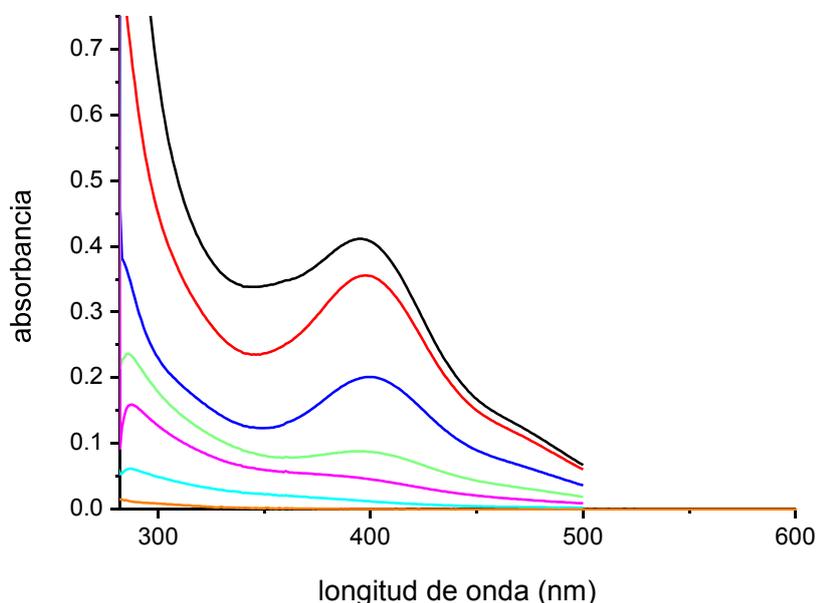
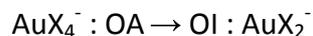


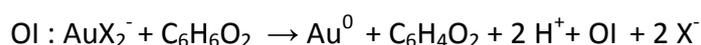
Fig. 15. Espectros Uv-Vis de la formación del complejo de AuX_4^- : OA (negro) con el agregado de distintos mmoles de OA: 0,05 (rojo); 0,15 (azul); 0,25 (verde); 0,50 (fucsia). Luego de 24 hs de reacción (celeste) y el espectro de TOAB puro (naranja). La concentración de oro utilizada fue de 0,13 mmol.

La formación del complejo de oro y oleilamina es observada en la modificación de la banda de absorción característica del AuX_4^- : TOA^+ que se muestra en la figura 15. Luego del agregado de oleilamina en la solución, se observa la ausencia de la banda λ_2 y la presencia de una banda de mayor energía en longitudes de onda menores a 300 nm¹⁸. Esto indicaría la formación del complejo AuX_4^- : OA, que luego de 24 hs evoluciona en la formación de un complejo OI : AuX_2^- .

Esto sugiere una reducción del Au^{+3} a Au^{+1} con un mecanismo similar al propuesto anteriormente, con la formación de un derivado de oleilamina:

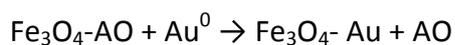


La hidroquinona que se agrega en la síntesis, produce la reducción del complejo a Au metálico de forma lenta:



Etapa II: Nucleación heterogénea

En la superficie de las nanopartículas de magnetita se produce un desplazamiento del ligando ácido oleico (AO) por el Au^0 , originado por la reducción del complejo $\text{OI} : \text{AuX}_2^-$ por hidroquinona. Esta reacción es lenta y se da en simultáneo con el comienzo de la nucleación heterogénea de oro sobre la superficie de Fe_3O_4 .



Etapa III: Crecimiento y aglomeración

Luego de la nucleación heterogénea de oro sobre las partículas de Fe_3O_4 , se producen los primeros núcleos en la primera etapa del crecimiento. Este proceso es muy difícil de observar por microscopía ya que el tamaño de los primeros cristales es de algunos nanómetros y se encuentran en el medio de crecimiento con nanopartículas de Fe_3O_4 . Estos núcleos crecen a través del agregado de átomos de oro en la superficie y evolucionan en partículas primarias con formas de estrellas, según lo que se observó por microscopía electrónica de barrido cuyo resultado se muestra en la figura 16:

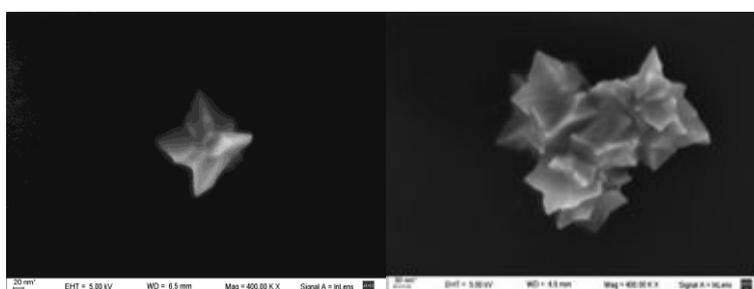


Fig. 16. Imágenes SEM de partículas primarias obtenida por el *Método II*.

Las partículas primarias observadas poseen 150 nm de tamaño con múltiples puntas triangulares. El proceso de formación y aglomeración propuesto para estas partículas se ilustra en la figura 17:

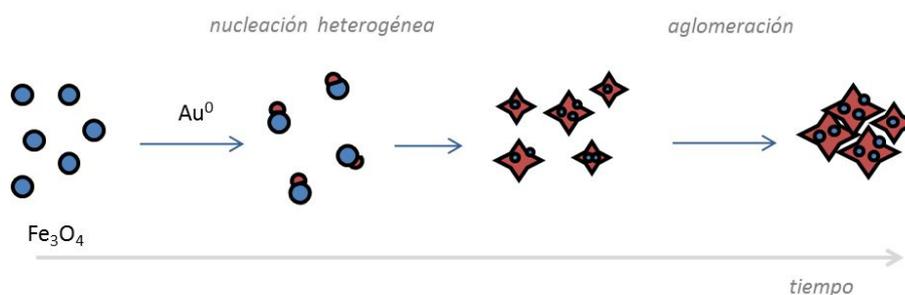


Fig. 17. Nucleación heterogénea y aglomeración de partículas primarias.

A diferencia de las partículas primarias observadas en la sección anterior, las partículas obtenidas en los primeros estadios de la reacción al utilizar bromuro en la síntesis poseen formas estrelladas. Luego de la formación de las primeras partículas, comienza el proceso de aglomeración. Este tipo de mecanismo de crecimiento por aglomeración de partículas dejaría como resultado una estructura interna porosa como lo observado en otros trabajos de partículas con este tipo de crecimiento⁵⁹. En las imágenes obtenidas por microscopía de haz dual en el capítulo anterior, se observa que la estructura interna de este tipo de partículas posee múltiples poros y facetas cristalinas, por lo que se puede inferir que se han formado por un mecanismo de aglomeración⁶⁰.

Como se detalló anteriormente, la presencia de bromuro en la síntesis actúa principalmente como agente de transferencia de fase formando un compuesto estable AuX_4^- . Esto retarda la velocidad de reducción del oro produciendo una limitación de la concentración de átomos de Au en el medio⁵³⁻⁵⁶. Esta disminución lleva al control de la reacción, produciendo estructuras energéticamente más estables⁵⁷.

La estabilidad energética está dada por el valor de energía libre por unidad de superficie correspondiente a la cantidad de átomos coordinados sobre la superficie de cada plano cristalino.

En un sistema cristalino cúbico centrado en las caras como el del oro, los planos cristalinos con menor energía superficial son, en orden creciente de energía: (111), (100) y (110) con valores de 4,98, 8,87 y 10,51 eV/nm² respectivamente. Por esta razón, la probabilidad de obtener partículas con crecimientos preferenciales de los planos {111} es más alta ya que el cristal reduce su energía libre a una estructura cristalina con una configuración más estable de menor energía superficial⁵⁸.

La limitación de la concentración de oro por la reducción lenta del complejo AuX_4^- en las primeras etapas de formación, produce la cristalización y desarrollo de facetas cristalinas energéticamente más favorables formando puntas triangulares a través de un crecimiento preferencial del plano (111).

Etapa IV: Sobrecrecimiento

Como se ha mencionado las partículas primarias formadas en la etapa III se agregan entre sí formando una partícula de mayor tamaño. Este proceso de aglomeración es seguida por una etapa de sobrecrecimiento de oro sobre oro.

En la figura 18, se observa una imagen SEM de una partícula formada por el *Método II* de síntesis:

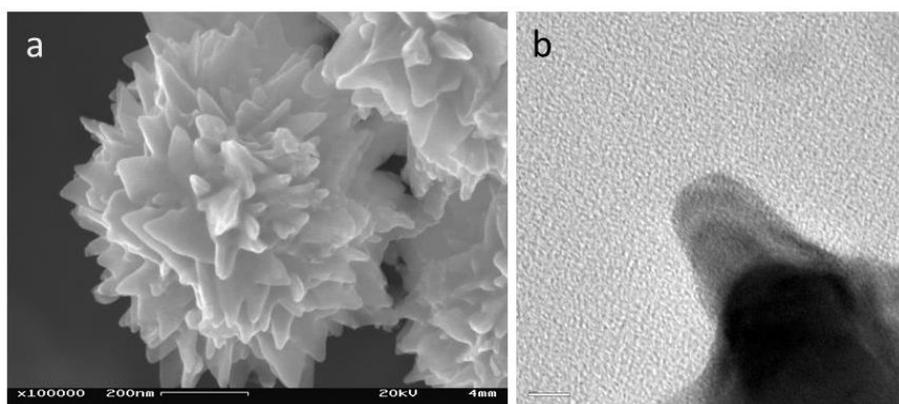


Fig. 18. a) Partículas nanoestructuradas tipo flores obtenida por el *Método II* y b) detalle de una de sus puntas

Por otra parte, se observó que cuando se utilizan altas concentraciones de oleilamina en la síntesis de partículas con TOAB, se obtiene un crecimiento similar al de nanohilos de oro en la superficie (fig. 19).

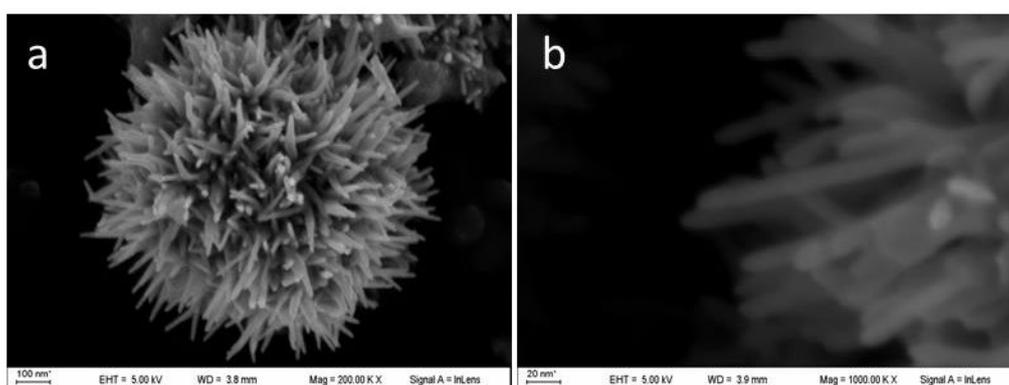


Fig. 19. a) Partículas obtenidas con exceso de OA en la síntesis y b) detalle de una de sus puntas.

Las imágenes sugieren un predominio del crecimiento cristalino producido por el exceso de oleilamina en el medio de reacción. Como se expuso anteriormente, la OA

se adsorbe a los planos (111) inhibiendo su crecimiento y favoreciendo el desarrollo de los planos (100) y (110) produciendo crecimientos tipo nanohilos en la superficie. El sobrecrecimiento observado indica que el exceso de OA presente dirige la morfología de la partícula en la etapa de sobrecrecimiento, mientras que a menores concentraciones el efecto del TOAB es el que gobierna la estructura final.

4. Conclusiones

El mecanismo de formación y crecimiento de las partículas nanoestructuradas de magnetita-oro obtenidas en la tesis sigue un mecanismo formación y crecimiento mediado por la aglomeración de partículas según lo observado en las caracterizaciones realizadas.

Sobre el estudio del efecto de cada aditivo utilizado en la síntesis para cada tipo de partícula:

- La molécula de oleilamina actúa como reductor de Au^{+3} , formando un complejo R-CH=NH : AuX_2^- . El complejo luego es reducido por hidroquinona a Au^0 .
- El TOAB utilizado como agente de transferencia forma un par iónico con Au^{+3} posiblemente con iones Cl^- y Br^- en el enlace de coordinación que retarda la velocidad de reducción del oro.
- El complejo AuX_4^- formado es reducido por la presencia de oleilamina a AuX_2^- y luego la hidroquinona produce la reducción de Au^{+1} a Au^0 .

El control de la forma de la partícula se logró mediante la variación de la concentración de los siguientes aditivos utilizados en la síntesis:

- Un exceso de oleilamina promueve la formación de puntas tipo nanohilos sobre la superficie de las partículas nanoestructuradas.
- La concentración de ácido oleico no tiene influencia apreciable en las condiciones de síntesis utilizadas en la morfología de la partícula.
- La concentración de bromuro en el aditivo TOAB afecta de forma directa la morfología de la partícula.
- En ausencia de bromuro se observó la obtención de partículas nanoestructuradas con otra morfología con pequeñas nanoestructuras 1D superficiales.
- El exceso de OA en la síntesis dirige el crecimiento cristalino aún en presencia de TOAB a sobrecrecimientos tipo nanohilos en la superficie de la partícula.

5. Referencias

1. V.K. LaMer, R.H. Dinegar; *J. Am. Chem. Soc.* 72 (1950) 4847.
2. Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim, S. E. Skrabalak; *Angew. Chem. Int. Ed.* 48 (2009) 60 – 103.
3. L. Zhou, P. O'Brien; *The Journal of Physical Chemistry Letters* 3 (5) (2012) 620–628.
4. V.Yuwono, N. Burrows, J. Soltis, R.Penn, R. Lee; *J. Am. Chem. Soc.* 132 (7) (2010).
5. D. Gebauer, H. Cölfen; *Nano Today Vol. 6*, No. 6 (2011) 564–584.
6. H. Wang, N. Halas; *J. Adv. Mater.* 20 (2008) 820–825.
7. M.Pradhan, J.Chowdhury, S.Sarkar, A.Kumar Sinha, T.Pal; *J. Phys. Chem. C* 116 (2012) 24301-24313.
8. Z.Guo, C.Shao, M.Zhang, J.Mu, Z.Zhang, P.Zhang, B.Chen, Y. Liua; *J. Mater. Chem.* 21 (2011) 12083–12088.
9. K.OKuyama, M.Abdullah, I. Wuled Lenggoro, F.Iskandar; *Advanced Powder Technol.*, Vol. 17, No. 6 (2006) 587–611.
10. J.Fang, P.Leufke, R.Kruk, D.Wang, T.Scherer, H.Hahn; *Nanotoday* 5 (2010) 175.
11. J. Fang, S. Du, S. Lebedkin, Z. Li, R.Kruk, M. Kappes, H. Hahn; *Nano Lett.* 10 (2010) 5006–5013.
12. R. Q. Song, H.Cölfen; *Advanced Materials* 22 (12) (2010) 1301–1330.
13. P.Capdevielle, A.Lavigne, D.Sparfel, J.Baranne-Lafont, N.Cuong, M.Maumy; *Tetrahedron Letters*, Vol. 31. No.23. (1990) 3305-3308.
14. H.Hiramatsu, F.E.Osterloh; *Chem. Mater.* Vol. 16, No. 13 (2004) 2509-2511.
15. A. Halder, N. Ravishankar; *J. Phys. Chem. B* (2006) 110, 6595-6600.
16. Z. Li, J. Tao, X. Lu, Y. Zhu, Y. Xia; *Nano Lett.*, Vol. 8, No. 9 (2008) 3052-3055.
17. X. Lu, M. S. Yavuz, H. Tuan, B. A. Korgel, Y. Xia; *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 8900–8901.
18. A.K. Gangopadhyay, A. Chakravorty; *The Journal of Chemical Physics* 35(1961) 2206-2209.
19. Z.Huo, C.Tsung, W.Huang, X.Zhang, P.Yang; *Nano Lett.*, Vol. 8, No. 7 (2008) 2041-2044.
20. A.Kisner; *Ultrathin Gold Nanowires: Chemistry, Electrical Characterization and Application to Sense Cellular Biology* Jülich (2013).
21. D.N.Sathyanarayana; *Vibrational Spectroscopy. Theory and applications* New Age International Publishers (2004).
22. J.Coates; *Encyclopedia of Analytical Chemistry* John Wiley & Sons Ltd (2000).
23. J. Stewart; *The Journal of Chem. Phys.* Vol. 30 no. 5 (1959) 1259.
24. C. Engelter, D. Thornton; *Transition Met. Chem.* 15 (1990) 212-216.
25. K. H. Schmidt, A. Muller; *Inorg. Chem.* 14 (1975) 2183.
26. Y.Ma, J.Zeng, W.Li, M.McKiernan, Z.Xe, Y. Xia; *Adv.Mater.* 22 (2010) 1930.
27. X. Lu, H. Y. Tuan, B. A. Korgel, Y. Xia; *Chem. Eur. J.* 14 (2008) 1584.

28. C.Wang, Y.Hu, C.M. Lieber, S.Sun; *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 8902–8903.
29. Z. Li, J. Tao, X. Lu, Y. Zhu, Y. Xia; *Nano Lett.* Vol. 8, No. 9 (2008) 3052–3055.
30. A. Halder, N. Ravishankar; *Adv. Mater.* 19 (2007) 1854–1858.
31. C. Liu, M. Cheng, S. Peng, S. Liu; *Organometallics* (1994) 13 (11) 4294–4299.
32. A. Kisner, S. Lenk, D. Mayer, Y. Mourzina, A. Offenhausser; *J. Phys. Chem. C*, Vol. 113, No. 47 (2009) 20143–20147.
33. K.Nakamoto; *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds* 4th Edition John Wiley & Sons (1980) pág. 191 y ss.
34. H. van der Poel, G. van Koten, K. Vrieze; *Inorg. Chem.* 19 (1980) 1145.
35. P. J. G. Goulet, R. B. Lennox; *J. Am. Chem. Soc.* 132 (2010) 9582–9584.
36. H. Qian, R. Jin; *Chem. Mater.* 23 (2011) 8, 2209–2217.
37. G.H. Woehrie, L. E. Brown, J. E. Hutchinson; *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 2172.
38. L. Wang, J. Luo, M. M. Maye, Q. Fan, Q. Redeng, M. H. Engelhard, C. Wang, Y. Lin, C.J. Zhong; *J. Mater. Chem.* 15 (2005) 1821.
39. M. Klokkenburg, J. Hilhorst, B. H. Erne; *Vibrational Spectroscopy* 43 (2007) 243.
40. B. J. Wiley, Y. Xiong, X. Y. Li, Y. Yin, Y. Xia; *Nano Lett.* 6 (2006) 765.
41. E. Ye, S. Zhang, S. Liu, M. Han; *Chem. Eur. J.* 17 (2011) 3074 – 3077.
42. F.A. Cotton, G. Wilkinson; *Ad. Inorg. Chem.* 5th Ed. John Wiley & Sons (1988) 343.
43. E.Ye, M.S. Bharathi, H. Pan, M. Lin, M. Bosman, K. Yin Win, H. Ramanarayan, S. Zhang, X. J. Loh, Y. Zhang, M. Han; *Nanoscale* 8 (2016) 543–552.
44. M.Brust, M. Walker, D. Bethell, D.J. Schiffrin, R. Whyman; *J. Chem. Soc. Chem. Comm.* (1994) 801.
45. S.A.AL-Thabaiti, J.I.Hussain, A.A.Hashmi, Z.Khan; *Canadian Chemical Transactions* (2013) Vol. 1, Issue 4, 238–252.
46. A.K.Singh, *Engineered Nanoparticles: Structure, Properties and Mechanisms of Toxicity* Academic Press (2015) pág. 22.
47. S. R. K. Perala, S. Kumar; *Langmuir* 29 (2013) 9863–9873.
48. P.Suppan; *Journal of Photochemistry and Photobiology, A: Chemistry*, 50 (1990) 293–330.
49. H. Isci, W.R. Mason, *Inorg. Chem.* 23 (1984) 565–1569.
50. T. Sau, C. Murphy; *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 126 No. 28 (2004) 8648–8649.
51. L. Sillen, A. Martell, J. Brejman; *Stability Constants of Metal ion Complexes* Chemical Society (1964).
52. S. H. Sun, H. Zeng; *J. Am. Chem. Soc.* 124 (2002) 8204.
53. M. R. Langille, M. L. Personick, J. Zhang, C. A. Mirkin; *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 14542–14554.
54. J. Xie, Q. Zhang, J. Y. Lee, D. Wang; *ACS NANO* Vol.2 No. 12 (2008) 2473–2480.
55. H. You, Y. Ji, L. Wang, S. Yang, Z. Yang, J. Fang, X. Song, B. Ding; *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 1998.
56. C.Bullen, P.Zijlstra, E.Bakker, M.Gu, C.Raston; *Cryst. Growth Des.* 11 (2011) 3375.

57. J.E. Millstone, S. J.Hurst, G. S.Metraux, J. I.Cutler, C.A. Mirkin; *Small* (2009) 5, No. 6, 646–664.
58. G.L.Hornyak, J. Dutta, H.F. Tibbals, A. Rao; *Introduction to Nanoscience* CRC Press (2008) pág. 315.
59. Z.Bian, T.Tachikawa, P.Zhang, M.Fujitsuka, T.Majima; *Nature Communications* DOI: 10.1038/ncomms4038.
60. P.Lloret, G.Ybarra, P.Granell, L.Socolovsky, C.Moina; *Nano-Structures & Nano-Objects* 4 (2015) 9–14.
61. J.D. Anastassopoulou; *Mass and FT-IR Spectra of Quaternary Ammonium Surfactants Chemistry and Properties of Biomolecular Systems series* Topics in Molecular Organization and Engineering Vol. 8 pp 1-9.
62. J.Fang, P.M. Leufkea, R. Kruka, D. Wang, T. Scherer, H. Hahn; *Nano Today* (2010) 5, 175–182.

6

Aplicaciones de partículas nanoestructuradas en sensado

La síntesis de partículas nanoestructuradas ha recibido mucho interés en la última década debido a la posibilidad de obtener un material con propiedades sintetizadas a medida. En el caso de sensado, la principal aplicación de los nanomateriales reside en su gran superficie disponible, que permite concentrar una gran cantidad de moléculas y en sus propiedades ópticas. Las partículas nanoestructuradas, poseen además propiedades magnéticas que permiten utilizarlas como agente de transporte y soporte de los analitos a analizar. En este trabajo de tesis, se planteó la posibilidad de utilizar las partículas nanoestructuradas obtenidas como sustratos para sensado de una molécula con detección Raman y para la determinación de la actividad de una enzima con detección electroquímica.

Los antecedentes bibliográficos¹⁻³ indican que las nanopartículas de oro son sustratos adecuados para espectroscopía Raman amplificada por superficie (SERS). Esta técnica es una espectroscopía óptica, que es empleada como técnica analítica de alta sensibilidad para el análisis de moléculas simples, fármacos, proteínas, pesticidas, virus, bacterias, etc. En nuestro caso, se estudiará la respuesta de diferentes tipos de partículas nanoestructuradas en la detección de rodamina 6G como analito de prueba.

Por otra parte, se evaluará la potencial aplicación de estas partículas en biosensado⁴⁻⁶. Se medirá la actividad de una enzima inmovilizada en la superficie de las partículas nanoestructuradas sintetizadas. Se analizará la actividad enzimática por detección electroquímica de una enzima que cataliza la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno.

1. Químico detección óptica por espectroscopía Raman amplificada por superficie

La espectroscopía Raman es una técnica que se basa en la dispersión inelástica de fotones y brinda información sobre los modos vibracionales y rotacionales de las moléculas. El fotón interactúa con la molécula y es dispersado con una energía diferente a la energía incidente. Esta diferencia de energía brinda información sobre los modos vibracionales del sistema. Cuando un fotón incide en forma elástica, la molécula permanece en el mismo nivel energético ya que no hay una transferencia de energía entre el fotón incidente y la molécula. La energía se dispersa como dispersión Rayleigh la cual posee la misma energía que el fotón incidente.

Una menor cantidad de los fotones se dispersan de forma inelástica con una energía distinta a la incidente y se la denomina dispersión Raman. Cuando la energía dispersada es mayor que la energía incidente se denomina dispersión Raman anti-Stokes mientras que cuando la energía dispersada posee menor energía que el fotón incidente se denomina Raman Stokes.

La dispersión Raman provee información sobre transiciones de estados en la molécula en los modos vibracionales y rotacionales ya que la energía incidente no es suficiente como para excitar la molécula a un nivel electrónico de mayor energía. El proceso de dispersión se puede graficar (figura 1) como un proceso en dos etapas, una de absorción del fotón incidente y otra de dispersión espontánea del mismo. Para que se produzca la absorción del fotón la molécula debería ser excitada a un estado electrónico superior, ya que esto no es lo que ocurre ese estado de transición momentáneo se denomina *estado virtual* de energía.

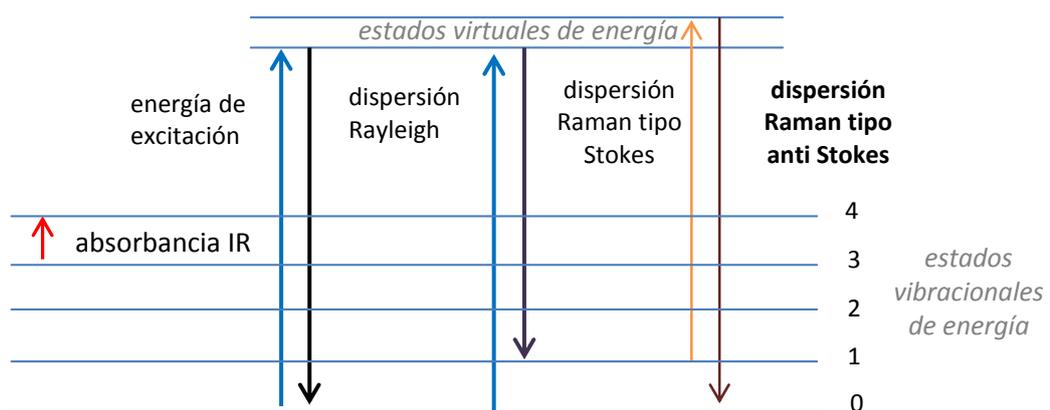


Fig. 1. Diagrama energético de una molécula al incidir una onda electromagnética.

Sólo uno de cada 10^7 fotones incidentes se dispersa como dispersión Raman, por lo que para aumentar la señal se recurre estructuras y nanopartículas metálicas que producen una amplificación de la señal Raman por fenómenos electromagnéticos

localizados llamada *Espectroscopía Raman amplificada por superficie (SERS)*.

La espectroscopía SERS es una técnica analítica, que se basa en la amplificación de la señal de una molécula adsorbida sobre la superficie rugosa de un metal o sobre nanoestructuras metálicas.

La intensificación de la señal Raman depende de varios factores: la naturaleza de la molécula sonda, la longitud de onda que incide en la muestra, el tipo de sustrato/partícula usado y el ordenamiento de las partículas en la superficie. Estas variables se clasifican en dos clases según el tipo de contribución: en los que interviene un *mecanismo químico* y en los que interviene un *fenómeno electromagnético de amplificación*.

La contribución al efecto Raman por mecanismos electromagnéticos son los que están asociados a la excitación del plasmón superficial del sustrato y directamente relacionados con la forma, el tamaño de partícula y su ordenamiento⁷.

En la actualidad existen tres tipos de sustratos usados para SERS: nanopartículas metálicas coloidales, superficies metálicas rugosas y estructuras periódicas. El factor de amplificación de la señal es uno de las características distintivas de cada sustrato y está definido como la relación de la intensificación de la señal cuando se utiliza el sustrato y la señal medida sin usar el sustrato en función de la cantidad de moléculas presentes. Se encuentra en el orden de 10^6 - 10^7 ^(8,9) y pueden lograrse hasta amplificaciones gigantes del orden de 10^{12} - 10^{13} producidas por los llamados "hot spots" de las estructuras metálicas¹⁰⁻¹¹. En éstos se produce una intensificación del campo electromagnético en los espacios entre partículas, en puntas y bordes nanoestructurados presente en materiales como flores¹²⁻¹⁴, estrellas^{15,16} y erizos¹⁷⁻¹⁹.

Los hot spots son espacios de algunos nanómetros de distancia que se producen en las cavidades interpartículas donde se puede ubicar la molécula sonda y el campo electromagnético es amplificado produciendo una intensificación de la señal del orden de 10^{11} . A modo de ejemplo, para el caso de una partícula dieléctrica⁷, la señal medida por la modificación del campo electromagnético es de dos órdenes menor de magnitud con respecto a la señal medida para una partícula conductora (figura 2). Si analizamos el caso de dos partículas conductoras con una distancia entre ellas de 2 nm, la intensificación electromagnética medida se encuentra cercana a 10^5 abarcando casi todo el espectro visible.

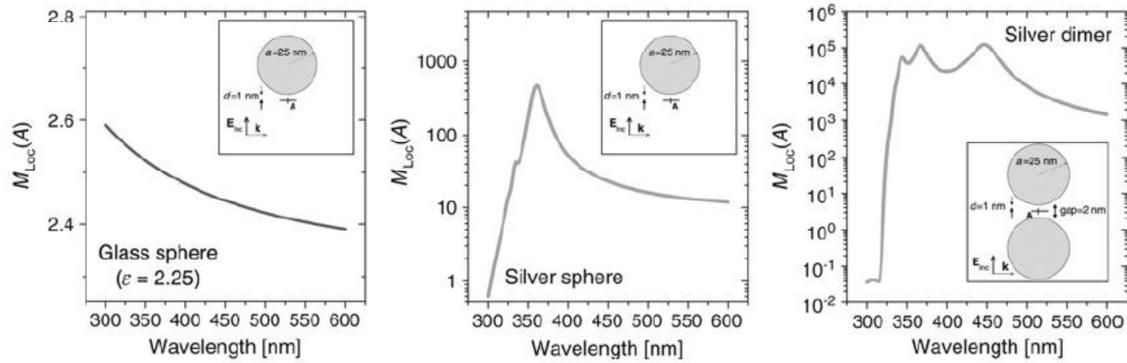


Figura 2: Ejemplos de amplificación SERS en partículas de vidrio y plata⁷, siendo $M_{loc}(A)$ el factor de amplificación del campo electromagnético localizado.

En la figura 3 se muestra un ejemplo de la amplificación de la señal Raman por partículas nanoestructuradas de oro depositadas sobre una superficie²⁰. La señal obtenida usando para-mercapto anilina (pMA) como molécula sonda, tiene un factor de amplificación cercano a 40 con respecto a la señal de la pMA pura. Se obtiene un espectro con mayor definición y cantidad de bandas, surgen nuevos picos que sin el efecto de amplificación por superficie no son visibles.

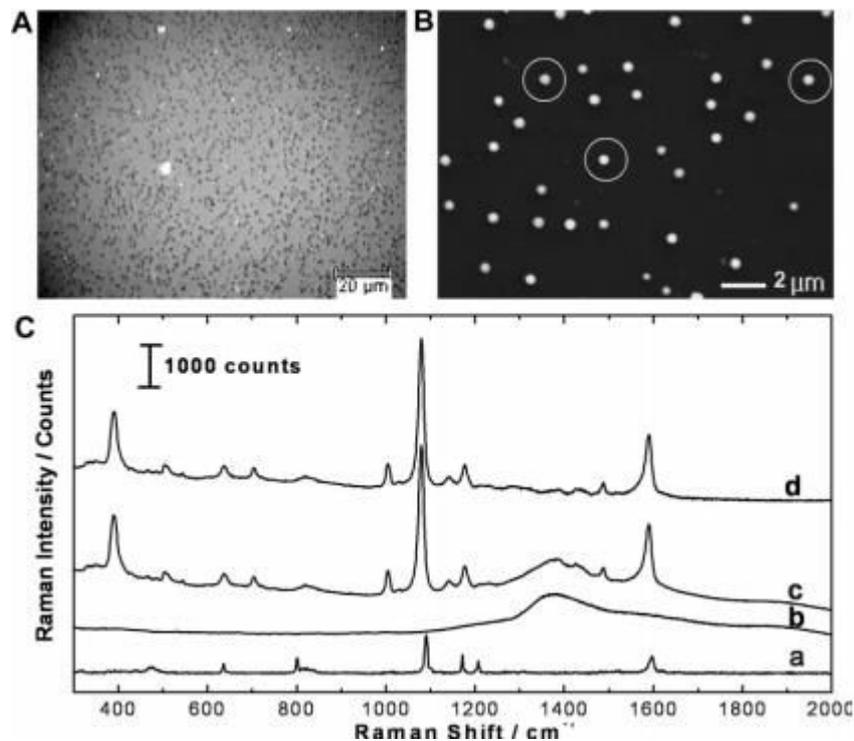


Figura 3. A) Imagen óptica de partículas de oro sobre un sustrato de vidrio e imagen SEM (B). (C) Espectros Raman obtenidos de (a) para-mercapto anilina (pMA) pura, (b) partículas coloidales, (c y d) partículas con pMA²⁰.

El mecanismo químico es el proveniente de la naturaleza química de la molécula de prueba y está relacionado con el tipo de unión e interacción con el sustrato, en nuestro caso también con la interacción con las partículas nanoestructuradas. La contribución al efecto de intensificación de la señal es mucho menor (10^2) que el mecanismo electromagnético. Este mecanismo considera el efecto de la molécula sonda adsorbida en la superficie del sustrato cuando es iluminada con la misma longitud de onda de absorción de la molécula.

Se produce un cambio en la polarizabilidad electrónica de la molécula a través de la formación de un complejo de transferencia de carga, lo que genera una dispersión Raman resonante que contribuye a la amplificación final de la señal⁷.

En esta tesis se han obtenido partículas nanoestructuradas que parecieran poseer las características morfológicas adecuadas para exhibir un efecto importante de amplificación de la señal Raman, debido a sus múltiples puntas y geometrías complejas en la escala nanométrica necesarias para crear los hot spots que producen la amplificación de la señal.

En la próxima sección presentaremos y compararemos cuatro tipos diferentes de partículas nanoestructuradas obtenidas en los capítulos anteriores (fig. 4). Se eligieron cuatro tipos de partículas con distintas morfologías superficiales obtenidas por los dos métodos de síntesis presentados:

- a) partículas sin puntas superficiales llamada *Tipo I* [síntesis Ie]
- b) partículas nanoestructuradas con pequeñas estructuras superficiales llamada *Tipo II* [síntesis Ia]
- c) partículas nanoestructuradas con puntas triangulares llamada *Tipo III* [síntesis IIa]
- d) por último, partículas con múltiples puntas en forma de nanohilos llamada *Tipo IV* [síntesis IIe].

Las partículas denominadas Tipo I y II se obtuvieron por el *Método I* de síntesis. Las partículas denominadas Tipo III y IV se obtuvieron por el *Método II* de síntesis.

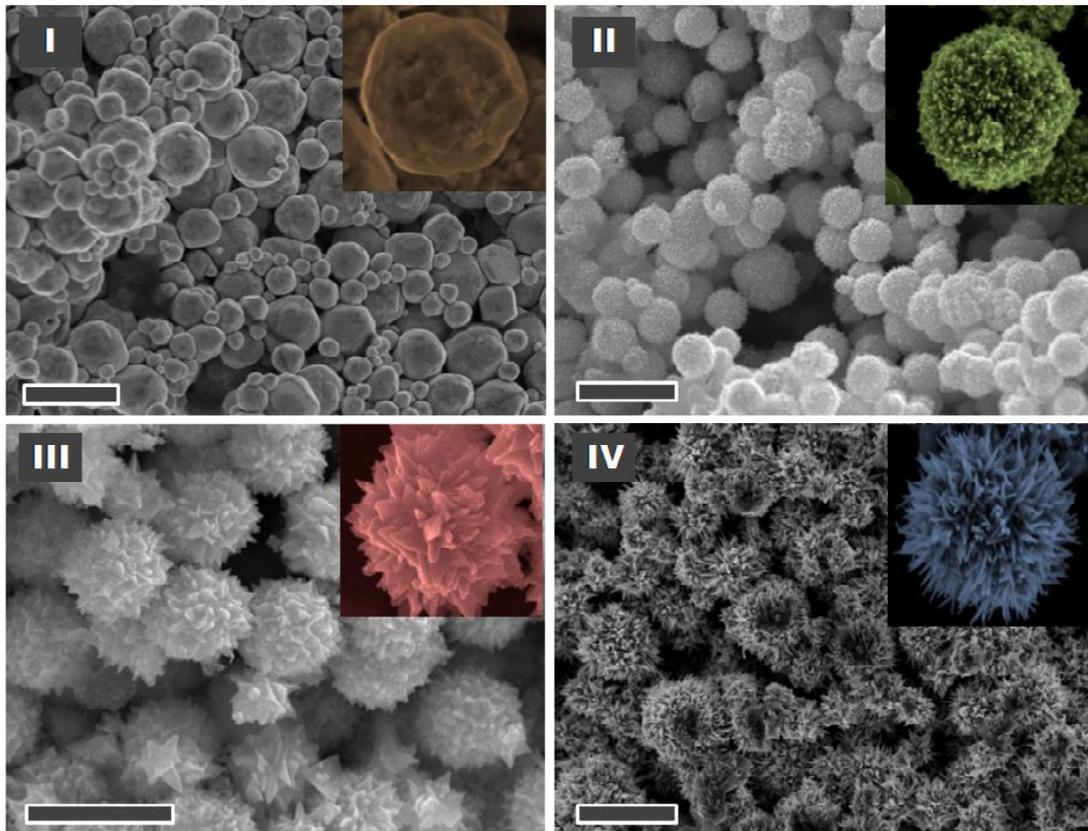


Fig. 4: Imágenes SEM de los diferentes tipo de partículas seleccionadas como sustratos SERS. Las partículas tipo I y II fueron obtenidas por el *Método I* con 1,2 y 2,4 mM de oleilamina respectivamente en ausencia de TOAB. Las partículas tipo III y IV fueron sintetizadas por el *Método II* con 2,4 y 24 mM de oleilamina respectivamente y 1,5 mM de TOAB. Escala: 1 μm .

Se evaluará cómo influyen las características geométricas de las partículas nanoestructuradas en la amplificación de la señal SERS utilizando rodamina 6G como molécula de prueba.

1.1. Experimental

Las mediciones se realizaron en un microscopio Raman triple Jobin-Yvon T64000 en el Laboratorio de Optoelectrónica del Instituto Balseiro. El equipo posee un rango de medición en el Uv-visible-infrarrojo cercano con un detector CCD o dispositivo de carga acoplada ubicado sobre un banco óptico frente al portamuestra representado en la figura 5. Para las mediciones se utilizó un láser de argón-kriptón (Ar/Kr) color rojo con longitud de onda de 647 nm. El láser posee una potencia variable entre 10 y 30 mW. En los ensayos se utilizó con una intensidad máxima de 20 mW medida in situ mediante un equipo externo.

La resolución espectral del equipo está dada por la eficiencia en la separación del haz láser dispersado en sus diferentes longitudes de onda, mediante una red de difracción ubicada en la entrada del detector.

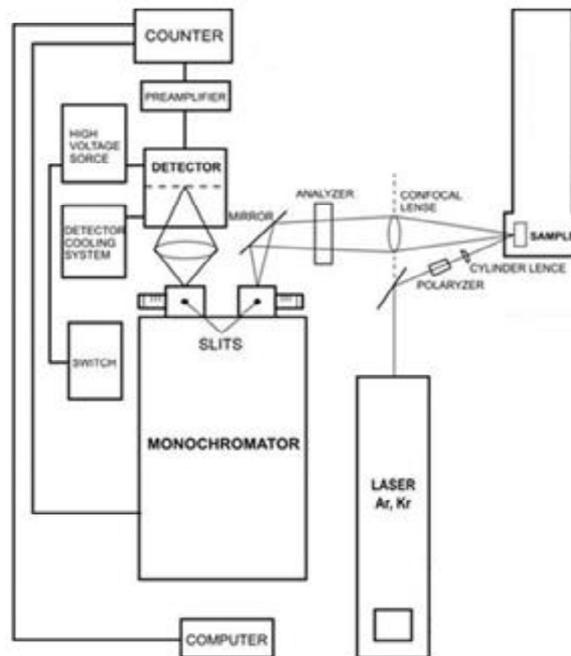


Figura 5. Esquema representativo de la configuración del equipo Raman utilizado.

La red de difracción posee un número finito de líneas que definen la resolución y el rango espectral; cuanto mayor es el número de líneas, mayor es la resolución y más acotado el rango espectral medido. Esta relación entre resolución y rango espectral tiene consecuencias prácticas, ya que con el sistema experimental empleado, sólo puede conseguirse un espectro Raman completo a costa de reducir la resolución, y un espectro de mayor resolución al costo de reducir la región espectral registrada.

Se utilizó una grilla de máxima resolución de 1800 líneas/mm y se eligieron dos rangos espectrales de trabajo: 400 a 800 nm y de 1200 a 1800 nm. En estos rangos se encuentran los picos de rodamina más intensos y característicos a 610 y 1340 cm^{-1} que fueron utilizados como referencia para los análisis posteriores.

Las muestras fueron preparadas según el protocolo del capítulo 2 sección 5.1. Se depositó un volumen de una dispersión en etanol de cada tipo de partícula sobre un soporte de silicio, se secó con una corriente de nitrógeno y luego se agregó $10\text{ }\mu\text{l}$ de una solución en etanol de rodamina 6G $7,5\text{ }\mu\text{M}$ y se repitió el secado.

1.2. Resultados

En un primer paso, se realizó la medición del espectro Raman de la molécula de sonda para estudiar sus bandas características. La muestra se preparó sobre una superficie de oro en la cual se depositó un volumen de rodamina 6G en etanol. Se iluminó con un láser de 647 nm en distintos rangos espectrales que luego fueron reconstruidos para graficar el espectro completo (fig. 6).

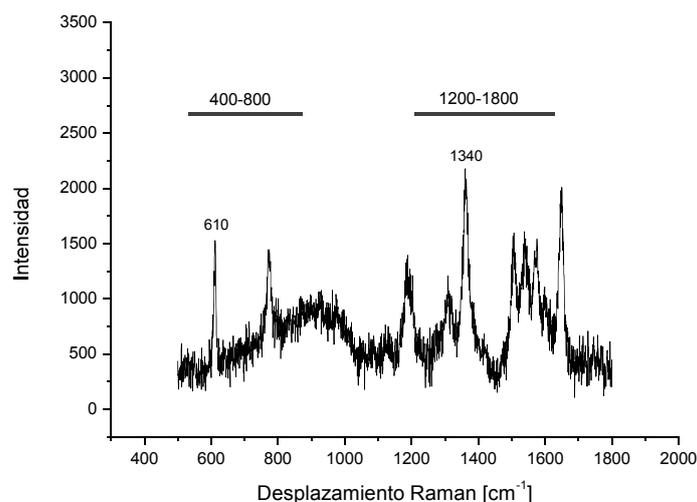


Figura 6: Espectro Raman de Rodamina 6G.

En el espectro se observan las bandas de vibración principales de la molécula de rodamina, siendo los picos más intensos y definidos los ubicados en 610, 1340 y 1680 cm^{-1} . La banda en 610 cm^{-1} es característica de la molécula de rodamina y corresponde al modo vibracional C-C-C de flexiones en el plano²¹.

Para realizar las mediciones de rodamina sobre las distintas partículas nanoestructuradas se eligieron las bandas principales ubicados en los rangos espectrales de 400-800 y 1200-1800 cm^{-1} . La medición en el rango espectral completo no se realizó para evitar el decaimiento de la señal medida por degradación por exposición prolongada al láser y así obtener mayor resolución en las bandas estudiadas.

En la figura 7 se muestran los resultados obtenidos para los diferentes tipos de partículas en el rango espectral de 400-800 cm^{-1} con rodamina 6G 7,5 μM :

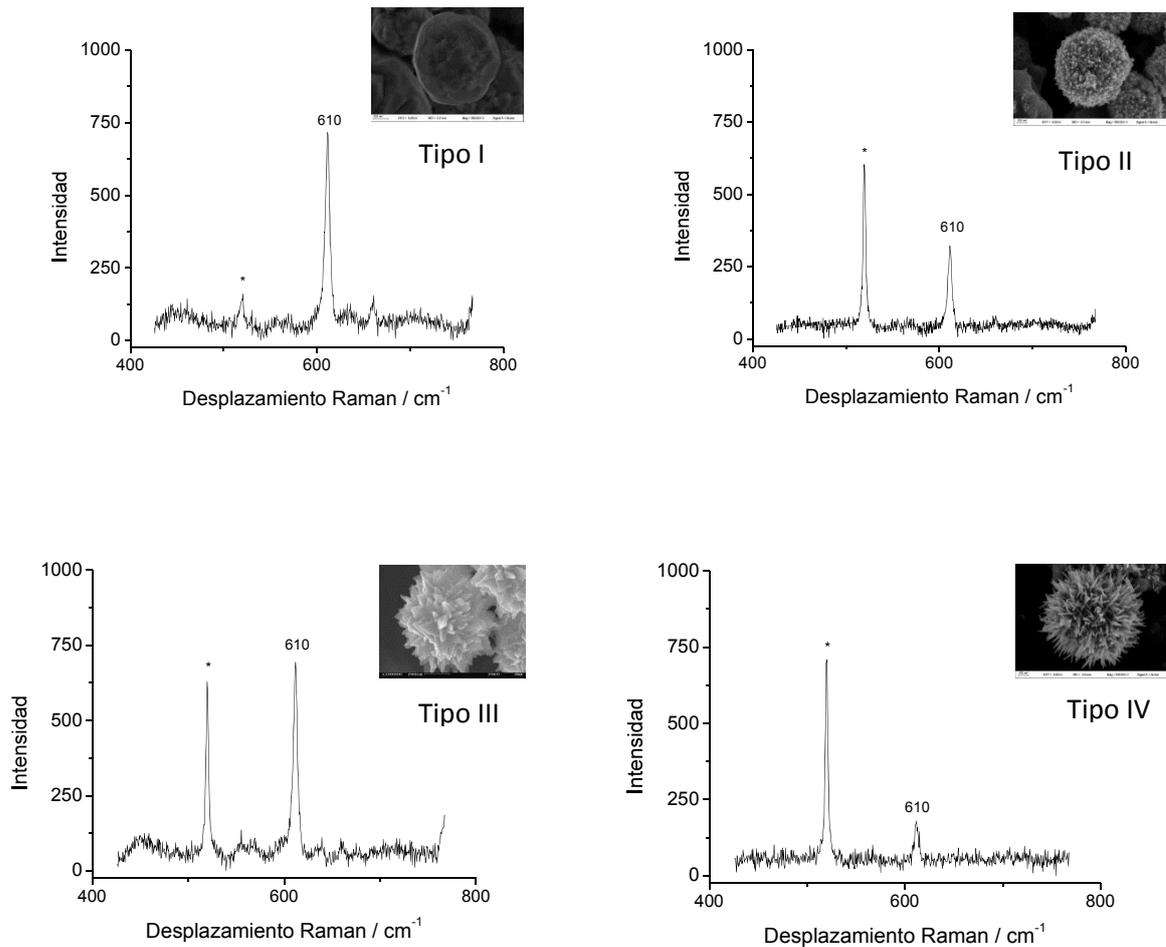


Figura 7: Resultados obtenidos en el rango espectral de 400 a 800 cm^{-1} sobre 4 tipos de partículas nanoestructuradas depositadas sobre silicio con rodamina 6G de concentración 7,5 μM .

En los espectros medidos de la figura 7 se observan dos bandas intensas en 520 (*) y 610 cm^{-1} . La banda observada a 520 cm^{-1} es característica del silicio cristalino, la cual está presente en todos los espectros medidos lo que indica que parte del haz del láser incidió sobre el sustrato. Por otra parte, encontramos la banda característica de la molécula de rodamina a 610 cm^{-1} correspondiente al modo vibracional C-C-C de la rodamina 6G.

Se estudió la incidencia de la concentración de rodamina 6G sobre las mediciones en el rango espectral de 600-800 nm. En la figura 8 se muestran los resultados obtenidos utilizando altas concentraciones de rodamina 6G (7,5 mM) sobre los cuatro tipos de partículas nanoestructuradas iluminadas con un láser de 647 nm:

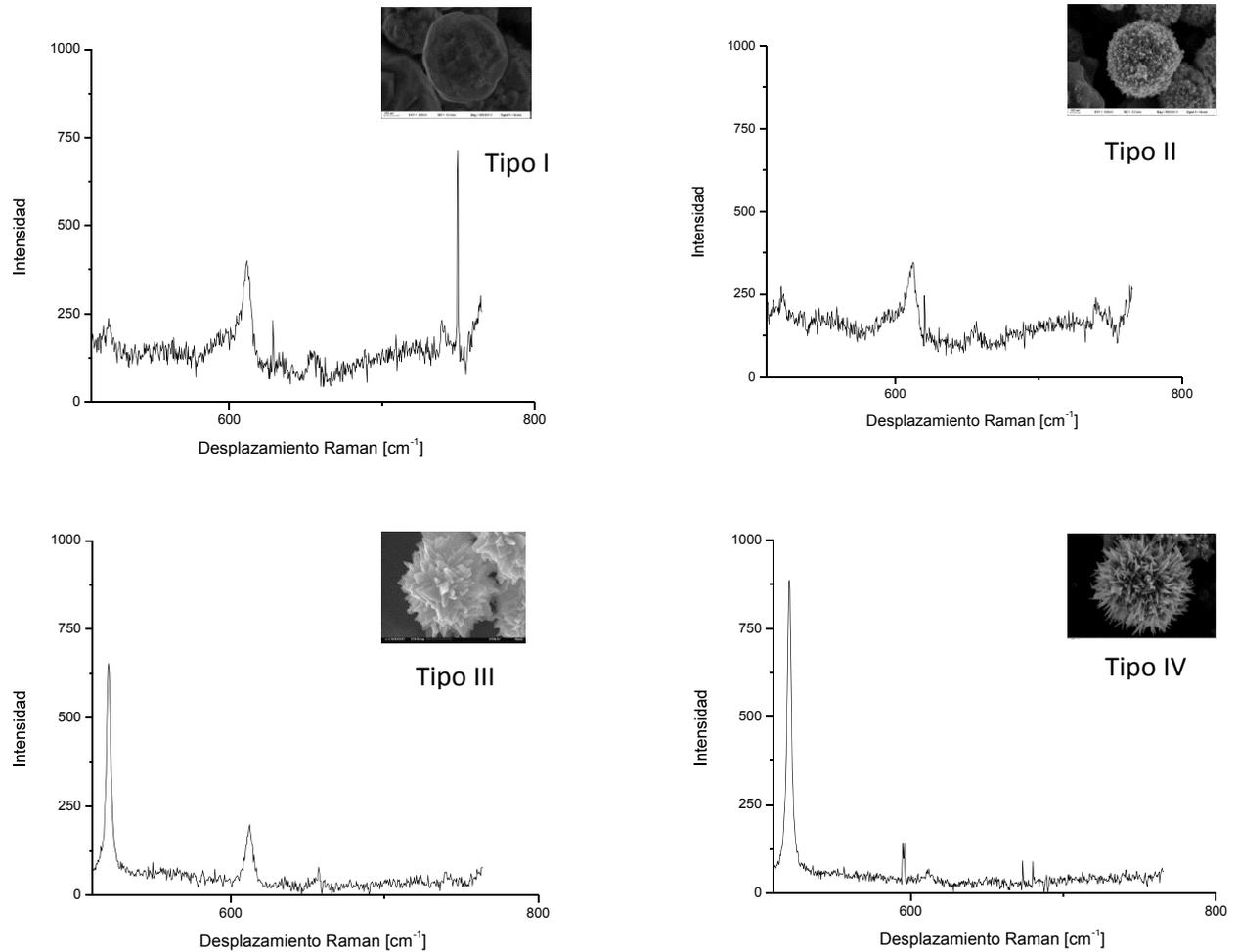


Figura 8: Espectros obtenidos en el rango espectral de 600 a 800 cm⁻¹ sobre 4 tipos de partículas nanoestructuradas depositadas sobre silicio con rodamina 6G de concentración 7,5 mM.

Luego se realizó el análisis de la intensificación de la señal Raman de la rodamina 6G, en el rango espectral de 1200-1800 cm⁻¹ donde se encuentran las bandas de absorción más intensas a 1340 y 1680 cm⁻¹. En la figura 9 se muestran los resultados obtenidos para los cuatro tipos de partículas nanoestructuradas utilizando rodamina 6G 7,5 μM:

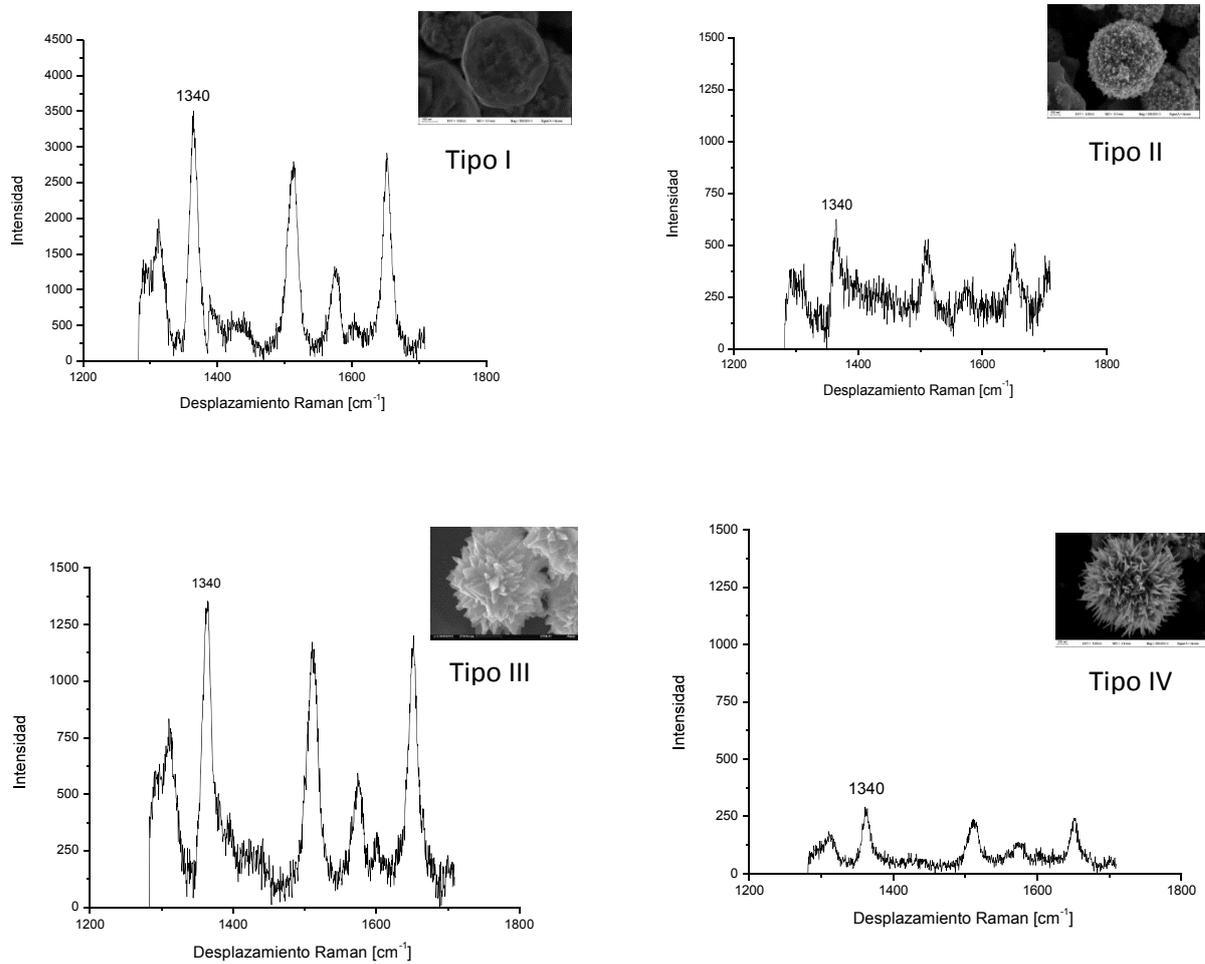


Figura 9: Espectros obtenidos en el rango espectral de 1200 a 1800 cm^{-1} sobre 4 tipos de partículas nanoestructuradas depositadas sobre silicio con rodamina 6G de concentración 7,5 μM .

En la figura 9 se muestran los espectros obtenidos en el rango espectral de 1200-1800 cm^{-1} . Se observan una gran cantidad de bandas vibracionales de rodamina con 3 bandas de absorción bien definidas en 1340, 1520 y 1680 cm^{-1} .

La señal más intensa corresponde a la banda de absorción en 1340 cm^{-1} y se utilizó para realizar la comparación entre las señales medidas sobre las distintas partículas nanoestructuradas.

1.3. Discusión

Se realizó un esquema comparativo de intensidades en la banda de absorción característica y según los tipos de partículas analizadas. En la figura 10, se muestran los resultados obtenidos en la longitud de onda de 610 cm^{-1} para dos concentraciones de rodamina 6G $7,5\text{ }\mu\text{M}$ y $7,5\text{ mM}$:

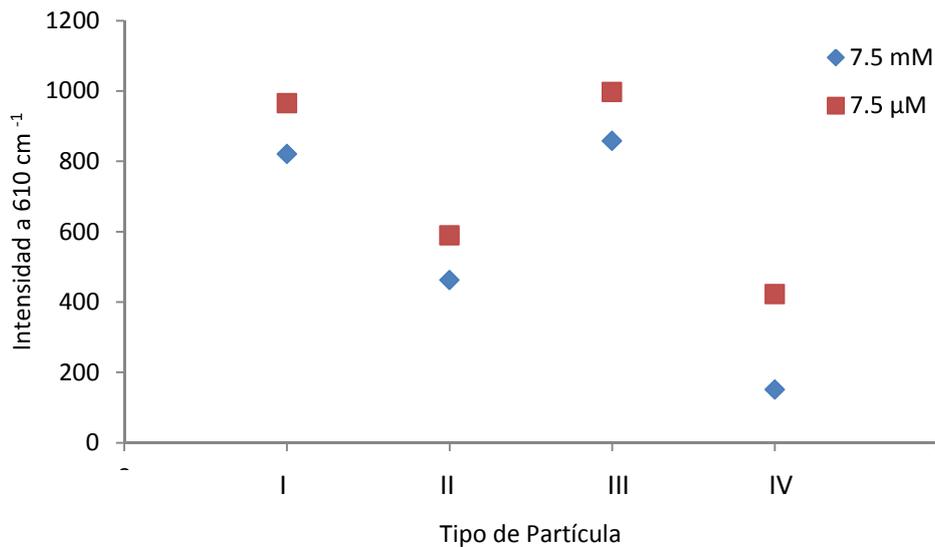


Figura 10. Comparación de intensidades a 610 cm^{-1} con diferentes concentraciones de rodamina 6G.

Los resultados muestran una mayor contribución a la intensificación de la señal Raman por parte de las muestras tipo I y III, correspondientes a las partículas sin puntas y a las partículas con puntas triangulares. Los tipos de partículas II y IV poseen una menor contribución correspondiente a las partículas tipo con pequeñas nanoestructuras superficiales (tipo II) y tipo nanohilos (tipo IV).

En la figura 11 se muestran los resultados obtenidos a una longitud de onda de 1340 cm^{-1}

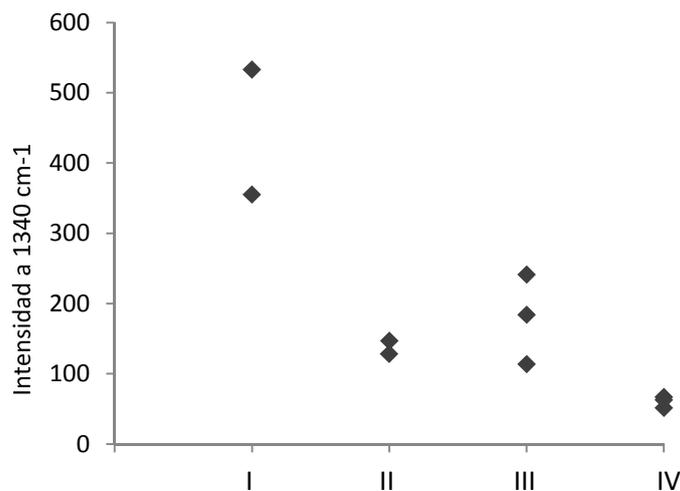


Figura 11. Comparación de intensidades a 1340 cm^{-1}

Los resultados muestran una variabilidad entre datos de una misma muestra pero aun así indican una clara tendencia de una mayor contribución de las muestras de partículas Tipo I y III en la amplificación de la señal Raman como lo observado para la longitud de onda a 610 cm^{-1} .

Los resultados confirman una amplificación de la señal Raman por efecto de superficie por la presencia de partículas. Esta intensificación se cuantifica a través del factor de amplificación que se calcula como la señal de un número de moléculas de la sonda de prueba con y sin efecto SERS. Para calcular el factor de amplificación es necesario conocer la señal de la molécula de rodamina 6G en solución y la configuración del banco óptico utilizado no lo permite. Por lo tanto, la estimación del efecto de amplificación se realizará por comparación entre partículas con los resultados obtenidos.

Por otra parte, se observó que las primeras mediciones realizadas sobre cada tipo de partícula con rodamina 6G corresponden a las señales más altas, y las repeticiones siguientes son valores inferiores. Esto sugiere la existencia de un proceso de degradación de la molécula de prueba por acción del láser de incidencia, conocido como *photobleaching* o *fotoblanqueo*⁷. La intensidad del láser de incidencia provoca la destrucción de la molécula de rodamina 6G por calentamiento, disminuyendo la concentración de moléculas de rodamina 6G en la superficie, dando señales inferiores en las mediciones posteriores.

Como se mencionó anteriormente, la contribución a la intensificación de la señal de la sonda de prueba, está dada por dos tipos de mecanismos electromagnético y químico. La sonda utilizada fue rodamina 6G la cual posee un máximo de absorción en el visible en 530 nm (fig.12).

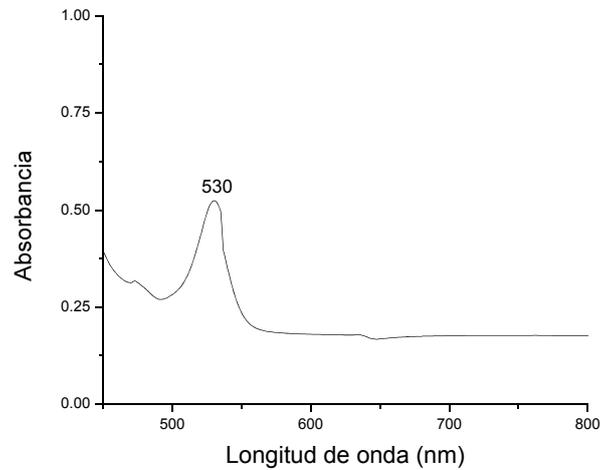


Fig. 12. Espectro de absorción de rodamina 6G.

La muestra fue iluminada con un láser con longitud de onda de 647 nm, lejos de la frecuencia de excitación de la molécula; lo que sugiere que la contribución a la amplificación de la señal Raman por efectos químicos de la unión de la molécula con el sustrato es despreciable y que la intensificación de la señal de rodamina se debe principalmente a fenómenos de origen electromagnético.

Por otro lado, el mecanismo electromagnético es generado por el plasmón asociado a las partículas nanoestructuradas y depende del tamaño y la forma de las mismas. En éste se produce una oscilación colectiva de electrones en la superficie que genera una amplificación en la señal de dispersión Raman. Cuando la resonancia se encuentra cercana a la longitud de onda del láser con el que se ilumina la muestra, el efecto de intensificación es aún mayor.

Una partícula esférica de oro coloidal posee un solo plasmón superficial asociado ubicado en 520 nm. En una esfera de oro surgen interacciones dipolo en fase entre la onda electromagnética incidente y los electrones de la partícula. A medida que la partícula aumenta de tamaño y su geometría es más compleja surgen múltiples plasmones asociados. Cuando la estructura es más compleja parte de las interacciones son desfasadas en la superficie dando como consecuencia modos mayores (cuadrupolo, hexapolo) representados en la figura 13.

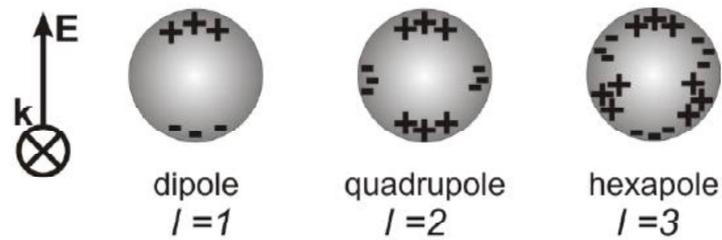


Fig. 13. Tipos de plasmones asociados a nanoestructuras⁷.

En el caso de las partículas nanoestructuradas, los plasmones asociados son múltiples dando como resultado un espectro uv-visible complejo con ausencia de bandas de absorción definidas sino como una convolución de señales con tendencia al máximo en el infrarrojo cercano. En la figura 14 se observa los espectros Uv-visible obtenidos para los cuatro tipos de partículas en agua:

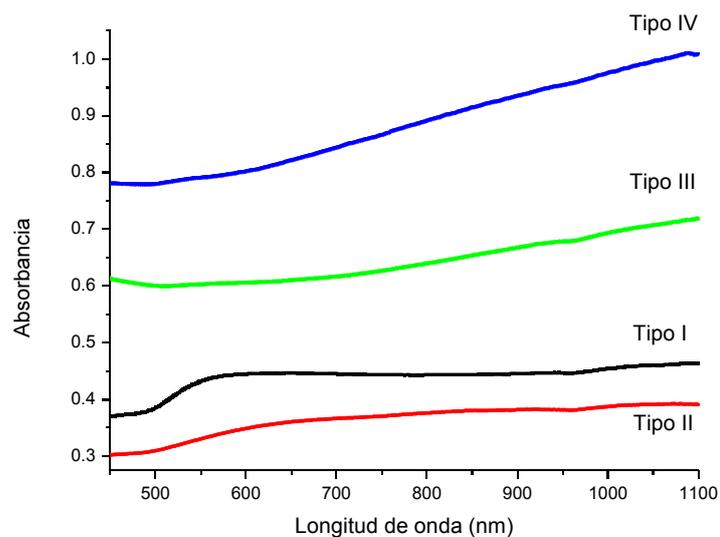


Fig.14. Espectro Uv-visible de los cuatro tipos de partículas utilizadas como sustrato SERS.

En la figura 14 se observa la ausencia de bandas de absorción definidas para los tipos de partículas utilizados. Este tipo de espectro es típico de partículas de oro con múltiples puntas. Sólo en el caso de las partículas tipo I se observa una banda alrededor de 550 nm; para todos los tipos de partículas el máximo de absorción se encuentra en longitudes de onda superiores a 1100 nm.

Por lo que se infiere que el aumento de la señal Raman dado por la excitación de la longitud del láser incidente con el máximo del plasmón no es apreciable. Por lo tanto, se deduce que la amplificación de la señal se encuentra relacionada con la geometría

de las partículas y la intensificación del campo en las puntas e intersticios del ordenamiento en la superficie de silicio.

Las partículas con nanoestructuras superficiales producen un aumento mayor en la señal Raman que las partículas con superficies lisas. Este efecto es debido a la presencia de *hot spots* en los vértices de las puntas y en los intersticios entre partículas. En el caso de las partículas sintetizadas en esta tesis, las señales obtenidas son similares entre partículas nanoestructuradas y partículas facetadas, por lo que se infiere que el tipo de ordenamiento en la superficie genera espacios interpartículas que actúan como sitios de amplificación.

Este mismo efecto fue observado por You et al.¹⁹ quien obtuvo grandes amplificaciones de señal Raman en su trabajo con nanopartículas nanoestructuradas de oro tipo erizos. Observó un gran efecto por amplificación de la señal en partículas poliédricas sin puntas en la superficie, debido al ordenamiento de las mismas en la superficie del sustrato. Este tipo de partículas se agrupan en forma ordenada al ser depositadas sobre un sustrato, lo que genera espacios interpartícula periódicos de algunos nanómetros de separación²². Se generan sitios de intensificación de la señal produciendo un efecto SERS ya descrito anteriormente (*ver figura 2*). Este efecto produce intensificaciones análogas a las obtenidas con puntas o nanoestructuras de oro. En el caso de las partículas con puntas superficiales, el ordenamiento es menos regular observándose el efecto SERS sólo por contribución del efecto de las puntas.

En nuestro caso, se observó (fig. 15) un mejor ordenamiento de las partículas tipo I en la superficie de silicio, que generan espacios pequeños interpartícula.

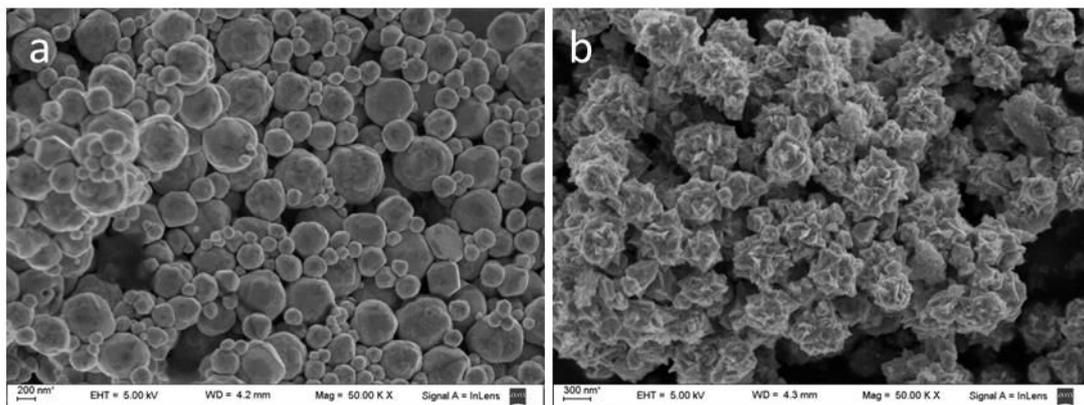


Fig.15: a) partículas tipo I b) partículas tipo III sobre una superficie de silicio.

En la imagen 15b se observa el ordenamiento de partículas tipo III con espacios interpartícula mayores a los observados para las partículas tipo I. Se observan cúmulos de partículas distribuidos sobre la superficie de la oblea de silicio de forma inhomogénea. Esto puede generar la dispersión de datos observada en las distintas mediciones al incidir el spot del láser sobre muchas o pocas capas de partículas aglomeradas la cantidad de rodamina 6G medida es diferente²³.

Por último, los resultados obtenidos con menor concentración de rodamina 6G son más altos que los valores observados para altas concentraciones, como se muestra en la figura 8. La concentración de analitos utilizada para SERS se encuentra en el orden de 10^{-5} M como regla general ya que se busca depositar una monocapa de moléculas en la superficie de las partículas. Para concentraciones más altas, como el usado en nuestro caso $7,5 \cdot 10^{-3}$ M, la rodamina 6G forma dímeros entre sus moléculas que al no estar en contacto directo con la superficie del metal de las partículas sino en multicapas, genera fluorescencia que disminuye la señal medida por quenching y aumenta el ruido de base como lo observado en las mediciones de la figura 8. Este efecto de multicapa explicaría la similitud del orden de las señales para ambas concentraciones. Es probable que aún a bajas concentraciones los sitios activos (hot spots) estén saturados, por lo que el efecto de mayores concentraciones afectaría muy poco la magnitud de la señal.

Las figuras 8 y 9 muestran un aumento en la señal SERS en las partículas tipo III respecto de las partículas con nanoestructuras tipo IV (tipo nanohilos). Este efecto puede ser debido a la morfología de las nanoestructuras. Se ha sugerido²⁴⁻²⁵ que en nanoestructuras de oro no solo las puntas, sino también los bordes afilados se comportan como “hot spots”. En la figura 16 se observa una simulación de la amplificación del campo electromagnético en partículas tipo flores con puntas triangulares. Las puntas individuales poseen menor contribución que si se encuentran en contacto con otra punta vecina. El efecto de proximidad es análogo al que se ha discutido anteriormente (figura 2) y puede llegar a magnificaciones del efecto SERS de hasta 10^3 respecto a una punta aislada²⁴.

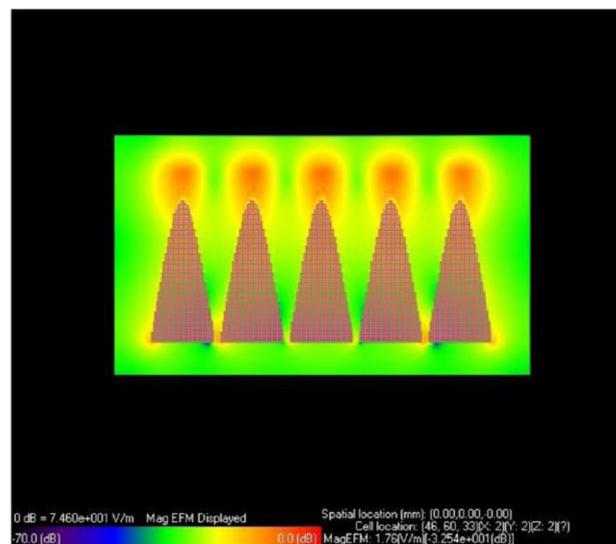


Figura 16: Amplificación del campo electromagnético en puntas triangulares²⁴.

De esta forma las morfologías triangulares tipo pétalos ofrecerían una mayor cantidad de sitios activos en las puntas y en los espacios entre pétalos de una misma partícula. En las partículas con morfologías cilíndricas tipo nanohilos, en las que sólo las puntas

actúan como intensificadoras de la señal SERS, la amplificación de la señal es menor lo que puede explicar que las señales obtenidas sean más bajas.

2. Sensado con detección electroquímica

Un biosensor es un dispositivo analítico compacto que cuenta con un elemento de reconocimiento biológico (enzimas, anticuerpos, etc.) que al interactuar con el analito genera un tipo de señal (óptica, electroquímica, etc) que posteriormente es convertida en una señal eléctrica por medio de un transductor.

Este tipo de configuración puede presentar algunos inconvenientes ya que los componentes biológicos son poco estables, puede resultar difícil su inmovilización en una superficie sin desnaturalizarlos y que pierdan su actividad y por otro lado, el nivel de detección es muy bajo ya que se utilizan en pequeñas cantidades que dan señales muy bajas. Las partículas de oro magnéticas tienen particular interés en biosensado ya que es posible inmovilizar un componente biológico por afinidad química y permiten preconcentrar las partículas con ayuda de un imán externo y aumentar así el límite de detección.

Como prueba de concepto se realizó la inmovilización de la enzima de rábano picante (HRP) sobre la superficie de partículas nanoestructuradas sintetizadas en esta tesis y su posterior detección de actividad enzimática para estudiar el potencial uso de este tipo de partículas en biosensado.

2.1. Experimental

Se realizó la detección electroquímica de una enzima catalizadora de la descomposición de peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno. Se inmovilizó la enzima de rábano picante (HRP) sobre las partículas nanoestructuradas por unión covalente y luego se preconcentraron con ayuda de un imán permanente sobre la superficie de un electrodo de oro de trabajo. Los electrodos de oro fueron lavados con solución piraña y luego lavados con agua destilada. Se realizaron barridos midiendo el potencial en función de un electrodo de referencia de Ag/AgCl en 0,1 M KCl. Las mediciones electroquímicas se

realizaron a 25 °C en buffer 0,1 M PBS a pH 7 con 0,1 M de KCl y 4 mM de hidroquinona como mediador redox. Se realizaron barridos a una velocidad de 20 mV/seg de 0 V a -0,3 V.

En la figura 17 se muestra un esquema del electrodo utilizado para determinar la actividad enzimática de la HRP unida a una partícula por detección electroquímica:

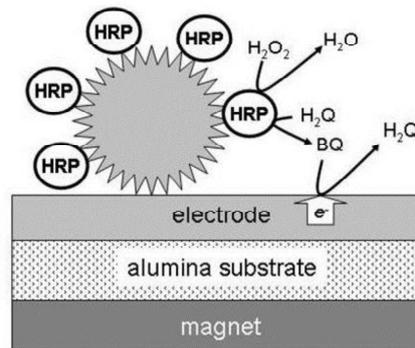


Figura 17. Esquema del electrodo utilizado para medir la actividad enzimática usando una partícula nanoestructurada como soporte.

2.2. Resultados y discusión

En la figura 18 se muestran los resultados obtenidos al realizar el barrido de potencial. En ausencia de peróxido de hidrógeno (A) la corriente tiene un valor en el orden de 0,5 mA. Cuando se agregan peróxido de hidrógeno a una concentración de 0,5 mM, el H_2O_2 es reducido por la acción enzimática de la HRP y la hidroquinona es oxidada a benzoquinona. En potenciales negativos, la benzoquinona es reducida en la superficie del electrodo de trabajo y como consecuencia se observa un aumento en la corriente catódica, llegando a un máximo de 8 mA para el caso de HRP inmovilizada sobre las partículas nanoestructuradas (C) y de 1 mA para el caso de la enzima inmovilizada sobre un electrodo de oro (B) de 1 mm² de área de trabajo.

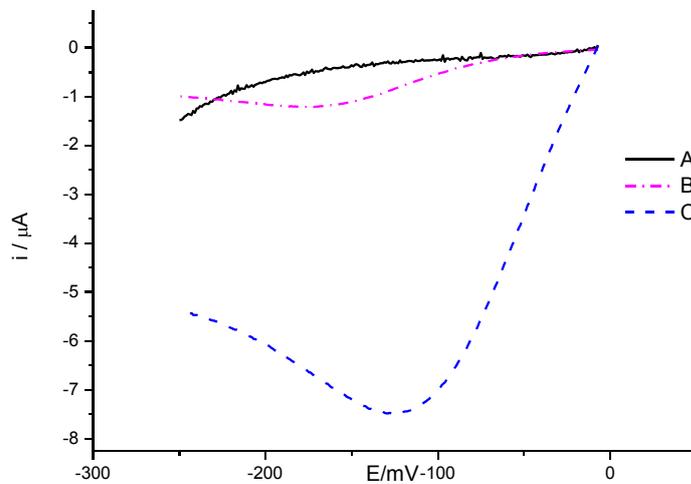


Figura 18: Curvas Corriente-Potencial medidos en ausencia (A) y presencia de 0,5 mM H_2O_2 de la actividad enzimática de la enzima HRP usando como soporte sobre un electrodo de oro (B) y partículas nanoestructuradas (C).

El aumento en la corriente catódica medida se atribuye a la gran superficie de las partículas nanoestructuradas magnéticas, que permiten preconcentrar la enzima sobre la superficie del electrodo. El valor de la corriente medida es 10 veces superior al valor obtenido con un electrodo de trabajo de oro en las mismas condiciones y utilizando la misma área de trabajo.

Se obtuvieron excelentes resultados en función de la corriente medida lo que indica que las partículas nanoestructuradas de oro son un buen soporte para este tipo de mediciones. Las partículas tienen una superficie de oro que es fácil de funcionalizar e inmovilizar biomoléculas, al poseer propiedades magnéticas por las nanopartículas de Fe_3O_4 que poseen en su interior, es posible concentrar la muestra a medir sobre un electrodo con ayuda de un imán externo.

3. Conclusiones

Se comprobó la potencial aplicación de las partículas nanoestructuradas de oro magnetita en quimio y biosensado.

Se obtuvieron excelentes resultados en la detección de actividad enzimática de HRP mostrando que son sustratos aptos para unir, soportar y preconcentrar biomoléculas para su posterior detección.

4. Referencias

1. C. Lee, D. Meisel; *Journal of Physical Chemistry* 86 (1982) No.17 3391-3395.
2. R.G. Freeman, K. Grabar, K. Allison, R.M. Bright, J.A. Davis, A.P. Guthrie, M.B. Hommer, M. Jackson, P. Smith, D.G. Walter, M.J. Natan; *Science* 17 (1995) Vol. 267 No. 5204 pp. 1629-1632
3. C.E. Talley, J.B. Jackson, C. Oubre, N.K. Grady, C.W. Hollars, S.M. Lane, T.R. Huser, P. Nordlander, N.J. Halas; *Nano Letters* 5 (2005) no.8 1569-1574.
4. J. Xie, Q. Zhang, J.Y. Lee, D. Wang; *ACS NANO* Vol.2 No.12 (2008) 2473-2480.
5. C.Yu, J. Irudayaraj; *Anal. Chem.* 79 (2007) 572-579.
6. A.M. Mohammed, R.A. Rahim, I.J. Ibraheem, F.K. Loong, H. Hisham, U. Hashim, Y. Al-Douri; *Journal of Nanomaterials* 2014 (2014) 683460.
7. E. Le Ru, P. Etchegoin; *Principles of Surface Enhancement Raman Spectroscopy and related plasmonics effects* Elsevier (2009) 1st Edition.
8. M. Kerker, O. Siiman, L.A. Bum, D.S. Wang; *Appl. Opt.* 19 (1980) 3253-3255.
9. E.J Zeman, G.C. Schatz; *J. Phys. Chem.* 91 (1987) 634-643.
10. L. Lu, I. Randjelovic, R. Capek, N. Gaponik, J. Yang, H. Zhang, A. Eychmuller; *Chem Mat* 17 (2005) 5731.
11. F. Kim, S. Connor, H. Song, T. Kuykendall, P.D. Yang; *Angew. Chem. Int. Ed* 43 (2004) 3673.
12. G. Duan, W. Cai, Y. Luo, Z. Li, Y. Li; *Applied Physics Letters* 89,(2006) 211905.
13. D. Xu, J. Gu, W. Wang, X. Yu, K. Xi, X. Jia; *Nanotechnology* 21 (2010) 375101.
14. T. Pradeep, P.R. Sajanlal, A. Mathew; *Journal of Crystal Growth* 312 (2010) 587.
15. L. Liz-Marzan, J. Garcia de Abajo, B. Rodriguez-Gonzalez, I. Pastoriza-Santos, P. Kumar; *Nanotechnology* 19 (2008) 0155606.
16. J. Hafner, H. Liao, C. Nehl; *NanoLetters* 6 (2006) 683.
17. Y. Ozaki, K. Ai, L. Lu; *Langmuir* 24 (2008) 1058.
18. H. Shu, Y. Wang, Y. Cai, S. Li, A. Xie, Y. Shen, X. Wang; *Biosensors and Bioelectronics* 23 (2011) 3063.
19. T. You, D. Liu, J. Huang, D. Wang, X. Han; *Journal of Colloid and Interface Science* 354 (2011) 577.
20. H. Wang, N. Halas; *Adv. Mater.* 20 (2008) 820.
21. A. Barranco, M. Biemann, R. Widmer, P. Groening; *Advanced Engineering Materials* 7 (2005) 5.
22. A. Guerrero-Martínez, S. Barbosa, I. Pastoriza-Santos, L.M. Marzán; *Colloid & Interface Science* 16 (2011) 118.
23. P. Quresma, I. Osorio, G. Doria, P. Carvalho, A. Pereira, J. Langeer, J. Araujo, I. Pastoriza Santos, L. Marzan, R. Franco, P. Baptista, E. Pereira; *RSC Advances* (2014) 3659-3667.
24. C. Morasso, D. Mehna, R. Vanna, M. Bedoni, E. Forvi, M. Colombo, D. Prospero, F. Gramatica; *Materials Chemistry and Physics* (2013) 1-7.
25. M. Pradhan, J. Chowdhury, S. Sarkar, A. Kumar Sinha, T. Pal; *J. Phys. Chem. C* 116 (2012) 24301-24313.

7

Conclusiones y perspectivas futuras

1. Conclusiones

A lo largo de este trabajo de tesis se buscó obtener y caracterizar partículas nanoestructuradas de materiales combinados con el fin de aplicarlas en sensado. Se logró sintetizar partículas nanoestructuradas de magnetita-oro con tamaño y morfología controlable a través de una técnica propia. El desarrollo de esta técnica contó con el aporte del profesor David Schiffrin de la Universidad de Liverpool, quien sugirió el agente reductor que fue utilizado.

En una primera etapa se obtuvieron nanopartículas magnéticas de magnetita Fe_3O_4 por coprecipitación en medio amoniacal y su estructura fue analizada por microscopía electrónica de transmisión (TEM), difracción de electrones y otras técnicas. El tamaño promedio obtenido por TEM fue de 15 nm con una dispersión compatible con las partículas obtenidas con el método de síntesis según los antecedentes bibliográficos. Las propiedades magnéticas estudiadas por diferentes técnicas mostraron el carácter superparamagnético de la muestra, característico de las partículas de óxido de hierro en la nanoescala. Las nanopartículas de Fe_3O_4 fueron recubiertas con ácido oleico y oleilamina para estabilizarlas en medio orgánico y luego recubrirlas con oro. Mediante un análisis por FTIR se demostró que la estabilización de la superficie de la magnetita es a través del ácido oleico y que la molécula de oleilamina no se encuentra unida en la superficie. En el estudio que se llevó a cabo, se demostró que la interacción es a través de uniones tipo puente y que la molécula de oleilamina forma un complejo ácido-base que favorece la unión del ácido a la superficie del óxido de hierro.

En una segunda etapa, se lograron obtener partículas nanoestructuradas de oro y magnetita con tamaño en el orden de la mesoescala. Las partículas poseen una superficie nanoestructurada compuesta por oro y nanopartículas de magnetita en su interior.

Se obtuvo un tipo distinto de partículas nanoestructuradas utilizando bromuro de tetraoctilamonio (TOAB) en el medio de reacción. Estas partículas obtenidas poseen una morfología tipo flores, con una estructura compuesta por pétalos de oro.

El estudio sistemático que se llevó a cabo sobre el efecto de la concentración de los aditivos utilizados en ambos métodos de síntesis, demostró que la concentración del ácido oleico y la oleilamina (OA) utilizados, en relación 1:1,5 influye directamente en el tamaño de partícula obtenido. En concentraciones entre 3,5-35 mM de ácido oleico y 2,4-24 mM de oleilamina en conjunto, son efectivos reguladores del tamaño de partícula en el rango de 500 a 150 nm de diámetro.

Por otra parte, se observó que la concentración de oleilamina determina el tipo de sobrecrecimiento en las partículas. En concentraciones de 2,4 mmoles se obtienen partículas con nanoestructuras 1 D en la superficie. En cambio, cuando se utilizan concentraciones menores de 1,2 mM, las partículas poseen una estructura lisa sin sobrecrecimientos. Con un exceso mayor a 24 mM de OA, las partículas presentan nanohilos en la superficie. Esto demuestra que la oleilamina actúa como mediador de

la reducción de oro sobre la superficie en el mecanismo de formación y crecimiento. Este efecto se observó para ambos métodos de síntesis de partículas sintetizadas.

El rol de la oleilamina fue estudiado mediante las técnicas FTIR y UV-vis, los resultados sugieren la formación de un complejo OA-AuCl₄⁻. Luego una reducción del AuCl₄⁻ y AuX₄⁻ a Au⁺¹ (AuX₂⁻), por la oxidación de oleilamina (OI) a través de un compuesto imino y la formación de un complejo OI: Au⁺¹. La notación "X" se refiere tanto a átomos de Cl⁻ como Br⁻ que podrían integrar el complejo con Au⁺³. Los resultados obtenidos mostraron que la formación de este complejo interviene en el mecanismo de formación y crecimiento de las partículas. El proceso de síntesis es una reducción lenta en dos etapas, por acción de la oleilamina primero de Au⁺³ a Au⁺¹ y luego la reducción de Au⁺¹ a Au⁰ por la hidroquinona.

Por otra parte, el estudio realizado sobre la influencia de la concentración de ácido oleico en la síntesis, en el rango 3,5 a 35 mM no mostró diferencias estructurales considerables en las partículas obtenidas. Estos resultados sugieren que la concentración del ácido oleico no tiene influencia en la morfología de las partículas nanoestructuradas obtenidas en el rango empleado.

Se estudió el efecto de la concentración de TOAB, en el rango entre 0,05 y 1,5 mM. Se observó una morfología flores con puntas triangulares con 1,5 mM de TOAB. Se observó que el TOAB promueve el crecimiento y la elongación de puntas triangulares a medida que aumenta su concentración en la síntesis.

Estas observaciones permitieron deducir que el bromuro de tetraoctilamonio modifica la morfología de las partículas obtenidas en la síntesis y que por lo tanto, interviene en el mecanismo de formación y crecimiento. Estos resultados llevaron a realizar un estudio por Uv-Vis de la reacción de transferencia entre AuCl₄⁻ (aq.) y el TOAB (tol.). Se observó la formación de un complejo AuX₄⁻ por desplazamiento del AuCl₄⁻ con el ion bromuro del TOAB en medio orgánico. La formación de este complejo modifica la velocidad de reducción del AuX₄⁻ por la oleilamina y la hidroquinona. Este efecto determina el crecimiento de partículas con nanoestructuras triangulares atribuidas a los planos de oro que poseen menor energía superficial.

Dentro de las caracterizaciones realizadas, los análisis realizados por DRX, mostraron un crecimiento preferencial de los planos {111} de oro para todos los tipos de partículas sintetizadas. En todos los casos, las partículas nanoestructuradas mostraron un comportamiento superparamagnético en las magnetometrías realizadas, inherente a las partículas de magnetita que componen las partículas. Por otra parte, los espectros obtenidos por Uv-Vis de cada tipo de partícula mostraron la presencia de múltiples plasmones atribuidos a la cáscara de oro y las nanoestructuras superficiales.

Para estudiar la estructura interna de las partículas obtenidas, se utilizó un microscopio de haz dual. Esta es la primera vez que se utiliza esta técnica para la caracterización de mesopartículas de oro ya que no cuenta con antecedentes

bibliográficos. Esta técnica permitió preparar láminas con espesores menores a 100 nm adecuados para una caracterización por TEM.

Esta técnica permitió remover de forma progresiva, espesores de 5 nm de material de las partículas, y realizar una reconstrucción 3D con las imágenes tomadas para estudiar su composición interna.

El análisis 3D reveló una estructura interior policristalina porosa formada por pequeños cristales aglomerados de 50 nm aproximadamente. En el caso de las partículas nanoestructuradas obtenidas por el *Método I*, se observó que los cristales que componen la estructura no poseen una orientación espacial definida. En el caso de las partículas obtenidas en presencia de TOAB por el *Método II* de síntesis, los cristales comparten un plano cristalino en común con distintas orientaciones cristalográficas. Esta diferencia se atribuye principalmente a que el mecanismo de formación y crecimiento se ve afectado por el TOAB presente y el resultado son partículas de mayor ordenamiento interno.

En ambos casos se observó una estructura con poros en su interior de 10-20 nm de tamaño compatible con las nps de magnetita utilizadas. Con el detector HAADF se pudo determinar a través del contraste Z, que los poros observados corresponden a un material de menor número atómico que el oro, como el óxido de hierro.

La técnica de desbastado con iones de galio permitió preparar lamelas de partículas de espesores adecuados para ser analizados por TEM. Se observaron láminas de partículas compuestas por múltiples cristales y con distintas orientaciones espaciales como lo observado en el microscopio de haz dual. Mediante el análisis de la composición química por microsonda de rayos X dispersivo en energía (EDS) se comprobó la presencia de hierro en el interior de la estructura porosa. Se pudo determinar que el óxido de hierro y el oro se encuentran unidos a través de los planos {111} de cada material.

El estudio por microscopía de haz dual y los resultados obtenidos por HR-TEM brindaron nueva información sobre el mecanismo de formación de este tipo de partículas. Los resultados sugieren un mecanismo de formación y crecimiento por una nucleación heterogénea de oro sobre magnetita, un crecimiento de los nanocristales y posterior aglomeración. La teoría no clásica de nucleación y crecimiento que postula este tipo de mecanismo, se encuentra en sus primeras etapas de desarrollo y los resultados obtenidos en esta tesis aportan información relevante sobre este nuevo mecanismo.

Las partículas nanoestructuradas obtenidas han sido estudiadas como potenciales sustratos para espectroscopía Raman amplificada por superficie. Se analizó la respuesta de cuatro tipos de partículas con diferentes morfologías: sin sobrecrecimiento, con puntas triangulares, con nanoestructuras pequeñas 1D y con nanohilos de oro en la superficie. Se utilizó rodamina 6G como molécula de prueba en concentraciones de 10^{-5} a 10^{-3} M. Debido a la configuración del equipo utilizado, el

cálculo del factor de amplificación de la señal Raman que usualmente se realiza para caracterizar los sustratos, no fue posible de realizar. La comparación se realizó entre partículas nanoestructuradas (en futuros trabajos se realizará la medición del factor utilizando otro sistema).

Los resultados mostraron una mayor contribución de la señal de rodamina en las partículas sin nanoestructuras superficiales y de las partículas con puntas triangulares, en comparación con los otros dos tipos de partículas. Las señales obtenidas se calcularon de un promedio de mediciones, las cuales estuvieron afectadas por la fotodegradación (*photobleaching*) de la molécula de rodamina por el láser incidente. Este efecto disminuyó considerablemente las señales medidas, afectando el resultado final.

Asimismo, los resultados confirmaron una amplificación de la señal Raman por efecto de superficie por la presencia de partículas nanoestructuradas. Los resultados obtenidos indican que las partículas obtenidas en la tesis son potenciales sustratos Raman. Es posible dispersarlas en un medio con un analito en muy baja concentración y preconcentrar la muestra con un imán permanente debido a sus propiedades magnéticas, y al poseer una superficie de oro es fácilmente funcionalizable con biomoléculas, aumentando así el nivel de detección.

Por último, se evaluó la potencialidad de las partículas nanoestructuradas en sensado con detección electroquímica. Este tipo de partículas permite inmovilizar una biomolécula por afinidad química y al ser magnéticas, permiten preconcentrar las partículas con un imán externo y aumentar así el límite de detección.

Como prueba de concepto, se inmovilizó la enzima de rábano picante (HRP) sobre la superficie de partículas y se realizó la detección de la actividad enzimática.

Los resultados mostraron un aumento de 10 veces la corriente catódica medida en comparación con la superficie de un electrodo de oro utilizado como referencia. Esto se atribuye a gran superficie de las partículas lo que indica que son un buen soporte para este tipo de mediciones.

Para concluir, en esta tesis se ha presentado la síntesis de partículas nanoestructuradas magnéticas de materiales combinados con potenciales usos como sustratos SERS y soporte para biosensado. Los resultados obtenidos por microscopía de haz dual revelaron una estructura compuesta interna por una aglomeración de nanocristales formada por un mecanismo no convencional. El conjunto de conocimientos adquiridos en esta tesis, proporciona nueva información que aporta conocimiento sobre un mecanismo de formación y crecimiento en proceso de investigación.

Anexo I: Funcionalización de nanopartículas de Fe₃O₄

En esta sección se detalla la síntesis de las partículas obtenidas por coprecipitación en medio amoniacal descritas en el capítulo 2. Se presentan los resultados para los sistemas compuestos por núcleos magnéticos de óxido de hierro como magnetita (Fe₃O₄) estabilizados por aditivos en medio orgánico. Se realizó un estudio del tipo de unión existente entre la superficie de las partículas y los estabilizantes por espectroscopía infrarroja (FTIR).

1. Síntesis de nanopartículas magnéticas de Fe₃O₄

Los óxidos de hierro como magnetita y maghemita, tienen especial interés debido a sus propiedades magnéticas (poseen un elevado momento magnético) y la posibilidad de ser modificados superficialmente con biomoléculas que le confieren biocompatibilidad para su utilización en biomedicina y biosensores.

El método de síntesis o fabricación empleado influye directamente en la forma, homogeneidad y distribución de tamaños, el grado de cristalinidad, naturaleza superficial y principalmente, en las características magnéticas que va a poseer el material. También es posible modificar estas propiedades variando la concentración de los reactivos de la síntesis, medios de reacción, con el uso de tensioactivos y el control de la temperatura.

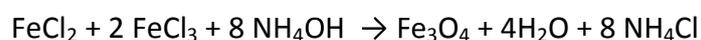
En la actualidad, existen varios métodos de síntesis de óxidos de hierro de tamaño nanométrico, los más utilizados se pueden dividir en dos grupos según el medio en el que se los obtiene:

- *medio orgánico*: en solventes orgánicos de alto punto de ebullición como difenil éter, tolueno, octadeceno, etc. se obtienen partículas por descomposición térmica de precursores orgánicos de hierro (acetil acetato de hierro, oleato de hierro), dando como resultado nanopartículas entre 4 nm y 20 nm con una baja dispersión de tamaños y un alto grado de cristalinidad¹⁻³.
- *medio acuoso*: coprecipitación en medio básico. Se obtienen partículas entre 5 a 30 nm con una dispersión de tamaños alta⁴⁻⁵.

El método de síntesis por solventes orgánicos se realiza en atmósfera inerte (N₂) y es necesario extremar el control de la temperatura, alcanzando el punto de ebullición del solvente para iniciar la descomposición del precursor de hierro.

La síntesis en medio acuoso es el método que hemos elegido para realizar las nanopartículas debido a la facilidad y rapidez con la que se obtienen partículas y el bajo costo de los reactivos utilizados.

Por el método de coprecipitación de hidróxidos de Fe^{+2} y Fe^{+3} descrito en el capítulo anterior, se obtuvieron nanopartículas de magnetita, de color negro con brillo gris metálico. Para obtener las nanopartículas se disolvieron sales de hierro en agua y luego se agregó hidróxido de amonio concentrado gota a gota en un lapso de 10 minutos. Se obtuvo un precipitado de nanopartículas que fue lavado con ayuda de un imán externo y secado para su posterior uso. La reacción de coprecipitación sigue la ecuación:



1.1. Mecanismo de formación de Fe_3O_4

La formación de magnetita en el proceso de síntesis con bases o por termo hidrólisis se produce, en un primer paso, por la precipitación de los hidróxidos combinados de hierro +2 y +3.

En presencia de Fe^{+2} , la coprecipitación de Fe^{+3} (en relación molar $\text{Fe}^{+2} / \text{Fe}^{+3} = 0,5$) da lugar a la formación de una estructura de espinela inversa. La fórmula básica de la espinela es $\text{A}^{+2} \text{B}_2^{+3} \text{O}_4$ donde A y B son los iones metálicos que se encuentran en los sitios tetraédricos (A) y octaédricos (B) de la red FCC formada por los átomos de oxígeno⁶.

Es una estructura de espinela inversa donde el Fe^{+2} se encuentra en los huecos octaédricos mientras que el Fe^{+3} se ocupa sitios octaédricos y tetraédricos: $[\text{Fe}^{+3}]_A [\text{Fe}^{+3}, \text{Fe}^{+2}]_B \text{O}_4$.

Si se compara la energía de estabilización del campo cristalino (EECC) del Fe^{+2} y Fe^{+3} en un entorno octaédrico, el Fe^{+3} al ser un d5 no tiene EECC. En cambio, el Fe^{+2} al ser un d6 posee un $\Delta_o = -1,20$.

Si se realiza la misma comparación en un entorno tetraédrico, el Fe^{+3} no tiene EECC mientras que el Fe^{+2} tiene una $\Delta_o = -0,60$.

De esta manera el Fe^{+2} proporciona una energía de estabilización adicional al ocupar los sitios octaédricos, formando una espinela inversa.

El mecanismo de reacción es muy rápido y no es posible el estudio in situ de la formación de magnetita por precipitación⁷. Jolivet⁸ propuso un mecanismo por el cual explica la formación de la espinela inversa de magnetita.

En el comienzo de la reacción el equilibrio de disolución entre los iones de hierro da lugar a la formación de tetrámeros que podrían representarse como $[\text{Fe}_4(\text{OH})_{10}(\text{OH}_2)_6]^0$. Estos tetrámeros compactos poseen una conexión entre poliedros de coordinación del tipo $\mu_3\text{-OH}$, que ejerce una estabilización adicional en la estructura de los tetrámeros de las especies condensadas. Hay una alta deslocalización de electrones que facilita la transferencia de electrones entre el Fe^{+2} y el Fe^{+3} entre orbitales d cuando la distancia metal-metal es corta. En esta etapa ocurre la formación (nucleación) de los núcleos que van a dar lugar a las nanopartículas (fig. 1).

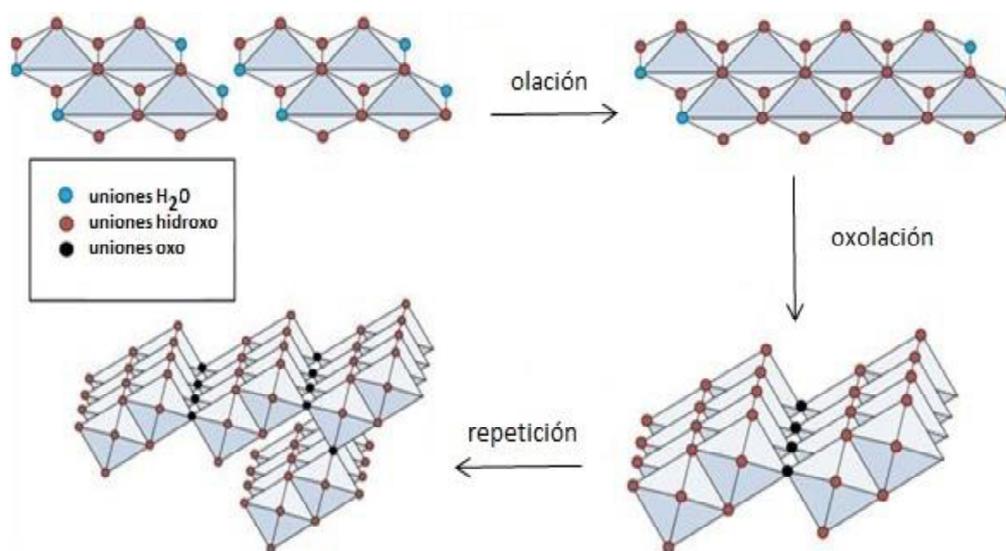
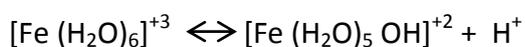


Fig. 1: Esquematización del proceso de formación de magnetita.

La ecuación del inicio de formación de Fe_3O_4 :



Luego se da un proceso de condensación por olación:



Se forman cadenas y planos rápidamente, que se unen entre sí por el exceso de iones Fe^{+3} coordinados en los sitios octaédricos. Estos actúan como bisagras para la formación de puentes Fe-O-Fe por oxolación que impiden estéricamente los iones Fe^{+3} .

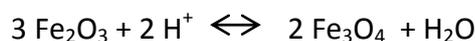


Debido a que no existe la energía estabilizadora del campo cristalino (EECC), los iones Fe^{+3} cambian fácilmente al número de coordinación 4 característico de la estructura de espinela inversa.

La ecuación global de la reacción es:



La reacción evoluciona de hematita a magnetita:



2. Funcionalización de la superficie de Fe_3O_4

Las nanopartículas de magnetita sintetizadas por el método de coprecipitación poseen una superficie hidrofílica que no es compatible con el método elegido para la síntesis de partículas magnéticas nanoestructuradas con el que se eligió trabajar en esta tesis. Se decidió modificarla superficialmente con ácidos grasos para trabajar en tolueno. Se eligieron ácido oleico (ácido cis-9-octadecenoico) y oleilamina (cis-1-amino-9-octadeceno) representados en las figuras 2a y b, como modificadores superficiales de las nanopartículas de magnetita para evitar su aglomeración por impedimento estérico, para ser dispersadas en medio orgánico.

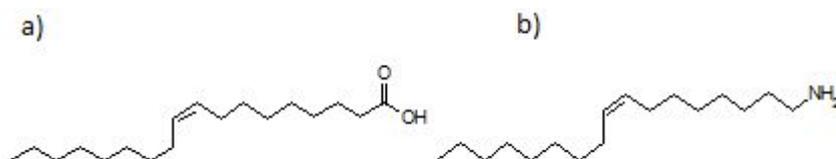


Fig. 2.a) Estructura del ácido oleico y b) estructura de la oleilamina.

El ácido oleico es un ácido graso de 18 carbonos, con un doble enlace en la ubicación 9 y un grupo carboxilo en la terminación de la cadena. Este extremo polar de la cabeza de la cadena se une a la superficie cargada del óxido formando un enlace electrostático¹²⁻¹⁵.

La molécula de oleilamina se combina con el ácido oleico formando un complejo ácido-base favorece la unión entre el ácido y la superficie del óxido:



La presencia de oleilamina forma un complejo ácido-base, que genera más moléculas de ácido oleico disociadas de su grupo -OH, lo que favorece su unión a la superficie cargada del óxido por atracción electrostática.

Este efecto ha sido estudiado por M. Klokkenburg et al.¹³ que observó un sistema similar compuesto por magnetita/ ácido oleico y oleilamina en ciclohexano, donde la molécula de oleilamina no interviene en la estabilización superficial de las partículas, sino que es el ion carboxilato el que se encuentra en la superficie.

Con el fin de identificar el tipo de unión entre las nanopartículas de óxido de hierro y los estabilizantes en la suspensión orgánica, se estudió la presencia de los surfactantes por espectroscopía infrarroja por transformadas de Fourier (FTIR).

En la figura 3, se observan los resultados obtenidos por FTIR para la molécula de oleilamina en tolueno, se observan varias bandas las más importantes a 3321 cm^{-1} correspondiente al *stretching* N-H; una banda de deformación a 1619 cm^{-1} del $\delta(\text{NH}_2)$ y una banda a 789 cm^{-1} de la vibración *wagging* del grupo NH_2 .

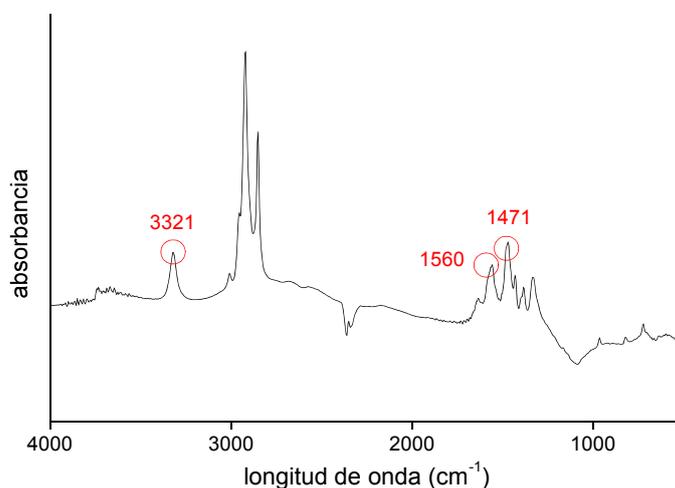


Fig. 3. Espectro infrarrojo de oleilamina.

En la figura 4, se observa el espectro obtenido para el ácido oleico, las bandas en 3006 y 723 cm^{-1} correspondientes a las vibraciones olefinicas cis ν ($-\text{CH}=\text{}$) y una banda a 1713 cm^{-1} ν ($-\text{C}=\text{O}$). Las bandas en 1416 y 1289 cm^{-1} corresponden al modo de vibración ν (COH) y ν (C-O).

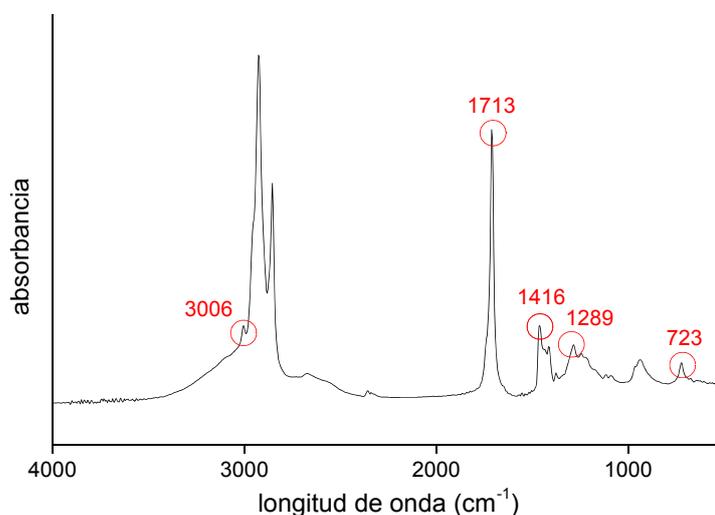


Fig. 4. Espectro infrarrojo de ácido oleico.

En la figura 5 se muestra en el espectro infrarrojo obtenido del complejo ácido oleico: oleilamina:

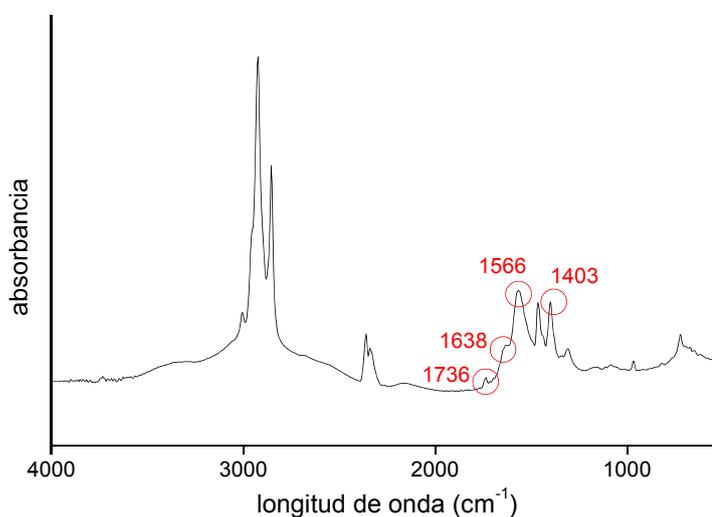


Fig. 5. Espectro infrarrojo de ácido oleico:oleilamina.

Se observa una banda de estiramiento a 1736 cm⁻¹ de la vibración de estiramiento ν (-C=O), a 1638 cm⁻¹ de la vibración de estiramiento ν (NH₂) del grupo amino; una banda a 1566 cm⁻¹ de vibración de estiramiento antisimétrico del ν_a (COO⁻) y a 1403 cm⁻¹ el simétrico de menor energía ν_s (COO⁻). Se observa la formación del complejo ácido-base

descrito anteriormente, en la aparición de una banda nueva a 1638 cm^{-1} asignada al grupo NH_2 .

Finalmente, en la figura 6 se observa el espectro obtenido de las nanopartículas de Fe_3O_4 en contacto con los tensioactivos. Se observan dos bandas características correspondientes a las vibraciones de estiramiento simétricas en 1412 cm^{-1} y antisimétricas en 1533 cm^{-1} del grupo carboxilo unido al óxido. Estas bandas brindan información sobre la unión existente entre el ácido oleico y el óxido de hierro.

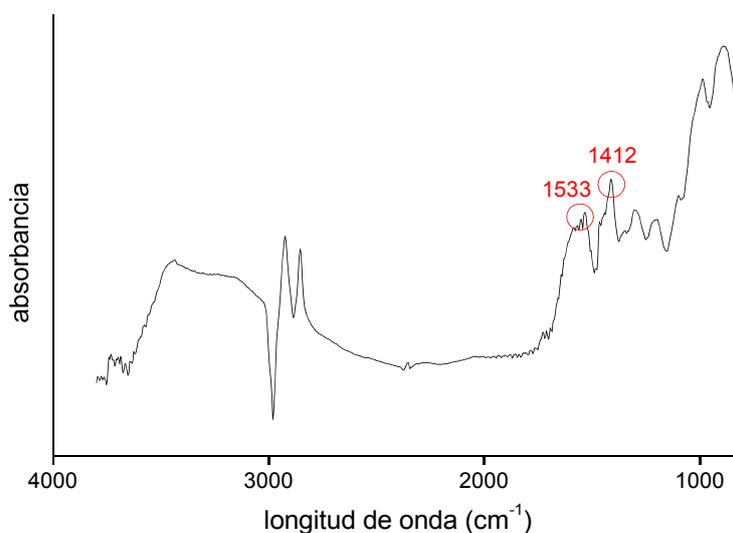


Fig. 6. Espectro infrarrojo de nanopartículas de magnetita con ácido oleico : oleilamina.

El ion carboxilato puede estar coordinado en la superficie de un metal en tres formas distintas¹⁸ según la figura 7. La diferencia (Δ) entre las bandas vibracionales simétricas y antisimétricas del grupo carboxilo $\nu_s(\text{COO}^-) - \nu_a(\text{COO}^-)$ brinda información sobre el tipo de unión sobre la superficie¹⁹. Siendo el valor Δ para el ácido libre igual a 127 (forma iónica), un valor de Δ superior a 127 indica una configuración tipo unidentado (fig. 7a); un valor Δ mucho menor a 127 la unión es a través de un quelato bidentado (fig. 7b) y un valor similar al Δ del ácido libre sugiere una coordinación tipo puente (fig. 7c).

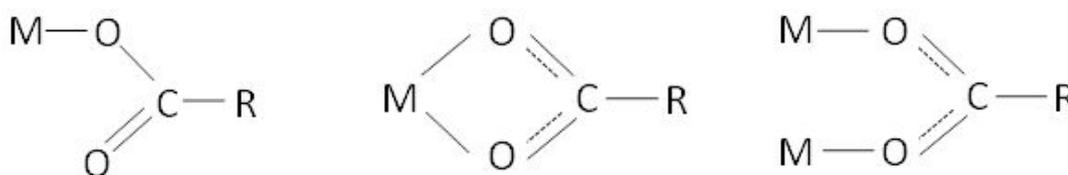


Fig. 7 a) unidentado

b) bidentado

c) puente

En el espectro obtenido de nanopartículas de Fe_3O_4 estabilizadas con ácido oleico y oleilamina la diferencia entre las bandas de estiramiento simétrica y antisimétrica es de 121 muy similar al Δ del ácido libre. Esto sugiere que la unión existente entre el óxido de hierro y el ácido oleico se da a través de un complejo de coordinación tipo puente (fig. 8).

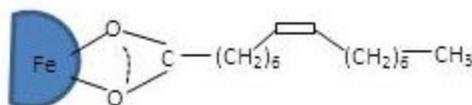


Fig. 8. Esquematación de la unión del ácido oleico con Fe_3O_4 .

Por otra parte, la presencia de oleilamina en la estabilización de las partículas de magnetita no fue confirmada por espectroscopía infrarroja FTIR. Los análisis confirman que el aditivo OA no se encuentra en la superficie del óxido de hierro y la presencia de grupos carboxílicos sugiere que la estabilización de las partículas se da por una formación de un complejo ácido carboxílico-óxido. Se observó el efecto de la presencia de moléculas de OA en la fase de crecimiento de las partículas nanoestructuradas de oro sobre los núcleos de magnetita.

3. Conclusiones

Se sintetizaron con éxito nanopartículas de 15 nm de Fe_3O_4 con propiedades superparamagnéticas distintivas del tamaño. Las partículas fueron estabilizadas y funcionalizadas con aditivos en medio orgánico.

4. Referencias

1. S. Sun, H. Zen; *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 124, 28 (2002) 8204.
2. D. Forge, A. Roch, C. Robic, E. Vander, R.N. Muller; *Chemical Reviews* Vol. 108, 6 (2008) 2064.
3. S. Sun, H. Zeng, S. Raoux, P.M. Rice, S.X. Wang; *J. Am. Chem. Soc.* Vol. 126, 1 (2004) 273.
4. L. A. Welo, O. Baudisch; *Phil. Mag.* 3 (1927) 396.
5. D.T. Harvey, R.W. Linton; *Analit. Chem.* 53 (1981) 1684.
6. R.M. Cornell, U.Schwertmann; *The Iron Oxides: Structure, Properties, Reactions, Occurrence and Uses*; VCH: New York (1996) 28.
7. J.P. Jolivet, C. Chaneac, E. Tronc; *Chem. Commun.* 5 (2004) 481.
8. J.P. Jolivet; *Metal Oxide Chemistry and Synthesis* (2000) 89.
9. Q. A. Pankhurst, J. Connolly, S. K. Jones, J. Dobson; *J. Phys. D: Appl. Phys.* 36 (2003).
10. H. You, Y. Ji, L. Wang, S. Yang, Z. Yang, J. Fang, X. Song, B. Ding; *J. Mat. Chem.* 22 (2012) 1998.
11. H.A. Keul, M. Möller, M.R. Bockstaller; *Langmuir* 23 (2007) 10307.
12. S.Y. Lee, M.T. Harris; *Journal of Colloid and Interface Science* 293, 2 (2006) 401.
13. M. Klokkenburg, J. Hilhorst, B.H. Erne; *Vibrational Spectroscopy* 43 (2007) 243.
14. E. Taboada, E. Rodriguez, A. Roig, J. Oro, A. Roch, R.N. Muller; *Langmuir* 23, 8 (2007) 4583.
15. C. Xu, K. Xu, H. Gu, R. Zheng, H. Liu, X. Zhang, Z. Guo, B. Xu; *J. Am. Chem. Soc.* 126, 32 (2004) 9938.
16. J. M. Vargas, W.C. Nunes, L.M. Socolovsky, M. Knobel, D. Zanchet; *Phys.Rev.B.*72 (2005) 184428.
17. E. Lima, Jr., A. L. Brandl, A. D. Arelaro, G. F. Goya; *J. Appl. Phys.* 99 (2006) 083908.
18. T.S.Piper, G.Wilkinson; *Chem Ind (London)* 23, 1296 (1955) *J. Inorg. Nucl. Chem.* 3, 104 (1956).
19. K.Nakamoto; *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and Coordination Compounds* 4th Edition Wiley Interscience (1986).

Publicaciones

- **“Synthesis, characterization and biofunctionalization of magnetic gold nanostructured particles”** P.Lloret, G.Longinotti, G.Ybarra, L.Socolovsky, C.Moina. *Materials Research Bulletin* 48 (2013) 3671–3676.
- **“Preparation and microscopic characterization of magnetite–gold mesoparticles with tunable morphology”** P. Lloret, P.Granell, G.Ybarra, L.Socolovsky, C.Moina. *Nano-Structures & Nano-Objects* 4 (2015) 9–14.



Synthesis, characterization and biofunctionalization of magnetic gold nanostructured particles

Paulina Lloret^a, Gloria Longinotti^a, Gabriel Ybarra^a, Leandro Socolovsky^b, Carlos Moina^{a,*}

^a Instituto Nacional de Tecnología Industrial, San Martín, Argentina

^b Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires, Argentina

ARTICLE INFO

Article history:

Received 9 January 2013

Received in revised form 14 May 2013

Accepted 16 May 2013

Available online 24 May 2013

Keywords:

A. magnetic materials

B. nanostructures

C. chemical synthesis

D. electrochemical measurements

ABSTRACT

Magnetic Fe₃O₄@Au nanocomposite, nanostructured particles were prepared by depositing gold onto seeds of superparamagnetic iron oxide nanoparticles (SPION). The particles were characterized by SEM, TEM, XRD, visible and near infrared spectroscopy, and magnetic measurements. They were also functionalized and employed as enzymatic carriers for electrochemical biosensing. The nanostructured particles showed an urchin-like, roughly spherical morphology whose surface was covered with nanometric protuberances. The average diameter of the particles could be controlled in the 100–500 nm range by changing the concentration of surfactants (oleylamine and oleic acid) employed in the synthesis. XRD showed a preferential growth of {1 1 1} facets. 3-Mercaptopropionic acid was used to chemically modify the surface of the nanostructured particles and horseradish peroxidase was immobilized onto the gold surface. Attached enzymes showed good activity even after several cycles of magnetic collection, drying, and redispersion.

© 2013 Elsevier Ltd. All rights reserved.

1. Introduction

Nanocrystalline materials have been investigated intensively in the last years, due to their catalytic, optical, electronic, magnetic, and biosensing applications [1–9]. In particular, great efforts have been devoted to obtaining metallic particles with well defined characteristics of size, shape, and structure. So far, several approaches have been developed aiming at the systematic control of crystal size and morphology. The shape-controlled synthesis of particles has been reviewed in Ref. [2] and references therein. The production of highly branched nanoparticles has been reported by several groups [10–16]. However, the controlled preparation of nanostructured particles (NSP) in the submicrometric range with morphological features in the nanoscale remains to be a challenging task. NSP such as nanoflowers, nanourchins and nanostars show potential applications in fields like sensors, biology, catalysis, optics, and surface enhanced Raman spectroscopy (SERS). So far, gold NSP have been obtained mainly deposited onto substrates. Duan et al. [17] reported the fabrication of flowerlike gold nanoparticles electrodeposited onto indium tin oxide as substrates for SERS. Kim et al. [18] combined photolithography with electrodeposition to obtain arrays of flowerlike gold nanostructures. On the other hand, synthesis of such

nanostructures in solution has proved to be difficult. Guo et al. [19] used a wet chemistry approach to obtain gold nanocorallines with average size of 500 nm, composed of nanorods sized in the 10–100 nm range.

Although gold flower-like particles have been grown onto magnetite nanoparticles [20], the controlled production of highly branched NSP with magnetic core has not been yet reported. In this work we present the synthesis, characterization, and chemical modification of magnetic NSP, consisting of a gold urchin-like shell grown onto a magnetic core. The potential application of the NSP as protein carriers for biosensing is shown by electrochemically detecting the horseradish peroxidase enzymatic activity.

2. Experimental

2.1. Preparation of nanostructured particles

Magnetite nanoparticles were synthesized by the co-precipitation of ferric and ferrous ions. 25 ml of 25% solution of NH₄OH were added at room temperature to 100 ml of a solution containing 12 g of FeCl₃ and 6 g of FeCl₂ in 0.1% HCl. The precipitate, composed by Fe₃O₄, was collected with the aid of a permanent magnet, rinsed with distilled water to eliminate the excess of ferric ion, and dried at 65 °C for an hour. Then, 30 mg of Fe₃O₄ were added to 80 ml of a solution of toluene containing *x* ml of oleic acid (Olac) and *x* ml of oleylamine (Olam), with *x* = 0.25, 1.25, 2.5 and 5.0, and re-dispersed with ultrasonic agitation during 15 min. A solution of

* Corresponding author. Tel.: +54 1174246333; fax: +54 11742463333.
E-mail address: moina@inti.gob.ar (C. Moina).

gold in toluene was obtained by dissolving 53 mg of $\text{KAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (49% Au, Aldrich) in 20 ml of 2-propanol and then added to 100 ml of toluene. The magnetite dispersion was added to the organic phase, and 150 mg of hydroquinone dissolved in 20 ml of 2-propanol were added. After 12 h, particles were collected with a permanent magnet, rinsed twice with toluene under ultrasonic agitation, and re-dispersed in a solution of Olac and Olam. By varying the Olac + Olam concentration, NSP particles with sizes in the 100–500 nm range were obtained.

2.2. Characterization

Magnetite nanoparticles were observed by transmission electron microscopy (TEM) using a Jeol HARP 3010 microscope (point resolution 1.7 Å), operating at 300 kV. Samples were prepared by placing a drop of a nanoparticles dispersion onto a 400-mesh copper grid coated with carbon film.

SEM images of NSP were acquired with a Carl Zeiss Supra 40 scanning electron microscope. Visible and near infrared absorption spectra were registered with a Shimadzu 1610-PC UV–VIS diode array spectrophotometer using quartz cells of 10 mm path length in aqueous media. X-ray diffraction (XRD) patterns were recorded on a Philips XPert diffractometer equipped with a monochromator, using $\text{Cu K}\alpha$ radiation of a wavelength of 1.54060 Å. Magnetic properties were measured with a Quantum Design PPMS magnetometer.

2.3. Immobilization of enzymes onto nanoparticles

HRP was immobilized onto NSP employing 3-mercaptopropionic acid as a molecular linker between the gold surface and the enzyme. NSP were immersed overnight in a solution containing 40 mM 3-mercaptopropionic acid dissolved in a mix of 75% ethanol + 25% water. Particles were recovered with a permanent magnet and rinsed with distilled water.

NSP were treated during 30 min with 20 μl of a solution containing 0.1 M 1-ethyl-3(3-dimethylaminopropyl) carbodiimide hydrochloride and 25 mM *N*-hydroxysuccinimide in 0.1 M PBS buffer of pH 7, and then 20 μl of HRP 2.4 U μl^{-1} , also in a 0.1 M PBS buffer of pH 7, were added. The HRP-coated particles (NSP-HRP) were collected with a permanent magnet and transferred to an electrochemical cell, where the enzymatic activity of the enzyme was determined.

2.4. Electrochemical measurements

Thick film Au electrodes (\varnothing 1 mm, see Fig. 1) were printed onto $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ substrates by conventional screen printing technology. Commercial Au paste (Heraeus D5789) and 96% $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ substrates

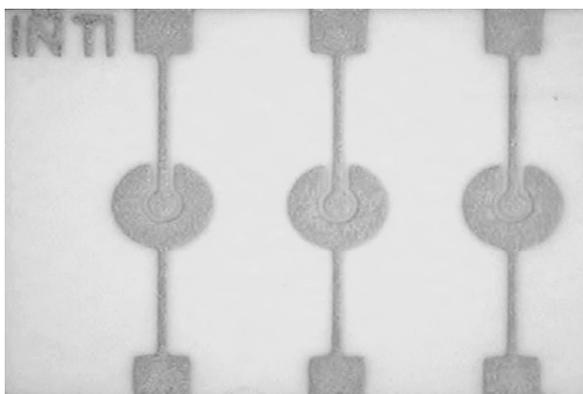


Fig. 1. Photograph of thick film Au electrodes deposited onto an alumina substrate.

were employed. Electrode layout was transferred by means of photolithography to a stainless steel mesh (400 wires per inch) with a negative photosensitive film (Ulano CDF-2). Au ink printing was performed by an EKRA Microtronic-II printer, dried at 125 °C during 15 min and finally fired at 850 °C. The electrodes were integrated in an electrochemical cell, constructed in PMMA using a numeric control device from a CAD layout.

The enzyme-modified NSP were concentrated onto the working electrodes with permanent magnets placed underneath the printed electrodes. By removing the magnets the particles could be easily re-dispersed when needed.

Electrodes were cleaned with 98% H_2SO_4 + 30% H_2O_2 (in a 2:1 volume ratio) and thoroughly rinsed with water (miliQ quality). Potentials were measured and referred to in the text against a Ag|AgCl|0.1 M KCl reference electrode. Electrochemical measurements were carried out at 25 °C in a 0.1 M PBS buffer of pH 7 + 0.1 M KCl + 4 mM hydroquinone (redox mediator), prepared from analytical grade reagents (Merck) and three-fold distilled water. The potential of the working electrode was controlled with a potentiostat EG&G PAR 273A.

3. Results and discussion

3.1. Synthesis and characterization of NSP

Magnetic NSP were obtained in a two stages process in which gold was deposited onto seeds of superparamagnetic Fe_3O_4 nanoparticles (SPION) by reduction of AuCl_4^- in non-aqueous media in the presence of Olac and Olam as growth modifiers. In Fig. 2a, the TEM image of SPION seeds is shown. The particles have an average diameter of 15 nm. Fig. 2b and c shows the SEM images of the NSP. The particles present a roughly spherical symmetry and their surface is covered by rod-like nanostructures of an average length of 30 nm and a width of 10 nm. Fig. 2d shows the HR-TEM image of a single tip. The interplanar distance measured is 2.4 Å, which corresponds to the {1 1 1} crystal orientation of pure Au.

The size of the NSP could be controlled by changing the Olac + Olam concentration. In Fig. 3, SEM images of the NSP obtained at three values of Olac + Olam concentration are shown. As depicted in Fig. 4, the diameter of the particles decreases as the Olac + Olam concentration increases. The mechanism of the NSP formation is not clear and further studies are being carried on with this aim. The overall process is slow and several stages must be involved. A possible reaction path is proposed. Initially, SPIONs are strongly stabilized by the oleic acid [21] and AuCl_4^- must compete and eventually displace Olac from the surface of the magnetite seeds by a ligand exchange mechanism [22,23], thus forming SPION-Au particles. However, ligand displacement is a slow reaction and the simultaneous formation of gold clusters following a homogeneous nucleation mechanism cannot be ruled out. In this case, aggregation of SPION-Au particles due to an oriented attachment (OA) of gold clusters to magnetite can also be envisaged [24,25]. These newly formed SPION-Au particles agglomerate to form larger aggregates [12]. Finally, Olam-controlled Au anisotropic deposition continues onto these aggregates, giving rise to the development of branched NSP structures [27].

The obtained XRD patterns were consistent with that of face centered cubic Au, with peaks at 2θ of 38.185° (relative intensity: 100%), 44.393° (52%), 64.578° (32%), 77.549° (36%), which correspond to diffraction on planes (1 1 1), (2 0 0), (2 2 0), and (3 1 1) respectively (Fig. 5). All the obtained XRD patterns were very similar, and no significant dependence on the size of the NSP particles was found. For instance, for NSP particles grown using 3.33% Olam + Olac, peaks at 2θ equal to 38.25 (100%), 44.42° (32.31%), 64.67° (23.92%), 77.63° (24.54%),

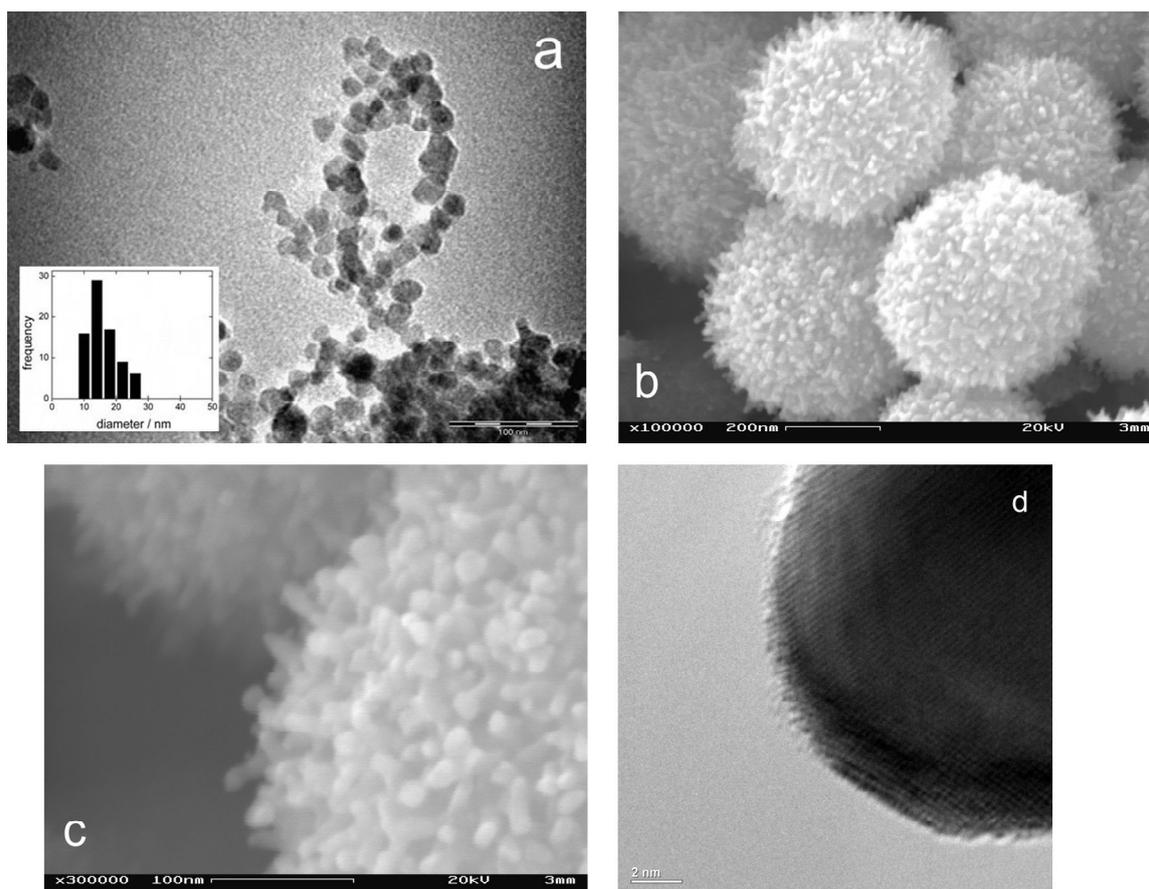


Fig. 2. TEM image of magnetite nanoparticles (a), SEM images of nanostructured particles (b, c) and HR-TEM of single tip (d).

while for a concentration of 1.67%, the obtained peaks were 38.24° (100%), 44.42° (33%), 64.66° (27%), 77.62° (28%). The intensity ratio (3) of the (1 1 1) to (2 0 0) diffraction lines is higher than that of the standard diffraction of gold powders [10], indicating that NSP have a tendency to grow with surfaces terminated by {1 1 1} facets. In the growing process Olam should play an important role. It has been proposed that preferential absorption onto {1 1 1} takes place when the head group of the additive is comparable to the Au atoms spacing on the facet [3]. The XRD pattern strongly suggests that Olam absorbs preferentially onto {1 1 1} facets which leads to a very slow growth along {1 1 1} orientations and a prominence of the {1 1 1} facets [1,12].

It has been demonstrated that for large particles, electromagnetic radiation cannot polarize nanoparticles homogeneously. In these cases, the optical absorption spectra depend directly on the size and shape of the nanoparticles, which is called the extrinsic size effect [2]. As the shape of the nanoparticles changes from spheres to rods, disks, or irregular, the number of plasmon bands increases to two, three, or more [2]. The visible and near infrared spectra showed in Fig. 6 can be attributed to the nanometric features of the NSP. The band at higher energies can be assigned to the transverse plasmon absorption and does not change for NSP of different sizes. The band at lower energies, which can be attributed to the longitudinal surface plasmon absorption, depicts a different behavior. Smallest NSP show a well defined band centered at 850 nm. This band distribution has been observed in rod-like particles. The energy of the longitudinal plasmon band depends on the aspect ratio of the rod-like crystal [26]. In the present case, this effect can be assigned to the rod-like morphology of the thorns of the urchin-like particles. As the size of the NSP increase, the band widens and is progressively red-shifted. This effect can be due to a

more irregular shape and size dispersion of the thorns in the bigger NSP leading to a distribution of plasmon bands [11].

Magnetization vs. temperature measurements were performed using ZFC-FC (zero-field-cooling, field-cooling) protocol in order to assess superparamagnetic behaviour [24]. Therefore, samples were cooled from room temperature to 5 K without magnetic field. When that temperature was reached, a magnetic field of 50 Oe was set. After that, magnetization was measured as temperature was raised. When a system is superparamagnetic, a peak appears when the sample is measured in this way. To make this effect relevant, a small magnetic field was applied, typically 20 or 50 Oe. This happens because nanoparticle's magnetic moment freeze in random orientations when sample is cooled at zero magnetic field. When thermal energy is added, these magnetic moments gain freedom to flip between easy-axis orientations, so they are able to orientate with external magnetic field, reaching a maximum when most of magnetic moments become orientated at a certain temperature. Temperature corresponding to this peak is known as blocking temperature, T_B , which can be used to calculate a mean size:

$$T_B \approx \frac{KV_0}{25k_B} \quad (1)$$

where k_B is the Boltzmann constant, K is the anisotropy constant, and V_0 is the mean nanoparticle volume [27]. Assuming that magnetic cores kept their spherical shapes, V_0 can be calculated as

$$V_0 = \frac{\pi}{6} D^3 \quad (2)$$

where D is the nanoparticle's mean diameter. Magnetic interactions, like dipolar, can cause T_B to shift to higher temperatures,

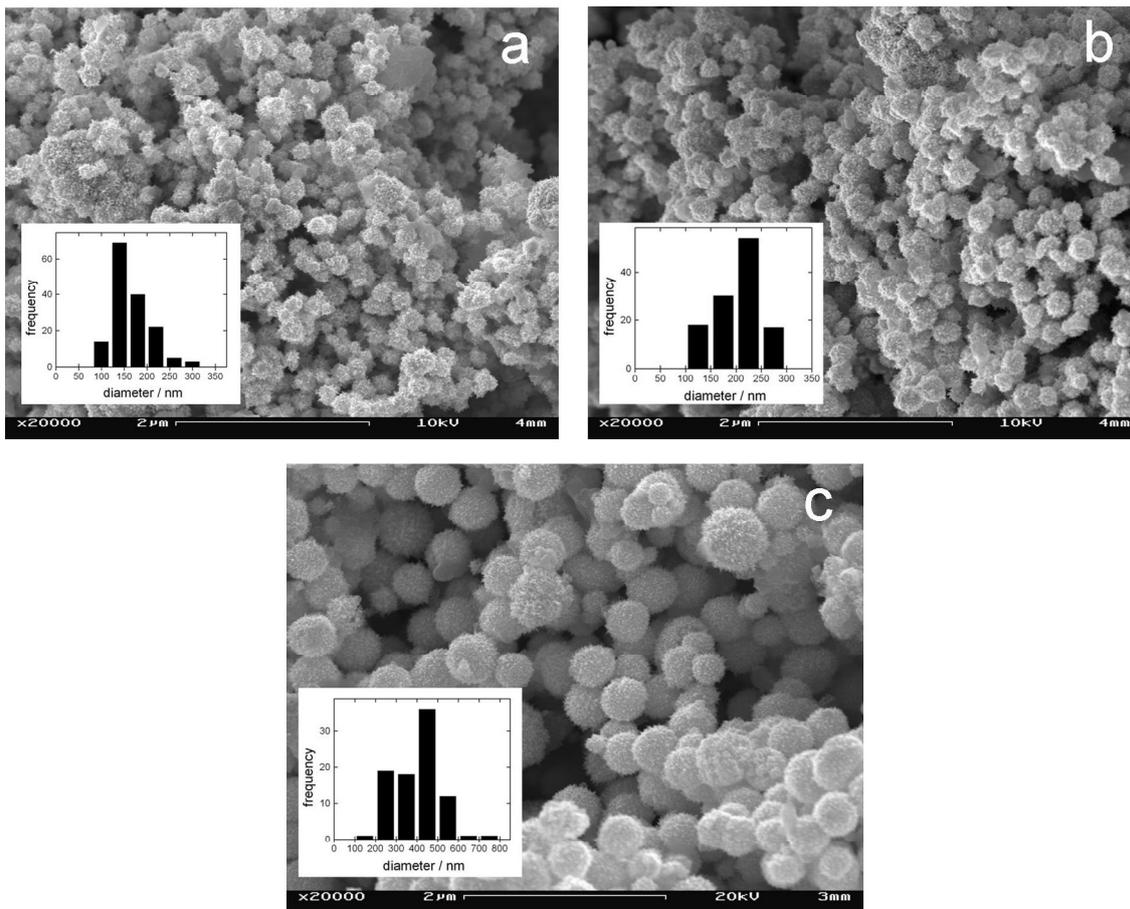


Fig. 3. SEM images of magnetic nanostructured particles formed by reducing Au(III) ions in a SPIONs dispersion with different concentrations of oleic acid and oleylamine: 3.1% (a), 1.6% (b), 0.31% (c). Histograms of size distribution are shown in the insets.

depending on interaction strength; so sizes calculated in this way can be bigger than real ones, marking an upper limit for those values [28]. After heating, the sample was cooled again with an applied magnetic field. Measurement was done in the same way as described above. The curve looks different because after cooling a preferred direction was established due to the applied magnetic field. Therefore, a maximum in magnetization strength is reached at the lowest temperature. It decreases above some temperature, to finally join to the ZFC curve, in a point known as irreversibility temperature, T_{irr} , at a value higher than T_B . The larger the difference

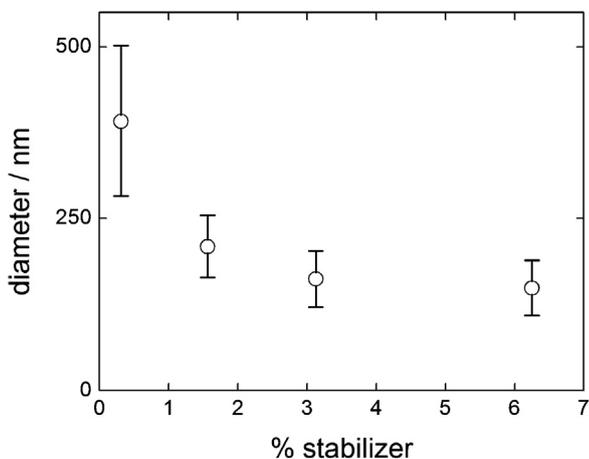


Fig. 4. Dependence of the average size of nanourchin with stabilizers concentration. Error bars show the standard deviation.

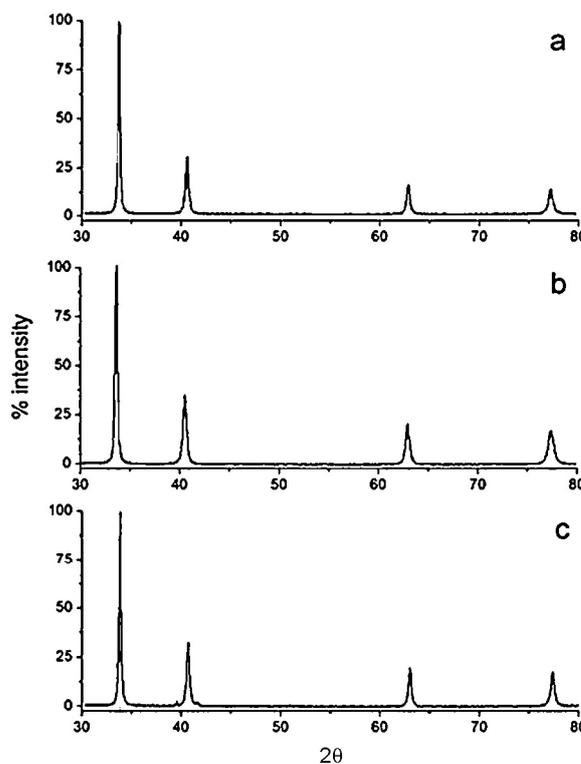


Fig. 5. X-ray diffractograms of nanostructured particles obtained with different concentrations of oleic acid and oleylamine: 3.1% (a), 1.6% (b), 0.31% (c).

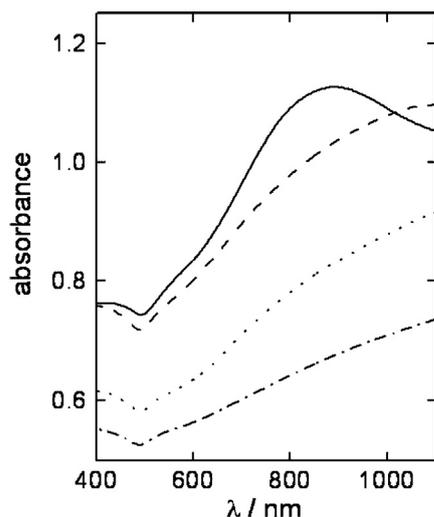


Fig. 6. Size effect in the visible and near infrared spectra of nanostructured particles dispersions obtained with different concentration of stabilizer: 0.31 (—), 1.6 (---), 3.1 (.....), 6.2% (- · - ·).

between these temperatures, the larger the size distribution [28]. Superparamagnetism was seen in all samples (see Fig. 7). Using Eqs. (1) and (2), and an effective value of $K = 2.0 \cdot 10^5 \text{ erg cm}^{-3}$, an upper mean diameter for magnetic cores ranging from 33 to 40 nm is obtained [29]. T_B was found to be close to T_{irr} in all samples, showing that magnetic nanoparticle size distribution is not large.

3.2. Biofunctionalization and use of NSP as magnetic carriers of proteins for electrochemical biosensing

The NSP obtained in this work present unique characteristics that make them very promising in chemo and biosensing. The gold shell can be easily functionalized and the high surface area permits the attachment of a large number of functional groups per particle [30]. Moreover, being magnetic, the particles can be dispersed in any fluid media to capture a desired analyte, magnetically recovered and concentrated for subsequent analysis. As a proof of concept, horseradish peroxidase (HRP), an enzyme commonly used as a label in biochemical sensing, was immobilized onto the surface of NSP [31]. NSP with covalently linked HRP (NSP-HRP) were collected magnetically onto the working electrode of an electrochemical cell and the activity of the enzyme was

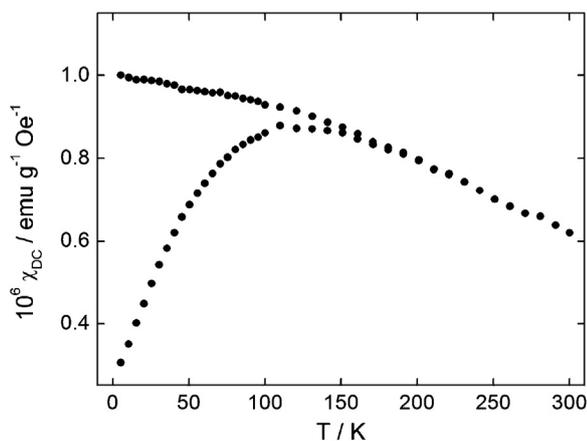


Fig. 7. ZFC-FC magnetization vs. temperature measurement for a sample of NSP formed employing a stabilizers concentration of 1.67%. $T_B = 110 \text{ K}$, which indicates a mean particle diameter of 33 nm.

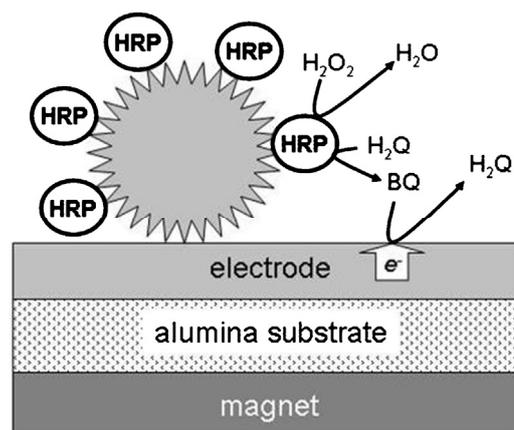


Fig. 8. Schematic representation of the electrochemical detection enzymatic activity of HRP immobilized onto magnetic carrier nanostructured particles.

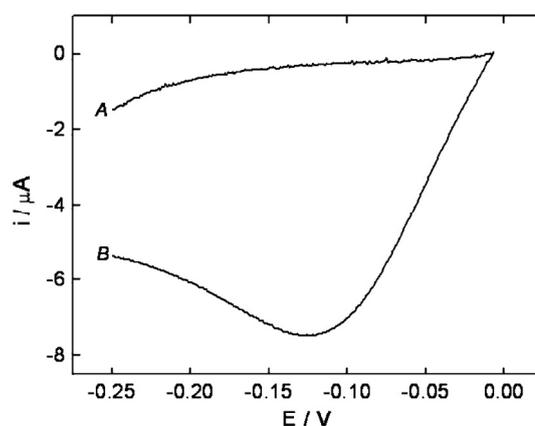


Fig. 9. Current–potential curves obtained at a scan rate of 20 mV s^{-1} with HRP linked nanostructured particles magnetically collected onto a gold electrode for different H_2O_2 concentrations: 0 (a) and 0.5 mM (b).

electrochemically detected as shown in Fig. 8. The enzymatic activity of the enzymes was determined by collecting current-potential sweep at a scan rate of 20 mV s^{-1} , from 0 V to -0.25 V . Two different curves are shown in Fig. 9. In the absence of H_2O_2 (curve a), the measured current is in the order of $1 \mu\text{A}$. However, when H_2O_2 is added to a concentration of 1.5 mM, H_2O_2 is reduced by the action of HRP and, hydroquinone is oxidized to benzoquinone. At negative enough electrode potential, the benzoquinone is reduced at the surface electrode and, consequently, a high cathodic current is observed, reaching a maximum of nearly $8 \mu\text{A}$. This relatively high value current can be attributed to the high specific surface of the NPS, which make possible a high concentration of enzymes onto the electrode. A schematic representation of this process is presented in Fig. 8. Enzymatic activity was observed even after several cycles of magnetic collection, drying, and re-dispersion.

4. Conclusions

Nanostructured particles were synthesized by depositing gold onto magnetite nanoparticles. The particles developed an urchin-like structure, with a magnetic core composed of magnetite nanoparticles and an external shell formed by gold crystals. The size of these particles could be controlled, between certain limits, by employing different concentration of surface stabilizers (oleic acid and oleylamine). Diameters could be varied from 100 to 500 nm

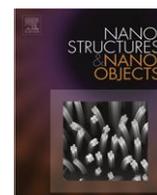
and, in all cases, the obtained particles show superparamagnetic behavior. This is, to our knowledge, the first report of size-controlled preparation of this kind of particles. These particles can be employed as magnetic carriers, taking advantage of two characteristics of these particles: firstly, their superparamagnetism, and, secondly, the chemistry of Au surfaces, which allow surface modification and macromolecules immobilization, through the use of thiols as molecular linkers. This approach of combining superparamagnetism and surface modification has been successfully proved by linking an enzyme, HRP, to the particles. Attached enzymes showed good activity even after several cycles of magnetic collection, drying, and re-dispersion.

Acknowledgments

The authors thank the Centro Microscopías Avanzadas (UBA) for SEM images, INTI Electrónica for thick film electrodes, Guillermo Cozzi for XRD measurements, LMS thanks CONICET for support, and LME-LNLS for HR-TEM images.

References

- [1] J.M. Petroski, Z.L. Wang, T.C. Gree, M.A. El-Sayed, *J. Phys. Chem. B* 102 (1998) 3316.
- [2] C. Burda, X. Chen, R. Narayanan, M.A. El-Sayed, *Chem. Rev.* 105 (2005) 1025.
- [3] C.J. Murphy, T.K. Sau, A.M. Gole, C.J. Orendorff, J. Gao, L. Gou, S.E. Hunyadi, T. Li, *J. Phys. Chem. B* 109 (2005) 13857.
- [4] S. Jeong, K. Woo, D. Kim, S. Lim, J.S. Kim, H. Shin, J. Moon, *Adv. Funct. Mater.* 18 (2008) 679.
- [5] A.W. Sanders, D.A. Routemberg, B.J. Wiley, Y. Xia, E.R. Dufresne, M.A. Reed, *Nano Lett.* 6 (2006) 1822.
- [6] H.D. Wang, W. Brandl, P. Nordlander, N.J. Halas, *Acc. Chem. Res.* 40 (2007) 53.
- [7] P.K. Jain, X. Huang, I.H. El-Sayed, M.A. El-Sayed, *Acc. Chem. Res.* 41 (2008) 1578.
- [8] H. Cai, K. Li, M. Shen, S. Wen, Y. Luo, C. Peng, G.X. Zhang, *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 15110–15120.
- [9] Y. Xia, Y. Xiong, B. Lim, S.E. Skrabalak, *Angew. Chem. Int. Ed.* 48 (2009) 60.
- [10] T.K. Sau, C.J. Murphy, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 8648.
- [11] O.M. Bakr, B.H. Wunsch, F. Stellacci, *Chem. Mater.* 18 (2006) 3297.
- [12] P.S. Kumar, I. Pastoriza-Santos, B. Rodriguez-Gonzalez, F.J.G. Abajo, L.M. Liz-Marzán, *Nanotechnology* 19 (2008) 015606.
- [13] J. Xie, Q. Zhang, J.Y. Lee, D.I.C. Wang, *ACS Nano* 2 (2008) 2473.
- [14] J. Li, J. Wu, X. Zhang, Y. Liu, D. Zhou, H. Sun, H. Zhang, B. Yang, *J. Phys. Chem. C* 115 (2011) 3630–3637.
- [15] F. Xu, K. Cui, Y. Sun, C. Guo, Z. Liu, Y. Zhang, Y. Shi, Z. Li, *Talanta* 82 (2010) 1845–1852.
- [16] J. Fang, S. Du, S. Lebedkin, Z. Li, R. Kruk, M. Kappes, *Nano Lett.* 10 (2010) 5006–5013.
- [17] G. Duan, W. Cai, Y. Luo, Z. Li, Y. Li, *Appl. Phys. Lett.* 89 (2006) 211905.
- [18] J-H. Kim, T. Kang, S.M. Yoo, S.Y. Lee, B. Kim, Y-K. Choi, *Nanotechnology* 20 (2009) 235302.
- [19] S. Guo, E. Wang, *J. Colloid Interface Sci.* 315 (2007) 795.
- [20] Z. Yang, Z.H. Lin, C.-Y. Tang, H.-T. Chang, *Nanotechnology* 18 (2007) 255606.
- [21] M. Klokkenburg, J. Hilhorst, B.H. Erne, *Vib. Spectrosc.* 43 (2007) 243.
- [22] G.H. Woehrie, L.E. Brown, J.E. Hutchinson, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 2172.
- [23] L. Wang, J. Luo, M.M. Maye, Q. Fan, Q. Redeng, M.H. Engelhard, C. Wang, Y. Lin, C.-J. Zhong, *J. Mater. Chem.* 15 (2005) 1821.
- [24] R.L. Penn, J.F. Banfield, *Science* 281 (1998) 969.
- [25] H. Jou, Y. Ji, L. Wang, S. Yang, Z. Yang, J. Fang, X. Song, B. Ding, *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 1998.
- [26] H.A. Keul, M. Möller, M.R. Bockstaller, *Langmuir* 23 (2007) 10307.
- [27] M. Knobel, W.C. Nunes, L.M. Socolovsky, E. De Biasi, J.M. Vargas, J.C. Denardin, *J. Nanosci. Nanotech.* 8 (2008) 2836–2857.
- [28] J.M. Vargas, W.C. Nunes, L.M. Socolovsky, M. Knobel, D. Zanchet, *Phys. Rev. B* 72 (2005) 184428.
- [29] E. Lima, A.L. Brandl Jr., A.D. Arellano, G.F. Goya, *J. Appl. Phys.* 99 (2006) 083908.
- [30] Y. Cui, Y. Wang, W. Hui, Z. Zhang, X. Xin, C. Chen, *Biomed. Microdevices* 7 (2005) 153–156.
- [31] C.N. Campbell, D. Gal, N. Cristler, C. Banditrat, A. Heller, *Anal. Chem.* 74 (2002) 158.



Preparation and microscopic characterization of magnetite–gold mesoparticles with tunable morphology



Paulina Lloret^a, Gabriel Ybarra^a, Pablo Granell^b, Leandro Socolovsky^c, Carlos Moina^{a,*}

^a Unidad Técnica Nanomateriales, INTI-Procesos Superficiales, Instituto Nacional de Tecnología Industrial, San Martín, Argentina

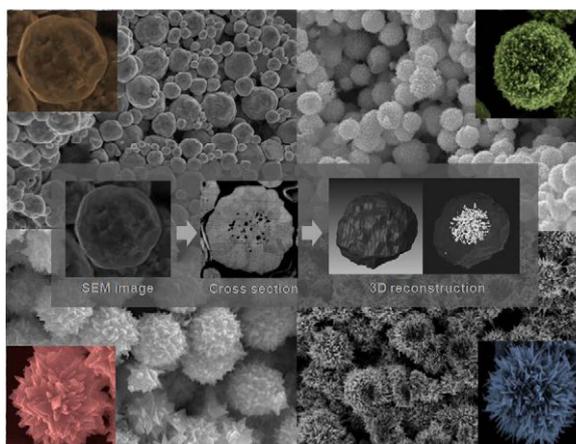
^b Centro de Micro y Nanoelectrónica del Bicentenario, Instituto Nacional de Tecnología Industrial, San Martín, Argentina

^c Laboratorio de Sólidos Amorfos, Facultad de Ingeniería, Universidad de Buenos Aires, Argentina

HIGHLIGHTS

- Magnetite–gold mesoparticles were prepared with controlled morphology by adjusting the concentration of reactants and surfactants used in the synthesis.
- A structural study was carried out by using FIB/SEM technology which revealed that the inner structure of the particles is composed by iron oxide nanoparticles and gold crystals.
- A tridimensional reconstruction was created from SEM images of sliced mesoparticles by focused ion beam.

GRAPHICAL ABSTRACT



ARTICLE INFO

Article history:

Received 13 July 2015

Accepted 25 October 2015

Keywords:

Magnetite
Gold
Mesoparticles

ABSTRACT

Composite magnetite–gold mesoscopic particles were prepared by deposition of Au onto magnetite nanoparticles. The surface morphology of the mesoparticles could be tuned by controlling the factors that affect the kinetics of the reactions and by adding surfactants that direct the growth of gold crystals. The internal structure of composite mesoparticles was analyzed by focused ion beam and scanning electron microscopy. A particle-mediated growth mechanism of formation was proposed.

© 2015 Elsevier B.V.

This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

1. Introduction

Despite their impressive wealth of applications [1–4], nanoparticles present drawbacks inherent to their nanoscale condition [5]. Their high area to volume ratio and extremely small size make

them prone to suffer from problems in terms of thermal stability, shape preservation, and manipulation. One of the strategies currently being developed to mitigate these problems consists in the preparation of larger particles that only some of the properties characteristic of nanoscale materials are preserved. Therefore in recent years, there has been an increasing interest in the synthesis, characterization and applications of particles with a size in the mesoscale (roughly between 100 nm and 1 μm). Considerable effort has been made in order to obtain mesoscopic particles (mesoparticles) of controlled size and morphology formed by the

* Corresponding author.

E-mail address: moina@inti.gov.ar (C. Moina).

controlled aggregation of nanoparticles [6]. Mesoparticles prepared in such a way are expected to show a higher stability and to be easier to handle, while other nanoscale properties are expected to be retained.

Important progress has been recently made in the preparation and the understanding of the mechanism of growth of mesoscopic particles formed by the aggregation of nanoparticles, especially regarding the formation of metallic mesocrystals [7]. A mesocrystal is a mesoscopic particle composed by a number of individual nanocrystals aligned along a common crystallographic direction, forming an ordered mesoscale superstructure [8]. A mechanism of formation has been proposed for gold [9] as well as for silver metallic mesocrystals [10]. The proposed mechanism involves four stages: initially, Au atoms are formed by chemical reduction; subsequently, Au atoms aggregate and form nuclei; then metallic nuclei aggregate to form mesoparticles in a process called particle-mediated growth; finally, Au atoms deposit onto the mesoparticle defining the final morphology of the mesoparticle. The final phase is called overgrowth and can be chemically controlled so that the resulting morphology can be tuned.

The preparation of magnetite microparticles of controlled surface morphology and internal structure has also been recently reported [11]. The authors proposed a particle-mediated growth mechanism which shares similarities with the one proposed for metallic mesoparticles: under appropriate conditions, nuclei are formed and then aggregate, while the morphology and size of the particles is defined during the overgrowth (in this phase, Ostwald ripening can also take place and modify the internal structure of the particle; this process is not possible for metallic mesocrystals).

Few studies have focused on the formation of mesoparticles composed by two dissimilar materials, such as magnetite and gold [12–15]. Moreover, a microscopic characterization of their internal structure has never been carried out and the mechanism of formation has not been properly discussed. In this paper, we present the preparation of magnetite and gold mesoparticles with tunable morphology, characterize their surface morphology and internal structure by scanning electron microscopy (SEM) and focused ion beam (FIB), and propose a particle-mediated growth mechanism of formation of mesoparticles.

2. Experimental

2.1. Synthesis of the mesoparticles

A co-precipitation method was used to obtain Fe_3O_4 . 12 g of $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ were dissolved in 75 ml of deionized water and 6 g of $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ dissolved in 25 ml of deionized water was added. 25 ml of concentrated ammonium hydroxide was dropped into the iron solution with stirring. A black precipitate was obtained and washed four times with the aid of a permanent magnet. Then, 30 mg of Fe_3O_4 were added to 80 ml of a solution of toluene containing 3.5 mM of oleic acid and c mM of oleylamine, with $c = 1.2, 2.4$ and 24 mM and redispersed with ultrasonic agitation.

Four different types of mesoparticles were prepared. For the synthesis of the Type I and II particles, a solution of gold in toluene was obtained by dissolving 0.13 mmol of Au from $\text{KAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (49% Au, Aldrich) in 20 ml of 2-propanol and then added to 100 ml of toluene.

For synthesis of Type III and Type IV particles, a solution of 0.13 mmol of $\text{KAuCl}_4 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ (49% Au, Aldrich) in 40 ml of water was extracted with 100 ml of 1.5 mM solution of tetraoctylammonium bromide.

In all cases, the magnetic dispersion was added to the organic gold solution and 5.9 mM of hydroquinone dissolved in 20 ml of 2-propanol were added.

Mesoparticles were obtained after 12 h of reaction. Particles were collected with a permanent magnet and washed with toluene and 2-propanol and dried under vacuum.

2.2. Microscopic characterization

The structure of the Type I and Type III particles was characterized with a FEI Helios Nanolab 650 Scanning Electron Microscope/Focused Ion Beam (FIB/SEM) dual system. For 3D reconstruction of Type I mesoparticles, a set of high resolution SEM images was obtained from equally spaced FIB cross sections in an automated process. The images were then aligned and color segmented with an image processing software, and the volumes were rendered. In the sample preparations, a protective Pt layer of about 1–2 μm was deposited before ion beam milling. To study the particle structure by scanning transmission electron microscopy (STEM), thin lamellae of the sample were extracted and attached in-situ to a TEM half-grid by FIB milling and Pt deposition. The lamella was then thinned and polished to a final thickness of about 50 nm, suitable for STEM imaging. Electron diffraction images were taken with a Philips CM200 TEM microscope.

3. Results

Magnetite–gold mesoparticles have been prepared by the reduction of AuCl_4^- in a dispersion of magnetite nanoparticles stabilized by oleylamine and oleic acid. Hydroquinone has been used as a reducing agent. Fig. 1 shows SEM images of mesoparticles prepared under different conditions. The morphology of the synthesized magnetite–gold mesoparticles could be controlled by the concentration of oleylamine and TOAB. Roughly spherical mesoparticles were obtained when an oleylamine concentration of 1.2 mM was used in the absence of TOAB (Type I particles). When the concentration of oleylamine was increased up to 2.4 mM in the absence of TOAB, mesoparticles with small gold protuberances of about 30 nm in the surface (Type II particles) were obtained. The presence of TOAB has a strong effect in the morphology of the mesoparticles. When an oleylamine concentration of 2.4 mM and a TOAB concentration of 1.5 mM were used, mesoparticles with a flower-like morphology were obtained (Type III particles), showing large pyramidal protuberances of gold. When the concentration of oleylamine was increased to 24 mM, keeping the TOAB concentration at 1.5 mM, nearly spherical mesoparticles with thin gold thorns were obtained (Type IV particles).

From these results, it is clear that oleylamine and TOAB play a key role in the fine tuning of the morphology of the mesoparticles. Oleylamine, in the absence of TOAB, promotes the formation of protuberances, as can be seen comparing Type I and Type II particles, where the oleylamine concentration was increased approximately four times. When TOAB is present in the synthesis media, the mesoparticles develop large protuberances, pyramidal at low TOAB concentrations corresponding to Type III particles and thorn-like at high TOAB concentrations corresponding to Type IV particles. In fact, the morphology of the prepared mesoparticles can be continuously varied among the structures shown in Fig. 1 by controlling the concentration of oleylamine and TOAB in the reaction media. (See supplementary information.)

It is worth noting that no free magnetite nanoparticles could be seen in these images. Since these mesoparticles presented a superparamagnetic behavior similar to that found for magnetite nanoparticles, it can be concluded that magnetite nanoparticles were present in the interior of the mesoparticles. In order to elucidate the question of the presence of the magnetite nanoparticles, as well as the internal structure of the mesoparticles, focused ion beam was used to progressively remove slices of a single mesoparticle, while the resulting sliced mesoparticle was observed by scanning electron microscopy (see Fig. 2).

It must be noted that internal structure of whole gold–magnetite mesoparticles could not be studied by TEM, because the presence

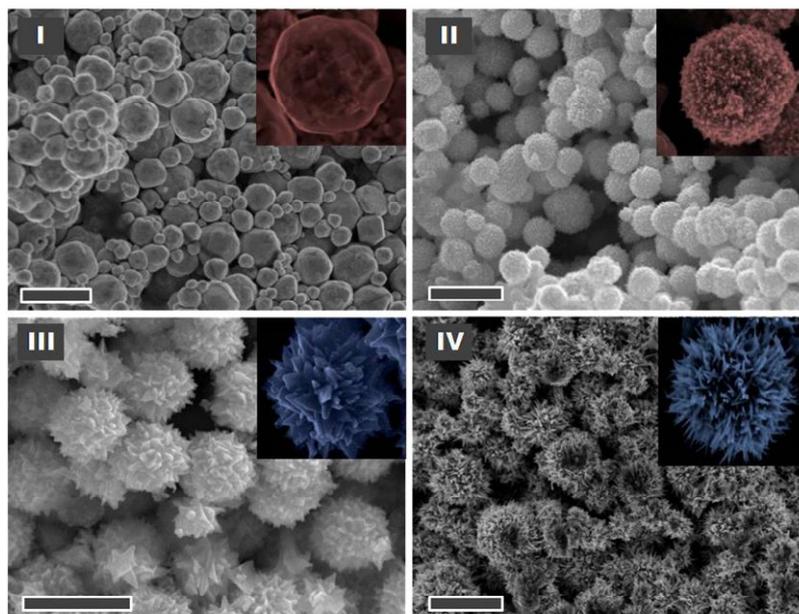


Fig. 1. SEM images of different obtained mesoparticles. The morphology was determined by the concentration of oleylamine and TOAB used in the synthesis. Particles Type I and II were obtained with a concentration of oleylamine of 1.2 mM and 2.4 mM, respectively, in the absence of TOAB. A concentration of oleylamine of 2.4 and 24 mM was used during the synthesis of particles Type III and IV respectively, while the concentration of TOAB was 1.5 mM. The scale bars represent 1 μm .

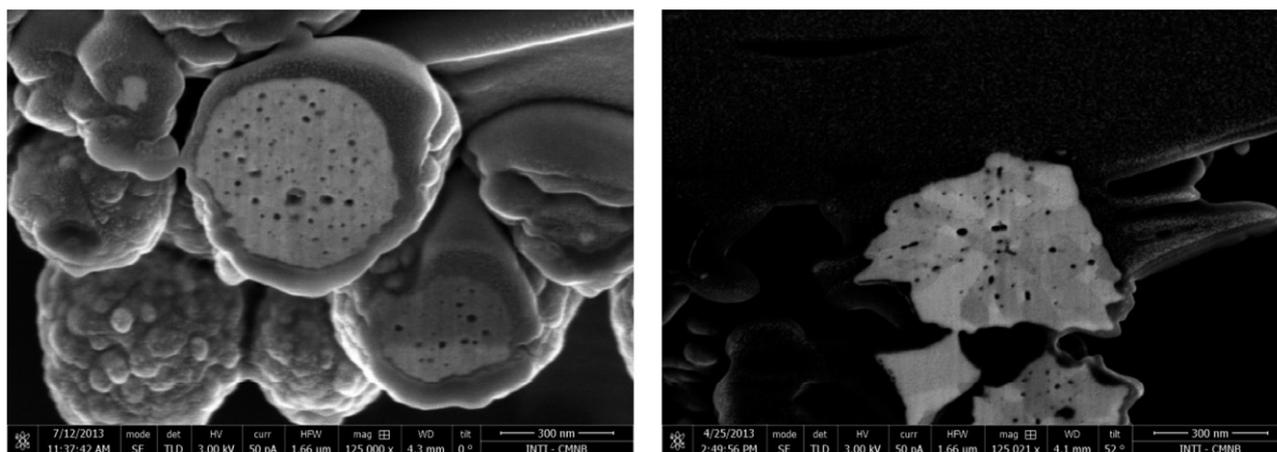


Fig. 2. SEM images of FIB cross section for a Type I (a) and Type III (b) mesoparticles.

of a thick shell of gold completely blocks the magnetite nanoparticles. Therefore, only the dark silhouette of these mesoparticles can be seen in TEM images. The thickness of the sample must be transparent enough for the incoming electron beam to be observed. Suitable thickness depends on the material and beam energy to be analyzed. In the case of materials containing gold crystals, sample should have thickness lower than 100 nm, otherwise electrons are completely scattered by the sample.

STEM images (Fig. 3) have been acquired of two slices of Type I and III mesoparticles, whose synthesis differs basically in the TOAB content. Gold crystalline domains can be seen in both types of particles, indicating that each mesoparticle was formed by multiple gold crystals. The size and shape of the crystalline domains can be clearly seen. Type III particles, whose synthesis media contains TOAB, exhibit relatively large crystal domains and straight grain boundaries, while the inner structure of Type I particles (prepared in the absence of TOAB) seem to be more irregular.

In Fig. 4, the progression of successive images obtained of a single mesoparticles (corresponding to a particle extracted from the same group as those shown in Fig. 1(a)) is shown. It can be

seen that, in the first images corresponding to the outer shell of the mesoparticle, only a compact shell can be observed. Grain boundaries can be seen, indicating that this shell is composed by several gold crystals. As the slicing progresses and the core of the particle becomes apparent, a more chaotic structure is revealed, presenting voids of about 10–20 nm, a size compatible with that of magnetite nanoparticles. Thus, FIB-SEM images suggest a core formed by gold and magnetite nanoparticles surrounded by a shell of compact gold, as can be seen in a 3D reconstruction carried out from FIB-SEM images (Fig. 5).

Electron diffraction images of samples Type I and Type III taken on each respective lamellae shows spots and faint halos coming from gold and iron oxide crystals (Fig. 6). Those spots also show that in each lamella crystals of different orientations coexist, as is observed in STEM images. These results confirm the presence of magnetite nanoparticles embedded into gold crystals.

In the following section, we propose a mechanism of formation of the mesoparticles based on the FIB-SEM images, as well on the existing literature on the formation of metallic mesoparticles. The fine tuning of the morphology of the mesoparticles can also be understood in the frame of the proposed mechanism.

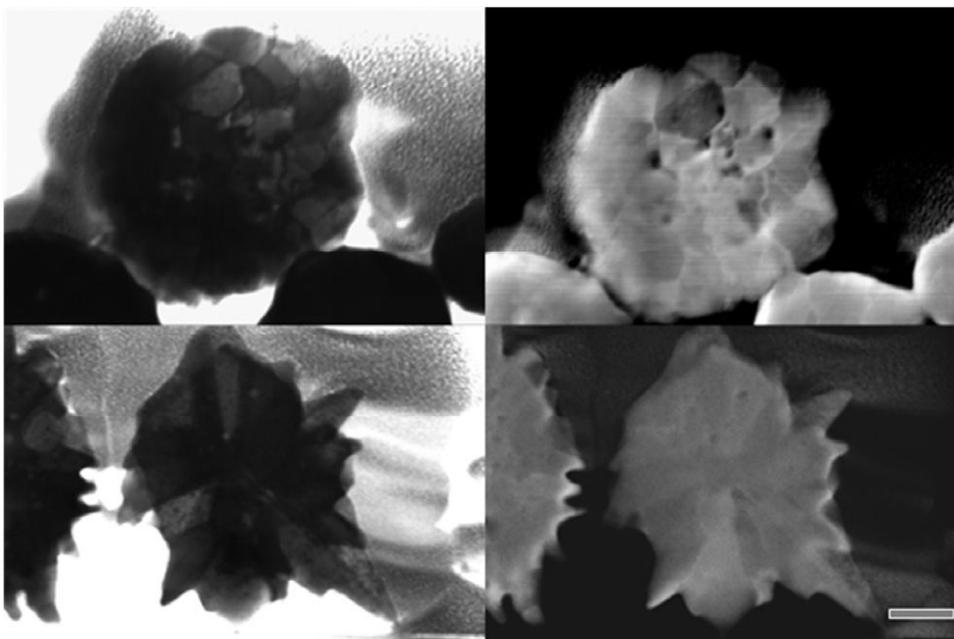


Fig. 3. STEM images of 100 nm thick lamellae of Type I and Type III particles, where the contrast between different crystalline domains can be seen in HAADF mode. The scale bars represent 100 nm.

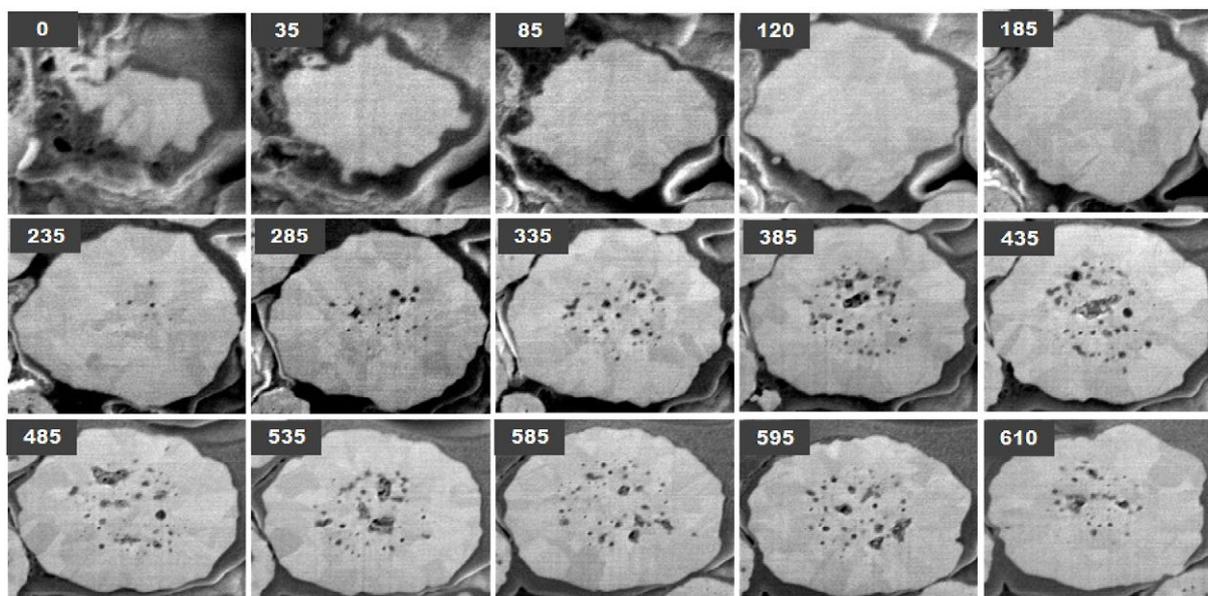


Fig. 4. SEM images of progressive cross sections obtained by FIB for a Type I mesoparticle. Images for 120 cross sections were obtained, with a difference of 5 nm between two successive images. The accumulated distance of removal is shown in nanometers at the top left corner.

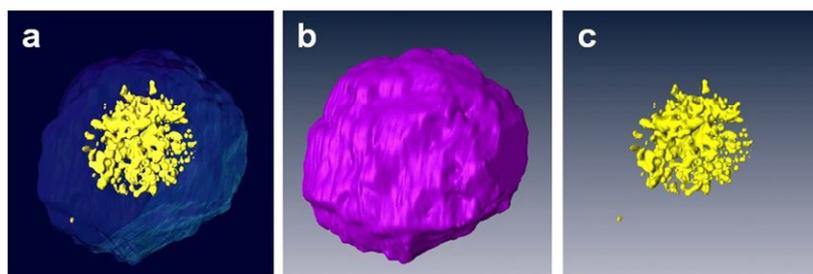


Fig. 5. (a) 3D reconstruction of mesoparticle Type I obtained from 120 images of cross sections. The image analysis software allows to distinguish two different regions, corresponding to a porous core (c) surrounded by a compact gold shell (b).

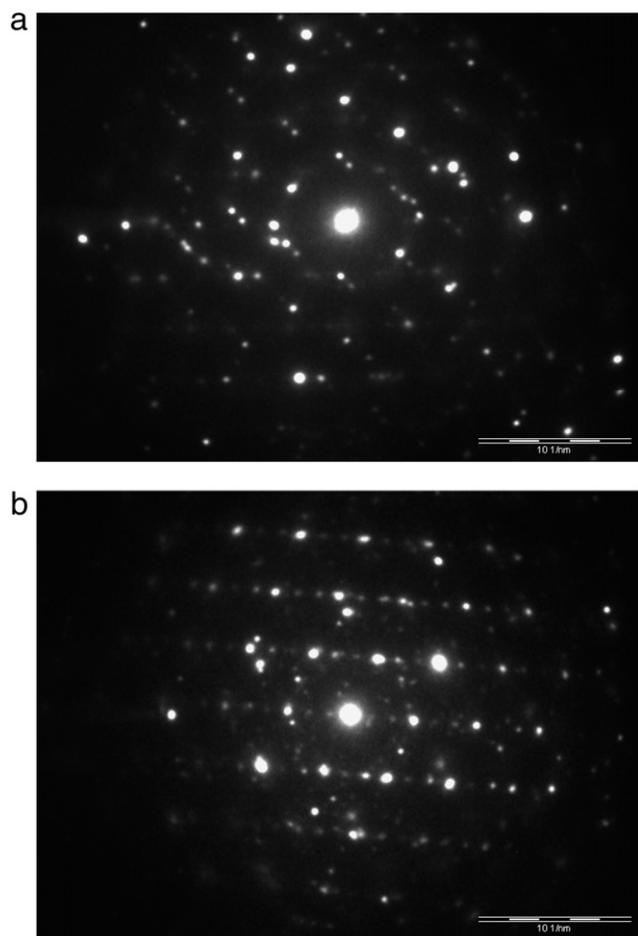


Fig. 6. Bright spots can be seen in electron diffraction images corresponding to Type I (a) and Type III (b). In both images crystalline planes {111} and {222} coming from gold crystals; and {220}, {440} and {311} family planes coming from magnetite crystals can be identified.

4. Discussion

We propose a mechanism based on the non-classical particle-mediated growth mechanism previously reported for the formation of silver and gold mesocrystals [9,16]. Unlike the reported cases in which only a kind of material is considered (e.g. either Au or Ag), the gold–magnetite mesoparticles are composed by two different materials. Consequently, additional processes should be taken into account, such as the heterogeneous deposition of Au atoms onto magnetite nanoparticles.

The proposed mechanism of formation of mesoparticles is illustrated in Fig. 7. Initially, a dispersion of magnetite nanoparticles stabilized with oleic acid and oleylamine is placed in contact with AuCl_4^- and a reducing agent. Other components, such as TOAB, may or may not be present to the reaction medium. The proposed mechanism of particle-mediated growth can be divided in four stages. In the first stage, Au atoms are formed by the reduction of Au(III) with a reducing agent. As this reaction proceeds, the concentration of Au atoms in the solution increases, as is shown in the schematic LaMer diagram. When it exceeds the supersaturation point (C_{ss}^* in Fig. 7), the second stage begins in which Au atoms deposit onto magnetite nanoparticles. This is an important difference with respect to the formation of metallic mesocrystals composed by a single metal, where metallic atoms must aggregate to form nuclei. The deposition of Au atoms onto magnetite nanoparticles is a heterogeneous phase deposition, while the formation of metallic nuclei follows the classical homogeneous precipitation process. As a consequence

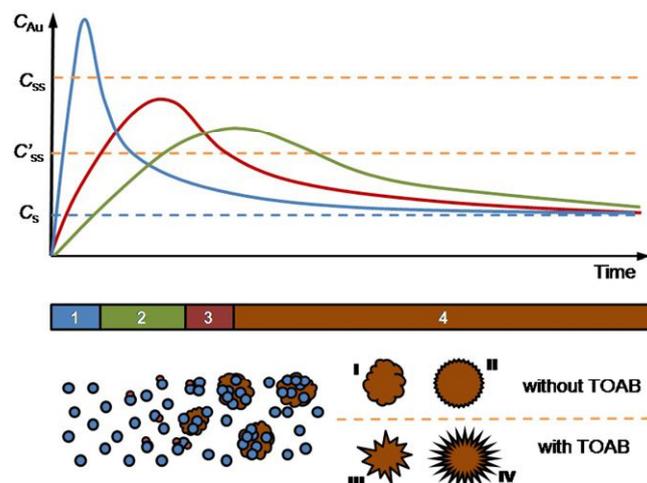


Fig. 7. Time evolution of the concentration of Au atoms in the reaction medium (above) and schematic representation of the formed particles (below) at the different stages of the reaction: (1) formation of Au atoms; (2) deposition of Au atoms onto magnetite nanoparticles; (3) aggregation of nanoparticles (particle-mediated growth); (4) overgrowth (deposition of Au atoms onto mesoparticles). The fine tuning of the topography is defined during the overgrowth by the concentration of oleylamine and TOAB. The different curves correspond to the time evolution of Au atoms under the different conditions which lead to the formation of gold mesocrystals (in blue) and gold–magnetite mesoparticles (Type I and II are shown in red, Type III and IV in green). (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

of the heterogeneous phase deposition of Au atoms onto magnetite nanoparticles, the concentration of Au atoms in the solution decreases. It becomes apparent that the deposition of gold onto magnetite nanoparticles disrupts the oleic acid and oleylamine cap which stabilizes the dispersion of nanoparticles, thus promoting the formation of gold–magnetite aggregates. Then, the third stage, called particle-mediated growth, begins, in which gold–magnetite nanoparticles aggregate to form roughly spherical mesoparticles. As shown in Figs. 4 and 5, this aggregation results in a rather disordered structure, well reflected in the reconstruction shown in Fig. 5. Below the supersaturation point for the heterogeneous deposition, Au atoms cease to deposit onto magnetite nanoparticles. At this point, the fourth stage, called overgrowth, begins, in which the remaining Au atoms are deposited onto the mesoparticles formed during the previous stage, inducing the overgrowth. The final morphology of the mesoparticles is defined during the overgrowth, in which gold is deposited onto magnetite–gold mesoparticles. In this stage, well-defined gold crystal developed, surrounding the less structured gold–magnetite nucleus (Fig. 4). In this stage, the presence of different compounds, which can affect the rate of deposition of gold (e.g. oleylamine and TOAB), is relevant.

It has been shown that the strength of reducing agent affects the kinetics of formation of particles, and therefore the resulting morphology [17]. As a part of this work, a synthesis using a strong reducing agent such as sodium borohydride has been carried out and it led to the formation of bluish non-magnetic particles, which can be attributed to the formation of pure gold particles. This process is also included in Fig. 7. When a strong reducing agent such as sodium borohydride is used, gold atoms are rapidly produced. Consequently, the supersaturation concentration (C_{ss} in Fig. 7) is exceeded and pure gold nuclei are formed. In order to promote the deposition of gold onto magnetite, milder reducing agents must be used so that the more sluggish kinetics which lead to the formation of composite mesoparticles can be followed. Hydroquinone was chosen because it is a mild reducing agent soluble in the toluene and 2-propanol media of reaction. In the

absence of TOAB, gold atoms are formed according to the following reaction:



This is the first stage in the path to the formation of Type I and II mesoparticles. Even though the reduction with hydroquinone is slow compared to borohydride, the reaction still proceeds at a fast rate and magnetite–gold particles have been observed after only a few minutes of reaction.

The addition of TOAB affects the process of formation of mesoparticles in two ways: firstly, by lowering the rate of formation of Au atoms and, secondly, by adsorbing onto Au facets and promoting preferential crystalline growth. In the case of Type III and IV particles, in the first step of reduction of Au (III) an exchange of ligands takes place in the AuCl_4^- , bromide ions replace chloride ions, and AuBr_4^- is formed [18,19]. AuBr_4^- is a rather stable complex and consequently the reduction of Au(III) and the formation of gold atoms is slower in the presence of TOAB since the following reaction is more sluggish:



As a consequence, the formation of mesoparticles proceeds at a slower rate and only after two hours the first particles could be observed. On the other hand, bromide has a tendency to adsorb to gold crystalline planes, promoting anisotropic growth [20,21]. It is well known that bromide ions adsorb preferentially onto (111) planes, which leads to the formation of pyramidal crystalline tips [22]. To test the influence of the amine groups on the formation of pyramidal tips, a preparation of particles was carried out in which CTAB (cetyltrimonium bromide) was used in place of TOAB. Particles with pyramidal tips were also obtained, suggesting that this morphological feature is determined by the presence of bromide anions and the corresponding organic cation plays a secondary role.

The content of oleylamine also affects the overgrowth of mesoparticles. Oleylamine is known to promote the formation of nanowires. Similarly, increasing amounts of oleylamine promote the formation of protuberances (Type II particles) and thorns (Type IV particles) in magnetite–gold mesoparticles. Thus, in the absence of bromide, it is possible to gradually modify the surface topography of the smooth surface of Type I particles to the rough one of Type II particles by increasing the oleylamine concentration. In the presence of bromide, the surface topography can be tuned from the pyramids that cover Type III particles to the thorns of Type IV particles.

5. Conclusions

Composite magnetite–gold mesoparticles were prepared in a one-pot method. The surface morphology of the mesoparticles could be tuned by controlling the factors that affect the kinetics of the reactions (i.e. the rate of gold atoms formation) and by adding surfactants that direct the anisotropic growth of gold crystals. The internal structure of composite mesoparticles was analyzed for the first time by FIB-SEM and a mechanism of formation was proposed in accordance with the observed characteristics of the particles and the existing literature.

Acknowledgments

The authors thank Gonzalo Zbihlei from CNEA for TEM images. LMS thanks CONICET.

References

- [1] S.Y. Shim, D.K. Lim, J.M. Nam, *Nanomedicine* 3 (2008) 215.
- [2] X. Liu, Q. Dai, L. Austin, J. Coutts, G. Knowles, J. Zou, *J. Am. Chem. Soc.* 130 (2008) 2780.
- [3] G. Han, P. Ghosh, V.M. Rotello, *Nanomedicine* 2 (2007) 113.
- [4] A.K. Salem, P.C. Searson, K.W. Leong, *Nature Mater.* 2 (2003) 668.
- [5] K. Okuyama, M. Abdullah, I.W. Lenggoro, F. Iskandar, *Adv. Powder Technol.* 17, 6 (2006) 587.
- [6] M. Niederberger, H. Colfen, *Phys. Chem. Chem. Phys.* 8 (2006) 3271.
- [7] J. Fang, S. Du, S. Lebedkin, Z. Li, R. Kruk, M. Kappes, H. Hahn, *Nano Lett.* 10 (2010) 5006.
- [8] J. Fang, B. Ding, H. Gleiter, *Chem. Soc. Rev.* 40 (2011) 5347.
- [9] referencia oro J. Xie, Q. Zhang, J. Yang Lee, D. Wang, *ACS NANO* 2 (12) (2008) 2473.
- [10] L. Cheng, C. Ma, G. Yang, H. You, J. Fang, *J. Mater. Chem. A* 2 (2014) 4534.
- [11] B. Rodríguez-González, F. Vereda, J. de Vicente, R. Hidalgo-Álvarez, *J. Phys. Chem. C* 117 (2013) 5397.
- [12] P. Lloret, G. Longinotti, G. Ybarra, L. Socolovsky, C. Moína, *Mater. Res. Bull.* 48 (10) (2013) 3671.
- [13] Z. Yang, Z. Hong Lin, C. Tang, H. Chang, *Nanotechnology* 18 (2007) 255606.
- [14] Y. Wei, R. Klajn, A.O. Pinchuk, B.A. Grzybowski, *Small* 4 (2008) 1635.
- [15] Q. Wei, H. Song, A.P. Leonov, J.A. Hale, D. Oh, Q.K. Ong, K. Ritchie, A. Wei, *J. Am. Chem. Soc.* 131 (28) (2009) 9728.
- [16] H. You, Y. Ji, L. Wang, S. Yang, Z. Yang, J. Fang, X. Song, B. Ding, *J. Mater. Chem.* 22 (2012) 1998.
- [17] M.R. Langille, M.L. Personick, J. Zhang, C.A. Mirkin, *J. Am. Chem. Soc.* 134 (2012) 14542.
- [18] G.H. Woehrie, L.E. Brown, J.E. Hutchinson, *J. Am. Chem. Soc.* 127 (2005) 2172.
- [19] L. Wang, J. Luo, M.M. Maye, Q. Fan, Q. Redeng, M.H. Engelhard, C. Wang, Y. Lin, C.J. Zhong, *J. Mater. Chem.* 15 (2005) 1821.
- [20] H. Senapati, A.K. Singh, S.A. Khan, T. Senapati, P.C. Ray, *Chem. Phys. Lett.* 504 (2011) 46.
- [21] T.K. Sau, C.J. Murphy, *J. Am. Chem. Soc.* 126 (2004) 8648.
- [22] H.L. Wu, C.H. Chen, M. Huang, *Chem. Mater.* 21 (2009) 110.

