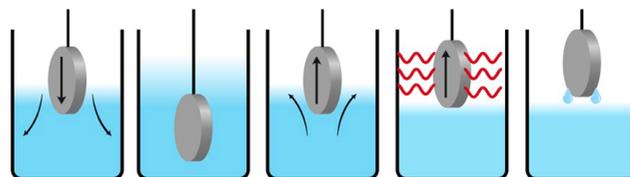
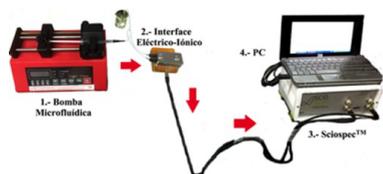
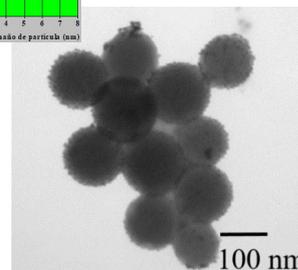
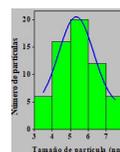
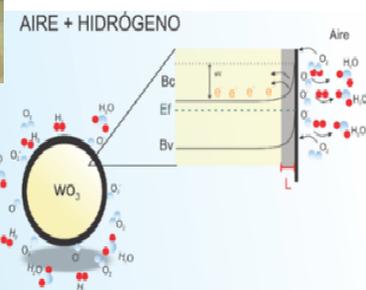
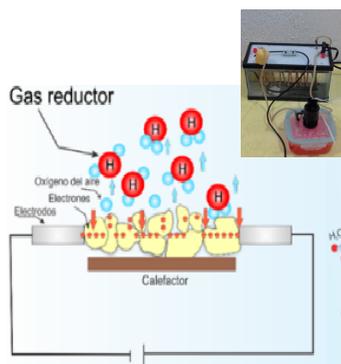
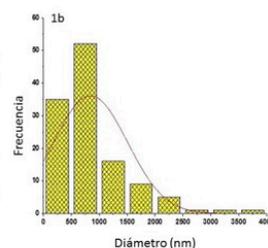
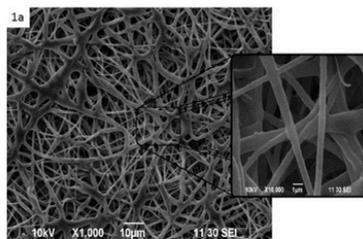
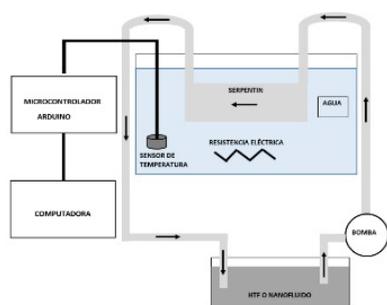


# Avances de Investigación en NANOCIENCIAS, MICRO Y NANOTECNOLOGÍAS (VOLUMEN III)

## RED DE NANOCIENCIA MICRO NANOTECNOLOGÍA DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL





# AVANCES DE INVESTIGACIÓN EN NANOCIENCIAS, MICRO Y NANOTECNOLOGÍAS

## VOLUMEN 3

EDITOR

Dr. Eduardo San Martín Martínez •  
*Coordinador de la Red de Nanociencia y  
Micro Nanotecnología - IPN 2018 a 2023*



**OmniaScience**

España

## Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III

Editores: Dr. Eduardo San Martín Martínez, Coordinador de la Red RNMN - IPN  
2018 a 2023



ISBN: 978-84-123480-1-9

DOI: <https://doi.org/10.3926/oms.408>

## OmniaScience

© OmniaScience (Omnia Publisher SL), Terrassa, Barcelona, Spain, 2021

© OmniaScience (Omnia Publisher SL), 2021

Imágenes de cubierta: Autores, 2021

OmniaScience no se hace responsable de la información contenida en este libro y no aceptará ninguna responsabilidad legal por los errores u omisiones que puedan existir.

# COMITÉ EDITORIAL

---

## ÁREA DE SALUD



**Dr. Cesar Antonio Gonzalez Diaz**  
Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional



**Dr. Juan Manuel Vélez Reséndiz**  
Escuela Superior de Medicina, Instituto Politécnico Nacional

## ÁREA DE ENERGÍA



**Dr. Héctor Báez Medina**  
Centro de Investigación en Computación, Instituto Politécnico Nacional



**Dr. Norberto Hernández Como**  
Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías, Instituto Politécnico Nacional

## ÁREA DE ALIMENTOS



**Dr. José Abraham Balderas López**

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional



**Dr. Jorge Yáñez Fernández**

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Instituto Politécnico Nacional

## ÁREA DE MEDIO AMBIENTE



**Dr. Ricardo Cuenca Álvarez**

Centro de Investigación e Innovación Tecnológica, Instituto Politécnico Nacional



**Dra. Mónica de la Luz Corea Téllez**

Escuela Superior de Ingeniería Química e Industrias Extractivas, Instituto Politécnico Nacional

Apoyo secretarial de edición del Libro **Lic. Jocelyn Lissette Aguilar Bustamante**  
Analista de la Red de Nanociencia y Micro Nanotecnología CORiYp - IPN

# ÍNDICE

---

<b>PRÓLOGO .....</b>	<b>9</b>
----------------------	----------

## **ÁREA DE ENERGÍA**

<b>Capítulo 1: BODIESELS ALTERNATIVOS CON NANOPARTÍCULAS PARA EL USO EN SISTEMAS DE INGENIERÍA TÉRMICA .....</b>	<b>15</b>
--	-----------

Genaro López Gamboa, José Luis Jiménez Pérez, Rubén Gutiérrez Fuentes, Zormy Nacary Correa Pacheco, Jose Francisco Sánchez Ramírez, Alfredo Cruz Orea

<b>Capítulo 2: NANOESTRUCTURAS DE WO<sub>3</sub> COMO CAPA ACTIVA DE UN SENSOR CONDUCTIMÉTRICO PARA LA DETECCIÓN DE H<sub>2</sub>.....</b>	<b>47</b>
--	-----------

M. Cruz-Leal, O. Goiz, F. Chávez, G. F. Pérez-Sánchez y C. Felipe.

## **ÁREA DE SALUD**

<b>Capítulo 1: DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS INCORPORADAS CON LEVOFLOXACINO .....</b>	<b>65</b>
--	-----------

Ningel Omar Gama-Castañeda, Rocío Guadalupe Casañas-Pimentel, Miguel Ángel Aguilar-Méndez, Juan Maldonado-Cubas, Mónica Rosalía Jaime-Fonseca

<b>Capítulo 2: SÍNTESIS DE GLICO-NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA SU POTENCIAL USO EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL .....</b>	<b>81</b>
---	-----------

Guillermo Rocaél Vázquez Martínez, Marco Antonio Meraz-Ríos, José Abraham Balderas-López

Capítulo 3: **BIOSENSOR DE CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA BASADO EN BIOIMPEDANCIA Y NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS**..... 101

César A. González, Gisela Gutiérrez y Virginia Sánchez

Capítulo 4: **DESARROLLO DE UN NANOSENSOR NÚCLEO-CORAZA DE  $\text{SiO}_2/\text{Au}$  PARA APLICACIÓN BIOMÉDICA**..... 117

Angel Netzahual-Lopantzi, José Luis Jiménez-Pérez, José Francisco Sánchez-Ramírez.

### **ÁREA ALIMENTOS**

Capítulo 1: **APLICACIÓN DE LA NANOTECNOLOGÍA EN LA CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS AGRÍCOLAS, COMO LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN EL CEPROBI-IPN** ..... 145

Zormy Correa-Pacheco, Laura Leticia Barrera-Necha, Rosa Isela Ventura-Aguilar, Mónica Hernández-López, María Luisa Corona-Rangel y Silvia Bautista-Baños

### **ÁREA MATERIALES**

Capítulo 1: **EFFECTO DEL PARÁMETRO  $\mu$  EN LA POLARIZACIÓN DE UN SENSOR DE pH DE ESTADO SÓLIDO CON BINT Y CEQ COMO PARÁMETROS CLAVE**..... 171

José Luis Hernández-López, Miguel Alemán-Arce, Norberto Hernández-Como

Capítulo 2: **SÍNTESIS DE  $\text{Na}_x\text{CO}_3$  MEDIANTE MÉTODO PECHINI Y DIFERENTES TRATAMIENTOS TÉRMICOS PARA OPTIMIZAR PROPIEDADES TERMOELÉCTRICAS** ..... 193

Carolina Estrada-Moreno, Edna Carina de la Cruz Terrazas, Miguel Antonio Domínguez-Crespo, Hans-Peter Martin, Miguel A. Frutis, Aidé Minerva Torres-Huerta.

Capítulo 3: **FORMACIÓN DE PELÍCULAS DE ÁCIDO OCTADECILFOSFÓNICO PARA INCREMENTAR LAS PROPIEDADES DE BARRERA DE SUSTRATOS Ti6Al4V** ..... 215

K. Anaya-Garza, M.A. Domínguez-Crespo, A.M. Torres-Huerta, S.B. Brachetti-Sibaja.

## PRÓLOGO

---

Con 85 años de quehacer educativo, científico y tecnológico, el Instituto Politécnico Nacional se erige como la institución del Estado mexicano líder en educación tecnológica del país, gracias a su incesante labor de contribuir con técnica y calidad a la formación de profesionistas y científicos comprometidos con los más altos valores en la ciencia y la tecnología, pero también con valores humanísticos; al tiempo de aportar al desarrollo y avance de la nación a través de soluciones innovadoras que permiten dar atención a las necesidades prioritarias de México.

El Instituto Politécnico Nacional es una institución comprometida con la excelencia académica y la pertinencia institucional; por ello, ha incorporado contenidos relacionados con la Cuarta Revolución Industrial, a los Planes de Estudio de sus Programas Educativos. Nuestra oferta educativa se integra por 264 Programas Académicos impartidos en la modalidad Escolarizada: 41 del nivel Medio Superior, 69 del Superior y 154 de Posgrado; estos últimos distribuidos en 34 especialidades, 76 maestrías y 44 doctorados.

El IPN es la segunda institución de educación pública, a nivel Federal, con el mayor número de investigadores registrados en el Sistema Nacional de Investigadores (SNI), que contribuyen a la generación de conocimiento científico y tecnológico del más alto nivel. Al cierre de 2020, 1 mil 273 investigadores de esta Casa de Estudios pertenecen al SNI. A través de los investigadores se han participado en convocatorias institucionales de investigación, tan solo en 2020, en este rubro, se desarrollaron 1 mil 901 proyectos. Recientemente, tres de ellos

recibieron el reconocimiento de Investigador Emérito por su trayectoria a lo largo de sus vidas.

El trabajo colaborativo, en el Politécnico, ha permitido organizar 12 Redes de investigación, incluyendo la Red de Investigación en Inteligencia Artificial y Ciencia de Datos, conformada en 2020. Su objetivo es realizar proyectos conjuntos en diversos campos de la ciencia para incrementar la competitividad e impulsar la innovación, la colaboración científica y académica entre grupos nacionales e internacionales, así como abordar problemas nacionales de gran escala.

En específico, la Red de Investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías RNMN, fue creada en 2009. La membresía de la red a diciembre de 2019 es de 71 investigadores activos, adscritos a escuelas y centros de investigación antes mencionados; 61 de estos profesores pertenecen al Sistema Nacional de Investigadores SNI, además cuenta con un programa de Doctorado en Red en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías y cuenta con un Centro de Servicios en Nanociencias Micro y Nanotecnologías CNMN con dos laboratorios nacionales CONACyT. Uno especializado en caracterización de materiales y el otro especializado en micro y nanofabricación de dispositivos micro-electro-mecánicos MEMS. A su interior la RNMN se ha organizado en cinco grupos de aplicación de las Nanociencias, Micro y nanotecnologías: Salud, Energía, Alimentos, Medioambiente y Materiales.

Este Libro “**Avances de investigación en nanociencias, micro y nanotecnologías volumen III**”, se presenta en cuatro áreas la actividad de los grupos multidisciplinarios de investigación de la RNMN, describiendo sus aportaciones a algunos retos de los problemas nacionales. El área de Energía, incluye dos capítulos. En el primer capítulo, el Dr. Genaro López Gamboa, José Luís Jiménez Pérez, Rubén Gutiérrez Fuentes, Zormy Nacary Correa Pacheco, Jose Francisco Sánchez Ramírez y Alfredo Cruz Orea, del Instituto Tecnológico de Toluca en colaboración con investigadores de UPIITA, CIBA y CEPROBI, presentan los avances en el estudio de Biodiesels con diferentes nanopartículas metálicas para el mejoramiento del transporte aplicando las técnicas fototérmicas para estudiar el transporte de calor y conocer las propiedades térmicas del nanobiodiesel tales como la difusividad, la efusividad y la conductividad térmicas. En el capítulo dos, los Doctores Cruz-Leal, Oscar Goiz, F. Chávez, G. F. Pérez-Sánchez y C. Felipe del Centro de Investigaciones en Óptica A.C. y el CIEMAD, utilizaron la técnica de deposición química en fase vapor por filamento caliente (HFCVD, por sus siglas en inglés) para sintetizar películas de óxido de tungsteno. Las películas de

óxido de tungsteno se emplearon como capa activa de un sensor de gas de tipo conductimétrico para la detección de hidrógeno.

El área de Salud está integrada por cuatro capítulos. En el primer capítulo, los Doctores Ningel Omar Gama-Castañeda, Rocío Guadalupe Casañas-Pimentel, Miguel Ángel Aguilar-Méndez, Juan Maldonado-Cubas y Mónica Rosalía Jaime-Fonseca del CICATA Unidad Legaria, proponen el desarrollo de apósitos de nanofibras con antibióticos incorporados para su administración transdérmica, que podrían ofrecer ventajas significativas como una aplicación directa sobre el sitio afectado, una liberación sostenida del antibiótico, la disminución de las dosis empleadas, y de manera más importante, facilitar el apego al esquema terapéutico indicado para contrarrestar el desarrollo de microorganismos resistentes. En el capítulo dos los Doctores, Guillermo Rocaél Vázquez Martínez, Marco Antonio Meraz-Ríos, José Abraham Balderas-López de UPIIBI, presentan los resultados de la investigación: síntesis de glico-nanopartículas de oro para su potencial uso en el sistema nervioso central. En su investigación, se propone un método fácil y rápido para sintetizar nanopartículas de oro de 5-10 nm con recubrimiento de disacáridos reductores y no reductores, con la finalidad de incorporar las propiedades terapéuticas de los disacáridos a las nanopartículas. En el capítulo 3 los Doctores César A. González, Gisela Gutiérrez y Virginia Sánchez de la Escuela Superior de Medicina, reportan sus resultados sobre un Biosensor de Células de Cáncer de Mama basado en Bioimpedancia y Nanopartículas Magnéticas. El desarrollo es sobre un nuevo biosensor para detección de CTC características de CaMa, cuyo principio de funcionamiento se basa en mediciones de Espectroscopia de Bioimpedancia Eléctrica (EBiE) asistida con nanopartículas magnéticas (NpM) acopladas a un anticuerpo (Ab) monoclonal que reconoce proteínas de superficie.

En el capítulo cuatro los Doctores Angel Netzahual-Lopantzi, José Luis Jiménez-Pérez y José Francisco Sánchez-Ramírez de UPIITA, reportan sus hallazgos sobre el Desarrollo de un nanosensor núcleo-coraza de  $\text{SiO}_2@Au$  para aplicación biomédica. En este estudio se llevó a cabo la síntesis de nanoesferas de dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) y sobre estas se realizó el crecimiento de una nanocoraza de oro. Bandas de absorción localizadas en la región infrarrojo cercano fueron registradas mediante espectroscopia UV-Vis en muestras conteniendo nanopartículas de  $\text{SiO}_2@Au$ .

El área de Alimentos se compone de un capítulo. En este capítulo los Doctores Zormy Correa-Pacheco, Laura Leticia Barrera-Necha, Rosa Isela Ventura-Aguilar,

Mónica Hernández-López, María Luisa Corona-Rangel y Silvia Bautista-Baños, del CEPROBI, describen su investigación sobre: aplicación de la nanotecnología en la conservación de productos agrícolas, como línea de investigación en el Ceprobi-IPN. Se reporta la síntesis, caracterización y aplicación de recubrimientos nanoestructurados con el objetivo principal de conservar productos agrícolas de interés comercial que son susceptibles al daño por microorganismos causantes de importantes pérdidas económicas durante su almacenamiento. Los recubrimientos nanoestructurados formulados se basan en polímeros biodegradables como el quitosano, incorporando también aceites esenciales y extractos vegetales.

El área de Materiales comprende tres capítulos. En el primer capítulo los Doctores Carolina Estrada-Moreno, Edna Carina de la Cruz Terrazas, Miguel Antonio Domínguez-Crespo, Hans-Peter Martin, Miguel A. Frutis, Aidé Minerva Torres-Huerta de CICATA Altamira, presentan sus hallazgos en el proyecto: Síntesis de  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  mediante método Pechini y diferentes tratamientos térmicos para optimizar propiedades termoelectricas. En este trabajo se sintetizaron cobaltitas de sodio,  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ , utilizando el método Pechini. Se obtuvieron polvos a 300 °C, se proponen dos procedimientos; en el primero, los polvos se trataron con etapas intermedias de tiempo y temperatura hasta alcanzar una temperatura de 880 °C y diferentes tiempos; en el segundo procedimiento, los polvos se trataron sin etapas intermedias, hasta llegar a una temperatura de 880 °C, a diferentes tiempos. En el segundo capítulo, los Doctores K. Anaya-Garza, M.A. Domínguez-Crespo, A.M. Torres-Huerta y S.B. Brachetti-Sibaja de CICATA Altamira, reportan resultados sobre la Formación de Películas de Ácido Octadecilfosfónico para incrementar las propiedades de barrera de sustratos  $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$ . Aquí se realizó un análisis estructural de películas de OPA depositadas sobre la aleación  $\text{Ti}_6\text{Al}_4\text{V}$  utilizando la técnica de dip-coating con el fin de determinar su estructura cristalina. Para ello se utilizó el método de refinamiento de Rietveld empleando los programas HighScore Plus® y FullProf Suite®. A partir del ajuste atómico realizado, se determinó que la estructura cristalina que presentó un valor de bondad del ajuste ( $\chi^2$ ) más bajo es la monoclinica simple perteneciente a un grupo espacial  $P 1 21 1$ ; por lo que se asume que ésta es la estructura a la que pertenece el OPA bajo las condiciones de síntesis realizadas. Finalmente en el tercer capítulo, los Doctores José Luis Hernández-López, Miguel Alemán-Arce y Norberto Hernández-Como, reportan su investigación sobre el efecto del parámetro  $\mu$  en la polarización de un sensor de pH de estado sólido con  $\beta$ int y ceq como parámetros clave. Se concluye que, la polarización de un sensor de pH de estado sólido, a base de alúmina nanoestructurada, presentó una excelente

sensibilidad y linealidad ( $0.0507 \text{ V/pH}$ ,  $R^2 = 0.9966$ ), haciendo de este nanomaterial un buen prospecto para aplicaciones microanalíticas.

Avances de investigación en nanociencias, micro y nanotecnologías volumen III, es el tercer de libro de los integrantes de la RNMN, que presenta nuevos avances en la investigación en esta disciplina y se convertirá un libro útil para investigadores, académicos y estudiantes.

**Dr. Hugo Necochea Mondragón**

Coordinador de Operación de Redes de Investigación del IPN.



## BIODIESELS ALTERNATIVOS CON NANOPARTÍCULAS PARA EL USO EN SISTEMAS DE INGENIERÍA TÉRMICA

---

**Genaro López Gamboa<sup>1</sup>, José Luís Jiménez Pérez<sup>2\*</sup>,  
Rubén Gutiérrez Fuentes<sup>3</sup>, Zormy Nacary Correa Pacheco<sup>4</sup>,  
Jose Francisco Sánchez-Ramírez<sup>5</sup>, Alfredo Cruz Orea<sup>6</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Tecnológico de Toluca. Avenida Tecnológico S/N. Colonia Agrícola Bellavista Metepec, Estado de México. CP 52149, México.

<sup>2</sup>Unidad Profesional Interdisciplinaria en Ingeniería y Tecnologías Avanzadas-Instituto Politécnico Nacional, Av. IPN, No. 2580, Col. Barrio la Laguna Ticomán, Gustavo A. Madero, Ciudad de México. CP 07340, México.

<sup>3</sup>Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Ciudad Cuauhtémoc, Av. Tecnológico # 137, Ciudad Cuauhtémoc, Chihuahua. CP 31500, México.

<sup>4</sup>CONACYT-Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, Carretera Yautepec-Jojutla, km 6, calle CEPROBI, No. 8, San Isidro, Yautepec, Morelos. CP 62731, México.

<sup>5</sup>CIBA-Instituto Politécnico Nacional, Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala. CP 90700, México.

<sup>6</sup>Departamento de Física, CINVESTAV-IPN, Av. Instituto Politécnico Nacional, No. 2508, Col. San Pedro Zacatenco, Ciudad de México. CP 07360, México.

López Gamboa, G., Jiménez Pérez, J. L., Gutiérrez Fuentes, R., Correa Pacheco, Z. N., Sánchez-Ramírez, J. F., & Cruz Orea, A. (2021). Biodiesels alternativos con nanopartículas para el uso en sistemas de ingeniería térmica. En E. San Martín-Martínez (Ed.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III* (pp. 15-46). Barcelona, España: Omniascience.

## Resumen

En las últimas décadas los biodiesels surgen debido a la falta de combustibles y a las condiciones ambientales, considerándose éstos como una energía alternativa para posibles aplicaciones en colectores e intercambiadores de energía limpia. Recientemente se han incorporado nanopartículas metálicas a los biodiesel en diferentes concentraciones, tamaño y suspensiones. La importancia y novedad de los nanolíquidos se debe a que tienen diferentes aplicaciones en sistemas de ingeniería térmica como enfriadores de paneles solares, en radiadores de motor, almacenadores de energía, sistemas solares térmicos, estanques y celdas solares termoeléctricas, etc. El objetivo de este trabajo es el estudio de biodiesels con diferentes nanopartículas metálicas para el mejoramiento del transporte aplicando las técnicas fototérmicas para estudiar el transporte de calor y conocer las propiedades térmicas del nanobiodiesel tales como la difusividad, la efusividad y la conductividad térmicas. Finalmente, se desarrolló un circuito cerrado simulando un radiador de carro, usando diferentes líquidos base que afectan la transferencia de calor con posibles aplicaciones en dispositivos intercambiadores de calor en circuitos cerrados.

**Palabras clave:** Nanopartículas, biodiesel, nanofluidos, circuitos cerrados, técnicas fototérmicas.

## 1. Introducción

Fundamentalmente, la conversión de energía y transporte de calor ocurren a niveles atómicos o moleculares; debido a ello es de esperar que la nanociencia y la nanotecnología jueguen un papel significativo en revitalizar la industria, al ser la transferencia de calor crucial en los sistemas cerrados, siendo la conductividad térmica ( $k$  en W/mK) el factor principal para modificar la baja conductividad térmica de fluidos convencionales, como el agua, aceite mineral, aceite vegetal, y etileno-glicol, etc. La conductividad térmica representa una limitación primaria en el desarrollo de sistemas cerrados eficientes para la transferencia de calor [1]. Una forma de mejorar la conductividad térmica de un fluido en específico es suspender nanopartículas (NPs, por las siglas en inglés de nanoparticles) sólidas en él, con la finalidad de modificar el transporte, flujo y transferencia de calor en el mismo [2]. Los NFs han atraído mucha atención en años recientes, debido a que sus dimensiones y propiedades son dependientes de su forma y estructura, ya que un fluido mezclado con NPs tiene un alto grado de conductividad térmica. Se han realizado muchos análisis de fluidos mezclados con NPs de oro (Au) y plata (Ag); sin embargo, hasta ahora hay pocos trabajos reportados de NFs formados por biodiesel y NPs de Au y Ag. Existen muchas aplicaciones de los NFs que se han reportado en la literatura como fluidos de transferencia de calor o HTF (por las siglas en Inglés: Heat Transfer Fluid) [3], refrigerantes/anticongelantes en automoviles[4], refrigerantes en proceso de maquinado (corte y fresado) [5], en sistemas de aire acondicionado [6], enfriamiento en sistemas militares, incluyendo vehículos militares, submarinos y láseres diodo de alta potencia [7] y sistemas de refrigeración doméstica [8].

La  $k$  de los nanofluidos es una propiedad termofísica clave, la cual depende de: tamaño de las NPs, temperatura y de las propiedades termo-físicas del fluido base. En los últimos años se han reportado muchas investigaciones sobre la  $k$  de NFs, y al mismo tiempo se han propuesto un número considerable de modelos teóricos para la predicción de la  $k$  de los NFs la mayoría de estos modelos no han sido capaces de predecir adecuadamente la  $k$  de la variedad de NFs que existen, como ejemplos de estos modelos son los siguientes: Maxwell (M) y Hamilton-Crosser (HC). Estos modelos teóricos se basan en la teoría clásica de compuestos y mezclas conteniendo partículas del orden de milímetros o micrómetros; sin embargo, se ha demostrado en diferentes investigaciones que no son adecuados para predecir la  $k$  de los NFs, debido principalmente a que estos modelos toman en consideración solamente el efecto de la concentración de NPs. Para evitar la

situación anterior muchos investigadores han enfocado su atención en el uso de las redes neurales artificiales o ANNs (por las siglas en Inglés de Artificial Neural Networks) para la predicción de la  $k$  en NFs, y los resultados han dado un alto grado de consistencia entre los datos experimentales y los valores teóricos utilizando ANNs [9].

Las nobles propiedades de los nanomateriales provienen de la razón área superficial/volumen. Las propiedades térmicas, mecánicas, ópticas, magnéticas y eléctricas de materiales nanométricos son superiores que las que presentan los materiales en bulto [10].

Por otra parte, el biodiesel ha ganado popularidad respecto a los combustibles fósiles hoy en día, debido a sus propiedades amigables con el medio ambiente, por ejemplo: menor producción de humo y partículas, mayor octanaje, origen doméstico, menores emisiones de monóxido de carbono e hidrocarburos. También son biodegradables, no tóxicos y proporcionan lubricación a los automotores contra el diesel que es bajo en sulfuro y son semitransparentes [11].

En este trabajo de investigación se obtuvieron las propiedades fototérmicas de NFs (biodiesel de aceite vegetal mezclado con NPs de Au y Ag en diferentes concentraciones) utilizando las técnicas fototérmicas (o PTTs, por las siglas en inglés de photo thermal techniques) siguientes: espectroscopía de Lente Térmica (o TLS, por las siglas en inglés de thermal lens spectroscopy) para obtener la difusividad térmica o  $D$  (por la sigla en inglés de diffusivity) con unidades de medida en  $m^2/s$ ; espectroscopía de fotopiroeléctrico inverso o IPPES (por las siglas en inglés de inverse photo pyro electric spectroscopy) para obtener la efusividad térmica o  $e$  (por la sigla en inglés de effusivity) con unidades de medida en  $Ws^{1/2}/m^2K$ ; espectroscopía de Fotoacústica (o PAS, por las siglas en inglés de photo acoustics spectroscopy) para obtener (al igual que la IPPES) la  $e$  de los nanofluidos estudiados. Por último, en la investigación de este trabajo se propone un reservatorio de una prueba preliminar con diferentes líquidos y anticongelantes para el registro de la temperatura, que permita determinar la transferencia de calor a través de un sistema cerrado parecido a un sistema de circulación de enfriamiento de un motor conveccional.

## 2. Experimental

En cuanto a los materiales utilizados para crear los NFs se utilizaron tres tipos de biodiesel: uno llamado C4 por la empresa que lo elabora (Biofuels de

México S.A de C.V.) el cual es un biodiesel que se sintetiza a partir de desechos de aceites vegetales: biodiesel de soya (BS) y de jatrofa (BJ), que se obtuvieron a partir de aceite vegetal de soya y jatrofa, respectivamente, utilizando el método de “Transesterificación”.

Las NPs utilizadas en este proyecto fueron de Au y Ag que se obtuvieron utilizando el método de “Reducción Química”.

Cabe mencionar que una vez que se obtuvieron tanto el biodiesel como las NPs de Au y Ag se sintetizaron los NFs mediante el proceso denominado de “Dos Pasos”. Este método consiste en sintetizar por separado la fase líquida (biodiesel) y la fase sólida (NPs) y después se dispersan las NPs en el fluido base a una concentración deseada [12].

### ***2.1. Síntesis de Biodiesel de Aceite Vegetal de Soya y Jatrofa***

En este proyecto se sintetizó biodiesel a partir de aceite de soya y de aceite de jatrofa mediante el método de transesterificación, siguiendo el mismo procedimiento reportado por Encinar y colaboradores [13]. La reacción de transesterificación se llevó a cabo en un reactor esférico de 500 mL, al mismo que se le instaló un termómetro y un sistema para condensación; se situó este reactor sobre una parrilla con agitador magnético, se agregaron 200 mL de aceite vegetal de soya y se ajustó la temperatura de la parrilla a 60 °C, en un vaso de precipitado se colocó 40 mL de alcohol (metanol) y 0.7 g de NaOH, se agitó esta mezcla hasta llegar a la homogeneidad; una vez que el aceite llegó a la temperatura de 60 °C, se vació el metóxido de sodio (metanol + NaOH) dentro del reactor y se provocó la agitación magnética durante 4 horas, una vez pasado este tiempo se dejó reposar el contenido en el reactor hasta su enfriamiento a temperatura ambiente, formándose dos capas en la reacción: la capa superior que consistió de ésteres metílicos (biodiesel) y una capa inferior de glicerina, restos de catalizador sin reaccionar y exceso de metanol. Se hizo una separación de fases y después se lavó la fase correspondiente al biodiesel con agua destilada. Se realizaron varios procesos de lavado para asegurar la eliminación de restos de catalizador. Para verificar que la síntesis de biodiesel fue efectiva, se utilizó la espectrofotometría de infrarrojo con transformada de Fourier o FTIR. En este proyecto se obtuvieron los espectros de FTIR del biodiesel C4, soya y jatrofa, los cuales son mostrados en la Figura 1A).

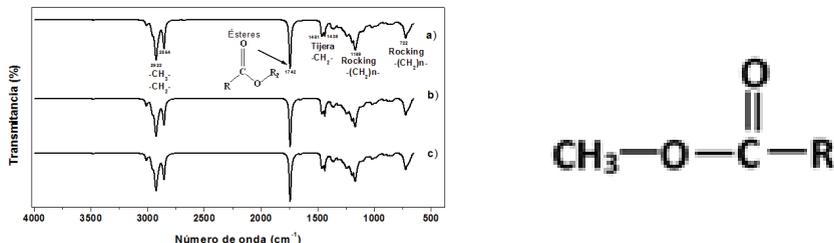


Figura 1. A) Espectros de FTIR del biodiesel: a) C4, b) soya y c) jatrofa.  
B) Molécula de un éster metílico (biodiesel).

Como se puede observar en la Figura 1A, los espectros de los tres diferentes biodieseles son muy parecidos [14] mostrando un pico en  $1742\text{ cm}^{-1}$ , el cual corresponde al grupo funcional de los ésteres; existen otros picos en  $2854$ ,  $1461$ ,  $1436$ ,  $1169$  y  $722\text{ cm}^{-1}$ , los cuales corresponden a cadenas largas del enlace  $\text{CH}_2$  y el pico en  $2922\text{ cm}^{-1}$  corresponde al grupo funcional de  $\text{CH}_3$ . Una molécula de éster metílico (biodiesel) se muestra en la Figura 1B.

## 2.2. Síntesis de Nanopartículas de Ag

La síntesis de las NPs de Ag se llevo a cabo utilizando el procedimiento reportado por Gutiérrez Fuentes y colaboradores [15], procediendo como sigue: se preparó una solución acuosa con  $\text{AgNO}_3$  ( $0.0013\text{ M}$ ,  $25\text{ mL}$ ) en un vaso de precipitado, la cual fue agitada por 30 minutos. Después se agregó una solución acuosa con citrato de sodio ( $0.097\text{ M}$ ,  $1\text{ mL}$ ) y se agitó esta mezcla ( $\text{AgNO}_3/\text{H}_2\text{O}$  y citrato de sodio/ $\text{H}_2\text{O}$ ) por 60 minutos; pasado este tiempo, se observó que dicha solución presentó un color amarillento, el cual es característico de las NPs de Ag. Para comprobar que la síntesis de NPs de Ag fue efectiva, se utilizó un Microscopio de Transmisión Electrónica (TEM). La Figura 2, muestra una micrografía de TEM para las NPs de Ag sintetizadas por el método de reducción química.

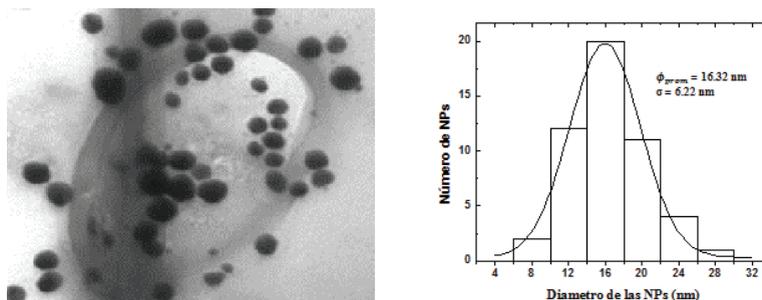


Figura 2. Micrografía de NPs de plata y la distribución de tamaño.

La Figura 2, muestra una micrografía de las NPs de Ag sintetizadas por el método de reducción química, tienen una morfología esférica, y de acuerdo con la gráfica de distribuciones de tamaños se obtuvo como promedio un diámetro de 16.32 nm, con una desviación estándar en cuanto al diámetro de las mismas de  $\pm 6.22$  nm.

### 2.3. Síntesis de Nanopartículas de Au

Para llevar a cabo la síntesis de NPs de Au, se siguió el procedimiento que se describe a continuación [16]: se preparó una solución, en un vaso de precipitado (22 g de docusato de sodio en 50 mL de aceite isooctano), a la par se preparó una segunda solución acuosa (9.6 mg de  $\text{AuClH}_3$ , en 1 mL de  $\text{H}_2\text{O}$  destilada) en un segundo vaso de precipitado, la cual se sometió a agitación constante (200 rpm) por dos minutos; pasado ese tiempo, se agregaron 100  $\mu\text{L}$  de docusato de sodio y se continuó con la agitación por cinco minutos más. Después se agregó un agenter reductor (5.45  $\mu\text{L}$  de hidracina) y se continuó agitando por otros dos minutos; una vez hecho esto, se verificó que la solución agitada presentara un color violeta (color característico de las NPs de Au) y hecho ésto, se agregó un estabilizante (600  $\mu\text{L}$  de dodecanotiol) y se continuó con la agitación por dos minutos más, dejando reposar dicha solución por quince días; pasado este tiempo, se lavó el contenido del vaso de precipitado tres veces con acetona para eliminar los restos de hidracina, dodecanotiol y docusato de sodio, para de esta manera obtener las NPs de Au. La Figura 3, muestra una micrografía de las NPs de Au sintetizadas por el método de reducción química, donde se puede apreciar que las NPs de Au sintetizadas por el método de reducción química tienen una morfología esférica y de acuerdo con la gráfica de distribuciones de tamaños se obtuvo como promedio un diámetro de 9.1 nm con una desviación estándar en cuanto al diámetro de las mismas de  $\pm 3.4$  nm.

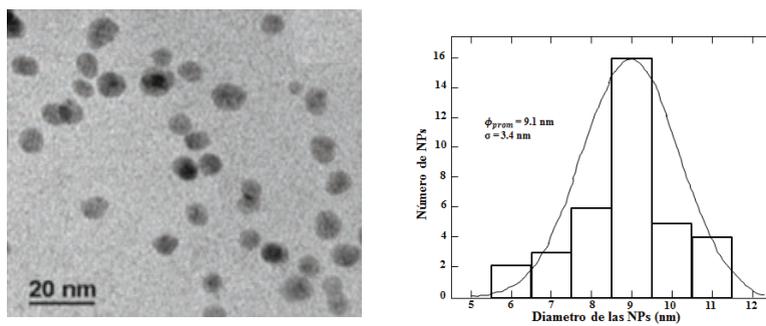


Figura 3. Micrografía de NPs de Au y la distribución de tamaño.

## 2.4. Preparación de Nanofluidos

En este proyecto para la preparación de los NFs se utilizó un baño ultrasónico modelo 2800 de la marca Branson, cada una de las muestras se sometió a agitación ultrasónica por una hora a 20 khz, durante la preparación [1]. Por otra parte, para obtener la absorbancia de los NFs estudiados se utilizó un espectrofotómetro Genesys 10S UV-Vis de la marca Thermo Scientific. La Figura 4A muestra el espectro de absorción de los NFs de biodiesel de C4 con NPs de oro.

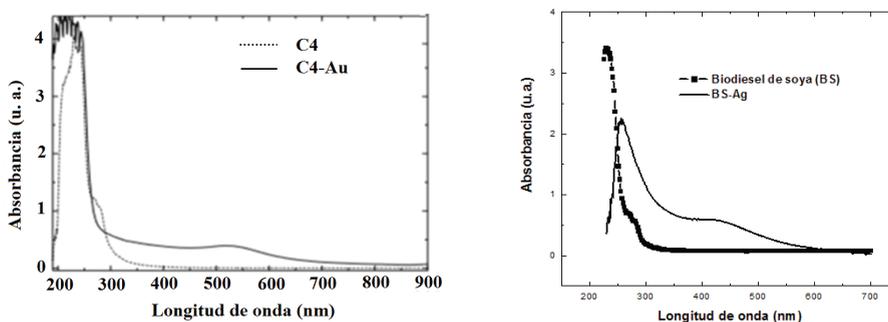


Figura 4. A) Espectro de absorción del NF de C4-Au. B) Espectro de absorción del NF de BS-Ag.

Como se aprecia en la Figura 4A, el espectro del NF en cuestión presenta una banda de absorción de  $\sim 450$  nm a  $\sim 650$  nm; ésto se debe primeramente a la presencia del PSR (por las siglās en inglés de Plasmon Superficial Resonance) derivado de las NPs de oro. La importancia de obtener el espectro de absorbancia de los NFs reside en el hecho de que se requiere que la muestra absorba parte de la luz incidente (532 nm); ya que esa es la longitud de onda correspondiente al láser de excitación en las técnicas fototérmicas utilizadas como son la Lente Térmica, Fotopiroeléctrico y la Fotoacústica.

La Figura 4B, muestra el espectro de absorción correspondiente al NF de biodiesel de soya con NPs de plata. De igual manera que el NF de C4-Au, la Figura 4 muestra el espectro del NF de BS-Ag y como se puede observar, este espectro presenta una banda de absorción de  $\sim 475$  nm a  $\sim 550$  nm, debido a la presencia del PSR relativo a las NPs de Ag.

## 2.5. Obtención de las Propiedades Térmicas de los NFs con las Técnicas Fototérmicas

Las PTTs a diferencia de las técnicas calorimétricas tienen la ventaja de que no son ni invasivas ni destructivas. Se caracterizan por tener un haz de láser

modulado llamado haz de excitación el cual incide en la muestra y parte de su energía es absorbida por la muestra, generando un cambio en la temperatura de la muestra, que depende del radio y del tiempo de duración de un pulso del haz de excitación; una vez que termina el pulso, se propicia la relajación del estado excitado en la muestra, ocasionándose tres cambios en la misma: cambio en su temperatura, cambio en su densidad y cambio en su presión (onda acústica); estos tres cambios a su vez ocasionan un cambio en el índice de refracción de la muestra. En la Figura 5 presenta un panorama general del principio de las PTTs.

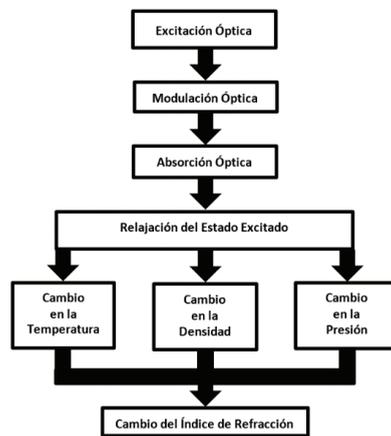


Figura 5. El principio de las Técnicas Foto-Térmicas en muestras líquidas semitransparentes.

Una vez que se obtiene la  $D$  y la  $e$  de las muestras es posible calcular la  $k$  de las muestras utilizando la Ecuación 1:

$$k = e \sqrt{D} \quad (1)$$

donde:  $k$  es la conductividad térmica (en  $W/m^{\circ}C$ ),  $e$  es la difusividad térmica (en  $m^2/s$ ) y  $D$  es la efusividad térmica (en  $Ws^{1/2}/m^2K$ ).

### 2.5.1. Espectrometría de Lente Térmica

La espectrometría de Lente Térmica (o TLS, por sus siglas en inglés: thermal lens spectrometry) es una técnica que ha sido ampliamente usada para investigar las propiedades térmicas y ópticas de materiales transparentes. En aplicaciones químicas y analíticas la TLS ha demostrado ser de alta sensibilidad, con límites

de detección de dos a tres órdenes de magnitud más que los obtenidos de las técnicas de espectrofotometría convencionales. Esta técnica es ideal para la determinación de ultratrazas y la medición del espectro de absorción [17].

Se utilizan dos láseres, uno de excitación de mayor potencia ( $\text{Ar}^+\text{Xe}$ ) y otro de menor potencia como láser de prueba ( $\text{He-Ne}$ ). Las configuraciones experimentales poseen dos arreglos: modo acoplado [18] y desacoplado. En este arreglo, la celda de la muestra se pone en la cintura del haz de excitación, donde la densidad de potencia y el gradiente térmico del índice de refracción producido permiten observar una mejor señal [19]. El haz de prueba es enfocado fuera de la muestra, ya que en esta configuración el haz de prueba es más ancho que el de excitación. El gradiente de temperatura y el índice de refracción varían fuera del radio  $\omega_c$  del haz de excitación afectando la propagación del haz de prueba, por lo que debe considerarse la naturaleza aberrante de la TL [20, 21]. La formación de la lente térmica se genera cuando incide un haz láser de excitación con perfil gaussiano  $\text{TEM}_{00}$ , en una muestra semitransparente, la muestra absorbe la energía del haz, generando calor y un gradiente de temperatura, originándose un cambio en el índice de refracción con la temperatura, creando este efecto un elemento óptico “lente-virtual”, llamada lente térmica (TL). Cuando hacemos incidir un segundo láser llamado haz de prueba en esta región, será afectado al pasar por la TL, resultando en una divergencia o convergencia, dependiendo de la naturaleza de la muestra utilizada

La ecuación característica de la TLS, está representada por:

$$I(t) = I(0) \left[ 1 - \frac{\theta}{2} \tan^{-1} \left( \frac{2mV}{[(1+2m)^2 + V^2](t_c/2t) + 1 + 2m + V^2} \right) \right]^2 \quad (2)$$

donde:  $I(0)$ , es la intensidad de la señal cuando ya sea  $t$  o  $\theta$  es cero,  $\theta$  es un valor proporcional a la diferencia del cambio de fase del haz de prueba,  $m$  indica el grado de desacoplamiento del haz de prueba y de excitación,  $V$  es un valor que indica la razón  $V = Z_l / Z_c$  (donde  $Z_l$  distancia del centro de la muestra al plano del detector sobre el eje  $Z$  y  $Z_c$  es la distancia confocal del haz de prueba) y  $t_c$  es la constante de tiempo característica (tiempo donde se forma la lente térmica).

El montaje experimental para la TLS, se muestra en la Figura 6. El haz de excitación se ajustó a una potencia  $P_e = 40\text{mW}$  con  $\lambda_c = 532\text{ nm}$ , y fue focalizado por una lente convergente ( $f_1=10\text{ cm}$ ), colocando una cubeta de cuarzo (10mm) en el plano focal. La exposición de la cubeta al haz de excitación fue controlada por medio de un obturador. El haz de prueba proviene de un láser de

He-Ne ( $\lambda_p = 632.8 \text{ nm}$ ), fue focalizado mediante una lente convergente ( $f_2 = 28 \text{ cm}$ ), con un ángulo  $\alpha < 1.5$  con respecto al haz de excitación. Los datos leídos por el detector fueron llevados a una tarjeta de adquisición de datos (Texas Instruments Modelo) y posteriormente llevados hasta una computadora mediante un programa de instrumentación virtual para su posterior análisis y ajuste.

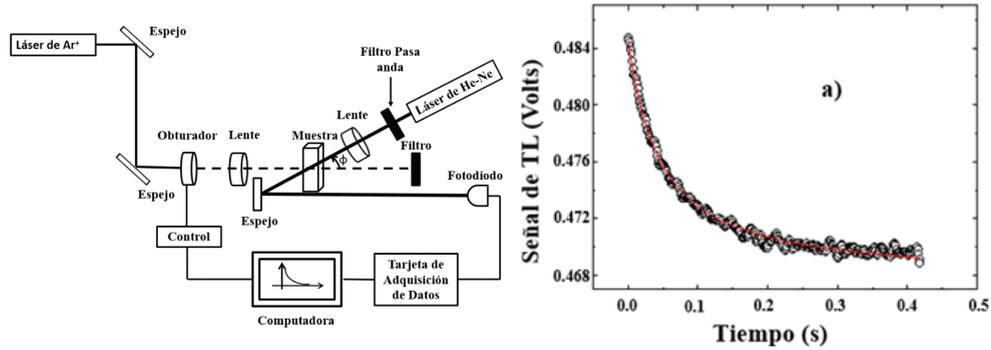


Figura 6 A). Esquema del arreglo experimental de la TL, curva característica de TL del biodiesel C4. B) Curva de TL para el biodiesel C4 (los datos experimentales están representados por círculos transparentes mientras que la línea sólida corresponde al ajuste teórico).

### 2.5.2. Espectrometría de Fotopiroeléctrico

En este trabajo de investigación, se utilizó la técnica de espectroscopia de fotopiroeléctrico (o IPPES, por las siglas en inglés de Inverse Photo Pyro Electric Spectroscopy) para obtener la efusividad térmica o  $e$  (por la sigla en inglés de Effusivity) del NF de biodiesel C4 mezclado con NPs de oro en diferentes concentraciones, la  $e$  esta relacionada con la  $D$  y la  $k$ ; mediante la ecuación (1).

Para obtener la  $e$  del biodiesel de C4 con NPs de oro se utilizó la ecuación característica de IPPES propuesta por Flores-Cuautle y colaboradores [22]:

$$\theta(\omega) = \frac{\left(1 - e^{-q_p l_p}\right)(1 + b) + \left(e^{-q_p l_p} - 1\right)(1 - b)}{(g + 1) e^{-q_p l_p} (1 - b) + (1 + g) e^{q_p l_p} (1 + b)} \quad (3)$$

donde;  $\theta(\omega)$  es proporcional a la señal de salida del detector piroeléctrico,  $l_p$  es el espesor del detector en  $\mu\text{m}$ ,  $\omega$  es la frecuencia angular en radianes (o  $2\pi f$ ),  $q_p$  es la relación  $(j\omega/\alpha_p)^{1/2}$ ,  $\alpha_p$  es el coeficiente de absorción óptica del sensor piroeléctrico,  $b$  es  $e_s/e_p$ ,  $e_g/e_p$  y  $e_s/e_g$  y  $e_g/e_p$  son la  $e$  de la muestra, aire y detector respectivamente. Una vez que se corre el experimento, éste arroja como resultado al parámetro  $b = e_s/e_p$ , de donde se puede obtener la  $e_s$ .

La Figura 7A muestra el arreglo experimental para la obtención de la  $e$  del NF de C4/Au. Un haz de láser (con  $\lambda=632$  nm) fue modulado electrónicamente por un amplificador Lock-In (SR-830 de la marca Stanford Research Systems) y después se hizo incidir en la muestra que se colocó sobre la superficie metálica de un sensor piroeléctrico (PVDF, por las siglas en inglés, Poly Vinylidene Fluoride) (el espesor del sensor fue de  $150 \mu\text{m}$  con diámetro de  $1$  cm). En la superficie inferior del sensor piroeléctrico se conectó un electrodo con pasta epóxica conductora. La señal generada en el sensor PVDF fue preamplificada y después enviada al Lock-In, el cual amplifica y separa las señales de amplitud y fase para posteriormente enviar los datos de estas dos señales características para su almacenamiento y posterior procesamiento. La Figura 7B muestra una imagen del sensor PVDF y de la celda de IPPES.

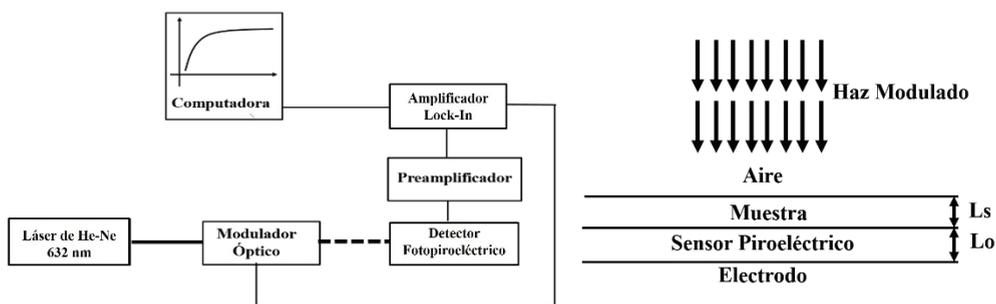


Figura 7. A) Arreglo experimental de IPPES. B) Detalle del detector fotopiroeléctrico.

Para obtener la  $e$  de los NFs, se utilizaron los parámetros que se muestran en la Tabla 1. Para calibrar el sistema de IPPES, se corrió el experimento sin muestra (aire) y agua, una vez que se obtienen los datos adecuados para el aire y el agua, se procedió a obtener la  $e$  de las muestras.

Tabla 1. Parámetros para el sistema de IPPES.

Parámetro	Valor
$\lambda_e$ Longitud de onda del haz de excitación	632 nm
Frecuencia de modulación del haz de excitación	1-200 Hz
$l_p$ Espesor del detector piroeléctrico	$150 \mu\text{m}$
$e_p$ Efusividad térmica del sensor piroeléctrico	$530 \text{ W s}^{1/2}/\text{m}^2 \text{ K}$
$e_g$ Efusividad térmica del aire	$5.51 \text{ W s}^{1/2}/\text{m}^2 \text{ K}$
$E_{H2O}$ Efusividad térmica del agua	$1566 \text{ W s}^{1/2}/\text{m}^2 \text{ K}$

La Figura 8, muestra las señales características de la técnica IPPE, en este caso se muestra la señal de amplitud y de fase del biodiesel C4.

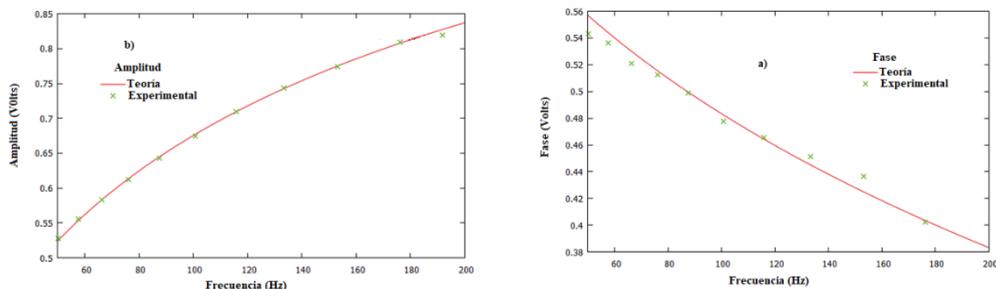


Figura 8. Señales características de IPPES del biodiesel C4: a) fase y b) amplitud.

### 2.5.3. Espectroscopia de Fotoacústica

En este proyecto se utilizó la técnica de PAS para obtener la  $\epsilon$  de los siguientes NFs: biodiesel de soya con NPs de plata en diferentes concentraciones, biodiesel de oro con NPs de plata en diferentes concentraciones, biodiesel de jatrofa con NPs de oro en diferentes concentraciones y biodiesel de jatrofa con NPs de plata, en diferentes concentraciones.

El montaje experimental de la técnica PAS, se muestra en la Figura 9A, donde como se puede observar un láser de argón es modulado mediante un disco ranurado, el cual a su vez varía su velocidad de giro para así variar la frecuencia de modulación del haz del láser. Un amplificador Lock-In es el encargado de variar la frecuencia de modulación. Una vez que el haz es modulado, éste se hace incidir en la celda fotoacústica (ver detalle de esta en la Figura 9B, donde se coloca la muestra líquida sobre una hojuela de aluminio, la cual genera una onda acústica en función de la frecuencia de modulación, que es detectada mediante un micrófono, y posteriormente el amplificador Lock-In amplifica esta señal, separa la amplitud y la fase de la señal y envía los datos a una computadora, para que registre los datos tanto de amplitud como de fase de cada una de las muestras y así poder graficar y ajustar las señales obtenidas.

El detalle de la sección transversal de la celda fotoacústica se muestra en la Figura 9B, en la cual se puede observar la hojuela de aluminio que hace la función de un transductor, ya que convierte la señal de transmitancia óptica proveniente de la muestra y la convierte a una señal mecánica o acústica, la cual es a su vez

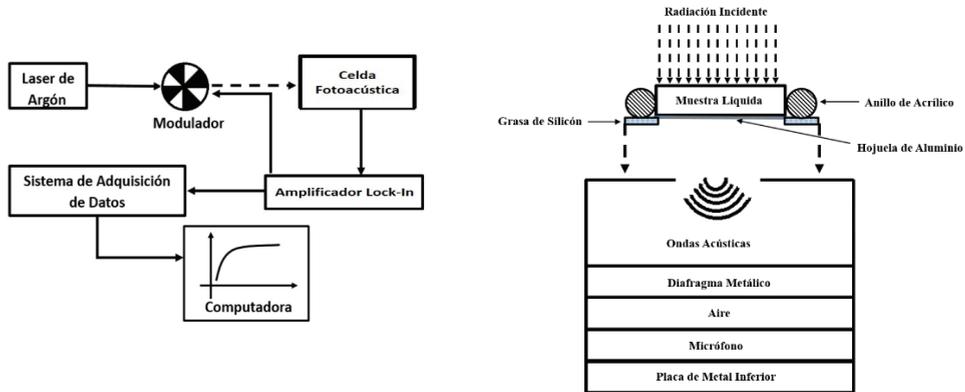


Figura 9. A) Montaje experimental de fotoacústica.  
B) Sección transversal de la celda fotoacústica.

detectada por un micrófono que se conecta al amplificador Lock-in. En este caso para obtener la  $e$  de las diferentes muestras se utilizó la ecuación 4 (ecuación característica de PAS):

$$e_s = \frac{I_0 \rho_0 c_0}{I_R} \sqrt{\omega} \quad (4)$$

donde;  $\rho_0$  es la densidad de la hojuela de aluminio utilizada,  $c_0$  es el calor específico de la hojuela de aluminio utilizada,  $I_0$  es el espesor de la hojuela de aluminio utilizado,  $\omega$  es la frecuencia de modulación del láser incidente en la muestra ( $2\pi f$  siendo  $f$  la frecuencia en Hz) y  $I_R$  es la pendiente de la señal de cada muestra.

Al correr el experimento como resultado se obtiene la pendiente de cada una de las muestras y se sustituye este valor en la Ecuación 4 para obtener la  $e$  de cada una de las muestras medidas.

### 3. Resultados y discusión

Para obtener la  $e$  de los NFs de biodiesel de soya (BS) con NPs de Ag, BS con NPs de Au, biodiesel C4 con NPs de Au, biodiesel de jatrofa (BJ) con NPs de Ag y BJ con NPs de Au, en diferentes concentraciones se calibró el sistema de PA (que se muestra en la Figura 9 con los parámetros que se muestran en la Tabla 2. Se calibró primero con aire (celda fotoacústica vacía) y posteriormente con agua destilada, y el valor obtenido se comparo con valores reportados en la literatura ( $e_{H_2O} = 1601 \text{ WS}^{1/2} / \text{m}^2\text{C}$  en [23] y  $e_{H_2O} = 1588 \text{ WS}^{1/2} / \text{m}^2\text{C}$  [24] para tener la certeza de que el sistema está calibrado correctamente. La Tabla 2, muestra los

parámetros de calibración que se utilizaron para obtener los valores de  $e$  de los NFs de soya/ag con PAS.

Tabla 2. Parámetros para la calibración del sistema de fotoacústica.

Parámetro	Valor
$\lambda_e$ Longitud de onda del haz de excitación	632 nm
Frecuencia de modulación del table de excitación	1-300 Hz
$\rho_\theta$ Es la densidad de la hojuela de aluminio	2.7 gcm <sup>-3</sup>
$c_\theta$ Es el calor específico de la hojuela de aluminio	0.9 Jg <sup>-1</sup> °C <sup>-1</sup>
$e_s$ Efusividad térmica del aire	5.51 Ws <sup>1/2</sup> /m <sup>2</sup> K
$e_{H_2O}$ Efusividad térmica del agua	1566 Ws <sup>1/2</sup> /m <sup>2</sup> K
$I_\theta$ Es el espesor de la hojuela de aluminio utilizada	0.0016 cm

Las señales características de amplitud y fase para el NF de BS con NPs de Ag, se muestran en la Figura 10.

La Tabla 3, 4, 5, 6, 7 y 8 muestra las propiedades térmicas de los NFs de C4/Au, C4/Ag, BS/Au, BS/Ag, BJ/Au y BJ/Ag respectivamente:

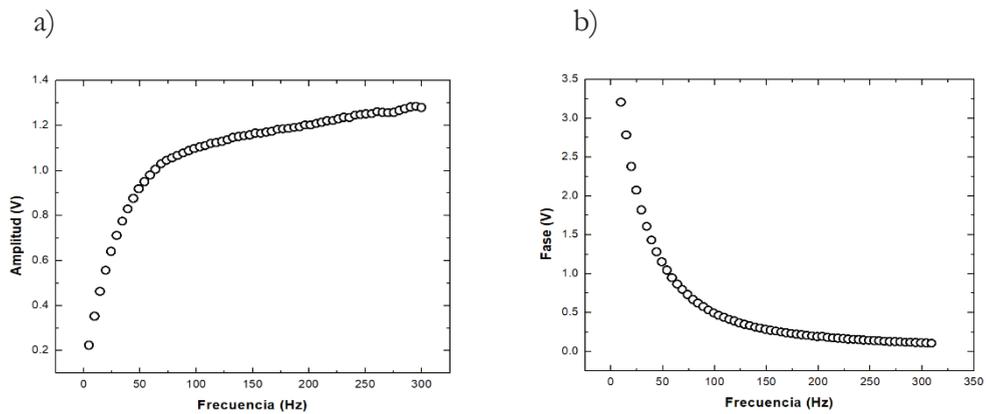


Figura 10. Señales características de PA del BS: a) amplitud y b) fase.

Tabla 3. Propiedades térmicas de los NFs de biodiesel C4 con NPs de Au.

Muestra No.	C4/Au (ml/mg)	% Volumen	$D$ ( $10^{-8} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ )	$e$ ( $\text{Ws}^{1/2}\text{m}^{-2}\text{K}^{-1}$ )	k ( $10^{-2} \text{ Wm}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )	Incremento en k (%)
Pura	5/0	0	17.0±0.4	554.21±3.6	22.81±1.5	0
1	5/1	0.001	17.5±0.3	557.41±3.6	23.55±1.5	3.24
2	5/3	0.003	17.9±0.3	566.40±3.7	23.66±1.6	3.72
3	5/5	0.005	18.7±0.3	578.00±3.8	24.99±1.7	9.55
4	5/7	0.007	19.6±0.3	586.47±3.8	25.96±1.7	13.80
5	5/8	0.008	21.1±0.3	592.75±3.9	27.41±1.8	20.16
6	5/10	0.010	22.6±0.4	600.42±3.9	28.54±1.9	25.12

Tabla 4. Propiedades térmicas de los NFs de biodiesel C4 con NPs de Ag.

Muestra No.	C4/Ag (ml/mg)	% Volumen	$D$ ( $10^{-8} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ )	$e$ ( $\text{Ws}^{1/2}\text{m}^{-2}\text{K}^{-1}$ )	k ( $10^{-2} \text{ Wm}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )	Incremento en k (%)
Pura	1/0	0	17.0±0.4	560.03±3.6	23.11±1.5	0
1	1/0.01121	0.0001	18.7±0.3	635.01±3.7	27.33±1.6	15.46
2	1/0.02242	0.0002	19.1±0.3	755.02±3.8	32.99±1.7	29.96
3	1/0.04484	0.0005	20.2±0.3	784.03±3.9	35.37±1.7	34.66
4	1/0.05605	0.0007	21.8±0.3	821.10±3.9	38.32±1.8	39.69
5	1/0.07847	0.0009	24.2±0.3	805.01±4.0	39.37±1.9	41.30
6	1/0.1121	0.0013	24.8±0.4	978.03±34.0	52.04±2.0	55.59

Tabla 5. Propiedades térmicas de los NFs de biodiesel de soya con NPs de Au.

Muestra No.	Soya/Au (ml/mg)	% Volumen	$D$ ( $10^{-8} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ )	$e$ ( $\text{Ws}^{1/2}\text{m}^{-2}\text{K}^{-1}$ )	k ( $10^{-2} \text{ Wm}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )	Incremento en k (%)
Pura	1/0	0	16.93±0.3	577.00±3.7	23.74±1.5	0
1	1/0.01424	0.0001	17.85±0.2	577.96±3.7	24.41±1.6	5.48
2	1/0.02848	0.0002	18.85±0.3	591.10±3.8	25.66±1.7	10.06
3	1/0.05696	0.0005	20.91±0.3	595.23±3.9	27.20±1.8	15.17
4	1/0.07119	0.0007	23.05±0.3	618.19±4.0	29.67±1.9	22.21
5	1/0.09967	0.0009	25.21±0.3	647.72±4.2	32.48±2.1	28.95
6	1/0.14239	0.0013	27.39±0.4	659.59±4.3	34.48±2.2	33.08

Tabla 6. Propiedades térmicas de los NFs de biodiesel de soya con NPs de Ag.

Muestra No.	Soya/Ag (ml/mg)	% Volumen	$D$ ( $10^{-8} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ )	$e$ ( $\text{Ws}^{1/2} \text{ m}^2\text{K}^{-1}$ )	$k$ ( $10^{-2} \text{ Wm}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )	Incremento en $k$ (%)
Pura	1/0	0	$16.93 \pm 0.38$	$577.96 \pm 3.7$	$23.78 \pm 1.5$	0
1	1/0.01424	0.0001	$21.59 \pm 0.28$	$632.36 \pm 4.1$	$28.96 \pm 1.9$	17.88
2	1/0.02848	0.0002	$22.88 \pm 0.21$	$756.04 \pm 4.9$	$36.16 \pm 2.3$	34.23
3	1/0.05696	0.0005	$24.72 \pm 0.34$	$787.39 \pm 5.1$	$39.14 \pm 2.5$	39.24
4	1/0.07119	0.0007	$24.99 \pm 0.26$	$820.82 \pm 5.3$	$41.03 \pm 2.7$	42.04
5	1/0.09967	0.0009	$26.39 \pm 0.22$	$800.89 \pm 5.2$	$41.14 \pm 2.7$	42.19
6	1/0.1424	0.0013	$29.20 \pm 0.22$	$976.03 \pm 6.4$	$52.74 \pm 3.4$	54.91

Tabla 7. Propiedades térmicas de los NFs de biodiesel de jatrofa con NPs de Au.

Muestra No.	Jatrofa/Au (ml/mg)	% Volumen	$D$ ( $10^{-8} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ )	$e$ ( $\text{Ws}^{1/2} \text{ m}^2\text{K}^{-1}$ )	$k$ ( $10^{-2} \text{ Wm}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )	Incremento en $k$ (%)
Pura	2/0	0	$15.82 \pm 0.30$	$577.96 \pm 3.7$	$23.74 \pm 1.5$	0
1	2/0.02848	0.0001	$16.91 \pm 0.31$	$836.29 \pm 5.4$	$34.39 \pm 2.2$	30.96
2	2/0.05696	0.0002	$17.43 \pm 0.21$	$892.25 \pm 5.8$	$37.25 \pm 2.4$	36.26
3	2/0.011392	0.0005	$19.41 \pm 0.42$	$935.16 \pm 6.1$	$41.20 \pm 5.0$	42.37
4	2/0.1424	0.0007	$21.91 \pm 0.45$	$978.08 \pm 6.4$	$45.78 \pm 5.1$	48.14
5	2/0.19934	0.0009	$25.17 \pm 0.43$	$982.76 \pm 6.4$	$49.30 \pm 5.1$	51.85
6	2/0.2848	0.0013	$27.17 \pm 0.42$	$989.74 \pm 6.4$	$51.59 \pm 5.1$	53.98

Tabla 8. Propiedades térmicas de los NFs de biodiesel de jatrofa con NPs de Ag.

Muestra No.	Jatrofa/Ag (ml/mg)	% Volumen	$D$ ( $10^{-8} \text{ m}^2\text{s}^{-1}$ )	$e$ ( $\text{Ws}^{1/2} \text{ m}^2\text{K}^{-1}$ )	$k$ ( $10^{-2} \text{ Wm}^{-1} \text{ K}^{-1}$ )	Incremento en $k$ (%)
Pura	1/0	0	$15.82 \pm 0.34$	$577.96 \pm 3.7$	$23.74 \pm 1.5$	0
1	1/0.01424	0.0001	$16.67 \pm 0.18$	$794.81 \pm 5.2$	$32.45 \pm 2.2$	26.84
2	1/0.02848	0.0002	$20.67 \pm 0.27$	$812.41 \pm 5.3$	$36.93 \pm 2.4$	35.72
3	1/0.05696	0.0005	$23.97 \pm 0.43$	$849.81 \pm 5.5$	$41.60 \pm 4.4$	42.94
4	1/0.07119	0.0007	$27.02 \pm 0.42$	$867.61 \pm 5.6$	$45.09 \pm 4.4$	47.35
5	1/0.09967	0.0009	$30.03 \pm 0.41$	$884.81 \pm 5.8$	$48.48 \pm 4.5$	51.03
6	1/0.14239	0.0013	$34.47 \pm 0.44$	$919.21 \pm 6.1$	$53.96 \pm 4.7$	56.01

#### 4. Modelos Para Predecir la Conductividad Térmica en Nanofluidos

Desde hace aproximadamente dos décadas los investigadores han hecho el esfuerzo para predecir el mejoramiento de la conductividad térmica de NFs

basados en experimentos y análisis teóricos y se han propuesto modelos. Algunos de estos modelos analíticos que han permitido a los investigadores calcular la  $k$  de los NF, son: Maxwell [25], Hamilton-Crosser [26], Bruggemen, Jeffrey, Davis and H. E. Pattel [27]; estos modelos se basan en la teoría clásica de compuestos y mezclas conteniendo partículas del orden de milímetros o micrómetros fallan dramáticamente en predecir la  $k$  de NFs, debido principalmente a que estos modelos toman en consideración solamente el efecto de la concentración de las NPs dentro del fluido, sin tomar en cuenta otros efectos como el del incremento del área superficial de las NPs, el movimiento Browniano de las NPs, aumento o reducción de la viscosidad del HTF después de la adición de NPs o algún estabilizante, la estabilidad contra el tiempo de almacenamiento de los NFs, la morfología de las NPs, formación de cúmulos de NPs, aumento del área superficial por parte de las NPs dentro del fluido.

La Ecuación 5 muestra la ecuación para calcular la  $k$  de un NF con el modelo de Maxwell:

$$\frac{k_{eff}}{k_L} = \frac{k_s + 2k_L + 2(k_s - k_L) \Phi_s}{k_s + 2k_L - (k_s - k_L) \Phi_s} \quad (5)$$

donde:  $k_{eff}$  es la  $k$  del NF en cuestión,  $k_s$  es la  $k$  de las NPs,  $k_L$  es la  $k$  del fluido base y  $\Phi_s$  es el % de volumen de las NPs en el fluido base.

La Ecuación 6 muestra el modelo de Hamilton-Crosser para calcular la  $k$  de los NFs:

$$\frac{k_{eff}}{k_L} = \frac{k_s + (n - 1) k_L - (n - 1) \Phi_s (k_L - k_s)}{k_s + (n - 1) k_L + \Phi_s (k_L - k_s)} \quad (6)$$

donde;  $k_{eff}$  es la  $k$  del NF en cuestión,  $k_s$  es la  $k$  de las NPs,  $n$  es el factor de esfericidad ( $n = \Psi / 3$ ), para NPs esféricas  $\Psi = 1$ .  $k_L$  es la  $k$  del fluido base y  $\Phi_s$  es el % de volumen de las NPs en el fluido base.

Como se puede observar, en los dos modelos anteriores solamente se toma en cuenta la  $k$  del fluido base, de las NPs y el porcentaje de volumen de las NPs.

$$k_{eff} / k_L$$

#### 4.1. Predicción de la $k$ en NFs con los Modelos de H-C y Maxwell

La Tabla 9 muestra los valores de la  $k$  de los diferentes NFs de C4-Au; como se puede apreciar en esta Tabla, los valores fueron divididos entre el valor de la  $k$  del fluido base.

Tabla 9. La  $k$  de los NFs de C4-Au, experimenta con el modelo H-C y Maxwell.

Muestra No.	%V ( $\times 10^{-3}$ )	Experimental	H-C	Maxwell
0	0	1		
1	1	1.032	1.031	1.031
2	3	1.037	1.041	1.037
3	5	1.095	1.047	1.043
4	7	1.130	1.053	1.049
5	8	1.210	1.056	1.052
6	10	1.250	1.063	1.058

En la Figura 11, se muestran los datos experimentales los valores predcidos de  $k_{eff} / k_L$  de los NFs de C4-Au con el modelo teórico de Hamilton-Crosser (HC), el modelo teórico de Maxwell contra el %V.

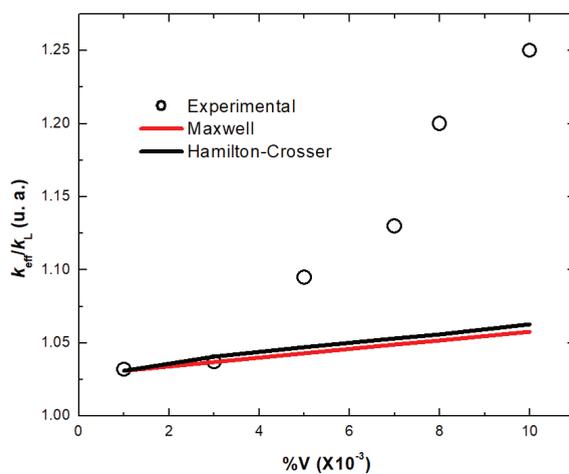


Figura 11. Valores de  $k_{eff}/k_L$  para los NFs de C4-Au, experimentales, con los modelos de H-C y M.

Como se puede apreciar, tanto el modelo de H-C como el modelo de Maxwell solo se ajustan para los primeros dos NFs; esto se debe a que estos modelos, como se mencionó anteriormente, solamente toman en cuenta el %V, la  $k$  del fluido base y la  $k$  del material en bulto de las NPs.

#### ***4.2. Predicción de la $k$ en NFs con Redes Neuronales Artificiales***

Como se mencionó anteriormente, la predicción de la  $k$  para los NFs aquí estudiados mediante la utilización de modelos teóricos clásicos, como el modelo de Maxwell y H-C, no produjo una buena aproximación, ni siquiera una aproximación aceptable, por lo que para predecir la  $k$  de los NFs se utilizaron las llamadas redes neuronales artificiales (o ANNs, por las siglas en Inglés de Artificial Neural Networks). En la literatura existen muchos trabajos de investigación que predicen la  $k$  de NFs, utilizando ANNs; como ejemplo: Hosjjat y colegas [9] prepararon tres tipos diferentes de NFs, dispersando NPs de  $Al_2O_3$ ,  $TiO_2$  y  $CuO$  en una solución de carboximetilcelulosa y midieron la  $k$  del fluido base y de los NFs con varias concentraciones de NPs; los resultados que obtuvieron de sus investigaciones demostraron que la  $k$  de los NFs es más alta que la del fluido base, y el incremento en la  $k$  de los NFs varía exponencialmente en función de la concentración de NPs utilizada. Propusieron un modelo basado en redes neuronales para representar la  $k$  como una función de la temperatura, la concentración de NPs y la  $k$  de las NPs. Los resultados obtenidos con las ANNs estuvieron acorde a los datos experimentales; por otro lado, también utilizaron el modelo teórico clásico denominado H-C el cual solo fue satisfactorio para NFs con baja concentración de NPs.

A continuación, se da un panorama general de los que es una ANN, las partes y características que la componen: una ANN es un sistema de procesamiento de información que tiene características de desempeño similares a una red neuronal biológica. Las ANNs han sido desarrolladas para generar modelos matemáticos, basadas en las siguientes suposiciones: 1) el procesamiento de información ocurre entre muchos elementos simples llamados neuronas, 2) las señales pasan entre las neuronas las cuales están interconectadas mediante enlaces (links), 3) cada enlace tiene un peso asociado, el cual, en una red neural típica, multiplica la señal transmitida, 4) cada neurona aplica una función de activación (usualmente no-lineal) a la entrada de la ANN, para determinar la señal de salida.

Una ANN se caracteriza por: a) el patrón de conexión entre las neuronas (su arquitectura), b) el método para determinar el valor de los pesos en las conexiones (llamado también algoritmo de entrenamiento o aprendizaje), c) la función de activación de la ANN.

Existen muchas arquitecturas de ANNs, las cuales se pueden consultar en [28]; sin embargo, en este proyecto se utilizó una arquitectura llamada red multicapa con propagación hacia atrás (o BPMLN, por las siglas en inglés de Back Propagation Multi Layer Network). El funcionamiento de una ANN de este tipo funciona de la siguiente manera: antes de comenzar el proceso de entrenamiento se debe determinar un estado inicial, es decir, se asigna un conjunto inicial de pesos para las diversas conexiones entre neuronas de la ANN; normalmente esta asignación de valores a los pesos se hace de manera aleatoria. Una vez hecho esto, se aplica un patrón de entrada como estímulo para la primera capa de las neuronas de la ANN; este estímulo que consta de la interconexión de todos los nodos de la ANN se va propagando primero hacia las capas ocultas y después a la capa de salida; una vez ahí se compara el resultado de la capa de salida con la salida que se desea obtener, y se calcula el error cuadrático medio para cada variable de salida. Después los errores calculados se transmiten hacia atrás, partiendo de la capa de salida hacia todas las neuronas de las capas ocultas o intermedias; este proceso se repite, capa por capa, hasta que todas las neuronas de la red hayan recibido el error cuadrático medio que describa su aportación relativa al error total. Basándose en el error obtenido, la ANN reasigna nuevos valores a los pesos de las conexiones de cada neurona, de manera que en la siguiente vez que se presente el mismo patrón, el error cuadrático medio sea cada vez menor y la salida esté más cercana a la deseada [29].

En este proyecto se implementó una ANN de tres capas, una de entrada, una capa oculta y una capa de salida, como entradas se implementaron: la  $k$  de las NPs y del fluido base, la temperatura de los NFs, el %V, el diámetro de las NPs y la función de activación b.

En la Figura 12, la  $\bar{T}$  y  $\overline{\%V}$ , son la temperatura normalizada y el porcentaje de volumen normalizados respectivamente, los cuales se obtuvieron mediante las Ecuaciones 7 y 8.

$$\bar{T} = \frac{T - T_{min}}{T_{max} - T_{min}} \quad (7)$$

$$\overline{\%V} = \frac{\%V - \%V_{min}}{\%V_{max} - \%V_{min}} \quad (8)$$

donde;  $T$ ,  $T_{min}$  y  $T_{max}$  son la temperatura del NF, la temperatura mínima que existió a la hora de obtener la  $k$  de los NFs de manera experimental y la temperatura máxima que existió a la hora de obtener la  $k$  de los NFs de manera experimental, respectivamente y  $\%V$ ,  $\%V_{min}$  y  $\%V_{max}$  son el %V del NF, el %V del NF con menor concentración y el %V del NF la mayor concentración de NPs.

La Figura 12, muestra el diagrama de flujo de la ANN creada, y el funcionamiento es como sigue: primero se crea la ANN deseada con la herramienta NNTOOLKIT (de las siglas en Inglés de Neural Network Tool Kit) del software Matlab ®; esta herramienta nos permite crear la ANN de acuerdo a nuestras necesidades (el número de entradas, capas ocultas y salidas que deseemos). Después de haber creado la ANN, es necesario ingresar los datos experimentales tanto de entrada como de salida mediante tablas, y una vez hecho esto, la red ANN asigna valores iniciales (de manera aleatoria) a las conexiones o pesos de la ANN; después de esto, la ANN realiza sus tres fases: entrenamiento, validación y prueba. En cada iteración del programa de la ANN, está calcula el error cuadrático medio o ECM, reajustando los valores de los pesos hasta que

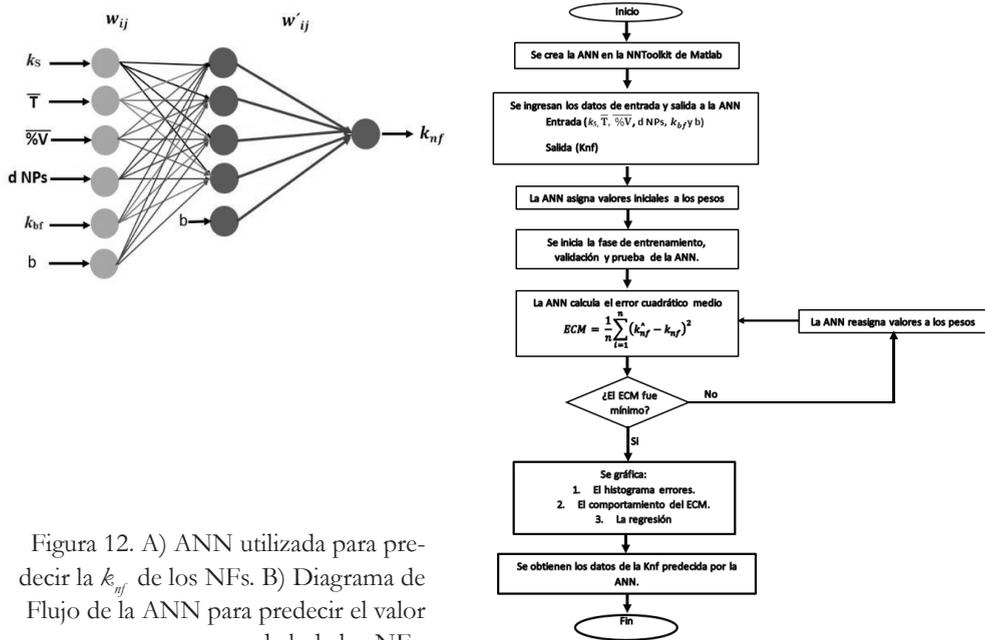


Figura 12. A) ANN utilizada para predecir la  $k_{nf}$  de los NFs. B) Diagrama de Flujo de la ANN para predecir el valor de  $k$  de los NFs.

este error sea el mínimo, y una vez que el error es mínimo, el programa de la ANN muestra en forma de gráfica el histograma del error cuadrático medio, el comportamiento del ECM y la regresión que realizó la ANN para minimizar al ECM; por último, el programa de la ANN despliega una ventana con los valores precedidos de la  $k$  del NF en cuestión.

#### 4.3. Predicción de la $k$ de los NFs C4-Au con ANNs

La ANN que muestra la Figura 12A y 12B, se utilizó para predecir la  $k$  de manera teórica de los NFs, y así poder comparar estos valores con los experimentales; al ingresar los datos de entrada de los NFs de C4-Au, se obtuvieron los valores que se muestran en la Tabla 9.

La Figura 13A muestra los valores experimentales obtenidos mediante la ANN y con el modelo teórico de H-C de la  $k$  vs. %V. En las Figuras 13B y 13C, se observa una diferencia al tratar de predecir los valores de  $k$  de los NFs soya-Au y jatropa-Au, respectivamente, al usar los modelos ANN y H-C. de aquí que sea una ventaja utilizar el modelo de ANNs.

Tabla 9. Valores de  $k$  de los NFs de C4-Au de manera experimental y con la ANN.

Muestra (mg/ml)	% Vol	$k(X10^{-4})(W/mK)$ Experimental	$k(W/mK)$ ANN
1/5	0.001	23.55	23.52
3/5	0.003	23.66	23.83
5/5	0.005	24.99	24.82
7/5	0.007	25.96	26.28
8/5	0.008	27.41	27.12
10/5	0.01	28.54	28.70

#### 4.4. Sistema Cerrado para Verificar el Funcionamiento de los NFs

En este proyecto se construyó un prototipo de un sistema cerrado, el cual cuenta con un serpentín donde se hacen circular los HTF, como el agua o anti-refrigente/congelante de motor. La Figura 14 muestra el diagrama de las partes que componen a este prototipo, las cuales son: un contenedor para enfriar/calentar los fluidos anteriores, un contenedor, una bomba para hacer recircular, un sensor para medir la temperatura del líquido a enfriar o calentar el HTF, respectivamente. De igual forma, cuenta con un microcontrolador (tarjeta

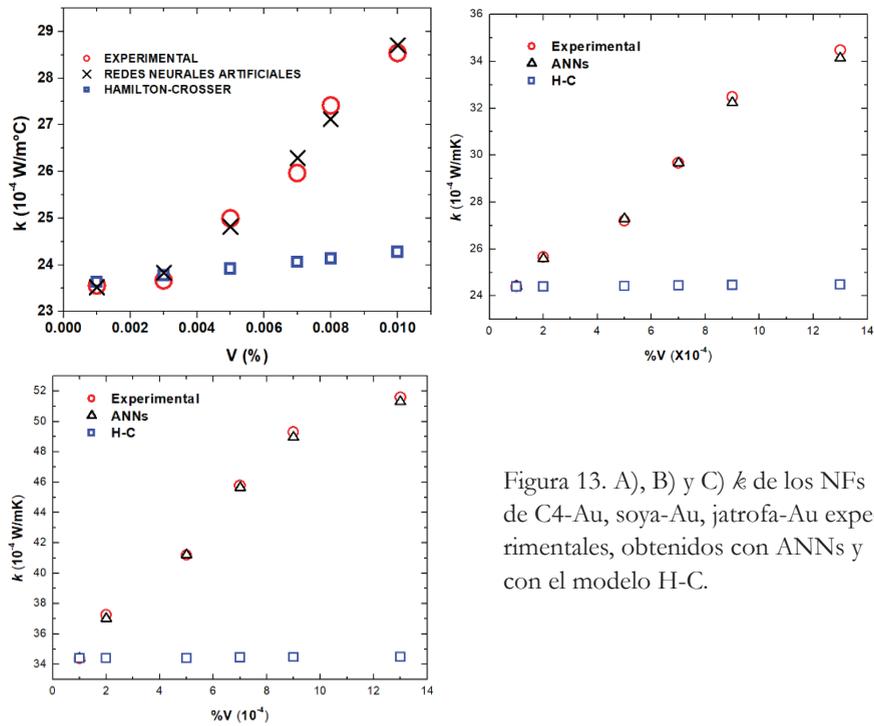


Figura 13. A), B) y C)  $k$  de los NFs de C4-Au, soya-Au, jatrofa-Au experimentales, obtenidos con ANNs y con el modelo H-C.

Arduino) como sistema de adquisición de datos, una computadora para registrar y visualizar los datos del sensor de temperatura y un serpentín por donde circula el líquido.

Respecto a los transportadores de calor utilizados (agua y antirefrigerante) se puede resaltar lo siguiente: el agua es un HTF económico para temperaturas hasta 100 °C. Para temperaturas superiores se debe presurizar el circuito para poder continuar estando el fluido en fase líquida – agua sobrecalentada – y por tanto los costes aumentan considerablemente. Es por ello que su campo se delimita mucho a temperaturas inferiores a esos 100 °C, y a aplicaciones como la calefacción doméstica y del sector servicios.

El etilenglicol, se usa comúnmente como un agente anticongelante/refrigerante en el sistema de refrigeración del automóvil; también se utiliza en soluciones para deshelar aviones y barcos. En forma pura es un líquido incoloro con un sabor dulce y una textura ligeramente almibarada.

El funcionamiento del sistema cerrado es como sigue: primero se energiza la resistencia eléctrica y esto provoca que se caliente el agua en el contenedor principal; por otro lado, el sensor se programó para que tome la temperatura del agua

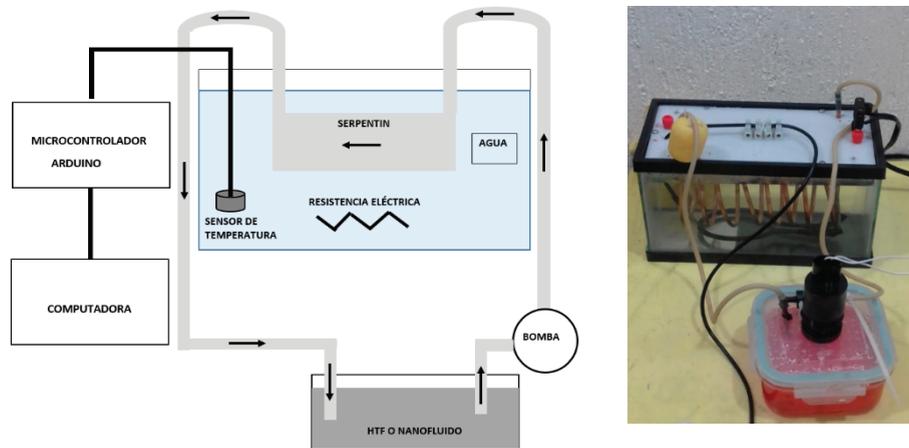


Figura 14. Sistema cerrado para enfriar/calentar un líquido e imagen del sistema cerrado.

cada cinco segundos. Una vez que el agua adquiere una temperatura de  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$ , se des-energiza la resistencia eléctrica y se evalúa el tiempo que tarda el agua en llegar a la temperatura ambiente a  $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Para evaluar el tiempo que tarda el agua en llegar a temperatura ambiente, se llevaron a cabo 3 pruebas: (1) dejar que el agua se enfriara hasta temperatura ambiente por sí sola (sin activar el sistema de recirculación de HTF-serpentín y bomba), (2) se hizo circular agua como HTF por el serpentín, y (3) se hizo circular refrigerante (antirefrigerante/congelante) como HTF por el serpentín. La Figura 15 muestra la curva de calentamiento del agua y las curvas de enfriamiento del agua de las tres pruebas mencionadas anteriormente.

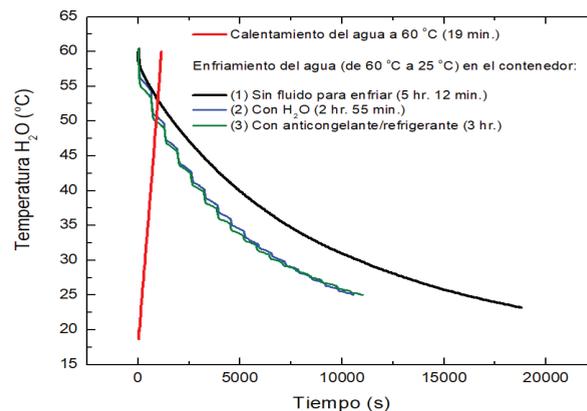


Figura 15. Calentamiento y enfriamiento del  $\text{H}_2\text{O}$  en el sistema cerrado.

La Figura anterior muestra con la línea en color rojo el calentamiento del agua que fue de  $60\text{ }^{\circ}\text{C}$  del agua de 19 minutos, la línea en color negro representa el

enfriamiento del agua sin accionar el sistema de recirculación (bomba, tubería y serpentín); es decir, se dejó que el agua llegará a temperatura ambiente por si sola, lo cual tomó un tiempo de 5 horas con 12 minutos a 25 °C; la línea en color azul representa el enfriamiento del agua haciendo circular por el sistema de intercambio de calor (bomba, tubería y serpentín) agua como HTF, lo cual tomó dos 2 h con 55 min minutos a 25 °C; la curva en color verde representa al enfriamiento del agua haciendo circular por el sistema de intercambio de calor refrigerante de automóvil (antirefrigerante /congelante), lo que permitió que el agua tardará tres horas en llegar a temperatura ambiente. Como se observa, el agua tiene mejor tiempo de enfriamiento puesto que tiene mayor conductividad térmica que el anticongelante. Una de las limitaciones es que para hacer estas pruebas con nanolíquidos necesitaríamos una gran concentración de nanopartículas para obtener un volumen grande de nanolíquidos, De aquí que se hicieron pruebas con líquidos bases de conductividad alta como el agua y un antirefrigerante/congelante, simulando un circuito cerrado de un radiador de un carro.

## 5. Conclusiones

En este proyecto de investigación se obtuvieron las propiedades térmicas de seis tipos de NFs, utilizando las Técnicas Fototérmicas, estudiándose el incremento de la conductividad térmica de los NFs con respecto al fluido base (biodiesel). El incremento de la  $k$  de los NFs para los NFs de C4/Au fue de 3.24 % a 25.12 % para la muestra con menor y mayor concentración, respectivamente. Para los NFs de biodiesel de soya con NPs de Ag se obtuvo un incremento que va de 17.88 % a 54.91 %, para la muestra con menor y mayor concentración de NPs, respectivamente, mientras que para los NFs de biodiesel de soya con NPs de Au el incremento fue de 5.4 % y de 33.08 % para la muestra con menor y mayor porcentaje de volumen, respectivamente. Respecto a los NFs de biodiesel de jatrofa con NPs de Au, el incremento en la  $k$  para la muestra con menor concentración de NPs fue de 30.96 % y de 53.98 %, para la muestra con mayor concentración de NPs; en el caso de los NFs de jatrofa con NPs de Ag la  $k$ , presentó un incremento de 26.84 % y de 56.01 % para la muestra con menor y mayor concentración de NPs, respectivamente. Se puede concluir que los NFs de biodiesel de jatrofa con NPs de Ag son los que presentaron el mayor incremento en su  $k$ , lo cual representa un futuro prometedor para este tipo de NFs; el hecho de que aceite de jatrofa no es comestible representa una ventaja si se desea comercializar con estos NFs, ya que no se tendría la polémica de si utilizar un aceite para crear un biodiesel o utilizarlo como aceite comestible.

Por otra parte, el incremento de la conductividad térmica de los NFs estudiados tiene un comportamiento no lineal en función de la concentración, siendo anómalo. Mediante un modelo teórico basado en redes neuronales artificiales, se redijo el valor de  $k$  de los NFs estudiados y como se obtuvo un factor de correlación de 0.9966, pendiente, 0.9960, 0.99965, 0.99985 y 0.99961 para los NFs de C4-Au, C4-Ag, BS-Ag, BS-Au, BJ-Au y BJ-Ag, respectivamente. Por otro lado, los modelos clásicos como el de Maxwell o Hamilton-Crosser no predijeron el comportamiento de forma adecuada. De igual forma, se presentó la construcción de un intercambiador de calor (como un radiador de motor), donde obtuvimos un tiempo de calentamiento a 60 °C del agua en 19 minutos. Los tiempos de enfriamiento fueron de 5 horas con 12 minutos, 2 horas con 55 minutos y 3 horas, sin utilizar ningún HFT, agua y anticongelante, respectivamente, concluyendo que el agua es el mejor conductor de calor. Pruebas preliminares serán hechas con nanolíquidos, ya que posibilitan un aumento de esta conductividad, por lo que se tiene limitaciones por la cantidad de muestra usada.

### **Agradecimientos**

Los autores quisieran agradecer al CONACYT, COFAA, y a CGPI-IPN, Mexico, por su apoyo. De igual forma a la Red de Nanofotónica y a la Red de Nanociencias y Micro-Nanotecnología.

## Bibliografía

1. Li, Y., Zhou, J., Tung, S., Schneider, E., & Xi, S. (2009). A review on development of nanofluid preparation and characterization. *Powder Technol.*, 196, 89-101.  
<https://doi.org/10.1016/j.powtec.2009.07.025>
2. Fang, X., Ding, Q., Fan, L., Yu, Z., Xu, X., Cheng, G., Hu, Y., & Cen, K. (2013). Enhanced thermal conductivity of ethylene glycol-based suspensions in the presence of silver nanoparticles of various sizes and shapes. *Proceedings of the ASME 2013 Heat Transfer Summer Conference HT2013*. July 14-19, 2013, Minneapolis, MN, USA.  
<https://doi.org/10.1115/HT2013-17175>
3. Wu, S., Zhu, D., Li, X., Li, H., & Lei, J. (2009). Thermal energy storage behavior of  $\text{Al}_2\text{O}_3$ - $\text{H}_2\text{O}$  nanofluids. *Termochim. Acta*, 483, 73-77.  
<https://doi.org/10.1016/j.tca.2008.11.006>
4. Choi, C., Yoo, H. S., & Oh, J. M. (2008). Preparation and heat transfer properties of nanoparticle-in-transformer oil dispersions as advanced energy efficient coolants. *Curr. App. Phys.* 8, 710-712.  
<https://doi.org/10.1016/j.cap.2007.04.060>
5. Kulkarni, D. P., Vajjha, R.S., Das, D. K., & Oliva, D. (2008). Application of aluminum oxide nanofluids in diesel electric generator as jacket water coolant. *Appl. Thermal Eng.*, 28, 1774-1781.  
<https://doi.org/10.1016/j.applthermaleng.2007.11.017>
6. Yu, W., France, D. M., Choi, S. U. S., & Routbort, J. L. (2007). Review and assessment of nanofluid technology for transportation and other applications. *Energy Systems Division, Argonne National Laboratory*.  
<https://doi.org/10.2172/919327>
7. Wang, X. Q., & Mujumdar, A. S. (2008) Review on nanofluids. Part II: experiments and applications. *Braz. J. Chem. Eng.*, 25, 631-648.  
<https://doi.org/10.1590/S0104-66322008000400002>
8. Wang, R. X., & Xie, H. B. (2003). A refrigerating system using HFC134a and mineral lubricant appended with n-TiO<sub>2</sub>(R) as working fluids. *Proceedings of the 4th international symposium on HAVC*. Beijing, China: Tsinghua University Press, 888-892.
9. Hojjat, M., Etemad, S., G., Bagheri, R., & Thibault, J. (2011). Thermal conductivity of non-Newtonian nanofluids: Experimental data and modeling using neural network. *Int. J. Heat Mass Transf.*, 54, 1017-1023.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2010.11.039>

10. Choi, S. U. S., & Eastman, J. A. (1995). Enhancing thermal conductivity of fluids with nanoparticles. *Proceedings of the 1995 ASME International Mechanical Engineering Congress and Exposition San Francisco, CA, USA*.
11. Martínez, G., Sánchez, N., Encinar, J. M., & González, J. F. (2014). Fuel properties of biodiesel from vegetable oils and oil mixtures. Influence of methyl esters distribution. *Biomass and Bioenerg.*, 63, 22-32.  
<https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2014.01.034>
12. Wen, D., Lin, G., Vafaei, S., & Zhang, K. (2009). Review of nanofluids for heat transfer applications. *Particuology*, 7, 141-150.  
<https://doi.org/10.1016/j.partic.2009.01.007>
13. Encinar, J. M., González, J. F., Rodríguez, J. J., & Tejedor, A. (2002). Biodiesel fuels from vegetable oils: transesterification of *Cynara cardunculus* L. oils with ethanol. *Energ. Fuels*, 16, 443-450.  
<https://doi.org/10.1021/ef010174h>
14. Rojo, F. (2018). *Tablas de Espectroscopía Infrarroja*.  
[http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TablasIR\\_24985.pdf](http://depa.fquim.unam.mx/amyd/archivero/TablasIR_24985.pdf)
15. Gutierrez Fuentes, R., Pescador Rojas, J. A., Jiménez-Pérez, J. L., Sánchez Ramírez, J. F., Cruz-Orea, & Mendoza-Alvarez, J. G. (2008). Study of thermal diffusivity of nanofluids with bimetallic nanoparticles with Au(core)/Ag(shell) structure. *Appl. Surf. Sci.*, 255, 781-783.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2008.07.023>
16. Gannon, C., Patra, C., Bhattacharya, R., Mukherjee, P., & Curley, S. (2008). Intracellular gold nanoparticles enhance non-invasive radiofrequency thermal destruction of human gastrointestinal cancer cells. *J. Nanobiotechnol.*, 6, 1-9.  
<https://doi.org/10.1186/1477-3155-6-2>
17. Balderas-López, J. A., Acosta-Avalos, D., Alvarado, J. J., Zelaya-Angel, O., Sánchez-Sinencio, F. et al. (1995). Photoacoustic measurements of transparent liquid samples: thermal effusivity. *Meas. Sci. Technol.*, 6, 1163-1168.  
<https://doi.org/10.1088/0957-0233/6/8/011>
18. Shen, J., Lowe, R., & Snook, R. (1992). A model for cw laser induced mode-mismatched dual-beam thermal lens spectrometry. *Chem. Phys.*, 165(2-3), 385-396.  
[https://doi.org/10.1016/0301-0104\(92\)87053-C](https://doi.org/10.1016/0301-0104(92)87053-C)
19. Gordon, J. P., Leite, R. C. C., Moore, R. S., Porto, S. P. S., & Whinnery, J. R. (1965). Long-transient effects in lasers with inserted liquid samples. *J. Appl. Phys.*, 36(3), 3-8.  
<https://doi.org/10.1063/1.1713919>
20. Carter, C. A., & Harris, J. M. (1984). Comparison of models describing the thermal lens. *Appl. Opt.*, 23, 476-481.  
<https://doi.org/10.1364/AO.23.000476>

21. Balderas-López, J. A., & Mandelis, A. (2003). New photopyroelectric technique for precise measurements of the thermal effusivity of transparent liquids. *Int. J. Thermophys.*, 24, 463-471.  
<https://doi.org/10.1023/A:1022972021880>
22. Flores-Cuautle, J. A., Cruz-Orea, A., & Suaste-Gómez, E. (2009). Thermal effusivity of the  $\text{Pb}_{0.88}\text{Ln}_{0.08}\text{Ti}_{0.98}\text{Mn}_{0.02}\text{O}_3$  (Ln=La, Eu) ferroelectric ceramic system by inverse photopyroelectric technique. *Ferroelectrics*, 386(1), 36-40.  
<https://doi.org/10.1080/00150190902961264>
23. Balderas-López, J. A., Gutiérrez-Juárez, G., Jaime-Fonseca, M. R., & Sánchez-Sinencio, F. (1999). Measurements of thermal effusivity of liquids using a conventional photoacoustic cell. *Rev. Sci. Instrum.*, 70(4), 2069-2071.  
<https://doi.org/10.1063/1.1149713>
24. Lachaine, A., & Poulet, P. (1984). Photoacoustic measurement of thermal properties of a thin polyester film. *Appl. Phys. Lett.*, 45, 953-954.  
<https://doi.org/10.1063/1.95454>
25. Maxwell J. C. (1873). *A treatise on electricity and magnetism*. Clarendon Press, Oxford, UK.
26. Hamilton, R. L., & Crosser., O. K. (1962). Thermal conductivity of hereogeneous two-component systems. *I & EC Fundamentals*, 1, 187-191.  
<https://doi.org/10.1021/i160003a005>
27. Hrishikesh, E., Patel, T., Sundararajan, T., Pradeep, A., Dasgupta, N., Dasgupta, N. et al. (2005). A micro-convection model for thermal conductivity of nanofluids. *Pramana*, 65, 863-869.  
<https://doi.org/10.1007/BF02704086>
28. Fausett, L. (1994). *Fundamentals of Neural Networks, Architectures, Algorithms and Applications*. Prentice Hall, USA
29. Valencia Reyes, M. A., Yáñez Márquez, C., Sánchez Hernández, L. P. (2007). *Algoritmo backpropagation para redes neuronales: conceptos y aplicaciones*.  
<http://www.repositoriodigital.ipn.mx/handle/123456789/8628>



## NANOESTRUCTURAS DE WO<sub>3</sub> COMO CAPA ACTIVA DE UN SENSOR CONDUCTIMÉTRICO PARA LA DETECCIÓN DE H<sub>2</sub>

**M. Cruz-Leal<sup>1\*</sup>, O. Goiz<sup>2</sup>, F. Chávez<sup>3</sup>,  
G. F. Pérez-Sánchez<sup>3</sup>, C. Felipe<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Nanophotonics & Functional Materials Group. Centro de Investigaciones en Óptica A.C. Loma del Bosque 115, Lomas del Campestre León, Guanajuato. CP 37150, México.

<sup>2</sup>Centro Interdisciplinario de Investigaciones y Estudios sobre Medio Ambiente y Desarrollo, Instituto Politécnico Nacional. Calle 30 de junio de 1520 s/n, Col. La Laguna Ticomán, Alcaldía Gustavo A. Madero, Ciudad de México. CP 07340, México.

<sup>3</sup>Centro de Físicoquímica de Materiales, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Eco Campus Valsequillo; Edificio VAL3, Km 1.7 carretera a San Baltazar Tetela, San Pedro Zacachimalpa, Puebla. CP 72960, México.

saraicruz@cio.mx

Cruz-Leal, M., Goiz, O., Chávez, F., Pérez-Sánchez, G. F., & Felipe, C. (2021). Nanoestructuras de WO<sub>3</sub> como capa activa de un sensor conductimétrico para la detección de H<sub>2</sub>. En E. San Martín-Martínez (Ed.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III* (pp. 47-64). Barcelona, España: Omni-science.

---

I. M. Cruz-Leal es egresada del Doctorado en Nanociencias y Micro-Nanotecnologías del IPN

## Resumen

Se usó la técnica de deposición química en fase vapor por filamento caliente (HFCVD, por sus siglas en inglés) para sintetizar películas de óxido de tungsteno. La caracterización morfológica y estructural del material sintetizado se realizó a través de las técnicas de difracción de rayos X, microscopía electrónica de barrido y espectroscopia Raman. Las películas de óxido de tungsteno se emplearon como capa activa de un sensor de gas de tipo conductimétrico para la detección de hidrógeno. El dispositivo de sensado se diseñó mediante las técnicas de fotolitografía y evaporación de metales, empleando sustratos de silicio e interdigitados de Au. El dispositivo se probó en una cabina con flujo de aire sintético a distintas temperaturas (250, 300, 350 y 400 °C) y modificando la concentración de hidrógeno (200, 400 y 800 ppm). Las películas de óxido de tungsteno mostraron respuestas típicas de un semiconductor tipo n en presencia de un gas reductor. Los valores obtenidos para cada una de las concentraciones y temperaturas de operación permitieron determinar las condiciones óptimas de operación, a saber; 400 °C con 400 y 800 ppm de H<sub>2</sub>. Las interacciones sólido-gas que promueven los cambios en la respuesta de las películas de WO<sub>3</sub> también se discuten en este trabajo.

**Palabras clave:** Películas delgadas, sensor de gas, nanoestructuras, óxido de tungsteno, HFCVD, sensor de hidrógeno, deposición química de vapor.

## 1. Introducción

Los sensores de gas son de interés en la actualidad por la funcionalidad y utilidad que poseen en distintas áreas. Sus aplicaciones se aprecian en dispositivos para la detección de humo, alcoholímetros, detección de explosivos, monitoreo de contaminación atmosférica o en la detección de enfermedades, entre otros. La tecnología de los sensores de gas está inspirada en el sentido olfativo, si bien es cierto, hablar de una “nariz electrónica” sigue siendo un gran reto, los sensores de gas contribuyen para concretar este objetivo. Una nariz electrónica es un instrumento compuesto de sensores que junto a un sistema de reconocimiento de patrones es capaz de analizar y reconocer sustancias gaseosas [1]. La nariz electrónica es una analogía al sistema olfativo humano (ver Figura 1), el sistema está conformado por: a) sistema de muestreo, b) matriz de sensores y c) sistema electrónico para análisis de datos [2].



Figura 1. Analogía entre el sistema olfativo biológico y la tecnología de la nariz electrónica. Adaptado de [1].

Los sensores de gas son dispositivos conformados por distintos materiales sensibles que al interactuar con un gas tienden a modificar sus propiedades. Estos “sistemas olfativos artificiales”, se clasifican -dependiendo del tipo de respuesta que produzcan- en ópticos, conductimétricos, catalíticos, electroquímicos o térmicos.

Por otro lado, los materiales semiconductores óxido metálicos (MOS) se utilizan como capa activa en los sensores de gas de tipo conductimétricos. El proceso de sensado ocurre cuando las moléculas de gas interactúan con el material semiconductor, produciendo un cambio en el flujo de corriente, su aumento o disminución se deriva del tipo de gas (oxidante o reductor) o de la naturaleza del semiconductor (tipo N o tipo P) [3]. Este efecto se explica de acuerdo al modelo de adsorción/desorción explicado por Haocheng et al., cuando la superficie de un MOS se expone al aire, las moléculas de oxígeno se adsorben en la superficie del material; ocupando las vacancias en la superficie del MOS formando iones de oxígeno (O<sub>2</sub>, O<sup>-</sup> u O<sup>2-</sup>) provocando el aumento de la resistencia [4]. Luego, en el

caso de un semiconductor tipo N, las moléculas del gas reductor reaccionan con los iones de oxígeno, con lo que se liberan electrones que regresan a la banda de conducción, provocando así la disminución de la resistencia. Si se trata de un gas oxidante, las moléculas del gas ocuparían las vacancias que quedan disponibles en la superficie del MOS y la resistencia incrementaría. Para un semiconductor tipo P, el comportamiento es el opuesto; ver Tabla 1.

Tabla 1. Comportamiento de resistencia de un sensor conductimétrico [5].

Semiconductor	Comportamiento de resistencia en presencia de gases reductores	Comportamiento de resistencia en presencia de gases oxidantes
Tipo N	Disminuye	Incrementa
Tipo P	Incrementa	Disminuye

La respuesta del sensor se calcula con las siguientes ecuaciones:

Gases reductores:

$$Respuesta = \frac{R_{aire}}{R_{gas}} \quad (1)$$

Gases oxidantes:

$$Respuesta = \frac{R_{gas}}{R_{aire}} \quad (2)$$

En donde  $R_{aire}$  representa la resistencia del aire y  $R_{gas}$  es el valor que se produce por el ingreso del gas al sistema, el tiempo de respuesta se considera a partir de que el gas produce cambios en la resistencia del material y se considera hasta que alcanza el 90 % del cambio total, mientras que el tiempo de recuperación, se determina a partir de cerrar el flujo de gas hasta que recupere el 90 % del valor inicial, es decir el valor de  $R_{aire}$ . En la Figura 2 se puede apreciar gráficamente los principales parámetros empleados para la evaluación de los sensores de gas, los cuales son; respuesta, tiempo de respuesta y tiempo de recuperación. Otros parámetros importantes son la selectividad y la estabilidad [6, 7, 8].

Los componentes principales de un sensor de gas conductimétrico son el sustrato, el calentador, los electrodos y la capa activa; los cuales se describen a continuación [9]:

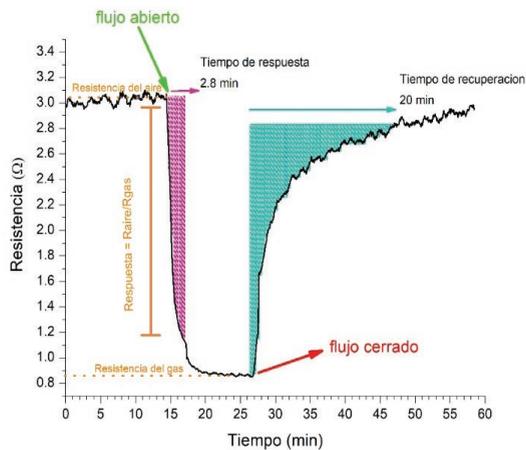


Figura 2. Representación de una gráfica de sensado.

- ad. Sustrato: es el soporte del dispositivo, debe tratarse de un material aislante y con estabilidad a temperaturas altas, los materiales más comunes son alúmina y silicio.
- ae. Calentador: generalmente la interacción entre sólido y gas son procesos térmicamente activados, por lo que se hace necesaria la implementación de un calefactor.
- af. Electrodo: permiten reconocer las modificaciones en la conductividad del material empleado como capa activa, al igual que el sustrato debe ser de materiales química y térmicamente estables, usualmente se emplea Au, Pt o Ag.
- ag. Capa activa: es el material sensible que producirá cambios en su conductividad al interactuar con un gas.

Uno de los MOS más utilizados como capa activa es el óxido de tungsteno (WO<sub>3</sub>), ya que ha demostrado respuesta a distintas variedades de gases (oxidantes y reductores). Se trata de un semiconductor con *bandgap* de 3.2 eV, su punto de fusión es 1700 °C, además destaca por sus propiedades ópticas, eléctricas, ferroeléctricas y termoeléctricas [10,microelectronics, etc. There are numbers of different techniques used for the deposition of stable thin films of oxide materials. The transition metal oxides like WO3 and MoO3 have good electrochromic properties and these oxides can also change their optical properties when the voltage pulse applied. These electrochromic materials are used for displays, rear-view mirrors and smart windows for energy saving and gas sensors. Tungsten Oxide (WO3 11]. Para su síntesis se recurre a distintas metodologías, que han derivado en variedad de morfologías, como alambres, partículas o películas porosas, siendo estas últimas de mayor preferencia para aplicaciones de sensado de gases,

por presentar mayor área superficial que incrementa el contacto entre el material sensible con los gases.

En este trabajo se empleó la técnica de deposición química en fase vapor por filamento caliente (HFCVD) para la síntesis de películas porosas de  $\text{WO}_3$ , esta técnica consiste en la disociación de un material sólido, en este caso se trata de un filamento de tungsteno que se calienta al aplicar un flujo de corriente, produciendo la sublimación del material el cual es depositado en sustratos de silicio, este procedimiento es simple y económico en comparación a otros métodos de depósito de películas delgadas tal como *sputtering*.

El sensor desarrollado en este trabajo se probó para la detección de hidrógeno, este gas es de naturaleza reductora y se emplea en distintas industrias como petroquímica, aeroespacial y energía, además es prometedor para la generación de energía limpia, por ser abundante en la naturaleza. Se trata de un gas incoloro y sin aroma, el riesgo por explosión es alto cuando se mezcla en aire (concentración en volumen de 4-75 %) y rápida propagación de flama [12]. En la Tabla 2 se presentan algunos trabajos previos, relacionados con esta aplicación.

Tabla 2. Sensores de gas basados en  $\text{WO}_3$ : método de síntesis y morfología de la capa activa para el sensado de diferentes gases, recuperado de [13].

Material empleado como capa activa	Método de síntesis	Concentración	Temperatura de operación	Referencia
$\text{WO}_3$	HFCVD	10000 ppm	300 °C	[14]
$\text{WO}_3$	HFCVD	100 ppm	250 °C	[15]the parent material tungsten (W
$\text{WO}_3$	Aerosol CVD	1000 ppm	200 °C	[16]
$\text{WO}_3$	<i>Sputtering</i>	500 ppm	200 °C	[17]and the anodic oxidation process was conducted in a dual-electrode reaction chamber with graphite electrode. The effects of processing parameters (anodic voltage, time, temperature, and the operation distance
$\text{WO}_3$	Anodización catódica	600 ppm	120 °C	[18]
$\text{WO}_3$	Hidrotermal	50-200 ppm	240 °C	[19]

## 2. Metodología

Para el desarrollo de los sensores, la metodología se conformó en dos etapas, la primera fue el depósito de las películas por la técnica HFCVD y la segunda consistió en la elaboración de los sensores de gas. En este apartado se describen cada una de ellas.

### 2.1. *Deposición de películas de $WO_3$*

La deposición de las películas de óxido de tungsteno se realizó a través de la técnica HFCVD, empleando la metodología que ha sido reportada previamente en [20], la cual consistió en elevar la temperatura de un filamento de tungsteno ( $1600\text{ }^\circ\text{C}$  -  $3000\text{ }^\circ\text{C}$ ) mediante la aplicación de corriente eléctrica dentro de un reactor, el sistema fue conectado a una bomba de vacío. El tiempo de depósito fue de 5 minutos, y se utilizaron sustratos de silicio, a los cuales previamente les fue depositado el diseño de electrodos de Au, por la técnica de evaporación de metales y fotolitografía, como se explica en la sección 2.2. Posteriormente se sometió el material a un proceso de recocido durante 10 minutos a una temperatura de  $400\text{ }^\circ\text{C}$  en presencia de aire.

### 2.2. *Fabricación de sensores*

Se utilizaron obleas de  $Si/SiO_2$  y se depositó sobre la superficie una película de cromo de 20 nm y posteriormente una de oro de 120 nm de espesor, empleando un sistema de alto vacío marca Intercovamex modelo D-18. Mediante un proceso de fotolitografía se transfirió el diseño de los electrodos, después del ataque al oro y la resina, se utilizó un RIE-3000 (Reactive Ion Etcher) en atmósfera de oxígeno (durante 10 min) para remover los residuos restantes de oro y resina. El esquema del sensor se puede apreciar en la Figura 3, el área del sustrato fue de  $13 \times 5\text{ mm}$  y el área del depósito de la película de  $WO_3$  fue de  $7 \times 5\text{ mm}$ .

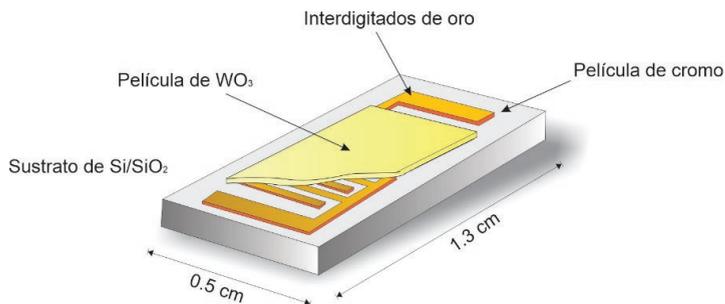


Figura 3.  
 Representación  
 del sensor de gas,  
 recuperado de [13].

Tabla 3. Condiciones experimentales de sensado de  $H_2$ 

Tiempo de recocido [min]	Temperatura de operación [°C]	Concentración de $H_2$ [ppm]
10	400	800, 400, 200
	350	800, 400, 200
	300	800, 400, 200
	250	800, 400, 200

### 2.3. Caracterización de películas de $WO_3$ y respuestas de sensado de $H_2$

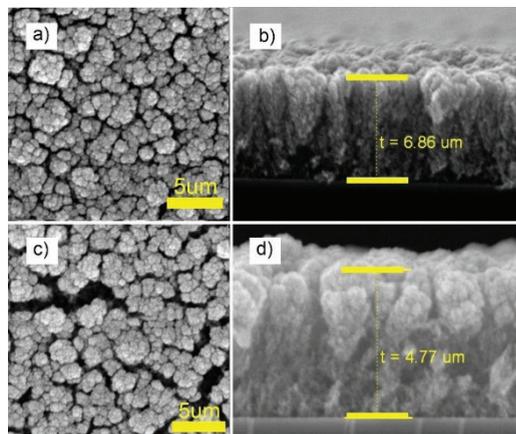
La caracterización morfológica y espectroscópica se realizaron con un microscopio electrónico de barrido (TESCAN Vega TS513SB) y un equipo micro-Raman confocal (Lab Ram modelo HR800 de la marca Horiba Jobin Yvon con un láser de 633 nm) respectivamente. La información cristalográfica se obtuvo con un equipo de difracción de rayos X modelo X'PERT PRO MRD. Las pruebas de sensado del dispositivo se evaluaron en una cabina con instalación de entrada y salida de flujo de gases controlado, el sistema está integrado con un calefactor y conexiones a un multímetro (Keithley) que monitorea los cambios de resistencia en el material [13].

## 3. Resultados y discusión

### 3.1. Caracterización morfológica y estructural

En la Figura 4 se observa la morfología superficial y el espesor de la película de  $WO_3$  antes y después del tratamiento térmico a 400° C durante 10 minutos en aire. En ambos casos se aprecian estructuras en forma de coliflor, conformadas por partículas de tamaño nanométrico, aunque para ambos casos la morfología es similar, para la muestra recocida se puede apreciar fracturas y grietas que se extienden en toda la superficie. Los cortes transversales evidenciaron el efecto del tratamiento térmico en el espesor de la película, siendo de inicialmente de 6.89  $\mu\text{m}$  y disminuyendo a 4.77  $\mu\text{m}$ , ya que el tratamiento térmico induce la compactación del material.

Figura 4. Micrografía del material sintetizado, a) como fue sintetizado b) espesor antes del recocido, c) después del tratamiento de recocido a 400 °C durante 10 minutos y d) espesor después del recocido.



En el patrón de difracción de rayos X de la película recocida, los principales picos se observan en  $2\theta = 23.1^\circ$ ,  $23.6^\circ$  y  $24.3^\circ$ , los cuales son atribuidos a la carta cristalográfica 01-083-0950 que corresponde a la fase monoclinica del óxido de tungsteno. Esta información se aprecia en la Figura 5.

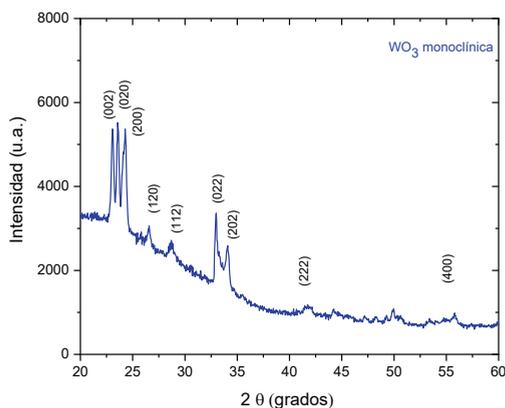
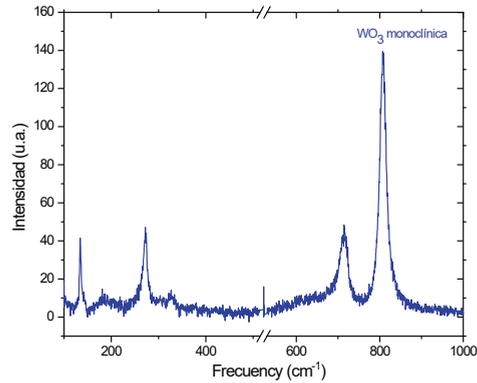


Figura 5. Patrón de difracción de rayos X de la muestra recocida a 400 °C.

En la Figura 6, se muestra el espectro Raman para el material recocido, se observa un corte en  $521\text{ cm}^{-1}$ , que corresponde a la señal del sustrato (silicio). En el espectro se identifican bandas de baja frecuencia entre  $100\text{-}300\text{ cm}^{-1}$  asociadas a los enlaces O-W-O y las bandas de alta frecuencia en el rango  $700\text{-}900\text{ cm}^{-1}$  se atribuyen a modo de vibración de estiramiento W-O, correspondientes al WO<sub>3</sub> fase monoclinica [21] Raman spectroscopy, and infrared reflection-absorption spectroscopy (IRRAS). El pico observado a  $134\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a los modos de vibración de la red del óxido de tungsteno [22]. Los picos alrededor de  $272\text{ cm}^{-1}$

corresponden a modos de flexión de los enlaces W-O-W. Los picos más intensos observados en  $807\text{ cm}^{-1}$  y  $714\text{ cm}^{-1}$  corresponden a los modos de estiramiento de los enlaces W-O [23] grown by radio frequency magnetron reactive sputtering at substrate temperatures varied from room temperature (RT).

Figura 6. Espectro Raman de la muestra recocida a  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ .



### 3.2. Respuestas de sensado de $\text{H}_2$

Las películas recocidas de  $\text{WO}_3$  se depositaron sobre los electrodos y se midió la respuesta de sensado modificando las condiciones de temperatura de operación  $250, 300, 350$  y  $400\text{ }^{\circ}\text{C}$ , para concentraciones de  $200, 400$  y  $800\text{ ppm}$  de  $\text{H}_2$  la

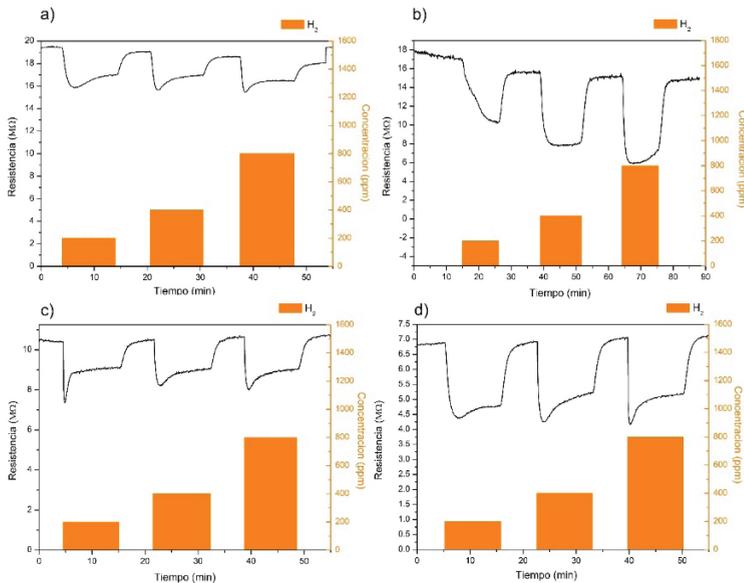


Figura 7. Respuestas de sensado a)  $250$ , b)  $300$ , c)  $350$  y d)  $450\text{ }^{\circ}\text{C}$ , recuperado de [13].

duración de cada pulso fue de 10 minutos. Las respuestas obtenidas se muestran en la Figura 7, este tipo de respuesta es típica de un semiconductor tipo n, por lo que en presencia de hidrógeno la resistencia disminuyó (recordar Tabla 1). Al cerrar el flujo del gas los valores se estabilizaron. En la Tabla 4 se muestran los valores de respuesta calculados con la ecuación 1, se evidencia que mayor temperatura de operación favorece el funcionamiento del sensor, sin embargo; los tiempos de recuperación y de respuesta son ligeramente superiores comparados a temperaturas de operación inferiores. Los valores mayores de respuesta se obtuvieron operando el sensor a 400 °C, al ingresar una concentración de 800 ppm de hidrógeno, siendo esta de 1.67, en este caso, el tiempo de respuesta fue de 0.36 minutos y el de recuperación de 3.65 min.

Tabla 4. Tiempo de respuesta y tiempo de recuperación del sensor. Recuperado de [13].

T. Operación (°C)	Concentración (ppm)	Respuesta	Tiempo de respuesta (min)	Tiempo de recuperación (min)
	200	1.56	2.04	3.4
400	400	1.62	0.9	3.5
	800	1.67	0.36	3.65
	200	1.23	1.36	2.7
350	400	1.28	1	3.2
	800	1.33	0.6	3.15
	200	1.11	1.96	3
300	400	1.17	1.04	2.9
	800	1.23	0.64	3.1
	200	1.22	1.88	2.8
250	400	1.21	1.12	2.95
	800	1.22	0.84	3.2

El fenómeno de sensado de H<sub>2</sub> puede explicarse mediante la reacción siguiente [15]:



Donde:

O<sup>-</sup> representa la red de oxígenos del WO<sub>3</sub>

H<sub>2</sub><sup>gas</sup> es el gas en estudio

$V_O$  representa las vacancias de oxígeno

$H_2O$  es el gas producido debido a la reducción por el hidrógeno

$e^-$  los electrones liberados.

El proceso se explica como sigue:

1.- Adsorción de oxígeno (del aire) en la superficie de la capa activa, en este caso de  $WO_3$ .

2.- El oxígeno adsorbido atrapa electrones de la superficie de  $WO_3$ , como resultado inmoviliza electrones de la banda de conducción de la superficie de  $WO_3$

3.- Las moléculas de  $H_2$  al entrar en contacto con la superficie remueve los átomos de oxígeno adsorbidos en la superficie de  $WO_3$ , como resultado la zona de agotamiento (L) se reduce promoviendo que los electrones atraídos por los iones de oxígeno sean liberados y regresen a  $WO_3$ , lo que se traduce como el aumento de conductividad. Este proceso, se explica gráficamente en la Figura 8.

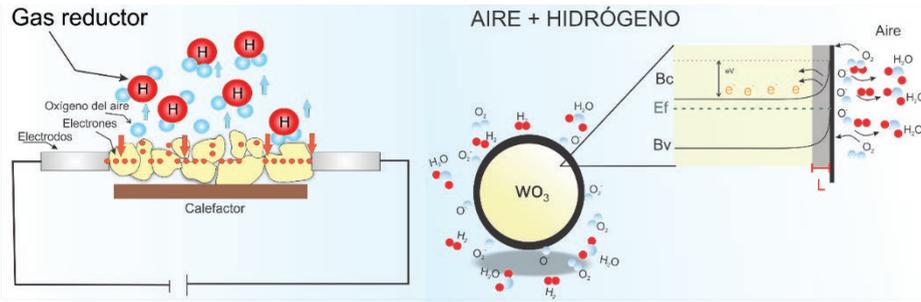


Figura 8. Respuestas de sensado, recuperado de [13].

#### 4. Perspectivas

Los sensores de gas se han convertido en una tecnología de fácil acceso, pues hoy en día se encuentran disponibles en el mercado diversos dispositivos diseñados para la detección de variedad de compuestos gaseosos, que son empleados tanto en los sectores industrial, salud y seguridad. Sin embargo, persisten algunos desafíos por resolver en cuanto al funcionamiento de estos dispositivos, por ejemplo, mejorar la selectividad- discriminar entre una mezcla de gases- así como la reducción de las temperaturas de operación reduciendo el consumo de energía.

Dentro de los avances más recientes en el tema, se encuentra el uso de quatumn dots (QDs) de óxidos metálicos como capa activa en sensores de gas

conductimétricos, los resultados han mostrado respuestas a temperaturas más bajas, además de mejorar el límite de detección en comparación con los mismos materiales a escala nanométrica [24]. Sin embargo, uno de los retos de utilizar QDs es evitar su tendencia de agregación e incremento de tamaño, ya que este efecto reduce las características de sensado. Otra línea que recién comienza a explorarse, es la combinación de materiales mesoporosos como las zeolitas y óxidos metálicos que han mostrados resultados prometedores para mejorar la selectividad de compuestos orgánicos volátiles (COVs) [25]. También, los sensores de gas basados en grafeno dopados con metales han dado resultados de sensibilidad y selectividad altas a distintos gases debido a su área superficial grande, además su naturaleza de semiconductor tipo p, permite realizar uniones con óxidos metálicos tipo n, lo que puede mejorar la conductividad [26]. Una línea de investigación adicional, se ha concentrado en sensores de gas conductimétricos empleando óxidos metálicos activados por luz (ultravioleta), lo que mejora la sensibilidad y respuesta del sensor debido al número creciente de pares electrón-hueco fotogenerados con lo que también se logra operar el sensor a temperatura ambiental [27].

Adicionalmente, en la búsqueda de sensores de gas “flexibles” se han desarrollado distintas investigaciones que emplean distintos materiales como por ejemplo textiles [28] o polímeros [29]. Se considera que en un futuro cercano se podrá contar con sensores de gas “flexibles” muy sensibles que operen a temperatura ambiente, que permitan incorporarse aún más a distintos sectores o incluso pudieran integrarse para uso personal de los usuarios con un enfoque de internet de las cosas.

## 5. Conclusiones

En este trabajo se demostró que mediante la técnica HFCVD, se produjeron películas porosas de WO<sub>3</sub> que mostraron respuesta de sensado para H<sub>2</sub>. A través de los resultados de difracción de rayos X y de espectrometría Raman se confirmó que el tratamiento térmico a 400 °C favorece la oxidación y cristalización del material, la fase cristalina identificada fue la monoclinica WO<sub>3</sub>. La morfología de las películas se refiere a material poroso conformado por pequeñas partículas de tamaños nanométricos aglomeradas en forma de coliflor. El diseño y fabricación del sensor permitió conocer las respuestas con hidrógeno, siendo a 400 °C los valores de respuesta más altos para las concentraciones de 400 y 800 ppm (1.62 y 1.67, respectivamente), el fenómeno se describe como una interacción de material semiconductor tipo n y un gas reductor.

## **Agradecimientos**

Los autores agradecen al Instituto Politécnico Nacional por el financiamiento recibido a través la convocatoria de Proyectos de desarrollo tecnológico o innovación para alumnos del IPN y de los proyectos de investigación SIP 20210613 y SIP 20211384.

A los siguientes laboratorios por las facilidades prestadas durante la etapa experimental:

- Centro de Nanociencias y Micro-Nanotecnologías del Instituto Politécnico Nacional
- Laboratorio de Síntesis de Materiales Nanoestructurados del Centro de Investigación en Fisicoquímica de Materiales de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla.

Así como al técnico Nicolas Morales López por su contribución para el desarrollo de esta investigación.

## Bibliografía

1. Gardner, J. W, & Bartlett, P. N. (2000). Electronic Noses. Principles and Applications. *Meas. Sci. Technol.*, 11(7), 1087.  
<https://doi.org/10.1088/0957-0233/11/7/702>
2. Moreno, I. Caballero, R., Galán, R., Matía, F., & Jiménez, A. (2009). La Nariz Electrónica: Estado del Arte. *RLAI - Rev. Iberoam. Autom. e Inform. Ind.*, 6(3), 76-91.  
[https://doi.org/10.1016/S1697-7912\(09\)70267-5](https://doi.org/10.1016/S1697-7912(09)70267-5)
3. P. Srinivasan, P., Ezhilan, M., Kulandaisamy, A. J., Babu, K. J., & Rayappan, J.B.B. (2019). Room temperature chemiresistive gas sensors: challenges and strategies—a mini review. *J. Mater. Sci. Mater. Electron.*, 30, 15825-15847.  
<https://doi.org/10.1007/s10854-019-02025-1>
4. Ji, H., Zeng, W., & Li, Y. (2019). Gas sensing mechanisms of metal oxide semiconductors: A focus review. *Nanoscale*, 11, 22664-22684.  
<https://doi.org/10.1039/C9NR07699A>
5. Williams, D. E. (1999). Semiconducting oxides as gas-sensitive resistors. *Sensors Actuators, B Chem.*, 57(1-3), 1-16.  
[https://doi.org/10.1016/S0925-4005\(99\)00133-1](https://doi.org/10.1016/S0925-4005(99)00133-1)
6. Zhang, J., Liu, X., Neri, G., & Pinna, N. (2016). Nanostructured Materials for Room-Temperature Gas Sensors. *Adv. Mater.*, 28(5), 795-831.  
<https://doi.org/10.1002/adma.201503825>
7. Korotcenkov, G. & Cho, B. K. (2017). Metal oxide composites in conductometric gas sensors: Achievements and challenges. *Sensors Actuators, B: Chem.*, 244, 182-210.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.12.117>
8. Majhi, S. M., Mirzaei, A., Kim, H. W., Kim, S. S., & Kim, T. W. (2021). Recent advances in energy-saving chemiresistive gas sensors: A review. *Nano Energy*, 79, 105369.  
<https://doi.org/10.1016/j.nanoen.2020.105369>
9. Yamazoe, N., & Shimano, K. (2019). Fundamentals of semiconductor gas sensors. In *Semiconductor Gas Sensors*. Elsevier, 3–38.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-08-102559-8.00001-X>
10. Buch, V. R., Chawla, A. K., & Rawal, S. K. (2016). Review on electrochromic property for WO<sub>3</sub> thin films using different deposition techniques. *Mater. Today Proc.*, 3(6), 1429-1437.  
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2016.04.025>
11. Madhuri, K. V., & Bujji Babu, M. (2018). Influence of substrate temperature on growth and Electrochromic properties of WO<sub>3</sub> thin films. *Optik (Stuttg)*. 174, 470-480.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2018.08.028>

12. Korotcenkov, G., Do Han, S., Stetter, J. R. (2009). Review of electrochemical hydrogen sensors. *Chem. Rev.* 109(3), 1402-1433.  
<https://doi.org/10.1021/cr800339k>
13. Cruz Leal, M. (2019). *Fabricación de películas delgadas de óxido de tungsteno por la técnica de HFCVD y su aplicación a sensado de CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub> y NO<sub>2</sub>*. Instituto Politécnico Nacional, 2019.
14. Papadimitropoulos, G., Kostis, I., Triantafyllopoulou, R., Tsouti, V., Vasilopoulou, M., & Davazoglou, D. (2012). Investigation of porous hot-wire WO<sub>3</sub> thin films for gas sensing application. In *Microelectron. Eng.*, 51-54.  
<https://doi.org/10.1016/j.mee.2011.05.035>
15. Godbole, R., Ameen, S., Nakate, U. T. Shaheer Akhtar, M. & Shin, H. S. (2019). Low temperature HFCVD synthesis of tungsten oxide thin film for high response hydrogen gas sensor application. *Mater. Lett.*, 254.  
<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2019.07.110>
16. Stoycheva, T., Annanouch, F. E., Gràcia, I., Llobet, E., Blackman, C., Correig, X. et al. (2014). Micromachined gas sensors based on tungsten oxide nanoneedles directly integrated via aerosol assisted CVD. *Sensors Actuators, B Chem.*, 198, 210-218.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.03.040>
17. Yang, T., Zhang, Y., Cai, Y., & Tian, H. (2014). Effect of processing parameters on anodic nanoporous tungsten oxide film structure and porosity for hydrogen detection. *J. Mater. Res.* 29(1), 166-174.  
<https://doi.org/10.1557/jmr.2013.369>
18. Ou, J. Z., Ahmad, M. Z., Latham, K., Kalantar-zadeh, K., Sberveglieri, G., & Wlodarski, W. (2011). Synthesis of the nanostructured WO<sub>3</sub> via anodization at elevated temperature for H<sub>2</sub> sensing applications. *Procedia Eng.*, 25, 247-251.  
<https://doi.org/10.1016/j.proeng.2011.12.061>
19. Boudiba, A., Zhang, C., Snyders, R., Olivier, M. G., & Debligny, M. (2011). Hydrogen sensors based on Pd-doped WO<sub>3</sub> nanostructures and the morphology investigation for their sensing performances optimization. In *Procedia Eng.*, 25, 264-267.  
<https://doi.org/10.1016/j.proeng.2011.12.065>
20. Cruz-Leal, M., Goiz, O., Chávez, F., Pérez-Sánchez, G. F., Hernández-Como, N., Santes, V. et al. (2019). Study of the thermal annealing on structural and morphological properties of high-porosity A-WO<sub>3</sub> films synthesized by HFCVD. *Nanomaterials*, 9(9), 1298.  
<https://doi.org/10.3390/nano9091298>
21. Trasferetti, C. B., Rouxinol, F. P., Gelamo, R. V., Bica de Moraes, M. a., Davanzo, C. U., & de Faria, D. L. A. (2004). Berreman Effect in Amorphous and Crystalline WO<sub>3</sub> Thin Films. *J. Phys. Chem. B.*, 108(33), 12333-12338.  
<https://doi.org/10.1021/jp036653u>

22. Daniel, M.F., Desbat, B., Lassegues, J. C., Gerand, B., & Figlarz, M. (1987). Infrared and Raman study of WO<sub>3</sub> tungsten trioxides and WO<sub>3</sub>·xH<sub>2</sub>O tungsten trioxide hydrates. *J. Solid State Chem.*, 67(2), 235-247.  
[https://doi.org/10.1016/0022-4596\(87\)90359-8](https://doi.org/10.1016/0022-4596(87)90359-8)
23. Manciu, F. S., Enriquez, J. L., Durrer, W. G., Yun, Y., Ramana, C. V., & Gullapalli, S. K. (2010). Spectroscopic analysis of tungsten oxide thin films. *J. Mater. Res.*, 25(12), 2401-2406.  
<https://doi.org/10.1557/jmr.2010.0294>
24. Galstyan, V. (2021). Quantum dots: Perspectives in next-generation chemical gas sensors – A review. *Anal. Chim. Acta.*, 1152:238192.  
<https://doi.org/10.1016/j.aca.2020.12.067>
25. Zeng, Y., Hua, Z., Tian, X., Li, X., Qiu, Z., Zhang, C. et al. (2018). Selective detection of methanol by zeolite/Pd-WO<sub>3</sub> gas sensors. *Sensors Actuators, B Chem.*, 273, 1291-1299.  
<https://doi.org/10.1016/j.snb.2018.07.041>
26. Wang, C., Wang, Y., Yang, Z., & Hu, N. (2021). Review of recent progress on graphene-based composite gas sensors. *Ceram. Int.*, 47(12), 16367-16384.  
<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.02.144>
27. Wang, J., Shen, H., Xia, Y., & Komarneni, S. (2020). Light-activated room-temperature gas sensors based on metal oxide nanostructures: A review on recent advances. *Ceram. Int.*, 47(6), 7293-8742.  
<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2020.11.187>
28. Yun, Y. J., Hong, W. G., Choi, N. J., Kim, B. H., Jun, Y., & Lee, H. K. (2015). Ultrasensitive and highly selective graphene-based single yarn for use in wearable gas sensor. *Sci. Rep.*, 5, 10904.  
<https://doi.org/10.1038/srep10904>
29. Zheng, Z. Q., Yao, J. D., Wang, B., & Yang, G. W. (2015). Light-controlling, flexible and transparent ethanol gas sensor based on ZnO nanoparticles for wearable devices. *Sci. Rep.*, 5, 11070.  
<https://doi.org/10.1038/srep11070>



# CAPÍTULO 1 ÁREA DE SALUD

## DESARROLLO Y CARACTERIZACIÓN DE NANOFIBRAS POLIMÉRICAS INCORPORADAS CON LEVOFLOXACINO

**Ningel Omar Gama-Castañeda<sup>1</sup>,  
Rocío Guadalupe Casañas-Pimentel<sup>2</sup>,  
Miguel Ángel Aguilar-Méndez<sup>1\*</sup>,  
Juan Maldonado-Cubas<sup>3</sup>, Mónica Rosalía Jaime-Fonseca<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, CICATA Unidad Legaria, Calzada Legaria 694, Col. Irrigación, Ciudad de México. CP 11500, México.

<sup>2</sup>CONACYT-Instituto Politécnico Nacional, CICATA Unidad Legaria, Calzada Legaria 694, Col. Irrigación, Ciudad de México. CP 11500, México.

<sup>3</sup>Universidad La Salle, Grupo de Investigación en Procesamiento Digital de Señales Biomédicas, Vicerrectoría de Investigación, Benjamín Franklin 45, Condesa, Cuauhtémoc, Ciudad de México. CP 06140, México.

maguilarme@ipn.mx

Gama-Castañeda, N. O., Casañas-Pimentel, R. G., Aguilar-Méndez, M. Á., Maldonado-Cubas, J., & Jaime-Fonseca, M. R. (2021). Desarrollo y caracterización de nanofibras poliméricas incorporadas con levofloxacino. En E. San Martín-Martínez (Ed.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III* (pp. 65-80). Barcelona, España: Omniascience.

## Resumen

Actualmente, existe un incremento alarmante en el desarrollo de resistencia a los antibióticos por diferentes microorganismos patógenos, lo que genera un problema de salud pública global. Esto en gran medida, ha sido propiciado por la falta de seguimiento adecuado de los esquemas terapéuticos actuales. Esta problemática obliga a buscar estrategias más adecuadas para el control en el uso de los antibióticos. Por lo anterior, este trabajo propone el desarrollo de apósitos de nanofibras con antibióticos incorporados para su administración transdérmica, que podrían ofrecer ventajas significativas como una aplicación directa sobre el sitio afectado, una liberación sostenida del antibiótico, la disminución de las dosis empleadas, y de manera más importante, facilitar el apego al esquema terapéutico indicado para contrarrestar el desarrollo de microorganismos resistentes. Para ello, se elaboraron nanofibras de ácido poliláctico (PLA) y policaprolactona (PCL), mediante la técnica de electrohilado. El antibiótico levofloxacino se incorporó a la solución polimérica, previo al proceso de electrohilado. Los nanomateriales se caracterizaron en cuanto a morfología, diámetro y microestructura, mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Adicionalmente, se estudiaron las interacciones de los componentes por espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) y sus propiedades térmicas mediante calorimetría diferencial de barrido (DSC). Finalmente, se determinó la concentración del fármaco en los apósitos, y se estudió su liberación en solución fisiológica mediante espectrofotometría UV-Vis. Los resultados de SEM mostraron que las nanofibras de PLA-PCL presentaron un efecto de entrecruzamiento, lo que llevó a la formación de fibras fusionadas, con un diámetro promedio de  $843.26 \pm 98.20$  nm. Los espectros FTIR indicaron que el levofloxacino interactuó con la mezcla polimérica a través de sus grupos C=O y -OH. Estas interacciones fueron las responsables, en gran medida, de la estabilidad térmica mostrada por los apósitos de nanofibras. Las pruebas *in vitro* determinaron que el 100 % del fármaco incorporado a la solución polimérica se encuentra disponible en los apósitos de nanofibras y alcanza una liberación cercana al 90 % en condiciones fisiológicas de osmolaridad, pH y temperatura, lo que sugiere que el material generado puede contener eficientemente al fármaco y puede liberarlo para permitir su acción farmacológica.

**Palabras clave:** Nanofibra, polímero, fármaco, electrohilado.

## 1. Introducción

En las últimas décadas, se han realizado diversas investigaciones referentes al desarrollo de aplicaciones farmacéuticas eficaces para el tratamiento de enfermedades reemergentes, en las que numerosos microorganismos presentes en una determinada infección, desarrollan resistencia a diversos antibióticos que son administrados de forma inadecuada, o cuando el tratamiento farmacéutico es interrumpido o mal administrado a un paciente [1, 2]. En este contexto, la nanotecnología tiene un gran impacto en el área farmacéutica, gracias al desarrollo de materiales que mejoran los efectos terapéuticos de los fármacos, ejemplo de ello son los apósitos (parches), constituidos por nanofibras poliméricas [3]. Dichos apósitos representan una alternativa potencial para su utilización como sistemas de liberación controlada de fármacos, gracias al tamaño nanométrico de las fibras, lo que permite una mejor difusión de las sustancias activas a través de la piel, en comparación a los apósitos convencionales [4].

Actualmente, existen dos métodos para mejorar la acción de los fármacos: la liberación controlada y la específica. La liberación controlada se encarga de eliminar o reducir los efectos secundarios, produciendo una concentración terapéutica estable del fármaco en el organismo. Por su parte, la liberación específica trata de asegurar que el fármaco se libere en un sitio determinado. Mientras que muchos fármacos tradicionales deben ser inyectados o ingeridos, los sistemas poliméricos de liberación controlada pueden situarse en el organismo, directamente en la zona afectada o en la periferia de la misma [5].

Últimamente se han desarrollado rutas de administración innovadoras y efectivas, en las que se pueden inmovilizar fármacos, como los antibióticos, enzimas y péptidos, a sistemas poliméricos como los apósitos de nanofibras [6], nanocápsulas y microesferas, aplicables como sistemas de liberación y también en investigación direccionada a la ingeniería biomédica y de tejidos [7]. Mediante el control del diámetro y la morfología de los apósitos, se pueden obtener estructuras porosas, altamente resistentes y flexibles, así como una liberación controlada y prolongada del fármaco gracias a la amplia área superficial [8].

La liberación de los fármacos a partir de nanofibras poliméricas se puede describir a través de tres mecanismos: desorción de la superficie de la fibra, difusión de estado sólido a través de la fibra y degradación de la fibra. Las pruebas de liberación de fármacos a partir de las nanofibras se realizan comúnmente en soluciones salinas tamponadas con fosfato (PBS). Cuando un apósito con fármaco se

somete a PBS, las nanofibras se encuentran rodeadas por la solución, provocando que las fibras se hinchen por la fase acuosa y de ellas se puedan liberar los fármacos embebidos en la matriz del material. El mecanismo de desorción no se limita a la superficie exterior de las nanofibras, sino que también incluye fármacos en las porosidades y superficies internas. Teniendo en cuenta la escala de tamaño nanométrico de las porosidades internas, el área superficial sería mucho mayor que la que se tiene en la superficie de la fibra exterior. Con el desarrollo de apósitos de nanofibras conteniendo fármacos embebidos, se pueden tratar enfermedades sin provocar los efectos adversos que se tienen con las vías de administración convencionales, ya que estos se distribuyen en el organismo según sus propiedades fisicoquímicas, como solubilidad, coeficiente de partición y carga [9]. El objetivo del presente trabajo fue desarrollar nanofibras poliméricas, conteniendo levofloxacino como fármaco, y caracterizar sus propiedades morfológicas, térmicas y de liberación controlada.

## **2. Metodología**

### **2.1. Materiales y reactivos**

Los materiales empleados para el desarrollo de los apósitos de nanofibras se seleccionaron con base a sus características funcionales (biocompatibilidad, nula toxicidad y biodegradabilidad). Los polímeros utilizados para la elaboración de las nanofibras fueron ácido poliláctico (PLA) y policaprolactona (PCL), los cuales fueron adquiridos de Ingeo™ (EUA) y de Sigma Aldrich (EUA), respectivamente. El fármaco incorporado a las fibras fue levofloxacino, de la marca Sigma Aldrich (EUA). Acetona y N,N-dimetilformamida se utilizaron como disolventes en la preparación de las soluciones poliméricas, estos fueron comprados de Reactivos Química Meyer (México) y Sigma Aldrich (EUA), respectivamente. En la caracterización por espectroscopia UV-Vis se empleó acetonitrilo grado HPLC adquirido de Sigma Aldrich (EUA).

### **2.2. Elaboración de la solución polimérica con el fármaco incorporado**

Para la elaboración de la solución de PLA/PCL se utilizaron acetona y N,N-dimetilformamida como disolventes, en una relación 50:50 (v/v). En la mezcla de polímeros (10 % m/v) se integró también el fármaco levofloxacino, estableciendo las siguientes condiciones en la solución: agitación orbital de 300 a 700 rpm, por un intervalo de tiempo de 1 a 4 h y temperatura entre 40 a 70 °C. Una vez obtenida la solución polimérica, se llevó a degasificar en un baño de ultrasonido

bajo las siguientes condiciones: 25 kHz, potencia de 40 %, modo desgas y 15 min de proceso. Finalmente, la solución final se incorporó en una jeringa y se llevó a cabo el proceso de electrohilado.

### 2.3. Proceso de electrohilado

Una vez obtenida la solución polimérica, se realizó el electrohilado (Figura 1) para la obtención del apósito. Inicialmente, la jeringa (depósito) cargada con la solución se situó en una bomba inyectora que administró la solución de forma controlada, estableciendo los parámetros de operación, velocidad de flujo 1.7 ml/h, distancia de la aguja de la jeringa al plato colector 12 cm, voltaje 15 kV. Para mantener la higiene y seguridad de los procesos, el electrohilado se realizó dentro de una cabina aislante y al término de cada proceso, los apósitos fueron retirados del colector y secados en una estufa a una temperatura de 38 °C.

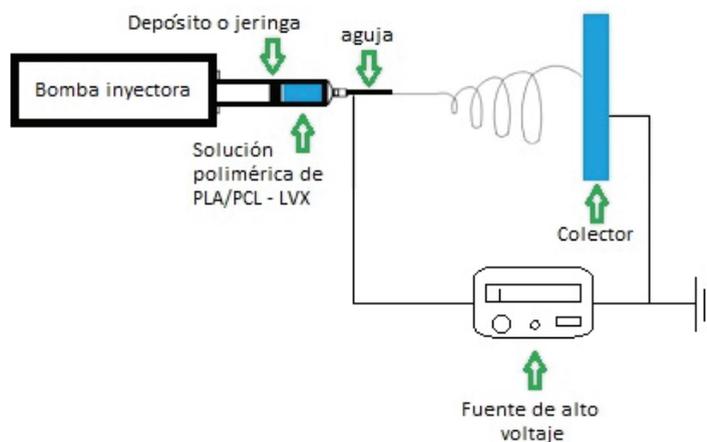


Figura 1. Diagrama del sistema de electrohilado.

### 2.4. Microscopía electrónica de barrido (SEM)

La morfología y diámetro de las nanofibras se estudiaron utilizando un microscopio electrónico de barrido JSM-6390LV (JEOL, Japón). Previamente, las muestras se recubrieron con oro mediante pulverización catódica (Desk IV, Denton Vacuum). Las micrografías se tomaron a distintas magnificaciones empleando un voltaje acelerador de 20 kV. El análisis del diámetro de las nanofibras se realizó mediante el software Scandium SEM interface Ver. 8.20 (JEOL, Japón).

Con la finalidad de obtener datos confiables, se realizaron 100 mediciones en diversos puntos de cada una de las muestras de nanofibras.

### ***2.5. Espectroscopia infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)***

Para evaluar las posibles interacciones e identificación de los grupos funcionales correspondientes a los polímeros y el fármaco, se obtuvieron espectros FTIR utilizando un equipo Cary 630 (Agilent Technologies, EUA). Los análisis se realizaron usando una celda de reflectancia total atenuada (ATR), en un rango de 4000–500  $\text{cm}^{-1}$ , con una resolución de 4  $\text{cm}^{-1}$  a 32 scans. Para la realización del análisis se estudió el apósito, así como el fármaco y los polímeros en su forma libre.

### ***2.6. Calorimetría diferencial de barrido (DSC)***

El análisis del apósito se realizó en un calorímetro diferencial de barrido (DSC, Pyris 1, Perkin Elmer, EUA). Para ello, se prepararon muestras del apósito con el fármaco incorporado y muestras del apósito con los polímeros sin el fármaco, todas ellas de 2.5 mg, contenidas en cápsulas de aluminio. Las muestras fueron analizadas por triplicado, para corroborar el comportamiento térmico del apósito mediante su termograma. Para analizar dicho comportamiento, se estableció una velocidad de calentamiento de 10  $^{\circ}\text{C} / \text{min}$ , y un intervalo de temperatura de 30 a 200  $^{\circ}\text{C}$ . El objetivo de incorporar al estudio apósitos sin el fármaco, fue identificar si la adición del fármaco genera alteraciones en las propiedades térmicas de los componentes del apósito, lo que podría sugerir la existencia de reacciones químicas entre el fármaco y los polímeros.

### ***2.7. Cuantificación del fármaco contenido en el apósito***

Se llevó a cabo la cuantificación del fármaco levofloxacino contenido en el apósito, mediante espectroscopia UV-Vis. Para ello, se preparó una curva de calibración del fármaco en acetonitrilo (ACN), en un intervalo de concentraciones de 2–63  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , obteniendo los valores de absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción, determinada en un intervalo de 260 a 850 nm. Este análisis se realizó empleando un espectrofotómetro UV-VIS Genesys 10S (Thermo Scientific, EUA)). Cada punto de la curva de calibración fue evaluado por triplicado.

La cuantificación del fármaco en el apósito fue llevada a cabo con muestras circulares del apósito, con diámetros de 1 cm. Las muestras se disolvieron en 1 mL de ACN y se sometieron a sonicación por 15 min en un baño ultrasónico en modo de

onda continua, bajo condiciones de 25 kHz, 100% de potencia y temperatura ambiente. Posteriormente, se determinó la absorbancia de las soluciones a la longitud de onda de máxima absorción y se interpoló el valor de absorbancia en la curva de calibración del fármaco para determinar la concentración del fármaco en la solución. La cantidad de fármaco determinada en el apósito de forma experimental, fue comparada contra el valor teórico del fármaco contenido en el apósito.

## **2.8. Ensayo de liberación del fármaco *in vitro***

Se estudió la liberación del fármaco *in vitro*, con el fin de corroborar que este puede migrar de la matriz polimérica, y difundir en una solución fisiológica. Para ello, se preparó inicialmente una curva de calibración del fármaco en buffer de fosfatos salino (PBS) a pH 7.4, en un intervalo de concentraciones de 4–63 µg/mL, obteniendo los valores de absorbancia a la longitud de onda de máxima absorción determinada en un intervalo de 260 a 850 nm. Este análisis se realizó empleando un espectrofotómetro UV-Vis Genesys 10S (Thermo Scientific, EUA). Cada punto de la curva de calibración fue evaluado por triplicado.

Para evaluar la liberación del fármaco, se incubaron muestras circulares del apósito, con diámetros de 1 cm, en 2 mL de PBS pH 7.4 a 37 °C, en agitación orbital a 50 rpm (Incu-Shaker IOLR, Benchmark, EUA). Las muestras se mantuvieron en incubación durante 2, 6 y 24 h. Posteriormente, se retiró el polímero residual del apósito con pinzas de acero inoxidable y la solución de PBS con el fármaco fue evaluada mediante espectroscopia UV-Vis, a la longitud de onda de máxima absorción. La absorbancia de la muestra fue interpolada en la curva de calibración para determinar el contenido del fármaco liberado del apósito. Cada condición se evaluó por triplicado.

## **2.9. Análisis estadístico**

Todas las mediciones se realizaron por triplicado y los resultados fueron analizados por ANOVA (Origin 8.0). Las diferencias se consideraron significativas a un nivel de  $P < 0.05$ .

# **3. Resultados y discusión**

## **3.1. Microscopía electrónica de barrido (SEM)**

La Figura 2 presenta la morfología e histograma de diámetros de las nanofibras de PLA–PCL con levofloxacin incorporado. La imagen de SEM (Figura

2a) muestra la presencia de nanofibras fusionadas (con efecto entrecruzante), que pudo deberse a posibles interacciones intermoleculares entre los polímeros y el fármaco. De hecho, dicho efecto pudo haber sido provocado por un posible incremento en la viscosidad de la solución polimérica, lo cual provoca un aumento en la tensión superficial de la solución, evitando que los disolventes se evaporen adecuadamente en el electrohilado y con ello, las nanofibras húmedas se vayan fusionando al irse depositando sobre el colector [10, 11]. También se obtuvieron fibras gruesas (o de diámetro mayor), lo cual pudo ser producido por la alta viscosidad de la solución polimérica, lo cual generó una baja tensión superficial provocando que el chorro de solución formado fuera más grueso, alargándose y depositando nanofibras de mayor diámetro [12]. El bajo voltaje también juega un papel muy importante a considerar cuando se presentan fibras de amplio diámetro. Se ha reportado que, al aplicar bajo voltaje, disminuye la fuerza electrostática repulsiva de la solución, produciendo nanofibras gruesas [13]. La Figura 2b presenta el histograma de distribución de diámetros de las fibras. A partir de este, se obtuvo que los materiales obtenidos presentaron un diámetro medio de  $843.26 \pm 98.20$  nm y un intervalo de diámetros que van de 62–3943 nm.

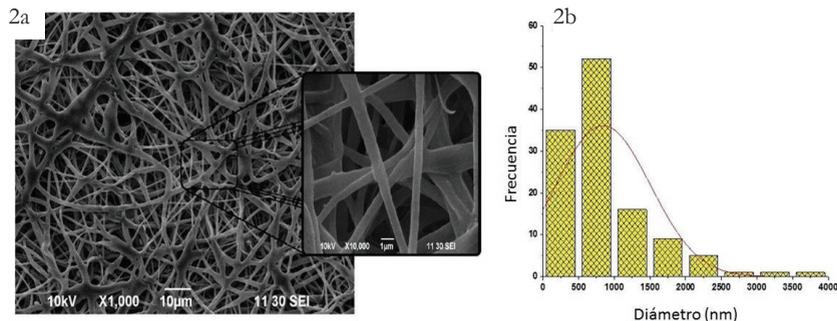
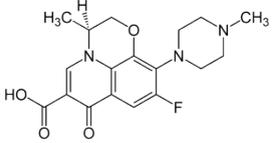
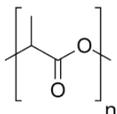
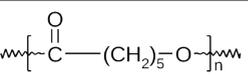


Figura 2. Morfología y distribución de diámetros de nanofibras de PLA–PCL con levofloxacino incorporado: imagen de SEM (2a) e histograma de diámetros (2b).

### 3.2. Espectroscopia de infrarrojo (FTIR)

Para el análisis de la interacción de los componentes del apósito PLA–PCL–levofloxacino, se obtuvieron los espectros de transmitancia por FTIR del fármaco, del apósito generado únicamente con la mezcla de polímeros PLA–PCL y del apósito con el fármaco incorporado (Figura 3). En la Tabla 1 se presentan las estructuras moleculares y se describen las señales que presentan los espectros [14]. El levofloxacino tiene una estructura molecular con cuatro anillos en donde

Tabla 1. Estructuras moleculares y asignación de las señales de los espectros de transmitancia FTIR de los componentes de los apósitos: levofloxacin, PLA y PCL.

<p><b>Levofloxacin</b></p> 		
Grupo funcional o interacción interatómica	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Origen de la señal
-CH <sub>3</sub>	1450	C-H torsión
-COOH	3300-2500	O-H estiramiento
	1760	C=O estiramiento
	1720-1706	C=O estiramiento
	1440-1395	O-H tensión
C-N	1342-1266	C-N estiramiento
C=C	1650-1566	C=C estiramiento
C-F	1400-1000	C-F estiramiento
C-O	1300-1000	C-O estiramiento
C=O	1745	C=O estiramiento
C-H	2900	C-H estiramiento
<p><b>PLA</b></p> 		
Grupo funcional o interacción interatómica	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Origen de la señal
-CH <sub>3</sub>	1450	C-H tensión
Ester alifático	1750-1735	C=O estiramiento
	1300-1000	C-O estiramiento
C-H	2900	C-H estiramiento
<p><b>PCL</b></p> 		
Grupo funcional o interacción interatómica	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Origen de la señal
C=O	1750-1735	C=O estiramiento
C-O	1210-1100	C-O estiramiento
C-H	2900	C-H estiramiento

destaca la presencia de grupos  $-\text{CH}_3$ ,  $-\text{COOH}$ , y enlaces  $\text{C}-\text{N}$ ,  $\text{C}-\text{C}$ ,  $\text{C}=\text{C}$ ,  $\text{C}-\text{F}$ ,  $\text{C}-\text{O}$ ,  $\text{C}=\text{O}$  y  $\text{C}-\text{H}$ . Por su parte, en la estructura del PLA se encuentran señales del grupo metilo,  $\text{C}-\text{C}$  y señales correspondientes a ésteres alifáticos. La PCL tiene grupos carbonilo en su estructura, así como enlaces  $\text{C}-\text{C}$ ,  $\text{C}-\text{H}$  y  $\text{C}-\text{O}$ .

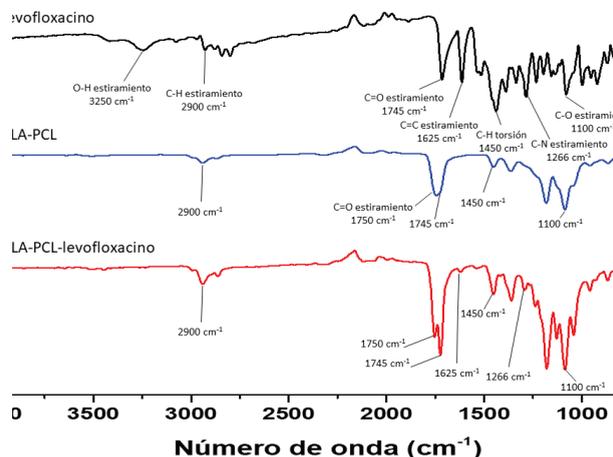


Figura 3. Espectros FTIR del fármaco y nanofibras de PLA-PCL con y sin carga.

En términos generales, se observa que las señales correspondientes a los espectros de los componentes del apósito: levofloxacin, PLA y PCL se conjuntan en el espectro del apósito adicionado con el fármaco. Las señales más importantes para dichos componentes son: para levofloxacin, el estiramiento  $\text{C}=\text{O}$  en  $1745 \text{ cm}^{-1}$  [15], el estiramiento  $\text{C}=\text{C}$  en  $1625 \text{ cm}^{-1}$  y el estiramiento  $\text{C}-\text{N}$  en  $1266 \text{ cm}^{-1}$ , mientras que para la mezcla polimérica PLA-PCL, la señal más característica es el estiramiento  $\text{C}=\text{O}$  en  $1750 \text{ cm}^{-1}$ . Dichas señales son evidencia de la presencia de los compuestos en el apósito final, no observándose corrimientos de las señales. El levofloxacin presenta una señal en  $3250 \text{ cm}^{-1}$ , correspondiente a estiramiento del enlace  $\text{O}-\text{H}$ , que no se presenta en el espectro del apósito. Esta señal pudo verse atenuada por la formación de puentes de hidrógeno entre el  $-\text{OH}$  del grupo ácido del levofloxacin y los grupos carbonilo presentes tanto en el PLA como en la PCL [16].

### 3.3. Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC)

En la Tabla 2 se muestran los datos térmicos correspondientes al apósito de PLA-PCL y PLA-PCL-levofloxacin. En el termograma del apósito sin

fármaco se pudieron observar dos picos endotérmicos a 57.9 y 150 °C, los cuales corresponden a los puntos de fusión del PCL y PLA respectivamente [17, 18]. Al incorporar el fármaco en el apósito de nanofibras, el punto de fusión del PCL se incrementó 3.8 °C, mientras que el valor para el PLA se mantuvo sin cambio. Este aumento en el punto de fusión del PCL es producto de las interacciones químicas entre el polímero y el fármaco, por lo que se requirió mayor energía para pasar de un estado sólido a uno líquido.

Tabla 2. Datos de térmicos de los apósitos de nanofibras hidrosolubles.

Apósito	$T_m^{\text{PCL}}$ (°C)	$T_m^{\text{PLA}}$ (°C)
PLA-PCL	57.90 ± 0.84	150.30 ± 0.51
PLA-PCL-levofloxacino	61.74 ± 1.10	150.19 ± 0.35

### 3.4. Cuantificación del fármaco

La cuantificación del fármaco contenido en los apósitos fue llevada a cabo mediante espectroscopia UV-Vis. Inicialmente se obtuvo el espectro de absorción del fármaco en ACN en un intervalo de 260 a 850 nm (Figura 4), a partir de este, se determinó la longitud de onda de máxima absorción, con un valor de 300 nm.

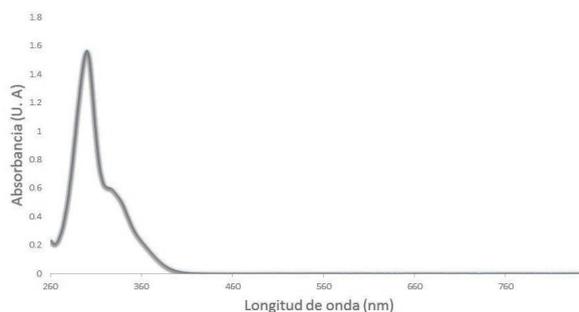


Figura 4. Espectro de absorción UV-Vis de levofloxacino en acetnitrilo (ACN) en un intervalo de longitud de onda de 260 a 850 nm.

Se obtuvo una curva de calibración de levofloxacino en ACN (Figura 5) en un intervalo de concentraciones de 2–63  $\mu\text{g}$  levofloxacino/mL ACN, con un total de seis puntos en la curva, con tres réplicas cada uno. La curva presentó un valor de

$R^2 = 0.9319$  con un ajuste lineal. Las concentraciones superiores a  $63 \mu\text{g/mL}$  no son cuantificables por esta técnica al obtenerse valores de absorción demasiado altos.

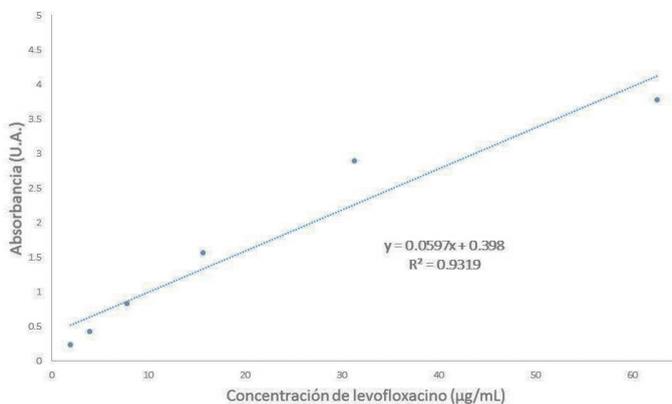


Figura 5. Curva de calibración de levofloxacino en acetonitrilo (ACN) obtenida a 300 nm.

La cantidad de fármaco contenido en el apósito fue calculada a partir de la curva de calibración, empleando muestras circulares del apósito, con diámetros de 1 cm. La cuantificación se realizó por triplicado. Se determinó que el 100 % del fármaco adicionado al apósito está presente en las muestras, por lo que para un apósito de  $10 \times 10$  cm, se espera tener  $25 \pm 3.75$  mg de levofloxacino, y para cada muestra circular de 1 cm de diámetro, se estima un contenido de  $196 \pm 29 \mu\text{g}$  de levofloxacino.

### 3.5. Prueba de liberación

La liberación del fármaco contenido en los apósitos, en condiciones fisiológicas, fue evaluada mediante espectroscopia UV-Vis. Para ello, inicialmente se obtuvo el espectro de absorción del fármaco en PBS en un intervalo de 260 a 850 nm (Figura 6), a partir de este, se determinó la longitud de onda de máxima absorción, con un valor de 287 nm.

Se obtuvo una curva de calibración de levofloxacino en PBS (Figura 7) en un intervalo de concentraciones de  $4\text{--}63 \mu\text{g}$  levofloxacino/mL PBS, con un total de cinco puntos en la curva, con tres réplicas cada uno. La curva presentó un valor de  $R^2 = 0.9346$  con un ajuste lineal. Las concentraciones superiores a  $63 \mu\text{g/mL}$  no son cuantificables por esta técnica al obtenerse valores de absorción demasiado altos.

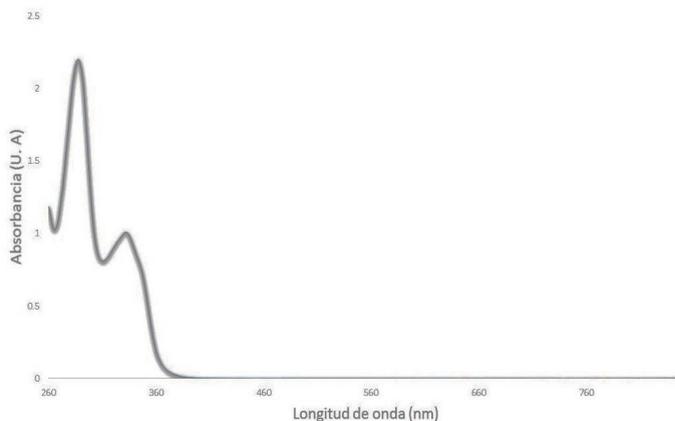


Figura 6. Espectro de absorción UV-Vis de levofloxacino en buffer de fosfatos salino (PBS) en un intervalo de longitud de onda de 260 a 850 nm.

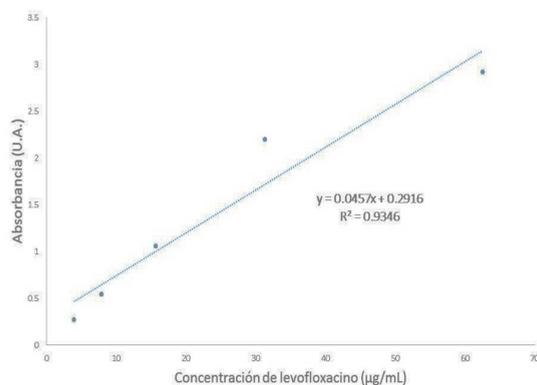


Figura 7. Curva de calibración de levofloxacino en buffer de fosfatos salino (PBS) obtenida a 287 nm.

La cantidad de fármaco liberado desde el apósito hacia el PBS fue calculada a partir de la curva de calibración, para ello se emplearon muestras circulares del apósito, con diámetros de 1 cm. Cada evaluación se realizó por triplicado. Se observaron porcentajes de liberación cercanos al 90 % del fármaco que contenían los apósitos desde las dos horas de incubación (Figura 8), dichos porcentajes no incrementaron con el tiempo de incubación, indicando que se alcanzó el equilibrio con el medio desde las dos horas. Lo cual indica que en condiciones fisiológicas de osmolaridad, pH y temperatura, dadas por el PBS y la temperatura

de incubación, el fármaco es capaz de abandonar la matriz polimérica y difundir en el medio fisiológico, lo que sugiere que el sistema desarrollado en este estudio tiene potencial aplicación como sistema de liberación del fármaco.

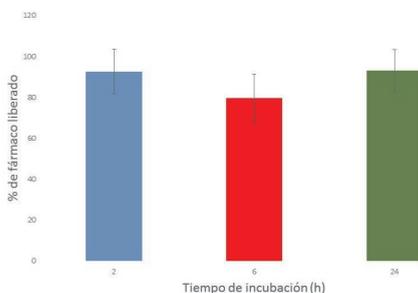


Figura 8. Porcentaje de fármaco liberado a partir del apósito en PBS pH 7.4 a 37 °C, después de 2, 6 y 24 h de incubación.

#### 4. Conclusiones

El apósito de PLA–PCL–levofloxacino está formado por nanofibras de diámetros cercanos a 800 nm, entrecruzadas, y sin formación de cuentas. Las señales de los espectros FTIR sugieren que en la formación del apósito no existen reacciones químicas entre los componentes, en cambio, pueden presentarse interacciones tipo puente de hidrógeno entre el grupo hidroxilo (–OH) del levofloxacino y los grupos carbonilo (C=O) presentes en los polímeros. El comportamiento térmico de los polímeros se mantuvo constante con y sin la adición del fármaco, sugiriendo que no se presentan cambios químicos en las estructuras de los mismos por la interacción de los componentes en el desarrollo de las nanofibras. El apósito obtenido tiene la capacidad de incorporar el 100 % del fármaco adicionado a la formulación y lo libera casi en su totalidad en medio líquido, el cual emula las condiciones fisiológicas (PBS) de osmolaridad, pH y temperatura. Se puede concluir que el apósito tiene potencial para su aplicación como una forma farmacéutica para la administración del fármaco vía transdérmica.

#### Agradecimientos

Aguilar–Méndez agradece el apoyo de la SIP–IPN, por el recurso económico otorgado a través del proyecto SIP 20210054. Gama–Castañeda agradece a COFAA–IPN y CONACYT por las becas otorgadas.

## Bibliografía

1. Rossolini, G. M., Arena, F., Pecile, P., & Pollini, S. (2014). Update on the antibiotic resistance crisis. *Current opinion in pharmacology*, 18, 56-60.  
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2014.09.006>
2. Yelin, I., & Kishony, R. (2018). Antibiotic resistance. *Cell*, 172(5), 1136-1136.  
<https://doi.org/10.1016/j.cell.2018.02.018>
3. Marston, H. D., Dixon, D. M., Knisely, J. M., Palmore, T. N., & Fauci, A. S. (2016). Antimicrobial resistance. *Jama*, 316(11), 1193-1204.  
<https://doi.org/10.1001/jama.2016.11764>
4. Torres-Martínez, E. J., Cornejo Bravo, J. M., Serrano Medina, A., Pérez González, G. L., & Villarreal Gómez, L. J. (2018). A summary of electrospun nanofibers as drug delivery system: Drugs loaded and biopolymers used as matrices. *Current drug delivery*, 15(10), 1360-1374.  
<https://doi.org/10.2174/1567201815666180723114326>
5. Chou, S. F., Carson, D., & Woodrow, K. A. (2015). Current strategies for sustaining drug release from electrospun nanofibers. *Journal of Controlled Release*, 220, 584-591.  
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.09.008>
6. Ambekar, R. S., & Kandasubramanian, B. (2019). Advancements in nanofibers for wound dressing: A review. *European Polymer Journal*, 117, 304-336.  
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.05.020>
7. Freier, T. (2006). Biopolyesters in tissue engineering applications. *Polymers for regenerative medicine*, 1-61.  
[https://doi.org/10.1007/12\\_073](https://doi.org/10.1007/12_073)
8. Ghafoor, B., Aleem, A., Ali, M. N., & Mir, M. (2018). Review of the fabrication techniques and applications of polymeric electrospun nanofibers for drug delivery systems. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 48, 82-87.  
<https://doi.org/10.1016/j.jddst.2018.09.005>
9. Gaspar Carreño, M., Torrico Martín, F., Novajarque Sala, L., Batista Cruz, M., Ribeiro Gonçalves, P., Porta Oltra, B., & Sánchez Santos, J. C. (2014). Medicamentos de Administración Parenteral: Recomendaciones de preparación, administración y estabilidad. *Farmacia Hospitalaria*, 38(6), 461-467.
10. Hulupi, M., & Haryadi, H. (2019). Synthesis and characterization of electrospinning PVA nanofiber-crosslinked by glutaraldehyde. *Materials Today: Proceedings*, 13, 199-204.  
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.03.214>

11. Ullah, S., Hashmi, M., Hussain, N., Ullah, A., Sarwar, M. N., Saito, Y. et al. (2020). Stabilized nanofibers of polyvinyl alcohol (PVA) crosslinked by unique method for efficient removal of heavy metal ions. *Journal of Water Process Engineering*, 33, 101111. <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.101111>
12. Saquing, C. D., Tang, C., Monian, B., Bonino, C. A., Manasco, J. L., Alsberg, E. et al. (2013). Alginate–polyethylene oxide blend nanofibers and the role of the carrier polymer in electrospinning. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52(26), 8692-8704. <https://doi.org/10.1021/ie302385b>
13. Zhang, C., Yuan, X., Wu, L., Han, Y., & Sheng, J. (2005). Study on morphology of electrospun poly (vinyl alcohol) mats. *European polymer journal*, 41(3), 423-432. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2004.10.027>
14. Merck, Technical Document, IR Spectrum Table & Chart, *IR Spectrum Table* (sigmaaldrich.com).
15. Kugel, A., Chisholm, B., Ebert, S., Jepperson, M., Jarabek, L., & Stafslie, S. (2010). Antimicrobial polysiloxane polymers and coatings containing pendant levofloxacin. *Polymer Chemistry*, 1(4), 442-452. <https://doi.org/10.1039/B9PY00309F>
16. Jalvandi, J., White, M., Gao, Y., Truong, Y. B., Padhye, R., & Kyratzis, I. L. (2017). Polyvinyl alcohol composite nanofibres containing conjugated levofloxacin-chitosan for controlled drug release. *Materials Science and Engineering: C*, 73, 440-446. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2016.12.112>
17. Day, M., Nawaby, A., & Liao, X. (2006). A DSC study of the crystallization behaviour of polylactic acid and its nanocomposites. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 86(3), 623-629. <https://doi.org/10.1007/s10973-006-7717-9>
18. Speranza, V., Sorrentino, A., De Santis, F., & Pantani, R. (2014). Characterization of the polycaprolactone melt crystallization: complementary optical microscopy, DSC, and AFM studies. *The Scientific World Journal*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/720157>

## SÍNTESIS DE GLICO-NANOPARTÍCULAS DE ORO PARA SU POTENCIAL EN EL SISTEMA NERVIOSO CENTRAL

---

**Guillermo Rocael Vázquez Martínez<sup>1</sup>,  
Marco Antonio Meraz-Ríos<sup>2</sup>,  
José Abraham Balderas-López<sup>1\*</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Departamento de Ciencias Básicas, Ciudad de México. CP 07340, México.

<sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional, Centro de Investigación y de Estudios Avanzados, Departamento de Biomedicina Molecular, Ciudad de México. CP 07360, México.

\*[abrahambalderas@hotmail.com](mailto:abrahambalderas@hotmail.com)

Vázquez Martínez, G. R., Meraz-Ríos, M. A., Balderas-López, J. A. (2021). Síntesis de glico-nanopartículas de oro para su potencial en el sistema nervioso central. En E. San Martín-Martínez (Ed.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III* (pp. 81-100). Barcelona, España: Omniascience.

## Resumen

La nanomedicina ha tenido un gran impacto en los últimos años, principalmente con el uso de las nanopartículas de oro (AuNPs) en el diagnóstico y tratamiento de enfermedades, para este fin, las AuNPs deben ser biocompatibles y de fácil biodistribución. La incorporación de recubrimientos post-síntesis a base de polímeros de carbohidratos de alto peso molecular ha sido una estrategia para alcanzar estas condiciones, sin embargo, hasta ahora su función se ha limitado a mejorar la biocompatibilidad y la biodistribución de la nanopartícula, ya que no se les reconoce algún efecto directo sobre los blancos terapéuticos asociados a padecimientos del sistema nervioso central (SNC), particularmente las enfermedades neurodegenerativas. En este trabajo se propone un método fácil y rápido para sintetizar nanopartículas de oro de 5-10 nm con recubrimiento de disacáridos reductores y no reductores, con la finalidad de incorporar las propiedades terapéuticas de los disacáridos a las nanopartículas.

**Palabras clave:** Neuronanomedicina, nanopartículas de oro, disacárido reductor/no reductor.

## 1. Introducción

Las nanopartículas de oro (AuNPs) son cada vez más relevantes en el diagnóstico y tratamiento de distintas enfermedades, por ejemplo, se investiga su potencial como biosensores para la detección de moléculas asociadas a enfermedades [1], así como para la identificación rápida de patógenos en el organismo [2]; por otro lado, también se han propuesto como agentes contrastantes en imagenología [3], así como potenciadores de las fototerapias [4] y acarreadores de fármacos [5].

El éxito de las AuNPs en estas áreas se debe principalmente a sus efectos en los sistemas biológicos, principalmente baja toxicidad [6] y poca inmunogenicidad [7], en comparación con otros tipos de nanopartículas que pueden provocar daños severos a nivel celular y tisular, y finalmente, por sus peculiares características ópticas y térmicas [8].

Una de las propiedades más relevantes de las AuNPs y que se ha explotado en los últimos años, es su capacidad multifuncional para enlazar moléculas de interés fisiológico, tales como anticuerpos, péptidos, aminoácidos, ácidos nucleicos, aptámeros, polímeros y moléculas pequeñas, lo cual ha permitido desarrollar una gran variedad de nanocomplejos con objetivos terapéuticos.

Al igual que los fármacos, las AuNPs también pueden ser administradas en el organismo por diferentes vías, incluyendo la vía oral, vía respiratoria, o bien, por inyección intravenosa. Su distribución/retención en el organismo se ha estudiado en modelos murinos y ha permitido determinar que, independientemente de la vía de administración y del tamaño de partícula, las AuNPs se concentran preferentemente en los órganos altamente irrigados: hígado, bazo, riñón y pulmón [9, 10, 11, 12]. Por el contrario, en el cerebro, a pesar de ser también un órgano altamente irrigado, la cantidad de AuNPs que ingresan es 50 veces más baja que en otros órganos, lo que indica que el tamaño de partícula representa una limitante para atravesar los mecanismos de protección de éste importante órgano, sobre todo para partículas de tamaños mayores a 10 nm. Es importante mencionar que en el caso del tejido cerebral la retención de AuNPs aumenta cuando son administradas por vía respiratoria, en comparación con otras vías de administración [13].

La barrera hematoencefálica (BHE) es una estructura compleja que regula selectivamente el tráfico de moléculas (oxígeno, glucosa, aminoácidos y otros nutrientes esenciales) desde la red capilar hacia el parénquima cerebral. En general, atravesar esta barrera es uno de los principales retos en el diseño de

neurofármacos, y así mismo, para los nanoacarreadores que transportan moléculas terapéuticas hasta las células cerebrales. En el caso de las AuNPs, el uso de recubrimientos o “cappings” (en inglés) ha mejorado esta condición aumentando la cantidad de nanopartículas que llegan a las células cerebrales en comparación con las que no los tienen [14]. Se han reportado diferentes recubrimientos ayudadores de naturaleza proteica, como el glutatión [15], la insulina [16], la transferrina [17], la caseína [18] y algunos anticuerpos [19]; otros de naturaleza lipídica, como la lecitina [20], el ácido dihidrolipoico [21] y los exosomas reducidos por extrusión [22]. Por otro lado, los recubrimientos de naturaleza polimérica también se han empleado con la misma finalidad, como, por ejemplo, el polietilenglicol [23] y el ácido poli(láctico-co-glicólico) o PLGA por sus siglas en inglés [24], siendo este último el único polímero sintético aprobado por la FDA para la liberación de fármacos en sistemas biológicos. No obstante, existen polímeros naturales como los polímeros de carbohidratos, que también han presentado un efecto similar en las AuNPs, tales como el alginato [25], el ácido hialurónico [26] y el quitosano [27]. Sin embargo, a pesar de que los polímeros de carbohidratos tienen un gran potencial para ayudar a las AuNPs a atravesar la BHE, hasta ahora su función se ha limitado a mejorar la biocompatibilidad y biodistribución de la nanopartícula, ya que hasta el momento no se ha reportado algún efecto directo sobre los blancos terapéuticos asociados a las enfermedades neurodegenerativas, por ello, ha sido necesario enlazar químicamente o adsorber el neurofármaco o la molécula terapéutica en la superficie de las AuNPs recubiertas.

Al igual que los polímeros de carbohidratos, los recubrimientos con monosacáridos también han mejorado la captación de nanopartículas a través de la BHE, esto se ha evaluado en modelos *in vitro* con células endoteliales, utilizando recubrimientos de glucosa [28], galactosa [29] y manosa [30]. Resultados similares se han encontrado en modelos murinos *in vivo*, en donde las nanopartículas que atraviesan con mayor facilidad la BHE se encuentran recubiertas con el monosacárido glucosa [31, 32, 33]. Sin embargo, los monosacáridos no únicamente juegan un papel importante en el transporte de las AuNPs a través de la BHE, sino que también parecen tener un efecto en algunos blancos terapéuticos de las enfermedades neurodegenerativas, por ejemplo, en pruebas *in vitro*, se ha encontrado que la glucosa inhibe la formación de fibras del péptido  $\beta$  amiloide, sin embargo, el efecto es más evidente cuando se utiliza en forma de nanopartículas [34].

Recientemente se ha descrito que no únicamente los monosacáridos tienen un efecto importante en las enfermedades neurodegenerativas, sino también

los disacáridos. En modelos *in vitro* de la enfermedad de Alzheimer, por ejemplo, se ha demostrado que nanopartículas de los disacáridos trehalosa, sacarosa y maltosa inhiben la formación de fibras de beta amiloide, incluso con un efecto mayor que los monosacáridos [34]. De estos disacáridos, el más explorado ha sido la trehalosa, debido a que los estudios *in vitro* e *in vivo* demuestran que tiene un efecto en el procesamiento de la proteína precursora de amiloide (APP) [35], además de que también se ha sugerido que actúa como neuroprotector en modelos de enfermedades como Parkinson y Huntington [36, 37, 38]. Por otro lado, también se ha reportado que el disacárido lactulosa, inhibe la agregación de la proteína  $\alpha$ -sinucleína, una proteína relacionada con la enfermedad de Parkinson y la demencia difusa de cuerpos de Lewis, lo cual reduce el estrés oxidativo y la neurotoxicidad provocada por su acumulación [39, 40]. Por lo tanto, los disacáridos desempeñan una actividad biológica importante en las enfermedades neurodegenerativas que aún no ha sido explorada por completo, por lo que desarrollar métodos de síntesis que permitan obtener AuNPs con recubrimientos de disacáridos es el punto de partida para encontrar nuevos agentes terapéuticos en el campo de las neurociencias.

Existen diversas estrategias para obtener AuNPs con recubrimiento de carbohidratos o también llamadas Glico-AuNPs (GAuNPs), la más utilizada se basa en la propiedad del oro de formar enlaces estables con moléculas que contienen azufre (tioles o disulfuros) [41]. En el caso de moléculas con grupos tiol, es común utilizar la funcionalización por intercambio de ligando o *ligand exchange* (en inglés), en la cual, la molécula estabilizadora que recubre a las AuNPs es sustituida por otra que posee, en su estructura, al menos un grupo sulfhidrilo (-SH), como es el caso de los azúcares tiolados. En este sentido, la síntesis de las AuNPs con recubrimiento de disacáridos tiolados se ha reportado principalmente con lactosa, en el cual, el grupo hidroxilo anomérico de este azúcar es reemplazado, ya sea por una cadena hidrocarbonada tiolada en el extremo terminal [42]; o bien, por una molécula de hidrazida tiolada [43], para este último ejemplo, además de lactosa también se ha utilizado el disacárido maltosa. En el caso de las moléculas con puentes disulfuro, específicamente con disacáridos, únicamente se ha reportado la síntesis de AuNPs con recubrimiento de trehalosa, para lo cual, una molécula de ácido lipoico (-S-S-) se enlaza al carbono 6' de la trehalosa, y se añade directamente en la reacción antes de iniciar la reducción de la sal de oro ( $\text{HAuCl}_4$ ), por acción del ácido ascórbico [44]. Esta estrategia ha funcionado en cuanto a estabilidad y homogeneidad de

tamaños de partícula; sin embargo, además de que es complicado realizar químicamente la modificación de los disacáridos previamente a la síntesis, no es posible utilizarlas con fines terapéuticos debido a la toxicidad de los reactivos que se utilizan para obtenerlas, tales como la N-lauroilsarcosina, el eterato de trifluoruro de boro, el bromoetanol, el diclorometano, el tiocetato de potasio, la dimetilformamida y el metóxido de sodio.

Por otro lado, existe una estrategia más amigable que se fundamenta en el uso del fosfo-trimero de alanina THPAL ( $\text{P}(\text{CH}_2\text{-NHCH}(\text{CH}_3)\text{COOH})_3$ ) para reducir directamente la sal de oro ( $\text{HAuCl}_4$ ) sin realizar modificaciones en el disacárido, que para este caso se utilizaron lactosa, maltosa y sacarosa; sin embargo, los tamaños de partícula que se obtienen no son homogéneos (3-60 nm), además de que en el estudio no se confirmó la presencia del carbohidrato en las AuNPs [45].

Hasta el momento, no existe un método de síntesis de AuNPs con disacáridos que genere nanopartículas con las características necesarias para su potencial uso terapéutico en las enfermedades neurodegenerativas, por lo cual, este trabajo se orientó a obtener nanopartículas físicamente estables, de tamaño homogéneo y óptimo para atravesar la BHE ( $\leq 10$  nm), sin la modificación de los disacáridos, y sin el uso de intermediarios tóxicos.

## 2. Materiales y métodos

La experimentación se dividió en dos secciones: a) síntesis de las nanopartículas de oro y b) caracterización de las nanopartículas.

### 2.1. Síntesis de las AuNPs

La síntesis de AuNPs recubiertas disacáridos, de tamaños de partícula de 2-10 nm, se llevó a cabo a partir de modificaciones de los métodos de Corzo-Lucioni (2012) y Liu y colaboradores (2006), que originalmente fueron diseñados para obtener AuNPs recubiertas con el monosacárido glucosa. A grandes rasgos estas metodologías involucran lo siguiente:

Método de Corzo-Lucioni (2012) 20 mL de una solución 0.25 mM de  $\text{HAuCl}_4$  se calienta hasta alcanzar una temperatura de 100 °C, tan pronto como la solución alcanza la temperatura establecida se adiciona 1 mL de una solución de glucosa 17 mM (pH 10, NaOH). La solución se mantiene en ebullición y agitación

vigorosa durante 20 min y finalmente se deja enfriar a temperatura ambiente con agitación lenta durante 40 min [46].

Método de Liu y colaboradores (2006). 50 mL de una solución de glucosa 50 mM se mezcla con 200  $\mu$ L de  $\text{HAuCl}_4$  50 mM para obtener una concentración final de la sal de oro de 0.2 mM, después de 15 min en agitación, la solución resultante se hace reaccionar con 600  $\mu$ L de una solución de borohidruro de sodio ( $\text{NaBH}_4$ ) 50 mM [47]. En este trabajo la glucosa fue reemplazada por los disacáridos trehalosa y lactosa. La trehalosa se usó como ejemplo de homodímero no reductor ( $\alpha$  Glu-Glu, 1 $\rightarrow$ 1) y la lactosa como heterodímero no reductor (Gal-Glu,  $\beta$ 1 $\rightarrow$ 4). Aunque los antecedentes muestran al disacárido lactulosa (Galactosa-Fructosa) con funciones biológicas en las enfermedades neurodegenerativas, se decidió utilizar lactosa en lugar de éste, debido a que su estructura molecular es muy similar y además contiene galactosa. Finalmente, como controles se utilizaron nanopartículas de oro “desnudas” (control negativo) y con glucosa (control positivo), que fueron sintetizadas bajo las mismas condiciones que las AuNPs con los disacáridos. Para fines prácticos, primero se estableció la síntesis de las nanopartículas de oro con el disacárido lactosa, y una vez obtenidas, se aplicaron las mismas condiciones de síntesis a la trehalosa y a los controles, tal como se muestra en la Tabla 1.

## 2.2. Caracterización de las AuNPs

La caracterización de las AuNPs se llevó a cabo empleando Microscopía de Transmisión de Electrones (TEM), para determinar el tamaño y la forma de partícula. Espectroscopía UV, para verificar preliminarmente la presencia del disacárido en la nanopartícula de oro, y finalmente se utilizó el método fenol-sulfúrico para confirmar el recubrimiento de carbohidrato [48].

### 2.2.1. Microscopía de Transmisión de Electrones

Se colocaron 20  $\mu$ l de cada muestra en rejillas de cobre de 200 mallas, recubiertas previamente con una membrana de Formvar, se dejó reposar durante 1 min y se retiró el exceso de líquido con papel filtro para su visualización en el Microscopio electrónico (Jeol Mod. JEM 1010). Para determinar el tamaño de partícula se analizaron las imágenes obtenidas con ayuda de la herramienta informática ImageJ [49], para ello se analizaron campos ópticos conteniendo más de 100 nanopartículas, y finalmente los datos se graficaron en un histograma (tamaño vs. frecuencia).

### 2.2.2. Espectroscopía UV-Visible

Se colocaron 3 mL de cada muestra en celdas de cuarzo utilizando agua Mili-Q, como blanco, para la calibración del equipo. Se obtuvieron absorbancias en el rango de 400-600 nm utilizando, para ello, un equipo Perkin Elmer (Lambda 25 UV VIS spectrometer).

### 2.2.3. Detección de carbohidratos por el método Fenol-Cloroformo

Previo a la determinación de carbohidratos, los nanocomplejos carbohidrato-AuNPs se purificaron para remover el carbohidrato libre que no se integró a las nanopartículas, además de eliminar la sal de oro y el exceso del agente reductor. Para ello, se utilizó el método de diálisis con el kit D-Tube™ Dializer Mega, el cual contiene una membrana que permite separar solutos con un peso molecular límite (MWCO por sus siglas en inglés) de 6-8 KDa. Para ello, 15 mL de nanopartículas se colocaron en el tubo Dializer Mega y éste se sumergió en

Tabla 1. Condiciones de síntesis de las AuNPs

Método	H <sub>2</sub> AuCl <sub>4</sub> (mM)	mL	Azúcar (mM)		mL	NaBH <sub>4</sub> (M)	NaBH <sub>4</sub> Final (mM)
Corzo-Lucioni, 2012 (Método 1)	0.25	20	Glucosa	17	1	---	---
Liu et al., 2006 (Método 2)	50	0.2*	Glucosa	50	50	0.050	0.6
Método 1 con modificaciones	0.25	20	Lactosa	17	1	---	---
	0.25	20	Lactosa	25-200	1	---	---
	0.25	20	Trehalosa	200	1	---	---
Método 2 con modificaciones	10	1	Lactosa	50	50	1 <sup>†</sup>	0.6
						4.2	
						13.2	
	10	1	Trehalosa	50	50	1	13.2
+ 10	1	Glucosa	50	50	1	13.2	
- 10	1	---	---	50	1	13.2	

\*En el caso del método 2, la concentración final de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> fue 0.2 mM por esa razón se utilizó una alícuota de 1 mL de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> 10 mM para lograr la concentración final original. † Se utilizaron diferentes alícuotas de NaBH<sub>4</sub> 1M, pero cada alícuota fue ajustada a 0.66 mL antes de agregarla en la reacción.

un vaso de precipitado de 1L con agua destilada en agitación y a temperatura ambiente; después de 24 h se reemplazó el agua y se repitió el proceso una vez más (tiempo total: 48 h).

Para el método fenol-sulfúrico se siguieron las modificaciones propuestas por Masuko y colaboradores (2005), estas involucran el establecimiento de las condiciones precisas para cuantificar carbohidratos en placas para ELISA de 96 pozos. Para ello, se colocaron 50  $\mu\text{L}$  de los nanocomplejos carbohidrato-AuNPs en cada pozo, se añadieron 150  $\mu\text{L}$  de  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (96 %), gota a gota para evitar contaminación de pozos, después, la placa se colocó en un agitador durante 30 min y posteriormente se adicionaron 30  $\mu\text{L}$  de una solución de fenol al 5 %, para finalmente ser incubada a 90 °C, en baño maría durante 5 min. Las mediciones de absorbancia se llevaron a cabo a una longitud de onda de 490 nm.

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. Caracterización de los coloides obtenidos por el método de Corzo-Lucioni

Los coloides mostraron una coloración rojiza, característica de la formación de AuNPs (Figura 1a). La turbidez de los productos de las reacciones fue aumentando a medida que se incrementó la concentración del disacárido, pero después de 1 hora de agitación, todas las soluciones se volvieron transparentes y con sedimentos (Figura 1b, 1c), con excepción de las reacciones en donde se utilizó lactosa 200 mM (Figura 1d) y un tiempo de agitación de 15 min; en estas últimas, se obtuvieron soluciones coloidales que se mantuvieron estables sólo durante una semana. Resultados completamente opuestos, se obtuvieron cuando se involucró

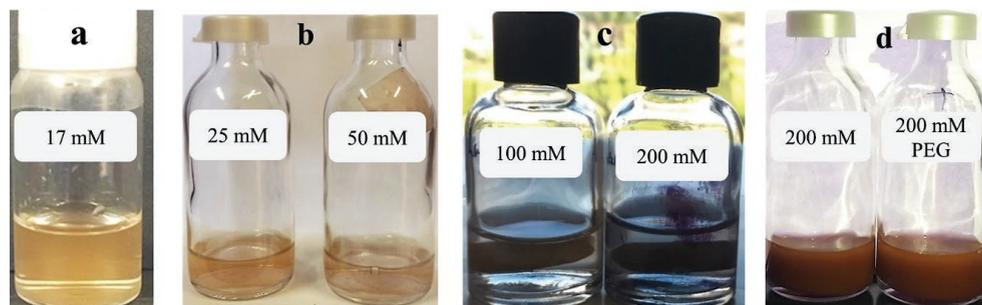


Figura 1. Coloides obtenidos utilizando el método de Corzo-Lucioni con modificaciones. Coloides obtenidos con diferentes concentraciones de lactosa (a-d) y recubiertas o con polietilenglicol (PEG) (d).

el disacárido trehalosa ya que no se observaron cambios de coloración, ni sedimentos, lo que indica que la síntesis de los nano-complejos no se llevó a cabo. Esto podría estar relacionado con la naturaleza no reductora de este carbohidrato, ya que la estructura molecular de la trehalosa carece de un carbono anomérico libre, debido a su enlace O-glucosídico  $\alpha(1\rightarrow1)\alpha$ .

En el análisis por espectroscopía UV-visible, los coloides de lactosa presentaron bordes de absorción máxima entre 550-575 nm, lo que confirma la formación de AuNPs (Figura 2). Los bordes de absorción máxima aumentaron conforme se incrementó la concentración de lactosa, siendo 200 mM la concentración con el pico de absorción más alto, y, por lo tanto, la más adecuada para obtener los nanocomplejos (Figura 2a). Por otro lado, el tiempo de agitación fue un factor que influyó en la síntesis, ya que las reacciones con un tiempo de agitación de 15 min dieron por resultado productos con bordes de absorción más altos que las correspondientes a tiempos de agitación de 60 min, lo cual sugiere que las AuNPs se agregan con la agitación prolongada (Figura 2b). Finalmente, ya que las AuNPs se agregaron después de una semana, se probó la adición de polietilenglicol (PEG-SH) como recubrimiento secundario para evitar este fenómeno; sin embargo, a pesar de que el espectro UV-Visible mostró que el recubrimiento sí se integró a las AuNPs, no fue posible evitar su agregación más allá de una semana. Debido a su baja estabilidad, estas nanopartículas no fueron incluidas en los estudios posteriores.

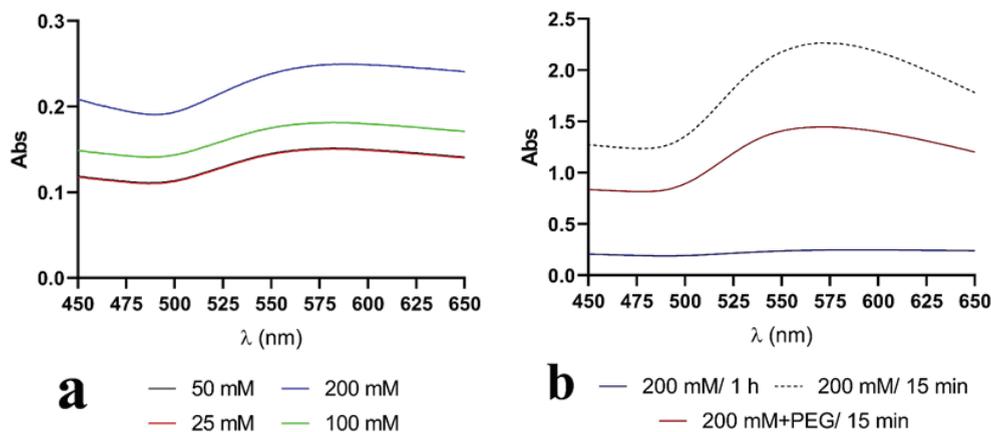


Figura 2. Espectros UV-visible de los coloides obtenidos utilizando el método de Corzo-Lucioni con modificaciones. Usando concentraciones de lactosa 50-200 mM (a) y diferentes tiempos de agitación 15 min-1h (b).

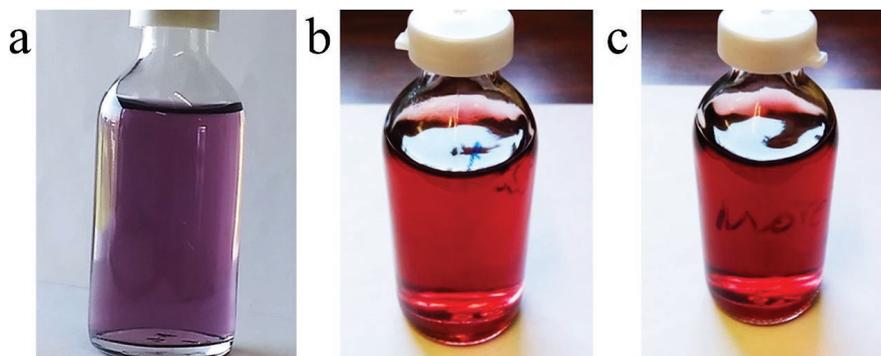


Figure 3. Coloides obtenidos a partir del método 2 utilizando diferentes concentraciones de agente reductor:  $\text{NaBH}_4$  0.6 mM (a), 4.14 mM (b) and 12.54 mM (c).

### 3.2. Caracterización de los coloides obtenidos por el método de Liu y colaboradores

En este caso, todas las reacciones dieron como resultado coloides homogéneos con lactosa (sin sedimentos) y presentaron una coloración rojo-violeta, con excepción de la reacción en la cual se utilizó  $\text{NaBH}_4$  0.6 mM (Figura 3). Por otro lado, el análisis por Microscopía de Transmisión de Electrones mostró que las nanopartículas tienen forma esférica y tamaños de partícula entre 6 y 9 nm (Figuras 4a y 4b). En este caso, el tamaño de partícula se vio influenciado por la concentración de  $\text{NaBH}_4$ , ya que se obtuvieron nanopartículas de  $6.9 \pm 1.14$  nm al utilizar el agente reductor a 4.2 mM, mientras que al aumentar la concentración a 13.2 mM se obtuvieron nanocomplejos de  $9.8 \pm 1.44$  nm (Figura 4c); para el caso del coloide sintetizado con el agente reductor a 0.6 mM, no fue posible conocer la distribución de los tamaños de las partículas, debido a la presencia de agregados en la muestra. Además, se determinó que la concentración más alta de agente reductor (13.2 mM), da como resultado nanocomplejos homogéneos y sin agregados, a diferencia de los sintetizados con  $\text{NaBH}_4$  4.2 mM, en los cuales, a pesar de tener también tamaños homogéneos, se observó una ligera agregación (Figura 3a y 3b).

### 3.3. Nanocomplejos AuNPs-trehalosa y controles

Las condiciones óptimas de síntesis descritas con anterioridad (AuNPs con lactosa), también se aplicaron para AuNPs con trehalosa, y para los controles positivo y negativo. Se obtuvieron coloides con tonalidades rojizas, homogéneas

y sin agregados (Figura 5a). Los espectros UV-Visible de los productos de síntesis con lactosa, trehalosa y glucosa (control positivo) presentaron bordes de absorción diferentes al control negativo (AuNPs sin carbohidratos), lo que indicó que el carbohidrato ejerce un cambio óptico sobre las AuNPs desnudas (Figura 5b). En el caso del control positivo, el espectro de absorción muestra que, a pesar de modificar las condiciones reductoras citadas por el autor, las modificaciones también permiten obtener AuNPs con recubrimientos de glucosa y muy importante de disacáridos (absorción máxima entre 480-525 nm).

### 3.4. Detección de carbohidrato en las AuNPs

Con la finalidad de compensar la absorción óptica de las nanopartículas de oro “desnudas” (control negativo) en la longitud de onda seleccionada (490 nm), las absorbancias del control negativo se restaron a los valores obtenidos con los complejos AuNPs-carbohidratos (Figura 6). Los resultados muestran que los coloides analizados contienen carbohidratos, y debido a la exhaustiva purificación

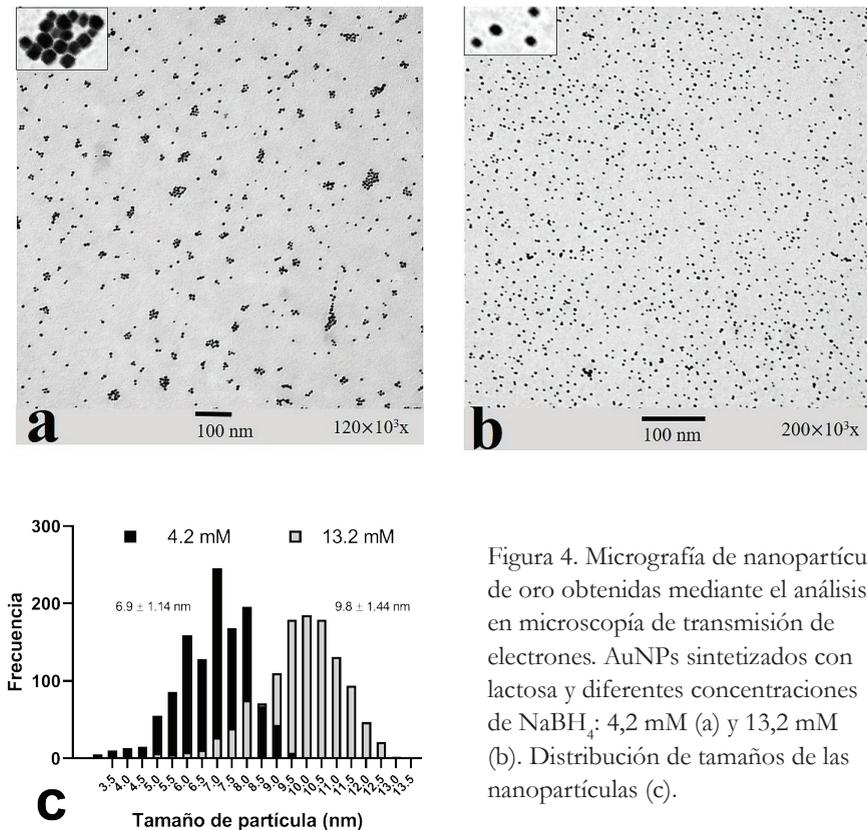


Figura 4. Micrografía de nanopartículas de oro obtenidas mediante el análisis en microscopía de transmisión de electrones. AuNPs sintetizados con lactosa y diferentes concentraciones de  $\text{NaBH}_4$ : 4,2 mM (a) y 13,2 mM (b). Distribución de tamaños de las nanopartículas (c).

con el método de diálisis, es muy probable que estos carbohidratos se encuentren unidos en la superficie de las nanopartículas. Por otro lado, los complejos AuNPs-carbohidrato de naturaleza reductora (glucosa y lactosa) presentaron mayor cantidad de carbohidrato con respecto al no reductor (trehalosa), esto podría indicar que las moléculas de trehalosa necesitan un estímulo mayor para unirse a la nanopartícula. En otras palabras, si todas las moléculas de trehalosa se hubiesen unido a la nanopartícula, después de la hidrólisis ácida con  $H_2SO_4$ , se deberían obtener dos moléculas de glucosa por cada molécula de trehalosa; sin embargo, los valores de absorción óptica son mucho menores que los valores obtenidos con las AuNPs con glucosa. Nuestros resultados son muy similares a los obtenidos por Mandal et al. (2017) con relación al tratamiento que involucra un recubrimiento de trehalosa sin ácido lipoico (-S-S-); sin embargo, sus nanopartículas se precipitaron después de 3 días y las nuestras, en cambio, nunca perdieron su estabilidad, incluso después de 6 meses, esto podría deberse al agente reductor utilizado, ya que en este trabajo se utilizó  $NaBH_4$  en lugar de ácido ascórbico.

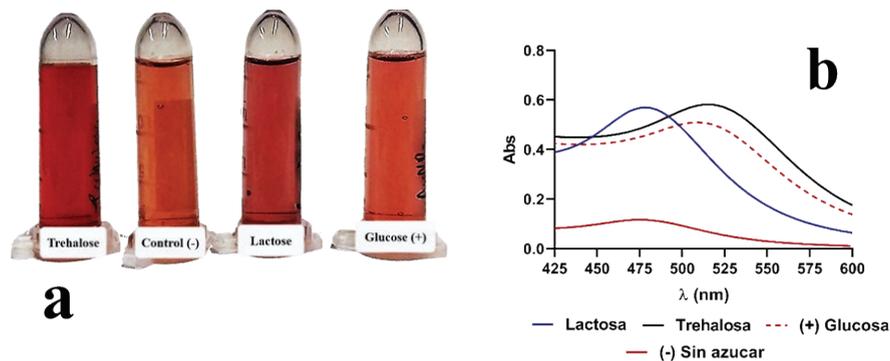


Figura 5. Coloides obtenidos utilizando el método 2 con modificaciones usando diferentes recubrimientos de azúcares (a) y los espectros UV-visible de cada muestra (b).

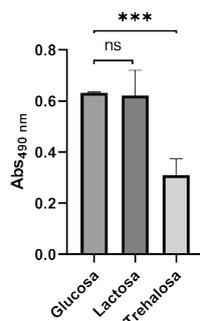


Figura 6. Detección de azúcares en la superficie de las AuNPs usando el método fenol-sulfúrico con las modificaciones de Masuko y colaboradores.

## 4. Conclusiones

Se establecieron las condiciones generales para obtener nanopartículas de oro estables, utilizando como recubrimiento disacáridos reductores y no reductores, sin la necesidad de realizar modificaciones complejas en los azúcares con tioles o disulfuros, tampoco añadiendo recubrimientos secundarios o la adición de otros agentes reductores o estabilizantes. El método también es lo suficientemente flexible para manipular el tamaño de partícula desde 6 hasta 9 nm, únicamente cambiando la concentración del agente reductor, pero es necesario mantener la correlación entre la concentración de  $\text{NaBH}_4$  y el tamaño de partícula. Las características de las GAuNPs obtenidas, de acuerdo con la literatura, podrían presentar una función dual en los sistemas *in vivo*: transportar neurofármacos a través de la barrera hematoencefálica, y por otro lado, tener un efecto directo en los blancos terapéuticos asociados a las enfermedades neurodegenerativas como la enfermedad de Alzheimer y de Parkinson. Sin embargo, aún faltan más pruebas para comprobar esta función dual.

## Agradecimientos

Agradecemos al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por la beca otorgada durante el doctorado, así como a la Secretaría de Investigación y Posgrado (SIP) y a COFAA del Instituto Politécnico Nacional por los apoyos de beca BEIFI y asistencia a congresos. También agradecemos al grupo de técnicas fototérmicas de la Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología (UPIBI-IPN) y al grupo de Enfermedad de Alzheimer del Centro de Investigación y de Estudios Avanzados (CINVESTAV-IPN) por la asistencia académica y el apoyo experimental. Agradecemos también a la Central de Instrumentación de Microscopía de la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas (ENCB-IPN) por su asistencia en el análisis de coloides mediante Microscopía Electrónica de Transmisión. Finalmente agradecemos a F. Vazcar y F. Vaznez por su apoyo y sugerencias.

## Bibliografía

1. Mirsalari, M., & Elhami, S. (2020). Colorimetric detection of insulin in human serum using GO/AuNPs/TX-100 nanocomposite. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy* 240, 118617.  
<https://doi.org/10.1016/j.saa.2020.118617>
2. Negahdari, B., Darvishi, M., & Saeedi, A. A. (2019). Gold nanoparticles and hepatitis B virus. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 455-461.  
<https://doi.org/10.1080/21691401.2018.1553786>
3. Gupta, A., Mathur, R., Singh, S., Bag, N., Khan, U. A., Ahmad, F. J. et al. (2021). 99mTc-Methionine Gold Nanoparticles as a Promising Biomaterial for Enhanced Tumor Imaging. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 110(2), 888-897.  
<https://doi.org/10.1016/j.xphs.2020.11.008>
4. Fan, M., Han, Y., Gao, S., Yan, H., Cao, L., Li, Z. et al. (2020). Ultrasmall gold nanoparticles in cancer diagnosis and therapy. *Theranostics*, 10(11), 4944-4957.  
<https://doi.org/10.7150/thno.42471>
5. El-Hallal, R., Lyu, N., & Wang, Y. (2021). Effect of Cetuximab-Conjugated Gold Nanoparticles on the Cytotoxicity and Phenotypic Evolution of Colorectal Cancer Cells. *Molecules*, 26(3), 567.  
<https://doi.org/10.3390/molecules26030567>
6. Gerosa, C., Crisponi, G., Nurchi, V. M., Saba, L., Cappai, R., Cau, F. et al. (2020). Gold Nanoparticles: A New Golden Era in Oncology? *Pharmaceuticals*, 13(8), 192.  
<https://doi.org/10.3390/ph13080192>
7. Ni, C., Zhou, J., Kong, N., Bian, T., Zhang, Y., Huang, X. et al. (2019). Gold nanoparticles modulate the crosstalk between macrophages and periodontal ligament cells for periodontitis treatment. *Biomaterials*, 206, 115-132.  
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2019.03.039>
8. Depciuch, J., Stec, M., Kandler, M., Baran, J., & Parlinska-Wojtan, M. (2020). From spherical to bone-shaped gold nanoparticles—Time factor in the formation of Au NPs, their optical and photothermal properties. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 30, 101670.  
<https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2020.101670>
9. Balasubramanian, S. K., Jittiwat, J., Manikandan, J., Ong, C.-N., Yu, L. E., & Ong, W.-Y. (2010). Biodistribution of gold nanoparticles and gene expression changes in the liver and spleen after intravenous administration in rats. *Biomaterials*, 31(8), 2034-2042.  
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2009.11.079>

10. Betzer, O., Shilo, M., OPOCHINSKY, R., Barnoy, E., Motiei, M., Okun, E. et al. (2017). The effect of nanoparticle size on the ability to cross the blood-brain barrier: An in vivo study. *Nanomedicine*, 12(13), 1533-1546.  
<https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0022>
11. Hirn, S., Semmler-Behnke, M., Schleh, C., Wenk, A., Lipka, J., Schäffler, M. et al. (2011). Particle size-dependent and surface charge-dependent biodistribution of gold nanoparticles after intravenous administration. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 77(3), 407-416.  
<https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2010.12.029>
12. Iram, F., Iqbal, M. S., Khan, I. U., Rasheed, R., Khalid, A., Khalid, M. et al. (2020). Synthesis and Biodistribution Study of Biocompatible <sup>198</sup>Au Nanoparticles by use of Arabinoxylan as Reducing and Stabilizing Agent. *Biological Trace Element Research*, 193(1), 282-293.  
<https://doi.org/10.1007/s12011-019-01700-y>
13. Han, S. G., Lee, J. S., Ahn, K., Kim, Y. S., Kim, J. K., Lee, J. H. et al. (2015). Size-dependent clearance of gold nanoparticles from lungs of Sprague–Dawley rats after short-term inhalation exposure. *Archives of Toxicology*, 89(7), 1083-1094.  
<https://doi.org/10.1007/s00204-014-1292-9>
14. Mahmoud, N. N., Albasha, A., Hikmat, S., Hamadneh, L., Zaza, R., Shraideh, Z. et al. (2020). Nanoparticle size and chemical modification play a crucial role in the interaction of nano gold with the brain: extent of accumulation and toxicity. *Biomaterials Science*, 8(6), 1669-1682.  
<https://doi.org/10.1039/C9BM02072A>
15. Porkoláb, G., Mészáros, M., Tóth, A., Szecskó, A., Harazin, A., Szegletes, Z. et al. (2020). Combination of Alanine and Glutathione as Targeting Ligands of Nanoparticles Enhances Cargo Delivery into the Cells of the Neurovascular Unit. *Pharmaceutics*, 12(7), 635.  
<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics12070635>
16. Betzer, O., Shilo, M., OPOCHINSKY, R., Barnoy, E., Motiei, M., Okun, E. et al. (2017). The effect of nanoparticle size on the ability to cross the blood-brain barrier: An in vivo study. *Nanomedicine*, 12(13), 1533-1546.  
<https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0022>
17. Praça, C., Rai, A., Santos, T., Cristovão, A. C., Pinho, S. L., Cecchelli, R. et al. (2018). A nanoformulation for the preferential accumulation in adult neurogenic niches. *Journal of Controlled Release*, 284, 57-72.  
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2018.06.013>
18. Javed, I., Peng, G., Xing, Y., Yu, T., Zhao, M., Kakinen, A. et al. (2019). Inhibition of amyloid beta toxicity in zebrafish with a chaperone-gold nanoparticle dual strategy. *Nature Communications*, 10(1).  
<https://doi.org/10.1038/s41467-019-11762-0>

19. Johnsen, K. B., Bak, M., Melander, F., Thomsen, M. S., Burkhart, A., Kempen, P. J. et al. (2019). Modulating the antibody density changes the uptake and transport at the blood-brain barrier of both transferrin receptor-targeted gold nanoparticles and liposomal cargo. *Journal of Controlled Release*, 295, 237-249.  
<https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2019.01.005>
20. Wünsch, A., Mulac, D., & Langer, K. (2021). Lecithin coating as universal stabilization and functionalization strategy for nanosized drug carriers to overcome the blood–brain barrier. *International Journal of Pharmaceutics*, 593, 120146.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2020.120146>
21. Xiao, L., Wei, F., Zhou, Y., Anderson, G. J., Frazer, D. M., Lim, Y. C. et al. (2020). Dihydrolipoic Acid–Gold Nanoclusters Regulate Microglial Polarization and Have the Potential To Alter Neurogenesis. *Nano Letters*, 20(1), 478-495.  
<https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.9b04216>
22. Khongkow, M., Yata, T., Boonrungsiman, S., Ruktanonchai, U. R., Graham, D., & Namdee, K. (2019). Surface modification of gold nanoparticles with neuron-targeted exosome for enhanced blood–brain barrier penetration. *Scientific Reports*, 9(1), 1-9.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-44569-6>
23. Norouzi, M. (2020). Gold Nanoparticles in Glioma Theranostics. *Pharmacological Research*, 156, 104753.  
<https://doi.org/10.1016/j.phrs.2020.104753>
24. Yi, S., Yang, F., Jie, C., & Zhang, G. (2019). A novel strategy to the formulation of carmustine and bioactive nanoparticles co-loaded PLGA biocomposite spheres for targeting drug delivery to glioma treatment and nursing care. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 3438-3447.  
<https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1652628>
25. Dey, S., Sherly, M. C. D., Rekha, M. R., & Sreenivasan, K. (2016). Alginate stabilized gold nanoparticle as multidrug carrier: Evaluation of cellular interactions and hemolytic potential. *Carbohydrate Polymers*, 136(9), 71-80.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.09.016>
26. Karakocak, B. B., Liang, J., Biswas, P., & Ravi, N. (2018). Hyaluronate coating enhances the delivery and biocompatibility of gold nanoparticles. *Carbohydrate Polymers*, 186(1), 243-251.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2018.01.046>
27. Seyedebrahimi, R., Razavi, S., & Varshosaz, J. (2020). Controlled Delivery of Brain Derived Neurotrophic Factor and Gold-Nanoparticles from Chitosan/TPP Nanoparticles for Tissue Engineering Applications. *Journal of Cluster Science*, 31(1), 99-108.  
<https://doi.org/10.1007/s10876-019-01621-9>

28. Gromnicova, R., Davies, H. A., Sreekanthreddy, P., Romero, I. A., Lund, T., Roitt, I. M. et al. (2013). Glucose-coated gold nanoparticles transfer across human brain endothelium and enter astrocytes *in vitro*. *PLoS ONE*, 8(12).  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0081043>
29. Fatima, N., Gromnicova, R., Loughlin, J., Sharrack, B., & Male, D. (2020). Gold nanocarriers for transport of oligonucleotides across brain endothelial cells. *PLOS ONE*, 15(9), e0236611.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236611>
30. Pongrac, I. M., Radmilović, M. D., Ahmed, L. B., Mlinarić, H., Regul, J., Škokić, S. et al. (2019). D-mannose-Coating of Maghemite Nanoparticles Improved Labeling of Neural Stem Cells and Allowed Their Visualization by ex vivo MRI after Transplantation in the Mouse Brain. *Cell Transplantation*, 28(5), 553-567.  
<https://doi.org/10.1177/0963689719834304>
31. Frigell, J., García, I., Gómez-Vallejo, V., Llop, J., & Penadés, S. (2014). <sup>68</sup>Ga-labeled gold glyconanoparticles for exploring blood-brain barrier permeability: Preparation, biodistribution studies, and improved brain uptake via neuropeptide conjugation. *Journal of the American Chemical Society*, 136(1), 449-457.  
<https://doi.org/10.1021/ja411096m>
32. Gromnicova, R., Yilmaz, C. U., Orhan, N., Kaya, M., Davies, H., Williams, P. et al. (2016). Localization and mobility of glucose-coated gold nanoparticles within the brain. *Nanomedicine*, 11(6), 617-625.  
<https://doi.org/10.2217/nnm.15.215>
33. Min, H. S., Kim, H. J., Naito, M., Ogura, S., Toh, K., Hayashi, K. et al. (2020). Drug Delivery Hot Paper Systemic Brain Delivery of Antisense Oligonucleotides across the Blood – Brain Barrier with a Glucose-Coated Polymeric Nanocarrier Research Articles. *Angewandte Chemie*, 0821(132), 8173-8180.  
<https://doi.org/10.1002/ange.201914751>
34. Pradhan, N., Shekhar, S., Jana, N. R., & Jana, N. R. (2017). Sugar-Terminated Nanoparticle Chaperones Are 102-105 Times Better Than Molecular Sugars in Inhibiting Protein Aggregation and Reducing Amyloidogenic Cytotoxicity. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 9(12), 10554-10566.  
<https://doi.org/10.1021/acsami.7b01886>
35. Liu, Y., Wang, J., Hsiung, G.-Y. R., & Song, W. (2020). Trehalose Inhibits A $\beta$  Generation and Plaque Formation in Alzheimer's Disease. *Molecular Neurobiology*, 57(7), 3150-3157.  
<https://doi.org/10.1007/s12035-020-01942-1>
36. Sarkar, S., Chigurupati, S., Raymick, J., Mann, D., Bowyer, J. F., Schmitt, T. et al. (2014). Neuroprotective effect of the chemical chaperone, trehalose in a chronic MPTP-induced Parkinson's disease mouse model. *NeuroToxicology*, 44, 250-262.  
<https://doi.org/10.1016/j.neuro.2014.07.006>

37. Rodríguez-Navarro, J. A., Rodríguez, L., Casarejos, M. J., Solano, R. M., Gómez, A., Perucho, J. et al. (2010). Trehalose ameliorates dopaminergic and tau pathology in parkin deleted/tau overexpressing mice through autophagy activation. *Neurobiology of Disease*, 39(3), 423-438.  
<https://doi.org/10.1016/j.nbd.2010.05.014>
38. Lee, J., Kim, S., Mubeen, S., Mulchandani, A., Chen, W., Choa, Y. et al. (2020). Synthesis of gold nanostructures using glycine as the reducing agent. *Nanotechnology*, 31(45), 455601.  
<https://doi.org/10.1088/1361-6528/abaa76>
39. Lin, C. H., Wei, P. C., Chen, C. M., Huang, Y. T., Lin, J. L., Lo, Y. S. et al. (2020). Lactulose and Melibiose Attenuate MPTP-Induced Parkinson's Disease in Mice by Inhibition of Oxidative Stress, Reduction of Neuroinflammation and Up-Regulation of Autophagy. *Frontiers in Aging Neuroscience*, 12, 1-11.  
<https://doi.org/10.3389/fnagi.2020.00226>
40. Chen, C. M., Lin, C. H., Wu, Y. R., Yen, C. Y., Huang, Y. T., Lin, J. L. et al. (2020). Lactulose and Melibiose Inhibit  $\alpha$ -Synuclein Aggregation and Up-Regulate Autophagy to Reduce Neuronal Vulnerability. *Cells*, 9(5), 1-21.  
<https://doi.org/10.3390/cells9051230>
41. Wang, C., Wang, J., Liu, D., & Wang, Z. (2010). Gold nanoparticle-based colorimetric sensor for studying the interactions of  $\beta$ -amyloid peptide with metallic ions. *Talanta*, 80(5), 1626-1631.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2009.09.052>
42. Zhao, Y., Tong, L., Li, Y., Pan, H., Zhang, W., Guan, M. et al. (2016). Lactose-Functionalized Gold Nanorods for Sensitive and Rapid Serological Diagnosis of Cancer. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 8(9), 5813-5820.  
<https://doi.org/10.1021/acsami.5b11192>
43. Vasileva, M. Y., Ershov, A. Y., Baygildin, V. A., Shabsel's, B. M., Lagoda, I. V., & Yakimansky, A. V. (2018). Synthesis of Gold Glyconanoparticles Based on the Condensation Products of D-Lactose and D-Maltose with SH-Containing Hydrazides. *Russian Journal of General Chemistry*, 88(6), 1205-1209.  
<https://doi.org/10.1134/S1070363218060257>
44. Mandal, S., Debnath, K., Jana, N. R., & Jana, N. R. (2017). Trehalose-Functionalized Gold Nanoparticle for Inhibiting Intracellular Protein Aggregation. *Langmuir*, 33(49), 13996-14003.  
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b02202>
45. Katti, K. K., Kattumuri, V., Bhaskaran, S., Katti, K. V., & Kannan, R. (2009). Facile and general method for synthesis of sugar-coated gold nanoparticles. *International Journal of Green Nanotechnology: Biomedicine*, 1(1), 1-8.  
<https://doi.org/10.1080/19430850902983848>

46. Lucioni, C. (2012). Síntesis de nanopartículas de oro obtenidas por reducción de  $H[AuCl_4]$ . *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 78(2), 79-90.  
[http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1810-634X2012000200003](http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2012000200003)
47. Liu, J., Anand, M., & Roberts, C. B. (2006). Synthesis and extraction of beta-D-glucose-stabilized Au nanoparticles processed into low-defect, wide-area thin films and ordered arrays using CO<sub>2</sub>-expanded liquids. *Langmuir*, 22(9), 3964-3971.  
<https://doi.org/10.1021/la060450q>
48. Masuko, T., Minami, A., Iwasaki, N., Majima, T., Nishimura, S. I., & Lee, Y. C. (2005). Carbohydrate analysis by a phenol-sulfuric acid method in microplate format. *Analytical Biochemistry*, 339(1), 69-72.  
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2004.12.001>
49. Rasband, W. (2018). *ImageJ*. U. S. National Institutes of Health. Bethesda, Maryland, USA: U. S. National Institutes of Health. Repéré à <https://imagej.nih.gov/ij/>

## BIOSENSOR DE CÉLULAS DE CÁNCER DE MAMA BASADO EN BIOIMPEDANCIA Y NANOPARTÍCULAS MAGNÉTICAS

---

**César A. González<sup>1\*</sup>, Gisela Gutiérrez<sup>1</sup>, Virginia Sánchez<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, Escuela Superior de Medicina, Plan de San Luis y Díaz Mirón, s/n. Col. Casco de Santo Tomas, Ciudad de México, CDMX, C.P. 11300, México.

\*cgonzalezd@ipn.mx

González, C. A., Gutiérrez, G., & Sánchez, V. (2021). Biosensor de Células de Cáncer de Mama basado en Bioimpedancia y Nanopartículas Magnéticas. En E. San Martín-Martínez (Ed.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III* (pp. 101-116). Barcelona, España: Omniascience.

## Resumen

El cáncer de mama (CaMa) es un problema de salud pública a nivel mundial, representa la neoplasia más frecuente en mujeres con una alta tasa de fallecimientos asociados a procesos metastásicos consecuente de un diagnóstico tardío. Detectar de manera temprana Células Tumorales Circulantes (CTC) puede representar la diferencia clínica valuable para el monitoreo de tratamientos, anticipación a recidivas y metástasis. La detección de CTC requiere tecnología y personal entrenado generalmente no disponible en regiones o comunidades de bajos recursos. En este capítulo se presentan los avances del desarrollo de un nuevo biosensor para detección de CTC características de CaMa, cuyo principio de funcionamiento se basa en mediciones de Espectroscopia de Bioimpedancia Eléctrica (EBiE) asistida con nanopartículas magnéticas (NpM) acopladas a un anticuerpo (Ab) monoclonal que reconoce proteínas de superficie. Se presenta la evaluación de tres proteínas: EpCAM, Muc1 y Her-2, en tres líneas celulares de CaMa: MCF-7, MDA-MB-231 y SK-BR-3, como posibles objetivos de nanosondas “Nanopartícula Magnética-Anticuerpo” (NpM-Ab). También se evalúa un dispositivo microfluídico que permite separar y anclar por técnica inmunomagnética células cancerígenas marcadas con un bioconjugado NpM-Ab, así como su detección por medio de EBiE. Los resultados muestran factibilidad técnica de identificar bajas concentraciones de células cancerígenas en solución.

**Palabras clave:** Biosensor, células cancerígenas, cáncer de mama, bioimpedancia, nanopartículas.

## 1. Introducción

En la actualidad, el cáncer de mama (CaMa) es considerado un problema de salud pública a nivel mundial, representa la neoplasia más frecuente en mujeres, con una alta tasa de fallecimientos asociados a procesos metastásicos consecuentes de un diagnóstico tardío de la enfermedad. Detectar de manera temprana Células TumORAles Circulantes (CTC) podría representar una oportunidad en la disminución de la alta mortalidad de éste padecimiento, pues permitiría al clínico monitorear la efectividad del tratamiento oncológico, anticiparse a la aparición de recidivas y prevenir metástasis. La detección de CTC requiere de tecnologías y personal de la salud con un alto grado de especialización y entrenamiento, los cuales en la mayoría de las veces no se encuentran disponibles en las regiones o comunidades de bajos recursos económicos. Se ha documentado en la literatura que durante el desarrollo del proceso metastásico, existe un incremento gradual de CTC, y su monitoreo podría representar un indicador de progresión o diseminación de la patología, coadyuvar en el pronóstico y modular el tratamiento [1, 2, 3]. La metástasis es la principal causa de morbimortalidad relacionada con el CaMa, algunos estudios muestran que el 30 % de las mujeres con CaMa primario albergan micro-metástasis en médula ósea y aproximadamente la mitad de pacientes con neoplasias localizadas y tratadas con resección quirúrgica tienen una posibilidad alta de sufrir recidiva, la cual intenta reducirse sometiendo a la paciente a un tratamiento oncológico (quimioterapia, radioterapia y otros) que no muchas veces es efectivo debido a que no se conoce detalladamente el estado de las CTC en el cuerpo [4, 5, 6, 7].

Las CTC son células cancerosas que se originan de tumores sólidos primarios/metastásicos y se encuentran en tránsito por el sistema circulatorio. La detección y caracterización de CTC nos permite tener un control del tratamiento oncológico del paciente con CaMa y definir si es efectivo. El conteo de las CTC está relacionado con pronóstico y sobrevida [8, 9]. La importancia del monitoreo de CTC se puede dimensionar en el hecho de que algunos grupos de investigación han definido a la muestra de sangre del paciente oncológico como “biopsia líquida en tiempo real” [10]. Sin embargo, el aislamiento de CTC es un desafío debido a su extrema rareza, hay aproximadamente entre 1 y 10 CTC por cada  $10^9$  del total de células sanguíneas [8, 9, 11].

El método ideal para la detección de CTC debe ser altamente sensible, reproducible y fácil de implementar en un entorno clínico. En la mayoría de los métodos existentes, se lleva a cabo una primera etapa de enriquecimiento para aumentar la sensibilidad del ensayo. Después se continúa con una etapa de detección que idealmente protegerá la integridad de las CTC [12]. Este es un proceso

bastante complicado, por lo que se precisa la búsqueda de nuevos métodos tecnológicos que nos permitan disuadir estos inconvenientes y poder tener tecnologías de alta calidad a un bajo costo y con fácil acceso [7, 11, 12].

En 2011, Hengyi Xu y su grupo demostraron la posibilidad de separar por técnicas inmunomagnéticas CTC de sangre total [13]. En 2007, Arun Han probó la viabilidad técnica de separar y diferenciar células tumorales mediante el análisis de las propiedades eléctricas características de células cancerígenas respecto a células normales. [14]. El grupo de investigadores que reporta el presente capítulo ha propuesto detectar CTC mediante el uso de Espectroscopia de Bioimpedancia Eléctrica (EBiE) asistida con nanopartículas magnéticas (NpM), las cuales son acopladas con anticuerpos (Ab) monoclonales dirigidos a antígenos en la superficie de la membrana celular [15]. El fundamento es unir nanosondas “Nanopartícula Magnética-Anticuerpo” (NpM-Ab) en la membrana de CTC, la separación y anclaje por técnica inmunomagnética en un arreglo de micro electrodos de superficie, para posteriormente realizar mediciones de EBiE como técnica de detección.

En este capítulo se presentan los avances del desarrollo de un nuevo biosensor de CTC cuyo principio de funcionamiento se basa en mediciones de EBiE, primero se describe la identificación y caracterización de la expresión génica de tres proteínas: molécula de adhesión epitelial (EpCAM), mucina 1 (Muc1) y receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano (Her-2), en tres líneas celulares de CaMa (MCF-7, MDA-MB-231 y SK-BR-3) como posibles objetivos de nanosondas NpM-Ab, después se constata la presencia de la proteína blanco en las líneas celulares evaluadas por técnica de Citometría de Flujo (FACs), por último se presenta un primer ensayo de acoplamiento célula-nanosonda en las tres líneas celulares MCF-7, MDA-MB-231 y SK-BR-3, aislamiento inmunomagnético de las mismas, así como medición por bioimpedancia eléctrica multifrecuencia. Los resultados sustentan la factibilidad de detectar células cancerígenas separadas por técnicas inmunomagnéticas, tal aproximación representa los fundamentos de funcionamiento de un posible biosensor de CTC para CaMa con fundamento en mediciones de EBiE asistidas con NpM.

## **2. Metodología**

### **2.1. Líneas celulares de CaMa**

Tres líneas comerciales de células de CaMa: MCF-7, MDA-MB-231 y SK-RB-3 fueron incubadas en placas de cultivo de 100 mm las cuales se mantuvieron en las siguientes condiciones: 37 °C, 5 % de CO<sub>2</sub> y 95 % de humedad.

Las características y proporciones del medio de cultivo que se empleó fueron: Dulbecco's Modified Eagle Medium F-12 (DMEM-F12) al 94 %. Penicilina/estreptomicina/amfotericina B (Invitrogen, U.S.A.) al 1 %. Suero Fetal Bovino (Invitrogen, U.S.A.) al 5 %. El monitoreo morfológico se realizó con el apoyo de un microscopio de contraste NIKON Eclipse TS100 equipado con una cámara digital Lumenera Scientific Infinity 1. Se realizaron cultivos independientes para cada línea celular, obteniendo tres replicas biológicas de cada cultivo.

## **2.2. Evaluación de la expresión relativa por RT-qPCR**

El análisis de la expresión se realizó por triplicado a partir de tres líneas celulares de CaMa: MCF-7, MDA-MB-231 y SK-BR-3, en ellas se evaluó la expresión relativa de genes: EpCAM, Muc1, y Her-2. Para evaluar la expresión génica, primero se realizó extracción de RNA con el método de trizol y posteriormente se cuantificó mediante espectrofotometría, enseguida el RNA se trató con DNasa (RQ1 RNase-free DNase Promega) para eliminar la contaminación del DNA genómico. Posteriormente se realizó la síntesis de DNA complementario utilizando el kit Cloned AMV First-Strand cDNA Synthesis (Invitrogen), siguiendo las instrucciones señaladas por el fabricante. Para llevar a cabo la amplificación y su monitoreo se utilizó el equipo ABI PRISM 7000 Sequence Detection System-SDS versión 1.1, utilizando el Kit SYBR Green PCR Master Mix. (Applied Biosystems). El procedimiento para determinar la expresión relativa se basó en el método de doble delta Ct ( $\Delta\Delta CT$ ) con la fórmula aritmética  $2^{\Delta\Delta CT}$  [16], el análisis estadístico se realizó utilizando el programa GraphPad Prism versión 5.01.

## **2.3. Citometría de flujo FACs**

El principio de citometría de flujo se basa en el registro tanto de excitación de un fluorocromo (acoplado a proteína) a cierta longitud de onda, así como el de emisión a una frecuencia dada. Esta técnica se utilizó para verificar la densidad de las diferentes proteínas de superficie de membrana: EpCAM, MUC-1, y HER-2, cuyos RNA mensajeros previamente habían sido cuantificados por RT-qPCR. Para ello, se utilizaron 3 anticuerpos monoclonales acoplados con diferentes fluorocromos dirigidos hacia dichas proteínas. Se realizaron 3 experimentos independientes para cada línea celular: MCF-7, MDA-MB-231 y SK-BR-3, donde fueron utilizadas un total de  $1 \times 10^6$  células/tubo con los 3 anticuerpos monoclonales conjugados: ficoeritrina (PE) anti-human CD227 (MUC-1, Biologend), alofocianina (APC, Biologend) anti-human CD326 (EpCAM

Biolegend), Brilliant Violet 421 anti-human CD340(HER-2) de Biolegend, todos previamente incubados durante 30 minutos en oscuridad. Posterior a esto se retiró el exceso de anticuerpo no acoplado con buffer de fosfatos (PBS) y se bloquearon las uniones inespecíficas con proteína sérica bovina (PBA) al 1 %, finalmente las células fueron fijadas con formaldehído al 1 % para su análisis en el equipo FACS Aria III.

#### **2.4. Funcionalización de nanosondas NpM-Ab**

En base a la cuantificación de las proteínas realizada con la citometría de flujo, se construyó un bioconjugado para cada línea celular con base a la proteína de superficie de membrana predominante observada. Por lo tanto, se generaron tres nanosondas resultantes de la unión de nanopartículas de ferrita-cobalto de 400 nm (nanoscreen MAG-ARA, Chemicell) con cada anticuerpo monoclonal como se menciona a continuación: EpCAM (CD326, Biolegend) para la línea MCF-7, MUC-1 (CD227 Biolegend) para la línea MDA-MB-231 y HER-2 (CD340 Biolegend) para la línea SK-BR-3. Para la bioconjugación de nanosondas se utilizó el método de carbodiimida, donde ésta reacciona con los grupos carboxilo-terminal de las nanopartículas y produce que, por un lado, se vuelvan altamente reactivos a los productos intermedios de O-asilourea, y por otro lado, también puedan crear enlaces covalentes con los grupos amino presentes en la región constante de las cadenas pesadas de los anticuerpos monoclonales, lo que resulta en la formación de una estable nanosonda NpM-Ab. (Protocolo A-10, Chemicell).

#### **2.5. Adaptación de sistema microfluídico e interfaz eléctrico-iónica para aislamiento y medición de células cancerígenas por EBiE**

El diseño a bloques del sistema consta de cuatro módulos: 1.- Bomba de infusión microfluídica; 2.- Interfaz eléctrico-iónica; 3.-Módulo Sciospec<sup>TM</sup>; y 4.- La computadora personal (PC). La Bomba de infusión microfluídica tiene adaptada una jeringa de insulina (1 mL), la cual realiza la infusión controlada de los analitos hacia la cámara del módulo interfaz eléctrico-iónica por medio de un tubo-capilar. La interfaz eléctrico-iónica representa el punto principal del experimento, ya que es donde se realiza el aislamiento de células cancerígenas y medición de bioimpedancia a través de electrodos de oro. El módulo Sciospec<sup>TM</sup> es el instrumento que nos permite la interacción con los electrodos de la Interfaz, es decir

inyecta la diferencia de potencial y a la vez mide la corriente para estimar la impedancia del sistema. El módulo de la PC nos permite programar el instrumento Sciospec™ y almacenamiento de los datos.

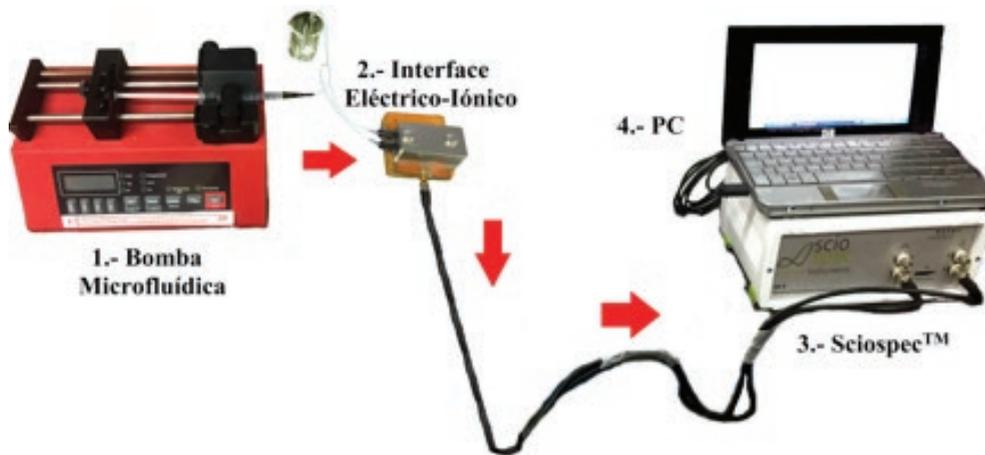


Figura 1. Esquema de la apariencia física de los módulos del sistema microfluidico e interfaz eléctrico-iónica para aislamiento y medición de células cancerígenas por EbiE.

Para el efecto se empleó un dispositivo microfluidico QFM 401™, que consiste fundamentalmente en una cámara hermética en la que se puede disponer de micro-electrodos de oro embebidos en un cristal de cuarzo, a través de dichos electrodos se realizaron mediciones de bioimpedancia multifrecuencia. Se adaptaron dos microtubos-capilares, uno a la entrada y otro a la salida microfluidica del QFM 401™. Se adaptó una base para disponer un imán de neodimio en la parte inferior de la cámara donde está el cuarzo y los electrodos para que así este lograra mantener las nanopartículas ferromagnéticas adheridas a células cancerígenas (aislamiento inmunomagnético). El módulo de lectura de impedancia trae consigo el software Sciospec™, el cual permitió la comunicación con la PC a través de un puerto USB, lo cual proporcionó la opción de hacer un protocolo de medición, logrando con esto un mapeo en 126 frecuencias logarítmicamente espaciadas en un rango de 100 Hz a 1 MHz. Las mediciones se realizaron por triplicado. La técnica demanda la identificación de marcadores moleculares para promover una reacción antígeno-anticuerpo, la cual, provoca que se adhieran las células cancerígenas a las nanopartículas dentro del bioconjugado y con esto lograr el aislamiento inmunomagnético, es decir, poder atrapar las células ancladas a las nanopartículas con el imán en la cámara del dispositivo microfluidico y a así medir su impedancia. [17, 18].

## 2.6. Diseño del experimento de evaluación y mediciones EBiE

Las tres líneas celulares fueron cuantificadas y llevadas por separado a una muestra con una concentración final de 50,000 células, las cuales fueron incubadas con la dosis correspondiente de bioconjugado de acuerdo a su proteína de superficie predominante, posteriormente se realizaron diluciones para obtener 3 muestras por triplicado con diferente concentración de células: 5000, 500, y 50 en 500  $\mu$ L de PBS. Con el objetivo de evidenciar cambios en la bioimpedancia eléctrica como una función del aislamiento y anclaje de células cancerígenas en la interfaz eléctrico-iónica, se diseñó un experimento en dos ensayos independientes a fin de generar las siguientes condiciones: A) Células Cancerígenas- infusión y anclaje magnético de células cancerígenas incubadas con nanosondas, y B) Control Negativo - infusión y anclaje magnético de nanosondas sin la presencia de células cancerígenas (Figura 2). Ambas condiciones se infundieron de manera independiente a través de la bomba NE-1002X utilizando jeringas de 1 mL con 500  $\mu$ L de bioconjugado en un tiempo de 15 minutos. Se adquirieron datos en el sistema de medición de impedancia ScioSpec-ISX3. Al terminar la medición entre cada condición se realizó una limpieza del sistema infundiendo 500  $\mu$ L de PBS.

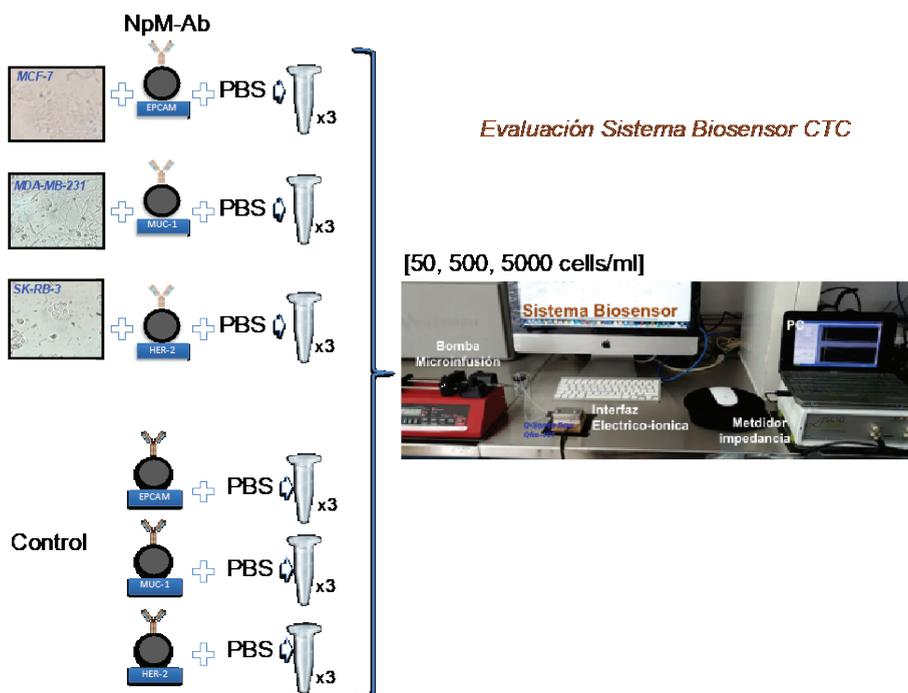


Figura 2. Diseño experimental de evaluación y mediciones EBiE.

### 3. Resultados y discusión

#### 3.1. *Expresión diferenciada RT-qPCR y FACs*

Células viables y estructuras morfológicas diferenciadas en las tres líneas celulares MCF-7, MDA-231 y SK-RB-3 se pueden observar en la Figura 3. Los resultados de RT-qPCR permitieron dilucidar un esquema representativo de la expresión génica de Her-2, EpCAM y Muc1, en las tres líneas celulares evaluadas. Se observó un nivel de expresión de Her-2 de 1.33, 1.05 y 4.18 en SK-BR-3, MDA-MB-231 y MCF-7 respectivamente. Con respecto a EpCAM se detectaron valores de expresión de 1.08, 0.97 y 532.82 para SK-BR-3, MDA-MB-231 y MCF-7 respectivamente. En relación a Muc1 los valores de expresión detectados fueron 1.12, 5.20 y 74.35 en SK-BR-3, MDA-MB-231 y MCF-7 respectivamente. En el mismo esquema se presentan los hallazgos por FACs en el gráfico correspondiente a la intensidad media de fluorescencia para cada proteína de superficie en cada una de las tres líneas celulares, observando un predominio de la proteína HER-2 en la línea celular SK-RB-3, EpCAM en MCF-7, y finalmente la proteína MUC-1 en la línea celular MDA-MB-231.

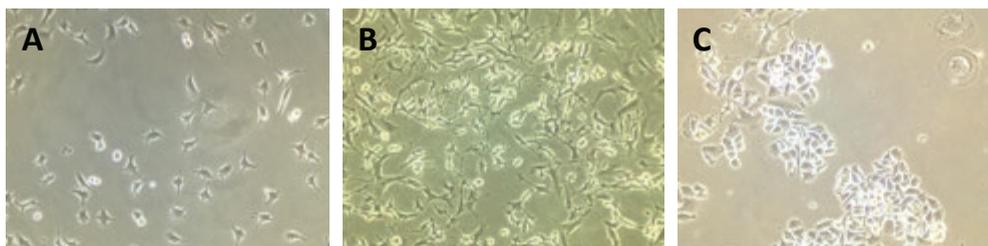


Figura 3. Líneas celulares de CaMa: A) MCF-7, B) MDA-231 y C) SK-RB-3. (Aumento 10X).

De la Figura 4, es posible caracterizar patrones de expresión génica y proteica bien diferenciadas en las tres líneas celulares, tales hallazgos son coherentes con estrategias y técnicas actualmente en desarrollo para detectar CTC de origen epitelial en función de sus biomarcadores y proteínas de superficie predominantes según el estadio del CaMa. En principio predomina EpCAM en la línea celular de MCF-7, MUC-1 en MDA-MB-231 y HER-2 en SK-RB-3, tal patrón se explica atendiendo a las características de cada línea celular que mapean o representan un estadio diferente en el CaMa, MCF-7 representa el estadio más temprano, MDA-MB-231 un intermedio y SK-RB-3 el más tardío, entre más avanzado el

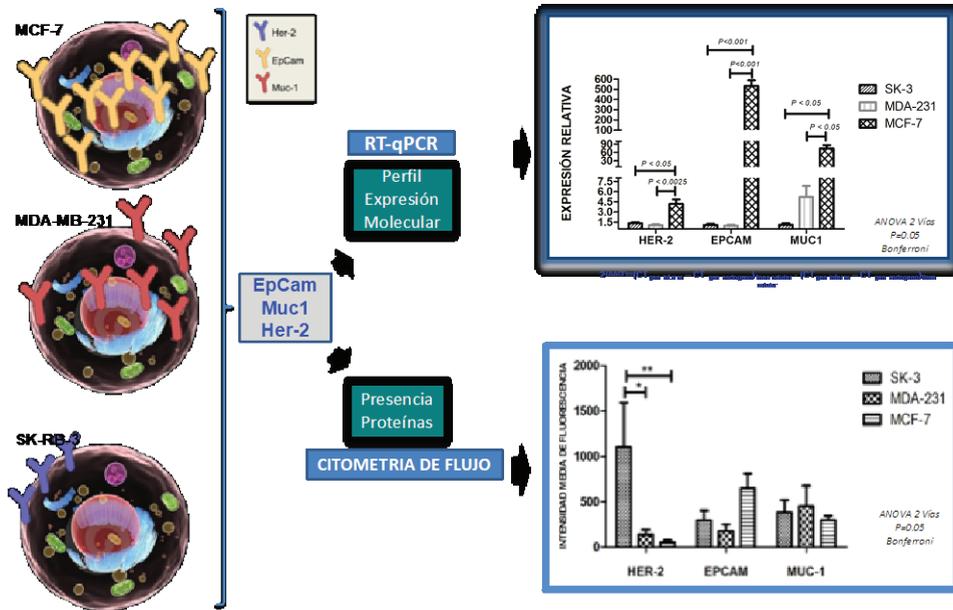


Figura 4. Expresión génica y proteica de Her-2, EpCAM y Muc1 en líneas celulares de CaMa.

estadio disminuye la producción de proteínas relacionadas con receptores de adhesión celular características de origen epitelial como lo es EpCAM, lo que es compatible con un proceso de transición epitelio-mesénquimal que da origen a metástasis, tales observaciones coinciden con lo reportado por otros autores y nuestro grupo [19, 20, 21].

En la Figura 5, se observa los diferentes espectros de impedancia medidos en las tres líneas celulares evaluadas, y se comparan con los espectros de impedancia medidos en ausencia de células cancerígenas. Los gráficos muestran los espectros de bioimpedancia en magnitud y fase respectivamente, para una concentración de 50 células/500  $\mu$ L. El espectro de magnitud muestra sensibilidad significativa a bajas frecuencias para discriminar la presencia de células cancerígenas respecto a la condición en la que solo se infundió el bioconjugado. Las concentraciones a 500 y 5000 células/500  $\mu$ L no mostraron sensibilidad, por simplicidad tales resultados no se muestran. La Figura 6 muestra un zoom de los espectros de la magnitud de impedancia para el caso de células SK-BR-3 a una concentración de 50 células/500  $\mu$ L para evidenciar la sensibilidad del sistema en la detección de células cancerígenas a bajas concentraciones [21].

Es evidente que a bajas concentraciones celulares y por tanto de nanopartículas con propiedades magnéticas (50 células/500  $\mu\text{L}$ ), es posible la identificación de células tumorales a través de mediciones de bioimpedancia ya que permiten discriminar entre la ausencia y presencia de las mismas, sin embargo a mayores concentraciones no se presenta sensibilidad suficiente para discriminar entre la presencia de células cancerígenas (gráficos no mostrados), tal comportamiento estimamos se explica porque a mayores concentraciones de nanopartículas magnéticas emerge el

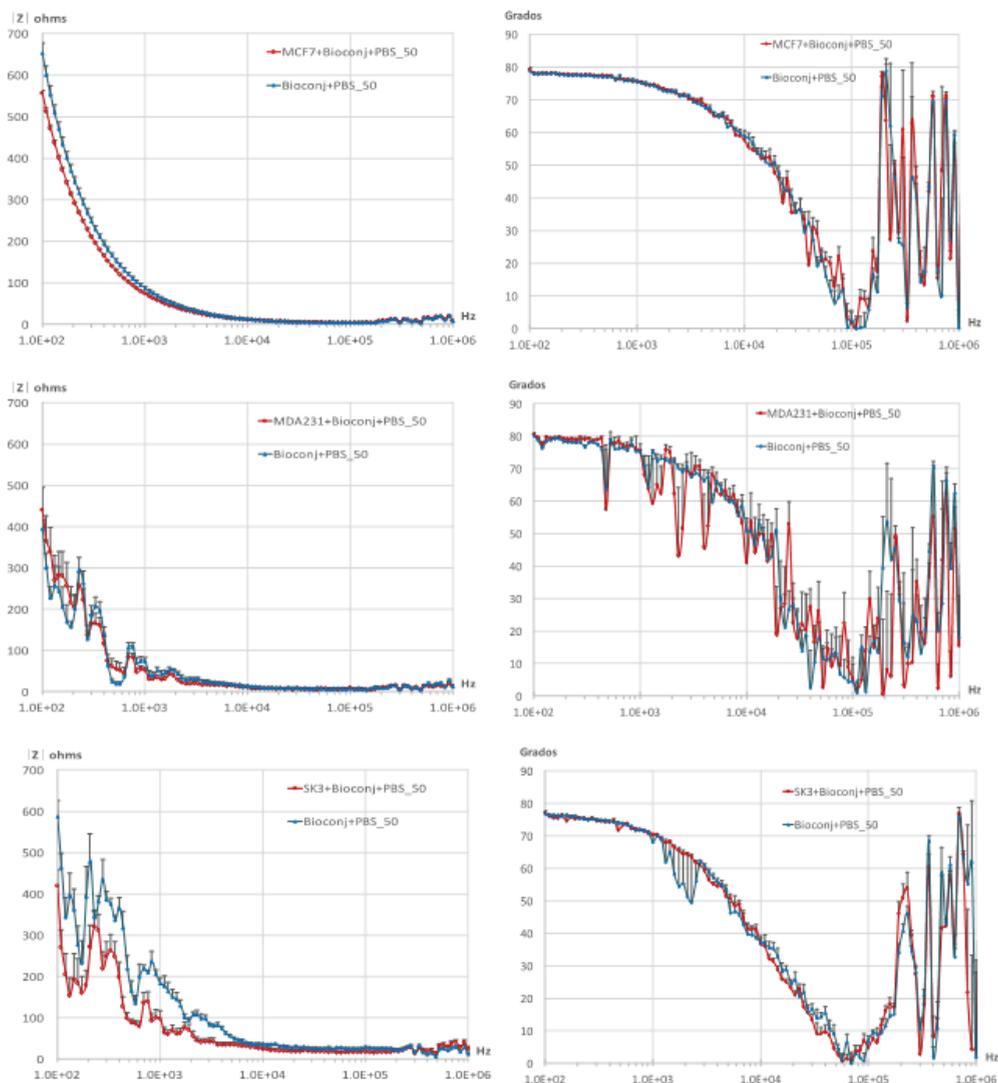


Figura 5. Mediciones de bioimpedancia en las líneas celulares cancerígenas MCF-7, MDA-MB-231 y SK-BR-3.

efecto de percolación, es decir el medio se satura con óxido de hierro y por tanto se vuelve muy conductivo, tal incremento de conductividad volumétrica predomina sobre el efecto de alta impedancia de las células cancerígenas. La teoría del efecto de percolación indica que en el sistema las propiedades conductivas del analito siguen las leyes de la potencia, es decir: donde,  $p$  es la concentración del material conductor, en este caso las nanopartículas magnéticas,  $p_c$  representa su concentración en el umbral de percolación y  $t$  un exponencial crítico asociado a la conductividad [22], lo cual en resumen nos dice que si saturamos de alguna manera el sistema con NpM llegará un punto en el cual estas se conviertan en conductor. Así, los hallazgos nos permiten inferir que la técnica planteada tiene viabilidad técnica para detectar pequeñas concentraciones de células cancerígenas aisladas por técnica inmunomagnética, y que la limitación expresa es que las concentraciones de NpM empleadas no excedan el límite de percolación.

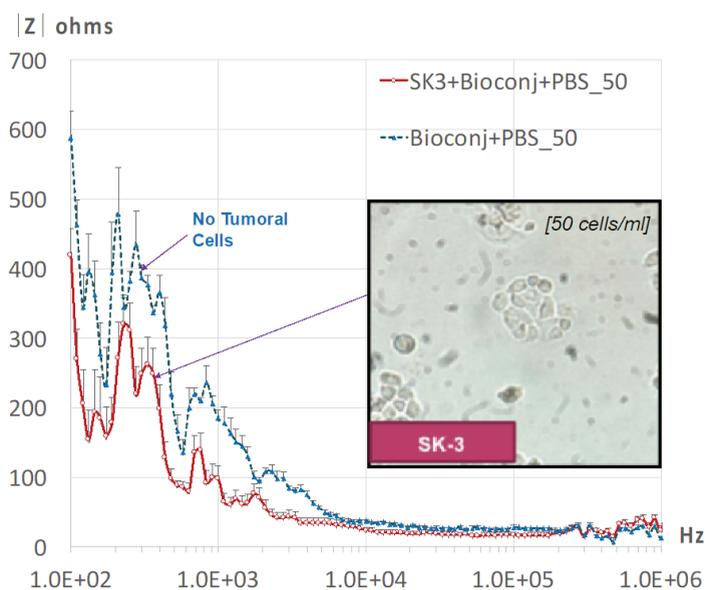


Figura. 6. Zoom del espectro de la magnitud de impedancia de células SK-BR-3 (50 células/500  $\mu$ L).

Un análisis de componentes principales para los datos de bioimpedancia en magnitud ( $z$ ), fase y pendientes ( $m$ ) de los espectros observados [23], permitió además identificar frecuencias específicas que mejor sensibilidad tienen para detectar y diferenciar células cancerígenas de las tres líneas evaluadas. Una representación tridimensional de componentes principales permite observar la posibilidad de clasificar el estadio de CaMa que representan los diferentes tipos de células cancerígenas a bajas concentraciones (Figura 7) [23].

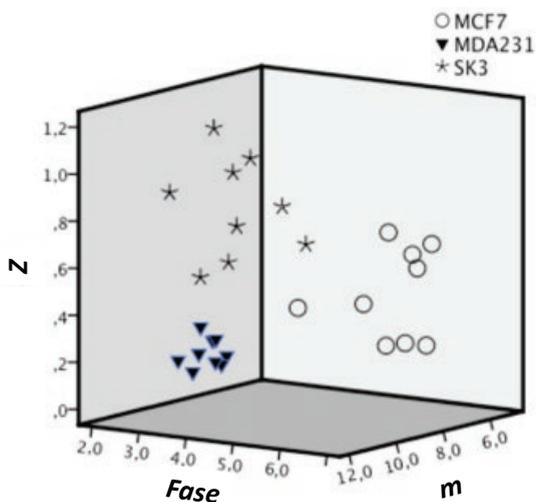


Figura. 7. Representación tridimensional de componentes principales para detección y clasificación de diferentes tipos de células de CaMa a bajas concentraciones.

#### 4. Conclusiones

Los resultados muestran la factibilidad técnica de identificar bajas concentraciones de células cancerígenas acopladas a nanopartículas con propiedades magnéticas dirigidas a proteínas de superficie de membrana celular. La implementación de un pequeño sistema como biosensor para el aislamiento y detección de células cancerígenas de mama a través del empleo de un dispositivo microfluídico y mediciones de EBiE asistida con nanopartículas magnéticas resultó factible a bajas concentraciones celulares y nanopartículas magnéticas. Mediciones de la magnitud de la bioimpedancia a bajas frecuencias parecen ofrecer la mejor sensibilidad del sistema. Los resultados indican que la detección de CTC a través de la técnica propuesta es viable y permiten sustentar el principio de funcionamiento de un biosensor para detección de CTC basado en mediciones EBIE asistida con nanotecnología.

#### Agradecimientos

Desarrollo tecnológico apoyado por CONACYT a través del proyecto CB2012-180536. La técnica de detección de células cancerígenas a través de mediciones de bioimpedancia eléctrica está sustentada en solicitud de patente: González CA 2017 MX/a/2017/010319.

## Bibliografía

1. Ebeed, S. A., Abd El-Moneim, N. A., Saad, A., Zaher, E. R. E., Yassin, O. G., & Khamis, S. A. (2012). Diagnostic and prognostic value of circulating tumor cells in female breast cancer patients. *Alexandria Journal of Medicine*, 48, 197-206.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajme.2012.02.005>
2. Morán Mendoza, E., Rodríguez Gallegos, J., Lara Lozano, M., Piña Leyva, C., Thompson Bonilla, M. R., Rosas Sandoval, G. et al. (2014). Células tumorales circulantes en cáncer de mama: un posible riesgo biológico. *Rev Esp Méd Quir*, 19, 45-51.
3. Giuliano, M., Giordano, A., Jackson, S., De Giorgi, U., Meago, M., Cohen, E. N. et al. (2014). Circulating tumor cells as early predictors of metastatic spread in breast cancer patients with limited metastatic dissemination. *Breast Cancer Research*, 16, 440.  
<https://doi.org/10.1186/s13058-014-0440-8>
4. Jemal, A., Bray, F., Center, M. M., Ward, E., & Forman, D. (2011). Global Cancer Statistics. *CA: A Cancer Journal Clinicians*, 61(2), 69-90.  
<https://doi.org/10.3322/caac.20107>
5. IARC (2012). *Cancertoday. GLOBOCAN* [base de datos y estadística del cáncer en el mundo]. Francia. [Fecha de acceso 20 de Junio del 2020].  
<https://gco.iarc.fr/today/home>
6. López-Carrillo, L., Torres-Sánchez, L., Blanco-Muñoz, J., Hernández-Ramírez, R. U., Knaul, F. M. (2014). Utilización correcta de las técnicas de detección de cáncer de mama en las mujeres mexicanas. *Salud Pública de México*, 56(5), 538-546.  
<https://doi.org/10.21149/spm.v56i5.7711>
7. Sua, L. F., Silva, N. M., Vidaurreta, M., Maestro, M. L., Fernández, S. R., Veganzones, S. et al. (2011). Detección inmunomagnética de células tumorales circulantes en cáncer de mama metastásico: nuevas tecnologías'. *Revista Colombiana de Cancerología*, 15(2), 104-109.  
[https://doi.org/10.1016/S0123-9015\(11\)70073-7](https://doi.org/10.1016/S0123-9015(11)70073-7)
8. Markou, A., Strati, A., Malamos, N., Georgoulas, V., & Lianidou, E. S. (2011). Molecular Characterization of Circulating Tumor Cells in Breast Cancer by a Liquid Bead Array Hybridization Assay. *Clinical Chemistry*, 57, 3421-3430.  
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2010.154328>
9. Sua, L. F., Silva, N. M., Vidaurreta, M., Maestro, M. L., Fernández, S. R., Veganzones, S. (2011). Actualidad y futuro en las técnicas de cuantificación de células tumorales circulantes: su importancia en tumores sólidos epiteliales. *Rev Lab Clin.*, 4, 163-169.  
<https://doi.org/10.1016/j.labcli.2010.11.007>

10. Alix-Panabières, C., & Pantel, K. (2013). Circulating Tumor Cells: Liquid Biopsy of Cancer. *Clinical Chemistry*, 59, 110–118.  
<https://doi.org/10.1373/clinchem.2012.194258>
11. Adams, D. L., Stefansson, S., Haudenschild, C., Martin, S. S., Charpentier, M., Chumsri, S. et al. (2015). Cytometric Characterization of Circulating Tumor Cells Captured by Microfiltration and Their Correlation to the CellSearchVR CTC Test. *Cytometry Part A*, 87A, 137-144.  
<https://doi.org/10.1002/cyto.a.22613>
12. Gerges, N., Rak, J., & Jabado, N. (2010). New technologies for the detection of circulation tumor cells. *British Medical Bulletin*, 94, 49-64.  
<https://doi.org/10.1093/bmb/ldq011>
13. Xu, H., Aguilar, Z. P., Yang, L., Kuang, M., Duan, H., Xiong, H. et al. (2011). Antibody Conjugated Magnetic Iron Oxide Nanoparticles for Cancer Cell Separation in Fresh Whole Blood. *Biomaterials*, 32(36), 9758–9765, 2011.  
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.08.076>
14. Han, A., Yang, L., & Frazier, A. B. (2007). Quantification of the Heterogeneity in Breast Cancer Cell Lines Using Whole-Cell Impedance Spectroscopy. *Clin Cancer Res*, 13(1), 139-143.  
<https://doi.org/10.1158/1078-0432.CCR-06-1346>
15. Silva, J. G., Cárdenas, R. A., Quiróz, A., Sánchez, V., Lozano, L. M., Pérez, N. M. et al. (2014). Impedance Spectroscopy assisted by Magnetic Nanoparticles as Potential Biosensor Principle of Breast Cancer Cells in Suspension?. *Physiological Measurement*, México.  
<https://doi.org/10.1088/0967-3334/35/6/931>
16. Livak, K. J., & Schmittgen, T. D. (2001). Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the 2<sup>-ΔΔCT</sup> Method. *Methods*, 25, 402-408.  
<https://doi.org/10.1006/meth.2001.1262>
17. Huerta-Núñez, L. F. E., Villanueva-Lopez, G. C., Morales-Guadarrama, A., Soto, S., López, J., Silva, J. G. et al. (2016). Assessment of the systemic distribution of a bioconjugated anti-Her2 magnetic nanoparticle in a breast cancer model by means of magnetic resonance imaging. *Journal of Nanoparticle Research*, 18, 284.  
<https://doi.org/10.1007/s11051-016-3594-8>
18. Chemicell. *Covalent Coupling Procedure on fluidMAG-ARA by Carbodiimide Method*. Chemicell GmbH • Coupling Protocol • fluidMAG-ARA 1.1.
19. Osta, W. A., Chen, Y., Mikhitarian, K., Mitas, M., Salem, M., Yusuf A. Hannun, Y. A. et al. (2004). EpCAM Is Overexpressed in Breast Cancer and Is a Potential Target for Breast Cancer Gene Therapy. *Cancer Research*, 64, 5818-5824.  
<https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-04-0754>

20. Gorges, T. M., Tinhofer, I., Drosch, M., Röse, L., Zollner, T. M., Krahn, T. et al. (2012). Circulating tumour cells escape from EpCAM based detection due to epithelial-to-mesenchymal transition. *BMC Cancer*, 12, 178.  
<https://doi.org/10.1186/1471-2407-12-178>
21. Huerta-Nuñez, L. F. E., Gutierrez-Iglesias, G., Martinez-Cuazitl A., Mata-Miranda, M. M., Alvarez-Jiménez, V. D., Sánchez-Monroy, V. et al. (2019). A biosensor capable of identifying low quantities of breast cancer cells by electrical impedance spectroscopy. *Scientific Reports*, 9(1), 1-12.  
<https://doi.org/10.1038/s41598-019-42776-9>
22. Concha, A., Quijada, R., Soto, R., Rica, S., Pilleux, M. E. (2002). Percolación eléctrica en matrices 2-D y 3-D de materiales compuestos aislantes con una fase conductora. *CONAMET/SAM – Simposio Materia*, 747-752.
23. González-Díaz, C. A., & Golberg, A. (2020). Sensitivity analysis of electrical bioimpedance patterns of breast cancer cells labeled with magnetic nanoparticles: forming the foundation for a biosensor of circulating tumor. *Physiol Meas.*, 41(6), 064001.  
<https://doi.org/10.1088/1361-6579/ab9377>

## DESARROLLO DE UN NANOSENSOR NÚCLEO-CORAZA DE $\text{SiO}_2@Au$ PARA APLICACIÓN BIOMÉDICA

**Angel Netzahual-Lopantzi<sup>1</sup>, José Luis Jiménez-Pérez<sup>1</sup>,  
José Francisco Sánchez-Ramírez<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Unidad Profesional Interdisciplinaria en Ingeniería y Tecnologías Avanzadas-Instituto Politécnico Nacional, Av. Instituto Politécnico Nacional No. 2580, Col. Barrio la Laguna Ticomán, Del. Gustavo A. Madero. CP 07340 México, D.F.

<sup>2</sup>Centro de Investigación en Biotecnología Aplicada-Instituto Politécnico Nacional. Ex-Hacienda San Juan Molino Carretera Estatal Tecuexcomac-Tepetitla Km 1.5, Tlaxcala. CP 90700, México.

lopantzi\_@hotmail.com

Netzahual-Lopantzi, A., Jiménez Pérez, J. L., & Sánchez Ramírez, J. F. (2021). Desarrollo de un nanosensor núcleo-coraza de  $\text{SiO}_2@Au$  para aplicación biomédica. En E. San Martín-Martínez (Ed.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III* (pp. 117-144). Barcelona, España: Omniascience.

## Resumen

Nanoestructuras núcleo-coraza de  $\text{SiO}_2@Au$  fueron sintetizadas, así como su conjugación con la proteína *Sambucus nigra*. Se llevó a cabo la síntesis de nanoesferas de dióxido de silicio ( $\text{SiO}_2$ ) y sobre estas se realizó el crecimiento de una nanocoraza de oro. Bandas de absorción localizadas en la región infrarrojo cercano fueron registradas mediante espectroscopia UV-Vis en muestras conteniendo nanopartículas de  $\text{SiO}_2@Au$ . Micrografías TEM revelaron la formación y tamaño promedio de las esferas de  $\text{SiO}_2$ , además un espesor de coraza metálica de  $\approx 14$  nm. Los picos de difracción de rayos X revelaron la fase policristalina de la coraza metálica. Mediante la técnica de lente térmica en modo desacoplado, se obtuvo un incremento en valores de difusividad térmica a medida que se completó la cubierta metálica sobre las esferas dieléctricas. Por otro lado, la proteína *Sambucus nigra* fue elegida para la conjugación con nanocorazas de oro debido a que es ampliamente utilizada en la detección de biomarcadores de cáncer cervicouterino. Espectros FTIR de nanocorazas conjugadas revelaron la presencia de bandas amidas I y II atribuido a la presencia de moléculas proteicas en nanoestructuras de  $\text{SiO}_2@Au$ . Un cambio en la morfología de nanocorazas conjugadas fue observado por microscopía TEM.

**Palabras clave:** Nanopartículas de  $\text{SiO}_2@Au$ , difusividad térmica y *Sambucus nigra*.

## 1. Introducción

El cáncer se ha mantenido como la segunda o tercera causa principal de muerte en la población mexicana, el cáncer de cuello uterino es el segundo cáncer común en las mujeres mexicanas [1]. Esta enfermedad se debe a varios factores, incluida una infección por virus del papiloma VPH de los tipos 16 y 18, que contribuye al 97 % de todos los casos [2]. Actualmente, la citología se ha implementado como técnica de cribado en países del tercer mundo, pero el cribado citológico no tiene una alta sensibilidad y especificidad en el cambio celular temprano en la progresión de la enfermedad [3]. Para la detección temprana y terapia adecuada de la enfermedad se ha sugerido el uso de biomarcadores de cáncer. Un biomarcador se define como un cambio celular y/o molecular debido a la presencia de agentes extraños. Los carbohidratos se sobreexpresan en las células de cáncer de cuello uterino y son indicativos de cambios celulares anormales, por ejemplo, el ácido N-acetilneuramínico,  $\alpha$ -2,3 y NeuAc  $\alpha$ -2,6 que se caracteriza por estimular el proceso de metástasis [4, 5], y su detección es fundamental antes de desarrollar la enfermedad cancerosa.

Por otro lado, *Sambucus nigra* es una proteína del género lectina, la proteína reconoce el antígeno STn (NeuAc- $\alpha$ 2,6-GalNAc- $\alpha$ 1-O-Ser / Thr) que es un biomarcador sobreexpresado en cáncer [6, 7]. Es una lectina extraída de la corteza del sauco del mismo nombre, con peso molecular de 63 kDa, es una proteína dímera y cada monómero cuenta con dos dominios, el dominio I (1-129 aminoácidos) y dominio II (130-257 aminoácidos) [6, 7]. En 1999 se informó que la lectina ha aglutinado eficazmente tejidos con displasia de grado bajo y medio, lo que ayuda a distinguir células sanas y cancerígenas [6]. Por lo tanto, la especificidad para reconocer las células tumorales es una ventaja importante para usar y construir biosensores.

Un biosensor es un dispositivo analítico compuesto por un componente biológico e inorgánico que proporciona información cualitativa y cuantitativa en respuesta a cualquier cambio en el entorno circundante [8], actualmente como transductor inorgánico se utilizan nanopartículas metálicas. Las nanopartículas de oro (AuNPs) poseen una propiedad óptica denominada *resonancia plasmónica superficial localizada* ó LSPR por sus siglas en inglés. La LSPR se define como oscilaciones colectivas de electrones de conducción en la interface metal/dieléctrico debido a la excitación resonante por fotones incidentes [9]. Cuando se aplica un campo electromagnético externo se produce un exceso de carga sobre la superficie de la nanopartícula debido al desplazamiento de los electrones de su estado

de equilibrio, el movimiento es amortiguado por los núcleos atómicos y por la superficie de la nanopartícula, siendo así que el sistema se comporta como un oscilador amortiguado y caracterizado por una frecuencia de resonancia encontrándose en la región visible [10]. La posición de la LSPR depende del tamaño, la forma y la unión de la molécula circundante [11].

Las nanocorazas de oro ( $\text{SiO}_2@Au$ ) han sido objeto de gran interés científico porque tienen propiedades especiales que están ausentes en la fase de volumen. Las estructuras de  $\text{SiO}_2@Au$  son materiales compuestos por una capa delgada de Au depositada sobre esferas de  $\text{SiO}_2$  [12, 13], y tienen un SPR ubicado en la longitud de onda del infrarrojo cercano [11]. Esta propiedad óptica proporciona ventajas en aplicaciones biomédicas porque el agua y la hemoglobina tienen una absorción mínima [14], lo que permite la construcción de biosensores ópticos.

La superficie química de nanocorazas de oro necesita adaptarse para aplicaciones específicas [15]. En la actualidad, las estrategias de conjugación de moléculas-nanopartículas de oro incluyen la interacción hidrófoba, iónica, la quimisorción y el uso de agentes de enlace [16]. Wang et al. [17] estudiaron la interacción de unión entre nanopartículas de Au y proteínas de papaína mediante espectroscopia de fluorescencia. Se informó la formación de puentes de hidrógeno y la interacción de Van der Waals entre nanopartículas de oro esféricas ( $\sim 4$  nm). Además, la lectina *Ricinus communis* aglutinina (RCA) y nanopartículas de oro ( $\sim 13$  nm) se unieron utilizando la técnica de estreptavidina-biotina, mediante espectroscopia de fluorescencia se determinaron aproximadamente 12 proteínas conjugadas con cada nanopartícula de oro [18]. Se conjugaron nanoesferas de oro de 10 nm de tamaño con proteínas anti-*E. coli*. Las estructuras metálicas se funcionalizaron superficialmente con grupos carboxilo (-COOH) y el anticuerpo se unió covalentemente con un grupo amino. Mediante espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS), se observó un pico a 398 eV relacionado con el nitrógeno de la proteína, concluyendo la correcta funcionalización de las nanopartículas de oro [19]. Vale la pena mencionar que, el método de monocapa autoensamblado (SAM) es ampliamente utilizado porque es posible proporcionar una capa con grupos funcionales para unir de manera homogénea moléculas como proteínas [20].

Bertok y colaboradores utilizaron alcanetioles como ácido mercaptoundecanoico (MUA) mezclado con mercaptohexanol (MCH) para unir lectina SNA para la construcción de biosensores electroquímicos [20]. Silva et al. [21] llevaron a

cabo la construcción de un biosensor electroquímico. Básicamente, se funcionalizó un electrodo de oro con ácido 16-mercaptohexadecanoico con grupos carboxilo terminales. Como paso final, se unió *S. nigra* a la superficie del electrodo utilizando la ruta de carbodiimida. En el presente trabajo se reporta la bioconjugación de nanoestructuras de SiO<sub>2</sub>@Au con *Sambucus nigra* para obtener un biosensor óptico-térmico. Se reporta la formación de nanopartículas esféricas de SiO<sub>2</sub> que sirvieron como plantillas para la síntesis de nanocorazas de oro, además se informa sobre la unión de las nanocorazas de oro y proteína.

## 2. Metodología

### 2.1. Síntesis de esferas de SiO<sub>2</sub>.

El método Stöber fue utilizado para sintetizar nanopartículas de dióxido de silicio (SiO<sub>2</sub>) con algunas modificaciones. El método involucra la hidrólisis y condensación del TEOS bajo condiciones alcalinas en presencia de alcohol [22]. En este trabajo de investigación, se utilizó al hidróxido amonio (NH<sub>4</sub>OH, de 28-30 % como NH<sub>3</sub>) como sistema catalizador, al TEOS como precursor molecular de SiO<sub>2</sub> y manteniendo el mismo contenido de agua. En la Tabla 1, se presentan las condiciones de concentración de los precursores moleculares utilizados.

Tabla 1. Concentraciones molares de precursores de esferas de SiO<sub>2</sub>.

Muestra	NH <sub>3</sub> mol/l	H <sub>2</sub> O mol/l	TEOS mol/l
S1	1,60	5,9	0,037
S2	0,98	5,9	0,037
S3	0,49	5,9	0,037

### 2.2. Síntesis de nanoestructuras de SiO<sub>2</sub>@Au

El crecimiento de la nanocorazas metálicas sobre plantillas de SiO<sub>2</sub> se realizó utilizando el método denominado de un solo paso (One-step method) [13] con ligeras modificaciones. El método involucró la amino-funcionalización de esferas de dióxido de silicio. La funcionalización se realizó utilizando el 3-aminopropiltriétoxissilano (APTES) que provee de grupos silano y amino (NH<sub>2</sub>) en cada extremo. Las estructuras de SiO<sub>2</sub>-NH<sub>2</sub> se mezclaron con una solución de hidróxido de oro (Au (OH)<sup>-</sup><sub>3</sub>) conteniendo hidróxido de sodio (0.1 mol/l) y ácido cloroáurico (6.35 mmol/l). La mezcla fue calentada a 70 °C y puesta en agitación durante 30 minutos. Así se originó la **solución semilla** (SiO<sub>2</sub>-AuOH<sub>3</sub>) que se

define como nanoesferas de dióxido de silicio decoradas con nanopartículas de hidróxido de oro.

Por otro lado, se preparó una solución de hidróxido de oro  $[\text{Au}(\text{OH})_4]^-$  añejada y formada por 1.5 ml de una solución de ácido cloroáurico (a 25 mmol/l) y 60 mg de carbonato de potasio, la solución se dejó en agitación por toda la noche a temperatura ambiente. A esta solución se le denominó **K-oro**. Diferentes relaciones volumétricas de solución semilla y K-oro fueron mezclados (1:1, 1:3, 1:5, 1:7, 1:9, 1:20 y 1:50) manteniendo constante el volumen de 7.5 ml de K-oro. 0.75 ml de una solución fresca de borohidruro de sodio (6.6 mmol/l) y 0.375 ml de citrato de sodio (10 mmol/l) fueron adicionados. La reacción se dejó en agitación durante 30 minutos para obtener las nanoestructuras de  $\text{SiO}_2@Au$ . Las muestras fueron lavadas y centrifugadas. Las nanoestructuras de  $\text{SiO}_2@Au$  así preparadas fueron recuperadas en 1 ml de agua desionizada.

### **2.3. Funcionalización nanoestructuras de $\text{SiO}_2@Au$**

En este trabajo, se insertaron grupos carboxilo en la superficie de las nanocorazas de oro, mediante la estrategia de monocapas de autoensamble [20]. Para la funcionalización de nanocorazas de oro se usó el ácido mercaptoundecanoico (MUA, por sus siglas en inglés) que es un agente enlazante comúnmente utilizado, debido a que en su estructura química posee grupos sulfidrilos ( $-\text{SH}$ ) y carboxilos terminal ( $-\text{COOH}$ ). Está bien documentado que grupos  $-\text{SH}$  poseen una alta afinidad de adsorción a la superficie de nanopartículas de oro. También es necesario el mercapto-hexanol (MCH) ya que contiene grupos hidroxilo ( $-\text{OH}$ ) terminal que ayuda a estabilizar y distribuir de manera homogénea los carboxilos.

En 40 ml de etanol 0.5 mg de nanocorazas fueron mezclados con diferentes concentraciones de MUA-MCH desde 5, 15, 25 hasta 50 mg, obteniendo relaciones 1:10, 1:30, 1:50 y 1:100 respectivamente. La reacción se dejó agitar vigorosamente por 1.5 h a temperatura ambiente. La suspensión coloidal fue lavada mediante centrifugación y enjuagada con una solución de PBS al menos 5 veces. El pellet fue recuperado y secado a 30 °C para obtener polvos de nanocorazas de oro funcionalizadas  **$\text{SiO}_2@Au\text{-COOH}$** .

## 2.4. Conjugación de nanoestructuras de $\text{SiO}_2@Au$ con *Sambucus nigra*

Los grupos carboxilos pueden reaccionar con aminas primarias ( $-\text{NH}_2$ ) por medio de una reacción de condensación que conduce a la formación de enlaces amida [16]. Para cumplir lo anterior, se hace uso de una solución de clorhidrato 1-etil-3-(3-dimetilamino) propil carbodiimida (EDC) que induce la reactividad del grupo carboxilo que reacciona con aminas primarias, en presencia de N-hidroxi-succinimida (NHS) [23].

1 mg de nanocorazas funcionalizadas  $\text{SiO}_2@Au\text{-COOH}$  fueron mezcladas con 600  $\mu\text{l}$  de una solución EDC/NHS (a 60 mM y 15 mM respectivamente), la solución se dejó agitar a 300 rpm por 30 minutos. La solución fue lavada mediante centrifugación (8000 rpm) al menos 5 veces. El precipitado fue disuelto en 4 ml de PBS y se agregó 50  $\mu\text{g}$  de lectina *Sambucus nigra*, la solución se dejó en agitación a temperatura ambiente por 3 h y se lavó por centrifugación, para eliminar la proteína no unida a las nanocorazas de oro. Antes de caracterizar las muestras las soluciones coloidales fueron centrifugadas por al menos 5 minutos.

## 2.5. Caracterización

La caracterización de la formación de nanoestructuras y conjugados de  $\text{SiO}_2@Au$  se realizó mediante técnicas espectroscópicas y microscópicas: para la caracterización por microscopía electrónica de barrido (SEM/EDS, modelo JEOL JSM IT300 con espectroscopia de rayos X de dispersión de energía) se depositaron las muestras en el portamuestras de aluminio. Espectroscopia UV-Vis (espectrofotómetro Genesys 10S, Thermo científico) las medidas se realizaron en muestras dispersas en agua. La microscopía electrónica de transmisión (TEM, modelo JEOL JEM 1010) para TEM se depositó cada una de las muestras coloidales sobre una rejilla de cobre (cubierta con una película FORMVAR) hasta que el disolvente se evaporó a temperatura ambiente. Se usó el difractómetro Rigaku Smartlab en la configuración Bragg-Brentano para las mediciones de difracción de rayos X (XRD), las muestras se analizaron en polvo usando la radiación  $\text{CuK}\alpha$  ( $\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$ ), el difractómetro se hizo funcionar a una velocidad de escaneo de  $0.02^\circ/\text{s}$  en un rango de  $2\theta$  de  $10\text{-}90^\circ$ . Se tomaron espectros infrarrojos por triplicado en un rango de  $400\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$  con una resolución de  $4 \text{ cm}^{-1}$  en un espectrofotómetro Alpha, Bruker mediante la técnica de reflectancia total atenuada (ATR), las muestras se disolvieron en agua desionizada y/o PBS basado en el

solvente. Los espectros de dicroísmo circular (DC) se registraron en un espectropolarímetro Jasco J-600 (190-250 nm) a 25 °C, las muestras se depositaron en una celda de cuarzo rectangular con una trayectoria de 1 mm. Los datos fueron expresados en términos de elipticidad molar ( $\theta$ ) grados.cm<sup>2</sup>.dmol<sup>-1</sup>.

## 2.6. *Espectroscopia de Lente Térmica*

Entre las técnicas fototérmicas de caracterización, altamente sensibles que proporcionan de una manera cuantitativa, información de las propiedades ópticas y térmicas de una muestra es la espectroscopia de lente térmica o lente térmica (TL) que mide la variación del índice de refracción y la difusividad térmica. El procedimiento experimental para determinar la difusividad térmica, involucra la incidencia de un láser de excitación con perfil gaussiano TEM<sub>00</sub> sobre la muestra causando la absorción de energía y su transformación en calor por un proceso no-radiativo. En este caso, un gradiente de temperatura transversal es establecido, y debido al coeficiente de temperatura del índice de refracción,  $dn/dT$ , se crea un elemento similar a la lente óptica, cuando se hace pasar un segundo laser de prueba en esta región, produciendo un efecto que causa un enfoque o desenfoque del haz de luz, y este fenómeno producido, es denominado lente térmica.

El arreglo experimental de la espectrometría de lente térmica de dos haces en el modo desacoplado es observado en el esquema de la Figura 1. El sistema de lente térmica se compone de un láser de excitación (Ar<sup>+</sup>Xe) con  $\lambda = 514$  nm (40 mW), este laser se enfoca a la muestra por un lente convergente ( $\omega_e = 40$   $\mu$ m). La exposición de la muestra al haz de excitación fue controlada por medio de un obturador (shutter), que fue directamente conectado a un osciloscopio digital. El láser de prueba (He-Ne) con  $\lambda = 632.8$  nm operado a una potencia de 0.9 mW fue enfocado hacia la muestra [24]. Después de pasar a través de la muestra el haz es reflejado por espejos hasta el fotodetector o fotodiodo. La señal saliente del fotodetector fue acoplado a una tarjeta de adquisición de datos y posterior a una computadora para procesar los datos obtenidos.

En 1992 Shen et al. [25] implementaron por primera vez el modelo de espectroscopia de lente térmica de doble haz en modo desacoplado, y la solución de la teoría de lente térmica se basa en términos de la difracción de Fresnell, la intensidad del haz de prueba después de pasar a través de la muestra. La intensidad

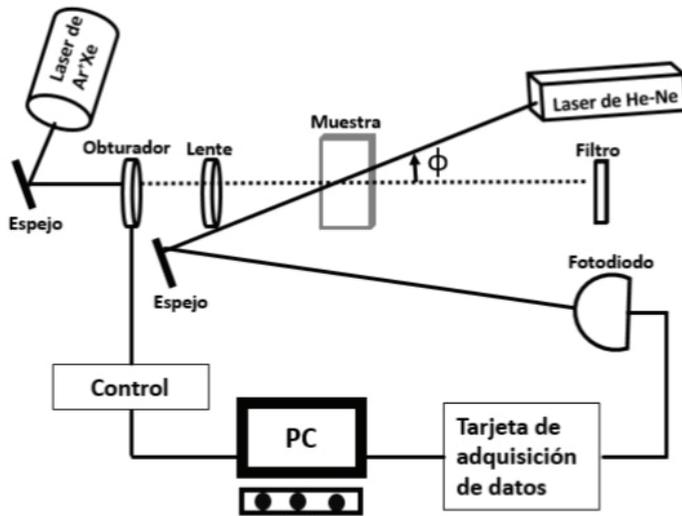


Figura 1. Esquema de la representación del arreglo experimental de espectroscopia de lente térmica en modo desacoplado de doble haz.

del haz hacia el detector puede ser reescrita como una expresión analítica para la determinación absoluta de propiedades termo-ópticas a la muestra como:

$$I(t) = \frac{I(t)}{I(0)} = \left[ 1 - \frac{\theta}{2} \tan^{-1} \left( \frac{2mV}{[(1+2m)] \frac{t_c}{2t} + 1 + 2m + V^2} \right) \right] \quad (1)$$

Donde

$$V = \frac{Z_1}{Z_c} \quad (2)$$

$$m = \frac{\omega_p}{\omega_e} \quad (3)$$

$$\theta = - \frac{P_e A_e \nu_o}{k \lambda_p} \left( \frac{dn}{dt} \right) \quad (4)$$

$I(t)$  es la intensidad del haz de prueba al detector, dependiente del tiempo;  $I(0)$  es el valor inicial de  $I(t)$ ;  $\theta$  es el corrimiento de fase inducido térmicamente del haz de prueba después de atravesar la muestra;  $Z_c$  (12.89 cm) es la distancia confocal del haz de prueba;  $Z_1$  (8 cm) es la distancia de la muestra a la posición del radio mínimo del haz de prueba;  $\omega_e$  y  $\omega_p$  es el tamaño del spot del haz de excitación y de prueba respectivamente a la muestra;  $k$  y  $D$  es la conductividad térmica y la difusividad de la muestra;  $P_e$  es la potencia del haz incidente;  $A_e$  es el coeficiente de absorción óptica a la longitud de onda del haz de excitación  $\lambda_e$ ;  $\lambda_p$

es la longitud de onda del láser de prueba;  $l_0$  es el espesor de la muestra;  $dn/dT$  es la razón del índice de refracción con respecto a la temperatura de la muestra.

$$D = \frac{\omega_c^2}{4t_c} \quad (5)$$

Donde  $t_c$  es el tiempo crítico de la formación de la lente térmica con  $D = k/(\rho c_p)$  donde  $\rho$  es la densidad y  $c_p$  es la calor específico de la muestra. El valor experimental de la cintura del haz de excitación es  $\omega_c = 40 \mu\text{m}$ . Así ajustando la ecuación  $I(t)$  a los datos experimentales como función del tiempo, es posible obtener la difusividad térmica  $D$  (Ecuación 5) a partir del tiempo crítico como un parámetro ajustable [26]. Para las medidas de lente térmica las muestras se re-dispersaron en un ultrasonido para asegurar la correcta dispersión de las partículas.

### 3. Resultados

#### 3.1. Nanoesferas de $\text{SiO}_2$

Las muestras coloidales de  $\text{SiO}_2$  fueron analizadas por microscopía TEM. En la Figura 2 se muestran las micrografías obtenidas de las muestras preparadas. Estructuras esféricas bien definidas son claramente observadas en todas las

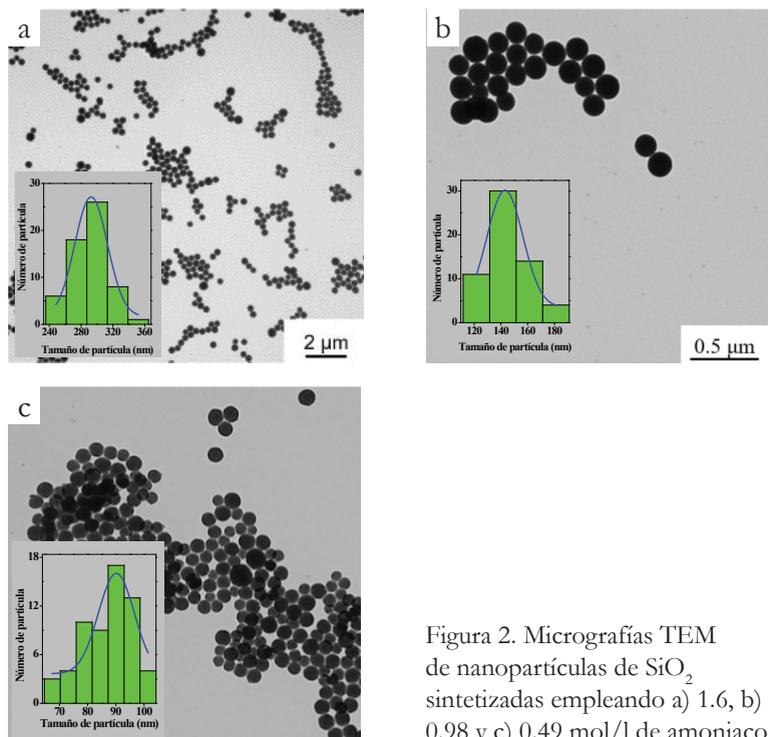


Figura 2. Micrografías TEM de nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  sintetizadas empleando a) 1.6, b) 0.98 y c) 0.49 mol/l de amoníaco.

micrografías. El diámetro promedio de las partículas fue estimado realizando más de 80 medidas directas en las micrografías y sus histogramas de distribución de tamaño obtenidos son presentados como insertos en cada una de las micrografías. Partículas en escala nanométrica de 90 nm a 293 nm fueron obtenidas. Se observa que el tamaño promedio de nanopartículas disminuyó a medida que la concentración de amoníaco fue menor. Los valores de la desviación estándar  $< 20\%$  confirman la homogeneidad de todas las muestras sintetizadas [27]. Las dispersiones coloidales fueron estables por meses.

Las muestras fueron analizadas por EDS para determinar la composición química (en porcentaje atómico) de los diferentes tamaños de nanopartículas de  $\text{SiO}_2$ . En la Figura 3a se muestra el espectro EDS de esferas de  $\text{SiO}_2$  sintetizadas con 1.6 mmol de amoníaco. Se puede apreciar la presencia exclusiva de silicio y oxígeno en las partículas, que indica una alta pureza en la muestra [28]. Espectros de difracción de rayos-X fueron realizados en las nanoesferas de  $\text{SiO}_2$ . Un halo

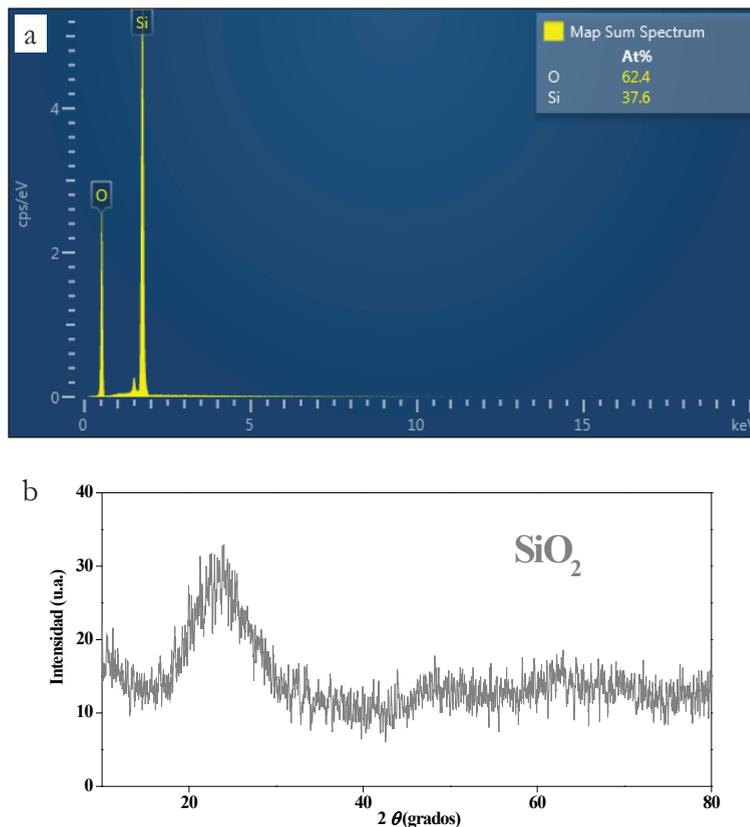


Figura 3. a) Espectro EDS de esferas de  $\text{SiO}_2$ , b) espectro de difracción de rayos X de esferas de dieléctricas con tamaño de 293 nm.

amplio fue registrado a 22 grados, indicando que las nanopartículas de dióxido de silicio sintetizadas tienen fase amorfa [28]. Todas las muestras registraron el mismo comportamiento, en la Figura 3b se representa el espectro XRD de nanoesferas de  $\text{SiO}_2$  con tamaño de 293 nm.

Las nanoesferas de  $\text{SiO}_2$  fueron caracterizadas por FTIR. Los principales grupos vibracionales de las nanopartículas se presentan en la Figura 4. Los picos de absorción a 455 y 550  $\text{cm}^{-1}$  se relacionan a la vibración óptico transversal y longitudinal respectivamente de tipo balanceo de siloxano Si-O-Si, el modo vibracional correspondiente a la tensión simétrica de Si-O-Si es observado a 800  $\text{cm}^{-1}$ , la banda de absorción más intensa a 1080  $\text{cm}^{-1}$  y la localizada a 1200  $\text{cm}^{-1}$  son atribuidas a las tensiones asimétrica en fase y fuera de fase del Si-O-Si, respectivamente [29, 30]. La frecuencia vibracional localizada a 955  $\text{cm}^{-1}$  está relacionada con la tensión del Si-OH y su intensidad muestra la presencia de una gran cantidad de -OH en la superficie de la nanoesfera [31]. Finalmente los máximos de absorción correspondientes a las frecuencias vibracionales de flexión y tensión de los -OH de las moléculas de agua presentes sobre la superficie de las esferas de  $\text{SiO}_2$ , se localizan a 1640  $\text{cm}^{-1}$  y 3362  $\text{cm}^{-1}$  [8].

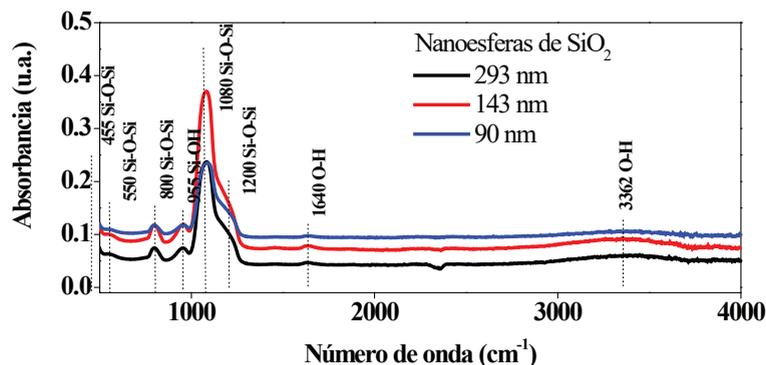


Figura 4. Espectros FTIR de nanopartículas de  $\text{SiO}_2$  sintetizadas con  $\text{NH}_3$  a diferentes concentraciones molares.

### 3.2. Decorado de $\text{SiO}_2$ con nanopartículas de $\text{Au}(\text{OH})_3$

La etapa de amino-funcionalización fue monitoreada por FTIR. En la Figura 5 se muestra el espectro negro perteneciente a las esferas de  $\text{SiO}_2$  con tamaño promedio de 293 nm, se puede apreciar las principales bandas de silanol y siloxano (véase la Figura 4 para más detalle). Los picos relacionados a enlaces silanol 950  $\text{cm}^{-1}$  y

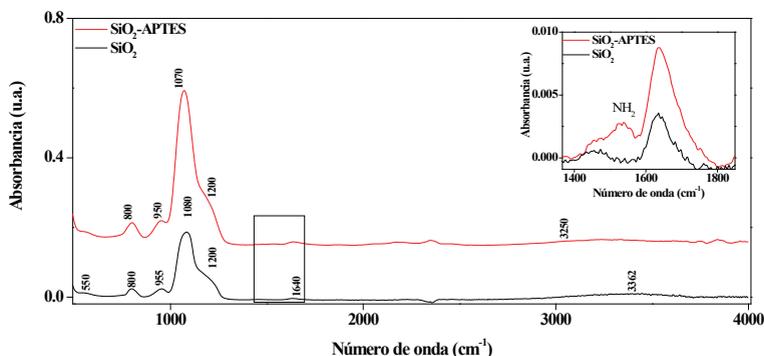


Figura 5. Espectro FTIR de esferas de SiO<sub>2</sub> con y sin funcionalización.

siloxanos a 1070-1200 cm<sup>-1</sup> son similares entre esferas antes y después de funcionalizar. La región entre 1400 y 1800 cm<sup>-1</sup> fue ampliada (mostrado en el inserto). A 1510 cm<sup>-1</sup> fue registrada una nueva banda en el espectro de muestras de esferas de SiO<sub>2</sub> funcionalizadas, esta última banda se asocia al -NH<sub>3</sub><sup>+</sup> producto de la incorporación de grupos funcionales sobre la superficie de las esferas dieléctricas [32].

Una solución conteniendo hidróxido de oro (Au(OH)<sub>3</sub><sup>-</sup>) fue mezclada con esferas de SiO<sub>2</sub> amino-funcionalizadas, esto permitió la formación de nanopartículas de hidróxido de oro sobre la superficie de las plantillas dieléctricas [13].

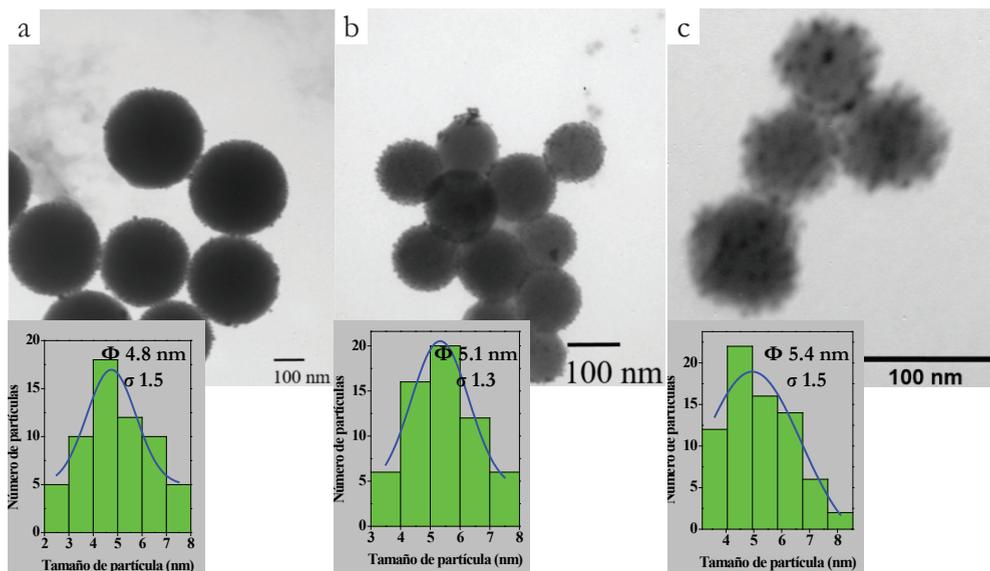


Figura 6. Micrografías TEM de SiO<sub>2</sub> decorado con nanopartículas de oro, utilizando tres diferentes tamaños de plantillas a) 293, b) 143 y c) 90 nm cada micrografía tiene su histograma de distribución de tamaño.

Micrografías TEM fueron obtenidas de las esferas de  $\text{SiO}_2$  decoradas con Au. Nanopartículas de oro con forma esférica y tamaño nanométrico fueron observados en la Figura 6. Histogramas de distribución de tamaño fueron obtenidos al contabilizar 60 nanopartículas de oro en cada plantilla dieléctrica. El tamaño promedio de nanopartícula de oro incrementó de 4.8, 5.1 y 5.4 nm al disminuir el diámetro de la esfera de  $\text{SiO}_2$  de 293, 143 y 90 nm respectivamente. Resultados similares fueron reportados por Kah et al., 2008 [13].

### 3.3. Formación de nanoestructuras de $\text{SiO}_2@Au$

De acuerdo a la metodología de One-step, el primer paso involucró la síntesis de estructuras semillas, es decir, esferas de  $\text{SiO}_2$  decorados con nanopartículas de hidróxido de oro. Esferas de  $\text{SiO}_2$  con tamaño de 293 nm fueron utilizados como plantilla para depositar las nanopartículas de oro ( $\text{Au}(\text{OH})_3$ ) y posteriormente la síntesis de nanocoraza de oro. Es importante mencionar que, para nuestro caso las esferas de  $\text{SiO}_2$  restantes (diferente diámetro) no fue posible obtener bandas de absorción a 740 nm, por lo tanto los mejores resultados obtenidos fue cuando se utilizaron esferas de  $\text{SiO}_2$  con diámetros de  $\sim 293$  nm.

De acuerdo a la teoría cada partícula de hidróxido de oro actúa como sitio de nucleación [33] que crece en tamaño hasta formar islotes, los islotes se unen entre si hasta formar una completa coraza metálica sobre la plantilla dieléctrica. La síntesis se realizó mezclando diferentes relaciones volumétricas de solución semilla ( $\text{SiO}_2$  decorado) y solución k-oro conteniendo hidróxido de oro ( $\text{Au}(\text{OH})_4$ ). Las muestras coloidales fueron preparadas conteniendo relaciones de 1/1, 1/3, 1/5, 1/7, y 1/9 de solución semilla y k-oro respectivamente, el volumen de k-oro se mantuvo constante (7.5 ml). El proceso de crecimiento de corazas fue monitoreado por espectroscopia UV-Vis. En la Figura 7 (a, b) se muestran los espectros de absorción de nanocorazas sintetizadas utilizando esferas de  $\text{SiO}_2$  de 293 nm. En la Figura 7a se observa un corrimiento en la banda de absorción a la región del infrarrojo a medida que se incrementa el volumen de la solución k-oro. La banda de absorción experimenta un corrimiento a mayores longitudes de onda hasta que la coraza metálica sea completada [11, 13], es decir, el espectro de la muestra 1/1 son de nanocorazas incompletas. Vale la pena mencionar que en la muestra 1/9 presenta dos bandas de absorción localizadas a 820 nm y a 560 nm, la banda de absorción en la región visible (560 nm) se asocia a la presencia de nanopartículas de oro no incorporadas en la coraza metálica. Al incrementar el volumen de k-oro en las muestras 1/50 y 1/95 los espectros revelaron bandas de

absorción en la región visible a 520 nm (Figura 7b), esto último sugiere la síntesis de nanopartículas de oro. En la muestra coloidal 1/7 también se detectó la banda de absorción a 560 nm (dato no mostrado), por lo tanto la mejor muestra es 1/5 con un pico de absorción alrededor de 740 nm. Como dato adicional el inserto de la Figura 7b muestra el color característico de las soluciones coloidales obtenidas.

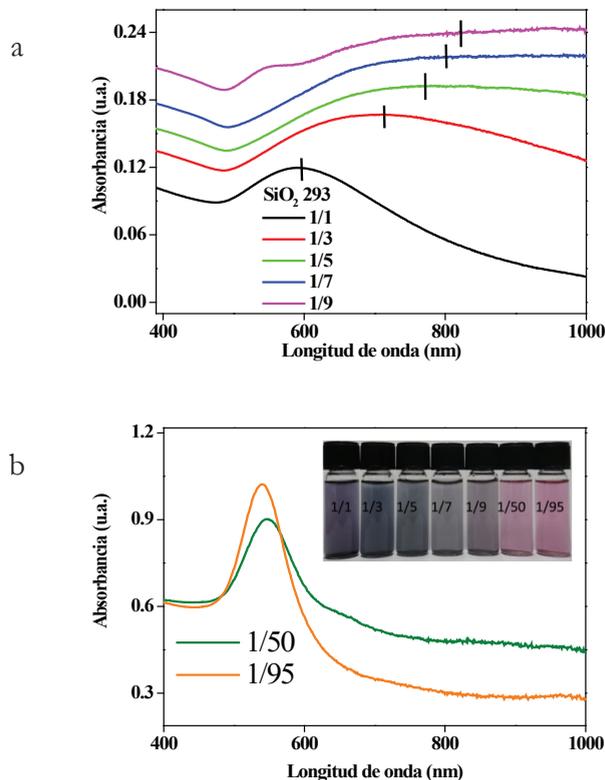


Figura 7. Espectros de absorción UV-Vis de nanocorazas de oro sintetizados con diferentes relaciones volumétricas de solución semilla y k-oro desde a) 1/1 a 1/9 y b) 1/50 y 1/95. El inserto de la Figura 7b muestra viales con soluciones coloidales obtenidas.

La estructura cristalina de las muestras coloidales fue caracterizada por difracción de rayos-X. En la Figura 8 se muestra el difractograma de esferas de  $\text{SiO}_2$ , únicamente un halo amplio a 22 grados fue registrado, indicando que las nanopartículas de dióxido de silicio son de fase amorfa [28]. De la misma manera en muestras de  $\text{SiO}_2$ -Au (OH)<sub>3</sub> no fue posible asociar algún tipo de estructura cristalina. En contraste, cuatro picos bien definidos alrededor de 38.3° (111),

44.4° (200), 64.7 (220) y 77.4° (311) evidencian la estructura cristalina cubica centrada en la cara del oro de acuerdo a Netzahual-Lopantzi et al. (2019) [34].

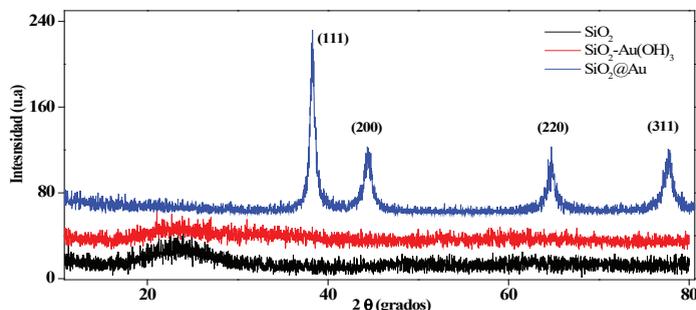


Figura 8. Espectros de difracción de rayos X de esferas de SiO<sub>2</sub>, SiO<sub>2</sub> decorado con nanopartículas de Au(OH)<sub>3</sub> y de nanocorazas de oro.

Espectros XPS de nanocorazas son mostrados en la Figura 9, para el oro Au 4f dos picos localizados en 84 y 86 eV son asociados al Au<sup>0</sup> y Au<sup>+3</sup> respectivamente, demostrando la presencia del oro en estado metálico, valores similares al reportado por Sun *et al.*, 2019 [35]. El espectro de Si 2p exhibe un pico alrededor de 103.3 eV que corresponde a la presencia del silicio. Finalmente un pico claramente definido a 533 eV es relacionado a la presencia de O1s del oxígeno. [36, 37]. Estos resultados, confirman la formación de nanoestructuras tipo núcleo-coraza de SiO<sub>2</sub>@Au

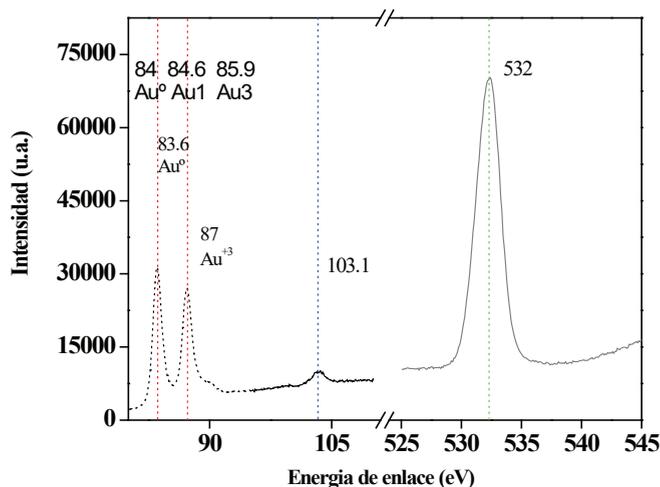


Figura 9. Espectro XPS de estructuras núcleo-coraza de SiO<sub>2</sub>@Au.

En la Figura 10 se muestra la micrografía TEM de nanocorazas sintetizadas con una relación volumétrica 1/5 de solución semilla y k-oro. Se observa claramente una superficie rugosa en cada nanopartícula de  $\text{SiO}_2$ , esta morfología es producto del crecimiento de la coraza de oro [38]. El espesor de las corazas metálicas se cuantificó de la diferencia del valor medido del diámetro de 60 partículas antes y después de la síntesis de nanocorazas. De acuerdo al inserto del histograma de la Figura 10 el espesor promedio obtenido fue de 14 nm.

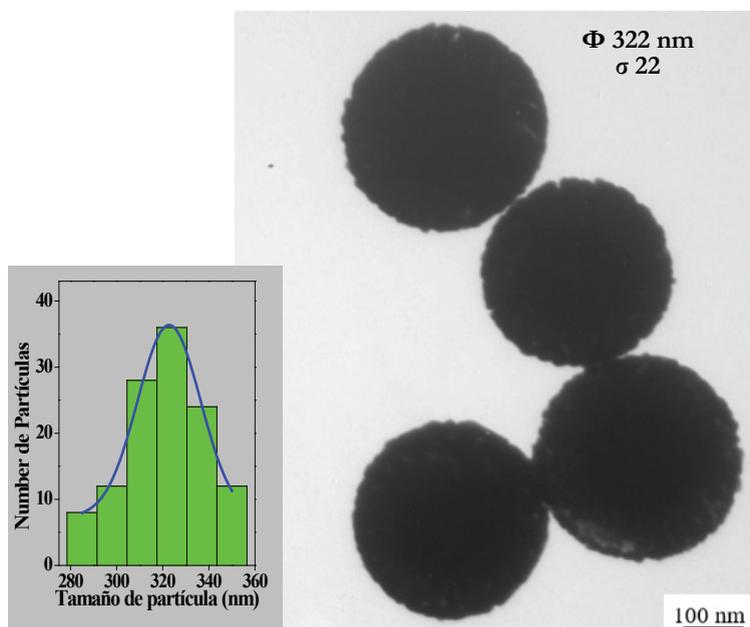


Figura 10. Micrografía TEM e histograma de distribución de tamaño de nanocorazas de oro depositados sobre esferas de  $\text{SiO}_2$  de 293 nm.

### 3.4. Caracterización por espectroscopia de lente térmica

La síntesis de nanocorazas de oro ( $\text{SiO}_2$ @Au) se ha monitoreado por técnicas espectroscópicas y microscópicas, el estudio de sus propiedades térmicas hasta el momento no se han reportado. Por lo tanto, la difusividad térmica durante la formación de nanocorazas en cuatro etapas fue estudiada. En la Figura 11 se muestra la señal de lente térmica (TL) en función del tiempo de las diferentes etapas de formación de nanocorazas de oro. Se registró un decremento en la señal TL a medida que transcurre el tiempo. Además la señal TL oscila en milisegundos lo cual es esperado para el efecto fototérmico [39].

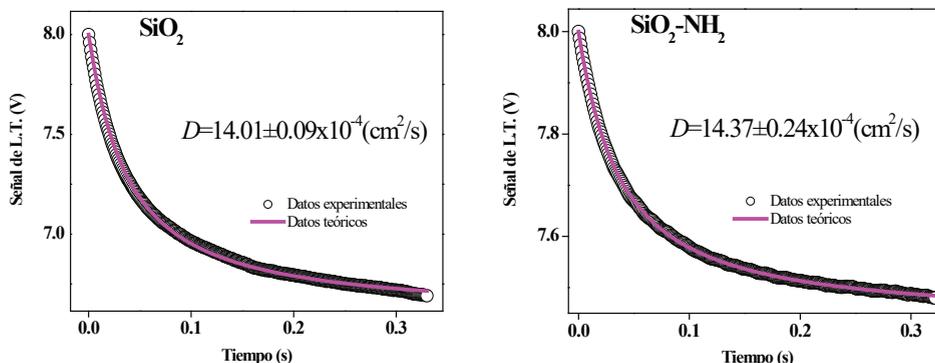


Figura 11. Señal de lente térmica en función del tiempo de a) esferas de  $\text{SiO}_2$  y b) nanoestructuras tipo núcleo-coraza de  $\text{SiO}_2@Au$ .

Los parámetros térmicos de las nanocorazas de oro en sus diferentes etapas de formación son mostrados en la Tabla 2, el cual es el resultado de al menos 10 medidas repetitivas. El parámetro  $\theta$  oscila entre  $5.43 \pm 0.24$  y  $22.07 \pm 0.62$ , el tiempo característico de la lente térmica ( $t_c$ ) está entre  $3.09 \pm 0.08$  y  $4.28 \pm 0.02$  ms. La difusividad térmica oscila entre  $14.01 \pm 0.09$  y  $19.40 \pm 0.55 \times 10^{-4}$   $\text{cm}^2/\text{s}$ . Es importante resaltar que los valores de difusividad térmica incrementaron a medida que los valores de  $t_c$  disminuyeron, esto es esperado porque la difusividad térmica ( $D$ ) es inversamente proporcional [40] al tiempo característico de acuerdo a la siguiente ecuación:

$$t_c = \frac{\omega_e^2}{4D} \quad (6)$$

Donde  $t_c$  es el tiempo característico de la lente térmica,  $\omega_e^2$  es el radio del haz de prueba dentro de la muestra y  $D$  es la difusividad térmica.

Tabla 2. Parámetros térmicos de las diferentes etapas de formación de nanoestructuras núcleo-coraza de  $\text{SiO}_2@Au$  obtenidos por espectroscopia de lente térmica.

Estructura núcleo-coraza				
Muestra	Concentración	$D$	$t_c$	$\theta$
	mg/ml	$D(10^{-4}\text{cm}^2/\text{s})$	$\text{s}(10^{-3}\text{s})$	$10^{-2}$
$\text{SiO}_2$	0.1	$14.01 \pm 0.09$	$4.28 \pm 0.02$	$22.07 \pm 0.62$
$\text{SiO}_2\text{-NH}_2$	0.1	$14.37 \pm 0.24$	$4.02 \pm 0.06$	$7.85 \pm 0.22$
$\text{SiO}_2\text{-Au(OH)}_3$	0.1	$15.49 \pm 0.18$	$3.87 \pm 0.04$	$6.97 \pm 0.22$
$\text{SiO}_2@Au$	0.1	$19.40 \pm 0.55$	$3.09 \pm 0.08$	$5.43 \pm 0.24$

Usando la espectroscopia de lente térmica se registró un aumento en la difusividad térmica (mostrado en la Figura 12 a medida que se incorporaron especies moleculares, complejos metálicos y finalmente una completa coraza metálica sobre una plantilla dieléctrica como el SiO<sub>2</sub>. Se ha reportado que el dióxido de silicio se comporta como un aislante térmico [41] a diferencia de nanopartículas de oro [42]. En este trabajo, la difusividad térmica del SiO<sub>2</sub> es de  $\sim 14.01 \times 10^{-4}$  cm<sup>2</sup>/s y de nanocorazas de oro es  $\sim 19.40 \times 10^{-4}$  cm<sup>2</sup>/s por lo que un mejoramiento térmico del 35 % fue registrado de acuerdo a la siguiente relación:

$$D = \frac{D_{nc} - D_s}{D_s} \times 100 (\%) \quad (7)$$

Donde,  $D_{nc}$  y  $D_s$  son la difusividad térmica de las nanocorazas de oro y de esferas de SiO<sub>2</sub> respectivamente.

El incremento de difusividad térmica se justifica a continuación: el espesor de las nanocorazas es de  $\sim 13$  nm, valor por debajo de la trayectoria libre media de electrones de conducción (40-50 nm). Esta condición permite que nanoestructuras de oro con banda de absorción en el infrarrojo cercano posean un tiempo de relajación electrón-fonón del orden de picosegundos [43], por lo que esta rápida relajación permite que nanocorazas con absorción alrededor de 740 nm posean más energía y por lo tanto una mayor difusividad térmica.

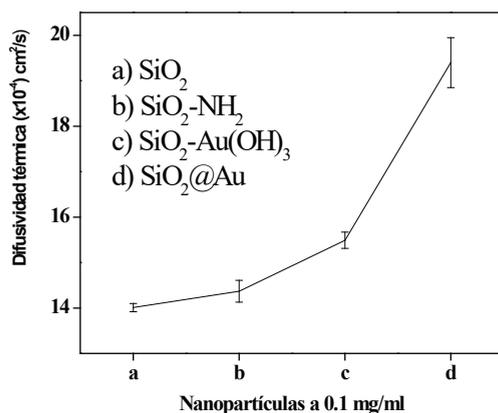


Figura 12. Valores de difusividad térmica de las diferentes etapas de formación de nanocorazas de oro depositados sobre esferas de SiO<sub>2</sub> a una concentración de 0.1 mg en 1 ml de agua desionizada.

### 3.5. Conjugación de nanoestructuras de $\text{SiO}_2@Au$ con *Sambucus nigra*.

Para la funcionalización de las nanoestructuras de  $\text{SiO}_2@Au$ , diferentes relaciones de mercaptohexanol/ácido mercaptoundecanoico/ $\text{SiO}_2@Au$  (MCH/MUA/ $\text{SiO}_2@Au$ , w/w/w) fueron mezclados desde 1:10:10, 1:30:30, 1:50:50 y 1:100:100 respectivamente. En la Figura 13 se muestran espectros FTIR de nanocorazas funcionalizadas con una relación 1:10:10 así como el mercaptohexanol y mercaptoundecanoico. En el inserto de la Figura 13 se muestra el espectro negro y azul que pertenecen al mercaptohexanol y mercaptoundecanoico respectivamente. Dos bandas de absorción fueron registrados entre  $2927\text{-}2915\text{ cm}^{-1}$  relacionada a enlaces tensión simétrica de C-H y  $2855\text{-}2847\text{ cm}^{-1}$  relacionados a enlaces de tensión asimétrica de C-H [44]. El espectro (azul) de MUA presentó una banda localizada a  $1690\text{ cm}^{-1}$ , esta es asociada a enlaces carbonilo de ácidos carboxílicos C=O [45]. El espectro gris de nanocorazas sin funcionalizar mostró una ausencia de bandas que indiquen presencia de grupos funcionales aportados por MCH y MUA. El espectro rosa corresponde a nanocorazas funcionalizadas, la presencia de las bandas a  $2922$  y  $2854\text{ cm}^{-1}$  evidencia los enlaces vibracionales de MCH y MUA. Por otra parte, se registró un corrimiento a  $1720\text{ cm}^{-1}$  de grupos funcionales carboxilos. El corrimiento a mayores números de onda de grupos carbonilos sugiere la exposición de C=O a la superficie de  $\text{SiO}_2@Au$  [45]. Estos resultados evidencian de la funcionalización de nanocorazas de oro con grupos carboxilo.

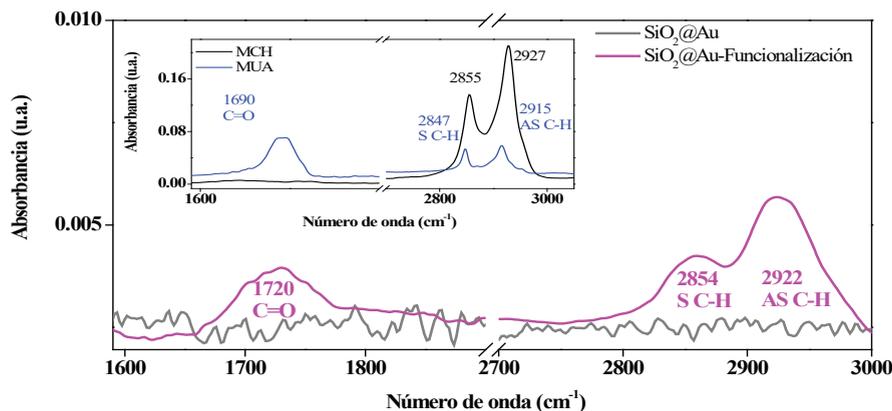


Figura 13. Espectros FTIR de nanocorazas de oro y su funcionalización con grupos carboxilo a partir de MUA. *Inserto*: espectros de moléculas funcionalizantes.

Una solución coloidal conteniendo nanoestructuras de  $\text{SiO}_2@Au$  funcionalizadas con ácidos carboxilos ( $-\text{COOH}$ ) fue utilizada para la conjugación con la

lectina *Sambucus nigra* nativa, es decir, proteína pura, misma que fue caracterizada por FTIR a una concentración de 100 µg. El espectro rojo infrarrojo de la Figura 14a corresponde a la proteína nativa. Alrededor de 1640 cm<sup>-1</sup> se registró una banda asociada con amida primaria I, y es originada por enlaces de tensión C=O y C-N [15], además se correlaciona con un contenido de α-hélice [46]. Por otra parte, una segunda banda localizada a 1540 cm<sup>-1</sup> se asocia a amida II y es una contribución de un acoplamiento entre enlaces de tensión C-N y de tipo flexión de N-H [46, 47]. El espectro azul de la Figura 14a corresponde a nanocorazas de oro conjugadas con la proteína, es decir, SiO<sub>2</sub>@Au-SNA. Las bandas de las amidas primarias y secundarias fueron retenidas, el pico de amida I registró un corrimiento de 1640 a 1683 cm<sup>-1</sup>, el efecto en el espectro se asocia a un cambio conformacional de la estructura secundaria de la proteína [15]. Es importante mencionar que las nanoestructuras de SiO<sub>2</sub>@Au carecen de bandas en la región analizada. En la Figura 14b se muestra la micrografía TEM de nanocorazas conjugadas con *Sambucus nigra*. Las partículas conjugadas siguen siendo esféricas, observándose en la superficie topográfica del borde de las nanocorazas un cambio de morfología de rugosa a lisa. Los resultados son similares a los obtenidos por Li et al. (2009) [48].

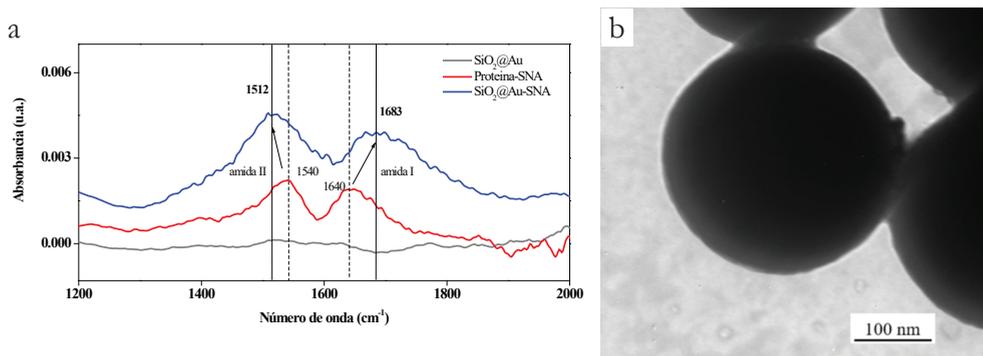


Figura 14. a) espectros FT-IR de nanocorazas de oro con y sin conjugar, b) micrografía TEM de conjugación de SiO<sub>2</sub>@Au con *Sambucus nigra*.

#### 4. Conclusiones

De acuerdo a las concentraciones molares utilizadas de agua, amonio y tetraetil ortosilicato (TEOS), se pudo obtener partículas de SiO<sub>2</sub> con tamaño controlado en la escala nanométrica y monodispersas. Variando la concentración del catalizador (NH<sub>3</sub>) se pudo controlar el tamaño de nanopartículas de SiO<sub>2</sub>. Para concentraciones mayores de catalizador se obtuvieron nanopartículas de SiO<sub>2</sub> de mayor tamaño con una menor dispersidad. Nanoestructuras de SiO<sub>2</sub>@

Au bien definidas fueron obtenidas al mezclar una relación volumétrica de 1/5 de solución semilla y k-oro respectivamente. Los espectros de UV-Vis revelaron un máximo de absorción en 740 nm, y espesores de 14 nm obtenido a partir de micrografía TEM. Además se evidenció la alta calidad de las muestras con estructura policristalina de coraza de Au que fue corroborada por análisis de difracción de rayos X. La caracterización térmica durante las diferentes etapas de formación de las nanocorazas de oro reveló un incremento térmico a medida que la coraza fue crecida. Un mejoramiento térmico del 35 % fue registrado al comparar plantillas dieléctricas y nanocorazas de oro, el incremento en la difusividad térmica se debe a la rápida relajación electrón-fonón de las estructuras metálicas con bandas de absorción en longitudes de onda del infrarrojo cercano.

Las bandas obtenidas por FTIR asociadas a enlaces C=O evidenciaron una la funcionalización de nanocorazas de oro con grupos carboxilos. La presencia de las bandas amidas I y II en espectros infrarrojo de nanocorazas sustenta el anclaje de *Sambucus nigra* en la superficie de partículas metálicas. Además un corrimiento a mayor número de onda en la amida primaria fue registrado, este efecto se asocia a un cambio en la estructura secundaria de la proteína. Una capa de MCH-MUA-proteína cambió la rugosidad de estructuras de SiO<sub>2</sub>@Au obtenido por micrografías TEM. *Sambucus nigra* es una proteína ampliamente utilizada en detección de biomarcadores de cáncer cervicouterino. Una aplicación a futuro es implementar las nanocorazas de oro conjugadas con la proteína como agentes de terapia térmica contra células malignas, aprovechando las propiedades ópticas y térmicas de las nanocorazas de SiO<sub>2</sub>@Au.

## Bibliografía

1. Mohar-Betancourt, A., Reynoso-Noverón, N., Armas-Texta, D., Gutiérrez-Delgado, C., & Torres-Domínguez, J. A. (2017). Cancer Trends in Mexico: Essential Data for the Creation and Follow-Up of Public Policies. *Journal of Global Oncology*, 3(6), 740-748. <https://doi.org/10.1200/JGO.2016.007476>
2. Vallejo-Ruiz, V., Velázquez-Márquez, N., Sánchez-Alonso, P., Santos-López, G., Reyes-Leyva J. R. (2015). La oncoproteína E7 del virus de papiloma humano y su papel en la transformación celular. *Rev Med Inst Mex. Seguro Soc.* 53(Supl 2:S172-7), 53(2), 172-177. <https://www.medigraphic.com/pdfs/imss/im-2015/ims152i.pdf>
3. Torres, L A., Bustamante, I. J. I., Torres, R. A., Posada, O. J. C., Palomares, M. M. A., & Bassaure, R. E. (2013). Cáncer cervicouterino. Perfil epidemiológico en 1,217 pacientes. Seguro Popular. *Ginecol Obstet Mex.*, 81, 71-76. <https://www.medigraphic.com/pdfs/ginobs/mex/gom-2013/gom132b.pdf>
4. Julien, S., Ivetic, A., Grigoriadis, A., QiZe, D., Burford, B., Sproviero, D. et al. (2011). Selectin Ligand Sialyl-Lewis x Antigen Drives Metastasis of Hormone-Dependent Breast Cancers. *Cancer research*, 71(24), 7683-7693. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-11-1139>
5. Velázquez-Marquez, N., Santos-López, G., Jiménez-Aranda, L., Reyes-Leyva, JR., Vallejo-Ruiz, V. (2016). Sialyl Lewis x expression in cervical scrapes of premalignant lesions. *Journal Biosciences, Indian Academy of Sciences.* 37(6), 999-1004. <https://doi.org/10.1007/s12038-012-9261-z>
6. Bronckart, Y., Nagy, N., Decaestecker, C., Bouckaert, Y., Rummelink, M., Gielen, I. et al. (1999). Grading Dysplasia in Colorectal Adenomas by Means of the Quantitative Binding Pattern Determination of *Arachis hypogaea*, *Dolichos biflorus*, *Maackia amurensis*, and *Sambucus nigra* Agglutinins. *Dysplasia characterization in colorectal adenomas*, 30(10), 1178-1191. [https://doi.org/10.1016/S0046-8177\(99\)90035-7](https://doi.org/10.1016/S0046-8177(99)90035-7)
7. Van-Damme, E J., Barre, A., Rougé, P., Van, FL., & Peumans, WJ. (1996). The NeuAc(a-2,6)-Gal/GalNAc-binding lectin from elderberry (*Sambucus nigra*) bark, a type-2 ribosome-inactivating protein with an unusual specificity and structure. *Eur. J. Biochem.*, 235, 128-137. <https://doi.org/10.1111/j.1432-1033.1996.00128.x>
8. Wojnarowska-Nowak, R., Polit, J., Sheregii, E. M. (2020). Interaction of gold nanoparticles with cholesterol oxidase enzyme in bionanocomplex—determination of the protein structure by Fourier transform infrared spectroscopy. *Journal Nanoparticle Research.* 22, 107. <https://doi.org/10.1007/s11051-020-04858-y>
9. Huang, X., & El-Sayed, M. A. (2011). Plasmonic photo-thermal therapy. *Alexandria Journal of Medicine*, 47(1), 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.ajme.2011.01.001>

10. Frederici-Muñoz, M. G. (2013). *Nanopartículas de Au y Pd síntesis, funcionalización y aplicaciones catalíticas*. Tesis doctoral. Universitat de Barcelona, Departamento de química inorgánica.  
<https://www.tesisenred.net/handle/10803/120753>
11. Oldenburg, S J., Averitt, R. D., Westcott, S. L., & Halas, N. J. (1998). Nanoengineering of optical resonances. *Chemical Physics Letters*, 288, 243-247.  
[https://doi.org/10.1016/S0009-2614\(98\)00277-2](https://doi.org/10.1016/S0009-2614(98)00277-2)
12. Wang, K., Wang, Y., Wang, C., Jia, X., Li, J., Xiao, R. et al. (2018). Facile synthesis of high-performance SiO<sub>2</sub>@Au core-shell nanoparticles with high SERS activity. *RSC Advances*, 8, 30825-30831.  
<https://doi.org/10.1039/C8RA05213A>
13. Kah, J. C. Y., Phonthammachai, N., Wang, R. C. Y., Song, J., White, T., Mhaisalkar, S. et al. (2008). Synthesis of gold nanoshells based on the deposition-precipitation process. *Gold Bulletin*, 41, 23-36.  
<https://doi.org/10.1007/BF03215620>
14. Weissleder, R. (2001). A clearer vision for in vivo imaging. *Nature*, 19, 316-317.  
<https://doi.org/10.1038/86684>
15. Ernest, V., Sekar, G., Mukherjee, A., & Chandrasekaran, N. (2014) Studies on the effect of AgNP binding on  $\alpha$ -amylase structure of porcine pancreas and *Bacillus subtilis* by multi-spectroscopic methods. *Journal of Luminescence*, 146, 263-268.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jlumin.2013.09.065>
16. Jazayeri, M. H., Amani, H., Pourfatollah, A. A., Pazoki-Toroudi, H., & Dam, B. S. (2016). Various methods of gold nanoparticles (GNPs) conjugation to antibodies. *Sensing and Bio-sensing Research*, 9, 17-22.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.sbsr.2016.04.002>
17. Wang, G., Chen, Y., Yan, C., & Lu, Y. (2015). Study on the interaction between gold nanoparticles and papain by spectroscopic methods. *Journal Luminescence*, 157, 229-234.  
<http://dx.doi.org/10.1016/j.jlumin.2014.09.002>
18. Wang, J., Duan, T., Sun, L., Liu, D., & Wang, Z. (2009). Functional gold nanoparticles for studying the interaction of lectin with glycosyl complex on living cellular surfaces. *Analytical Biochemistry*, 392, 77-82.  
<https://doi.org/10.1016/j.ab.2009.05.036>
19. Di-Pasqua, A. J., Mishler, II R. E., Ship, Y. L., Dabrowiak, J. C., & Asefa, T. (2009). Preparation of antibody-conjugated gold nanoparticles. *Materials Letters*, 63, 1876-1879.  
<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2009.05.070>

20. Bertok, T., Sediva, A., Katrlík, J., Gemeiner, P., Mikula, M., Nosko, M. et al. (2013). Label-free detection of glycoproteins by the lectin biosensor down to attomolar level using gold nanoparticles. *Talanta*, 108, 11-18.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.02.052>
21. Silva, M. L. S., Gutierrez, E., Rodríguez, J. A., Gomes, C., & David, L. (2014). Construction and validation of a *Sambucus nigra* biosensor for cancer-associated STn antigen. *Biosensor and Bioelectronics*, 57, 254-261.  
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.02.006>
22. Vega-López, E., & Morales-Muños, U. (2016). *El proceso Stöber: Principios y Actualidad 1ª parte*. ISSN: 2007-672X. 9, 19-30.  
<http://quimica.ugto.mx/index.php/nyt/article/view/Nyt%209-3>
23. Sperling, R. A., & Parak, W. J. (2010). Surface modification, functionalization and bio-conjugation of colloidal inorganic nanoparticles. *Phil. Trans. R. Soc. A.*, 368, 1333-1383.  
<https://doi.org/10.1098/rsta.2009.0273>
24. Luna-Sánchez, J. L., Jiménez-Pérez, J. L., Carbajal-Valdez, R., López-Gamboa, G., Perez-Gonzalez, M., & Correa-Pacheco, Z. N. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using Jalapeno Chili extract and thermal lens study of acrylic resin nanocomposites. *Thermochimica Acta*, 678, 178314.  
<https://doi.org/10.1016/j.tca.2019.178314>
25. Shen, J., Lowe, R., & Snook, R. D. (1992). A model for cw laser induced mode-mismatched dual-beam thermal lens spectrometry. *Chemical Physics*, 165, 385-396.  
[https://doi.org/10.1016/0301-0104\(92\)87053-C](https://doi.org/10.1016/0301-0104(92)87053-C)
26. López-Gamboa, G., Jiménez-Pérez, J. L., Correa-Pacheco, Z. N., Alvarado-Noguez, M. L., Amorim-Lima, M., Cruz-Orea, A. et al. (2020). Artificial Neural Network for Modeling Thermal Conductivity of Biodiesels with Different Metallic Nanoparticles for Heat Transfer Applications. *International Journal of Thermophysics*, 41(10).  
<https://doi.org/10.1007/s10765-019-2590-5>
27. Carcouët, C. C. M. C., Van de Put, M. W. P., Mezari, B., Magustin, P. C. M. M., Sommerdijk, Van Benthem, R. A. T. M. et al. (2014). Nucleation and growth of monodisperse silica nanoparticles. *Nanoletters*, 14(3), 1433-1438.  
<https://doi.org/10.1021/nl404550d>
28. Guo, Q., Huang, D., Kou, X., Cao, W., Li, L., Ge, L. et al. (2017). Synthesis of disperse amorphous SiO<sub>2</sub> nanoparticles via sol-gel. *Ceramics International*, 43, 192-196.  
<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.09.133>
29. Bertoluzza, A., Fagnano, C., & Morelli, MA. (1982). Raman and infrared spectra on silica gel involving toward glass. *Journal of Non-Crystalline Solids*, 48, 117-128.  
[https://doi.org/10.1016/0022-3093\(82\)90250-2](https://doi.org/10.1016/0022-3093(82)90250-2)

30. Gunde, M. K. (2000). Vibrational modes in amorphous silicon dioxide. *Physica B*, 292, 286-295. [https://doi.org/10.1016/S0921-4526\(00\)00475-0](https://doi.org/10.1016/S0921-4526(00)00475-0)
31. Montaña-Priede, J. L., Coelho, J. P., Guerrero-Martínez, A., Peña-Rodríguez, O., & Pal, U. (2017). Fabrication of monodisperse Au@SiO<sub>2</sub> nanoparticles with highly stable silica layers by ultrasound-assisted Stöber method. *Journal Physics Chemical C.*, 121(17), 9543-9555. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b00933>
32. Shou-Cang, S., Wai, KN., Chia, L., Yuan-Cai, D., Tan, B. H. (2011). Sonochemical synthesis of (3-aminopropyl)triethoxysilane-modified monodispersed silica nanoparticles for protein immobilization. *Materials Research Bulletin*, 46, 1665-1669. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2011.06.004>
33. Khanadeev, V. A., Khlebtsov, B. N., & Khlebtsov, N. G. (2017). Optical properties of gold nanoshells on monodisperse silica cores: Experiment and simulations. *Journal of Quantitative Spectroscopy and Radiative Transfer*, 187, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.jqsrt.2016.09.004>
34. Netzahual-Lopantzi, A., Sánchez-Ramírez, J. F., Jiménez-Pérez, J. L., Cornejo-Monroy, D., López-Gamboa, G., & Correa-Pacheco, Z. N. (2019). Study of the thermal diffusivity of nanofluids containing SiO<sub>2</sub> decorated with Au nanoparticles by thermal lens spectroscopy. *Applied Physics A*, 125, 588. <https://doi.org/10.1007/s00339-020-03586-3>
35. Sun, L., Jiang, L., Peng, S., Zheng, Y., Sun, X., Su, H. et al. (2019). Preparation of Au catalysis supported on core-shell SiO<sub>2</sub>/polypyrrole composites with high catalytic performances in the reduction of 4-nitrophenol. *Synthetic Metals* 248: 20-26. <https://doi.org/10.1016/j.synthmet.2018.12.024>
36. Zhang, R. (2019). Structural and optical properties of grey and porous SiO<sub>2</sub> nanoparticles. *Physica B: Condensed Matter*, 533, 23-25. <https://doi.org/10.1016/j.physb.2018.10.027>
37. Xu, G., & Shen, X. (2019). Fabrication of SiO<sub>2</sub> nanoparticles incorporated coating onto titanium substrates by the micro arc oxidation to improve the wear resistance. *Surface and coatings technology*, 364, 180-186. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2019.01.069>
38. Choma, J., Dziura, A., Jamiola, D., Nyga, P., & Jaroniec, M. (2011). Preparation and properties of silica-gold core-shell particles. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 373, 167-171. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.10.046>
39. Lenart, V. M., Astrath, N. G., Turchiello, R. F., Goya, G. F., & Gómez, S. L. (2018). Thermal diffusivity of ferrofluids as a function of particle size determined using the mode-mismatched dual-beam thermal lens technique. *Journal of Applied Physics*, 123(8), 1-4. <https://doi.org/10.1063/1.5017025>

40. Jiménez-Pérez, J. L., Sánchez-Ramírez, J. F., Cornejo-Monroy, D., Gutiérrez-Fuentes, R., Pescador-Rojas, J. A., Cruz-Orea, A. et al. (2012). Photothermal study of two different nanofluids containing SiO<sub>2</sub> and TiO<sub>2</sub> semiconductor nanoparticles. *International Journal Thermophysics*, 33(1), 69-79.  
<https://doi.org/10.1007/s10765-011-1139-z>
41. Abdelrazek, A. H., Alawi, O. A., Kazi, S., Yusoff, N., Chowdhury, Z., & Sarhan, A. (2018). A new approach to evaluate the impact of thermophysical properties of nanofluids on heat transfer and pressure drop. *International Communications in Heat and Mass Transfer*, 95, 161-170.  
<https://doi.org/10.1016/j.icheatmasstransfer.2018.05.002>
42. Shahriari, E., Bahrami, A., Varnamkaste, M. G., & Behzad, K. (2015). Thermal diffusivity measurement of gold nanofluid by thermal lens technique. *SYLWAN*, 158(6), 333-345.
43. Huang, W., Qian, Q., El-Sayed, M. A., Ding, Y., Wang, Z. L. (2007). Effect of the Lattice Crystallinity on the Electron-Phonon Relaxation Rates in Gold Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, 111, 10751-10757.  
<https://doi.org/10.1021/jp0738917>
44. Kim, I. H., Kim, J. H., Choi, J. Y., Shin, C. H., Shin, C. H., Kim, J. H. et al. (2019). Tuning the interparticle distances in self-assembled gold nanoparticle films with their plasmonic responses. *Chemical Physical Letters*, 715, 91-99.  
<https://doi.org/10.1016/j.cplett.2018.11.024>
45. Vedhanayagam, M., Nair, B. U., & Sreeram, K. J. (2019). Effect of functionalized gold nanoparticle on collagen stabilization for tissue engineering application. *International Journal of Biological Macromolecules*, 123, 1211-1220.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.179>
46. Wang, Y., & Ni, Y. (2014). Combination of UV-vis spectroscopy and chemometrics to understand protein-nanomaterial conjugate: A case study on human serum albumin and gold nanoparticles. *Talanta*, 119, 320-330.  
<https://doi.org/10.1016/j.talanta.2013.11.026>
47. Zhang, S., Bai, H., Luo, J., Yang, P., & Cai, J. (2019). A recyclable chitosan-based QCM biosensor for sensitive and selective detection of breast cancer cells in real time. *Analyst*, 139, 6259-6265.  
<https://doi.org/10.1039/C4AN01532K>
48. Li, X., Jiang, L., Zhan, Q., Qian, J., & He, S. (2009). Localized surface plasmon resonance (LSPR) of polyelectrolyte-functionalized gold-nanoparticles for bio-sensing. *Colloids and Surfaces: A Physicochemical and Engineering Aspects*, 332, 172-179.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2008.09.009>



# CAPÍTULO 1 ÁREA DE ALIMENTOS

## APLICACIÓN DE LA NANOTECNOLOGÍA EN LA CONSERVACIÓN DE PRODUCTOS AGRÍCOLAS, COMO LÍNEA DE INVESTIGACIÓN EN EL CEPROBI-IPN

---

**Zormy Correa-Pacheco<sup>1</sup>, Laura Leticia Barrera-Necha<sup>2</sup>,  
Rosa Isela Ventura-Aguilar<sup>1</sup>, Mónica Hernández-López<sup>2</sup>,  
María Luisa Corona-Rangel<sup>2</sup>, Silvia Bautista-Baños<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>CONACYT-Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, Carretera Yautepec-Jojutla, km 6, calle CEPROBI, No. 8, San Isidro, Yautepec, Morelos. CP 62731, México.

<sup>2</sup>Centro de Desarrollo de Productos Bióticos, Instituto Politécnico Nacional, Carretera Yautepec-Jojutla, km 6, calle CEPROBI, No. 8, San Isidro, Yautepec, Morelos. CP 62731, México.

\*sbautis@ipn.mx

Correa Pacheco, Z. N., Barrera-Necha, L. L., Ventura-Aguilar, R. I., Hernández-López, M., Corona-Rangel, M. L., Bautista-Baños, S. (2021). Aplicación de la nanotecnología en la conservación de productos agrícolas, como línea de investigación en el CEPROBI-IPN. En E. San Martín-Martínez (Ed.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III* (pp. 145-170). Barcelona, España: Omni-science.

## Resumen

La nanotecnología es una ciencia emergente que tiene numerosas aplicaciones en diferentes campos como la medicina, medioambiente y alimentos. En este último rubro, en el Centro de Desarrollo de Productos Bióticos-IPN (CEPROBI-IPN), especialmente en el laboratorio de Tecnología Postcosecha de Productos Agrícolas, se ha incluido dentro de sus líneas de investigación, la síntesis, caracterización y aplicación de recubrimientos nanoestructurados con el objetivo principal de conservar productos agrícolas de interés comercial que son susceptibles al daño por microorganismos causantes de importantes pérdidas económicas durante su almacenamiento. Los recubrimientos nanoestructurados formulados se basan en polímeros biodegradables como el quitosano, incorporando también aceites esenciales y extractos vegetales. Los resultados demostraron la eficacia de estos para inhibir a los microorganismos en comparación con las frutas o vegetales no tratadas. Igualmente, su aplicación demostró que no hubo efecto negativo en la maduración de los mismos. A nivel toxicológico, tampoco se observaron daños a nivel genético (genotoxicidad) y citotóxico. En un futuro, es necesario escalar el proceso a nivel comercial, así como, realizar estudios sobre los mecanismos de acción sobre los microorganismos.

**Palabras clave:** Cubiertas nanoestructuradas, quitosano, aceites esenciales, extractos vegetales, microorganismos postcosecha.

## 1. Introducción

Actualmente, la aplicación de la nanotecnología se enfoca en la conservación de productos agrícolas mediante el diseño y desarrollo de nuevos materiales que ayuden a extender la vida de anaquel de estos [1]. La pérdida de alimentos implica serios efectos económicos, ambientales y sociales, ya que, la tercera parte de los productos agrícolas se pierden durante la cadena productiva. Debido a esto, se deben aplicar nuevas tecnologías que cumplan con la corriente actual de nula contaminación al medioambiente y seguridad para el ser humano [2]. Las causas de las pérdidas postcosecha se atribuyen principalmente al inadecuado manejo postcosecha y a la incidencia de plagas y enfermedades. La presencia de microorganismos patógenos que incluyen bacterias y hongos, causan el deterioro grave de las frutas y hortalizas [3, 4].

Entre las soluciones que se han buscado para inhibir el desarrollo de estos microorganismos patógenos, se encuentra el uso de películas y recubrimientos comestibles [5-7]. Los compuestos naturales como el quitosano [8] y agentes bioactivos con propiedades antimicrobianas [9] incluyendo a los aceites esenciales [10] y los extractos botánicos [11] pueden incorporarse a estos recubrimientos, siendo sus componentes individuales o en conjunto más eficientes en su modo de acción y con una liberación de manera gradual, ejemplo, el  $\alpha$ -pineno, que forma parte de los extractos activos del nanche (*Byrsonima crassifolia*) [12, 13]. Sin embargo, muchos de estos compuestos son volátiles lo que hace que rápidamente pierdan su efecto antimicrobiano [14, 15]. Para solucionar este problema, se ha hecho uso de la nanotecnología, mediante el encapsulamiento de los agentes bioactivos para mejorar su actividad antimicrobiana [16, 17]. Entre los nanomateriales más empleados en el control de microorganismos se encuentran las nanopartículas metálicas, tales como el oro y la plata [18]; no obstante, actualmente se apuesta por el uso de materiales biodegradables amigables con el medio ambiente [19] como los mencionados anteriormente. Entre las ventajas del uso de las nanopartículas, se reportan el aumento de su reactividad debido a una mayor relación de área superficial por unidad de volumen comparada con el material con mayor tamaño de partícula y por lo tanto, una inhibición del microorganismo más rápida y más efectiva [20, 21].

Por otro lado, el área más activa de la investigación y desarrollo de la nanociencia de los alimentos es el del embalaje o empaque: el mercado global de nanoempaques en alimentos y bebidas fue de 4.130 millones en 2008; con una tasa

de crecimiento anual del 11,65 %. Sobre este tema, Reynolds [22] informó que se comercializan entre 400 a 500 tipos de nanoempaques y se espera que en la próxima década al menos el 25 % de todos los empaques de alimentos serán producidos bajo esta tecnología, con la finalidad de extender la vida útil mediante la reducción del intercambio de gases, humedad, exposición a la luz UV y presencia de microorganismos [23].

Actualmente, se han logrado avances en la producción de nanopartículas (NPs) para liberar ingredientes activos en el control de las enfermedades postcosecha con menores efectos sobre el medio ambiente. En el laboratorio de Tecnología Postcosecha de Productos Agrícolas del CEPROBI-IPN y en colaboración con otras instituciones como la Universidad de Sonora (UNISON), la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) y el Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías del IPN (CNMN-IPN), entre otras, y la participación de estudiantes de licenciatura y posgrado, así como de profesores visitantes en estancias de investigación, se están llevando a cabo investigaciones relacionadas con la síntesis, caracterización y aplicación de nanomateriales solos o adicionados con compuestos bioactivos con propiedades antimicrobianas cuyo objetivo principal es la conservación de productos hortofrutícolas. Especialmente, se ha estudiado la aplicación de cubiertas nanoestructuradas en base al polímero quitosano, adicionadas con agentes bioactivos como los aceites esenciales y extractos botánicos en frutas y hortalizas como el higo, pepino, fresa, jitomate, pimiento morrón y aguacate, entre otros [24-30].

Igualmente, a pesar de la importancia de esta tecnología en el campo de los alimentos, aún hay pocas investigaciones asociadas con su posible toxicidad.

El objetivo de este capítulo entonces fue divulgar a la comunidad científica los avances que ha tenido el grupo de investigación del Laboratorio de Tecnología Postcosecha de Productos Hortofrutícolas del CEPROBI-IPN sobre el uso de la nanotecnología en estudios de caracterización de las cubiertas nanoestructuradas, su efecto en evaluaciones *in vitro* e *in situ* y principalmente sobre el control de microorganismos patógenos aislados de frutas y hortalizas de interés comercial y en la calidad de los mismos durante su almacenamiento, además, se reportan los primeros resultados sobre estudios de toxicidad de las nanopartículas en un modelo murino.

## 2. Metodología

### 2.1. Materiales y métodos

#### 2.1.1. Materiales

Se utilizaron quitosanos de mediano peso molecular con grado de desacetilación de 75-85 % (Sigma-Aldrich Chemistry Inc. San Luis, MO, EU) y comercial de alto peso molecular con grado de desacetilación del 91 % (América Alimentos. Ingredientes Funcionales, Zapopan, Jalisco, México). Los aceites esenciales empleados fueron de tomillo (*Thymus vulgaris*) y limón (*Citrus limon*) (Essential Oils-Essencefleur, Rancho La Noria, Ciudad de México, México). En cuanto a los extractos botánicos se emplearon hojas de nanche (*Byrsonyma crassifolia*) y de arándano (*Vaccinium myrtillus*).

#### 2.1.2. Microorganismos (bacterias y hongos)

Se evaluaron bacterias fitopatógenas y de los alimentos [31] Estas fueron: *Pectobacterium carotovorum*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*, *Shigella dysenteriae* *Salmonella typhi*, y *Escherichia coli*. Las cepas fúngicas [32] que se han estudiado pertenecen a los siguiente géneros y especies: *Alternaria alternata* la cual se aisló de frutos de higo (*Ficus carica*) y plantas de romero (*Rosmarinus officinalis*). *Colletotrichum gloeosporioides* y *C. fragariae* se obtuvieron de frutos de guanábana (*Annona muricata*), papaya (*Carica papaya*) y chirimoya (*A. squamosa*). *Rhizopus stolonifer* se obtuvo de frutos de papaya y fresa (*Fragaria x ananassa*) y *Aspergillus flavus* de mazorcas de maíz (*Zea mays*).

### 2.2. Métodos

#### 2.2.1. síntesis de las nanopartículas y nanocápsulas

Las nanopartículas de quitosano y de quitosano adicionadas con el aceite de limón, de tomillo o extracto de nanche o arándano se sintetizaron siguiendo la metodología de Luque-Alcaraz et al. [33] con ciertas modificaciones y los nanocápsulas de quitosano adicionadas con aceite esencial de tomillo o de limón siguiendo la metodología de Lozano et al. [34].

### 2.2.2. *Preparación de las cubiertas nanoestructuradas*

Los recubrimientos nanoestructurados se elaboraron de acuerdo con las metodologías de Ramos-García et al. [35] y Correa-Pacheco et al. [30] para las diferentes composiciones de quitosano, aceites esenciales y extractos vegetales. Se añadieron los plastificantes aceites de canola 0.1 % y glicerol 0.3 % en todas las formulaciones. Para la preparación de los extractos botánicos se utilizaron los solventes etanol y metanol (Fermont, Productos Químicos Monterrey S.A. de C.V. Monterrey, Nuevo León, México).

### 2.2.3. *Evaluación del efecto in vitro de las nanopartículas y cubiertas nanoestructuradas*

El efecto *in vitro* de las nanopartículas y cubiertas nanoestructuradas para el caso de las bacterias, se evaluó mediante las variables “Halo de inhibición” y “Unidades Formadoras de Colonias (UFC)” mientras que, para los hongos se determinaron el “Crecimiento micelial”, “Inhibición del micelio” y “Germinación de los conidios” [35].

### 2.2.4. *Evaluación del efecto in situ de las cubiertas nanoestructuradas*

El efecto de las cubiertas nanoestructuradas se evaluó directamente sobre frutos y hortalizas cosechados en huertos e invernaderos de la región de Yauatepec, Morelos. Se estudió el aguacate (*Persea americana*) y fresa (*Fragaria × ananassa*). Las variables fueron la incidencia (%) y el índice de severidad de la enfermedad. En el caso de la calidad postcosecha se evaluó la pérdida de peso (%), firmeza (N), el contenido de sólidos solubles totales (SST) expresados en °Brix, materia seca (%) (Aguacate) y acidez (tartárico o cítrico) (%), siguiendo las metodologías de Baldoni et al. (2016) [7] y de Barnes et al. (2012) [36].

### 2.2.5. *Caracterización de las nanopartículas de quitosano cargadas con $\alpha$ -pineno y estudio de la toxicidad*

En este estudio se determinó la morfología de las nanopartículas por microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés de transmission electron microscopy) con un microscopio JEM2100 (JEOL USA) con un voltaje de aceleración entre 80 y 200 kV. La distribución del tamaño de partícula y el potencial Z por dispersión dinámica de luz (DLS, por sus siglas en inglés de dynamic

light scattering) fue medida con un equipo Zetasizer Nano ZS90 device (Malvern Instruments, UK). La identificación de grupos funcionales por espectrometría de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) (CRAIC Technologies, USA).

El efecto sobre el comportamiento y toxicidad de las nanopartículas de quitosano cargadas con  $\alpha$ -pineno (NpQ-P) y un recubrimiento nanoestructurado de nanopartículas de quitosano con  $\alpha$ -pineno (RNpQ-P) se evaluó sobre un modelo murino. Se realizó sobre ratones hembra de cepa ICR proporcionadas por el Centro de Investigación Biomédica del Sur-IMSS (CIBIS-IMSS), México, llevándose a cabo los experimentos bajo la norma mexicana NOM-062-ZOO-1999. Para la toxicidad subcrónica, los ratones se dividieron en 3 grupos de 10. Se les administró una dosis de 2.5 mg/g diaria a un volumen de 10  $\mu$ L/g de peso corporal. El comportamiento de los animales se evaluó durante 28 días. Se evaluó el peso del ratón y de los órganos extraídos (hígado y riñón izquierdo). De igual forma se evaluó la hepatotoxicidad con muestras de suero mediante la determinación de la actividad enzimática y la genotoxicidad y citotoxicidad con muestras sanguíneas, siguiendo la metodología de Aguilar-Santamaría et al. [37].

#### 2.2.6. *Análisis estadístico*

El arreglo de los tratamientos para todos los experimentos se realizó mediante un diseño completo al azar. Los datos se analizaron mediante ANOVA y la comparación de medias mediante la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ), realizando transformaciones de raíz cuadrada para cumplir los supuestos del ANOVA en algunos casos.

### 3. Resultados y discusión

A continuación, en las Tablas 1-8 y en las Figuras 1 y 2, se presentan los resultados del estudio *in vitro* e *in situ* de los productos agrícolas evaluados y la comparación entre cubiertas a base de quitosano y nanoestructuradas de quitosano solo o adicionado con los agentes bioactivos: aceites esenciales y extractos botánicos, y su efecto en el desarrollo de microorganismos patógenos en la calidad postcosecha del fruto u hortaliza.

### 3.1. Evaluación del efecto de las nanopartículas y cubiertas nanoestructuradas adicionadas con aceites esenciales en el desarrollo de in vitro de bacterias patógenas

En esta sección, se muestran los resultados del efecto de las nanopartículas de quitosano y nanopartículas de quitosano adicionadas con aceites esenciales de limón o tomillo sobre bacterias fitopatógenas como *P. carotovorum* (Tabla 1) y de nanopartículas y nanocápsulas adicionadas con aceite esencial de limón (Tablas 2 y 3) y con aceite esencial de tomillo (Figura 1) en bacterias presentes en los alimentos.

En la Tabla 1 se observa que el mayor halo de inhibición fue para las nanopartículas de quitosano (NpQ-AET) con aceite esencial de tomillo en concordancia con la menor cantidad de UFC encontradas. En la literatura se ha reportado la eficacia de nanopartículas de quitosano con aceite esencial de tomillo en la inhibición de *P. carotovorum* [27, 38] debido a su mecanismo de acción donde la pared celular de la bacteria y las estructuras de la membrana se deforman, y rompen causando la fuga de compuestos intracelulares [39].

Tabla 1. Efecto de nanopartículas de quitosano y nanopartículas de quitosano adicionadas con aceites esenciales de limón o tomillo sobre el desarrollo de *P. carotovorum*.

Tratamientos	Halo de inhibición* (mm)	UFC
NpQ (0.05 %)	15.0 ± 0.2 <sup>b</sup>	Incontables
NpQ (0.05 %) con AEL (20 %)	13.0 ± 0.1 <sup>c</sup>	450
NpQ (0.05 %) con AET (5 %)	24.0 ± 0.1 <sup>a</sup>	240
Testigo Medio nutritivo ATP	0 ± 0.0 <sup>d</sup>	Incontables

NpQ = nanopartículas de quitosano; AEL = aceite esencial de limón; AET = aceite esencial de tomillo; Los datos representan la media ± desviación estándar. \*Las letras diferentes en la misma columna indican diferencias estadísticas (Tukey,  $P < 0.05$ )

En las Tablas 2 y 3, se observa que a medida que aumenta la concentración, se incrementa el halo de inhibición, tanto para las nanopartículas como para las nanocápsulas de quitosano solo y adicionadas con aceite esencial de limón para todas las bacterias evaluadas. Por otra parte, se tiene que las nanopartículas fueron más efectivas en su efecto inhibitorio comparadas con las nanocápsulas. Se ha reportado en la literatura [40, 41] que, en el caso de las nanopartículas, el aceite es adsorbido en la superficie de las mismas siendo su liberación más rápida. En las nanocápsulas el aceite está contenido en el interior de estas y debe atravesar la pared de la misma para ser liberado. De igual forma, se ha demostrado el efecto antibacteriano tanto del quitosano [42] como del aceite esencial de limón [43].

Tabla 2. Efecto de la concentración de nanopartículas y nanocápsulas de quitosano y de quitosano adicionadas con aceite esencial de limón, obtenidas por los métodos de nanoprecipitación y nanoencapsulación, respectivamente, en el desarrollo de bacterias presentes en los alimentos.

Bacteria	Tratamiento	Concentración (µl)					
		5		2.5		1.25	
		NP	NC	NP	NC	NP	NC
Halo de inhibición (cm)*							
<i>S. aureus</i>	NpQ	1.5 <sup>c</sup>	0.0 <sup>f</sup>	1.3 <sup>b</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.0 <sup>c</sup>	0.0 <sup>c</sup>
	NpQ-AEL	1.5 <sup>b</sup>	0.2 <sup>g</sup>	1.4 <sup>b</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.9 <sup>a</sup>	0.0 <sup>c</sup>
<i>L. monocytogenes</i>	NpQ	1.8 <sup>b</sup>	0.0 <sup>f</sup>	1.3 <sup>b</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.9 <sup>b</sup>	0.0 <sup>c</sup>
	NpQ- AEL	1.2 <sup>c</sup>	0.2 <sup>g</sup>	1.1 <sup>c</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.9 <sup>a</sup>	0.0 <sup>c</sup>
<i>S. dysenteriae</i>	NpQ	2.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>f</sup>	1.6 <sup>a</sup>	0.0 <sup>e</sup>	1.4 <sup>a</sup>	0.0 <sup>c</sup>
	NpQ- AEL	2.5 <sup>a</sup>	0.4 <sup>f</sup>	1.8 <sup>a</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.3 <sup>b</sup>	0.0 <sup>c</sup>
<i>E. coli</i>	NpQ	1.0 <sup>d</sup>	0.0 <sup>f</sup>	0.0 <sup>d</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.0 <sup>c</sup>	0.0 <sup>c</sup>
	NpQ- AEL	1.2 <sup>c</sup>	0.0 <sup>h</sup>	1.0 <sup>d</sup>	0.0 <sup>e</sup>	0.0 <sup>c</sup>	0.0 <sup>c</sup>

NpQ = nanopartículas de quitosano; NP = nanoprecipitación; NC = nanoencapsulación; AEL = aceite esencial de limón. \*Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

Tabla 3. Efecto de la concentración de nanopartículas y nanocápsulas de quitosano y de quitosano adicionadas con aceite esencial de limón, obtenidas por los métodos de nanoprecipitación y nanoencapsulación, respectivamente, en el desarrollo de 4 bacterias presentes en los alimentos.

Bacteria	Tratamiento	Concentración (µl)					
		40		20		10	
		NP	NC	NP	NC	NP	NC
Halo de inhibición (cm)*							
<i>S. aureus</i>	Q	2.9 <sup>c</sup>	1.4 <sup>f</sup>	2.2 <sup>a</sup>	1.2 <sup>d</sup>	1.6 <sup>c</sup>	0.6 <sup>e</sup>
	Q-AEL	3.3 <sup>b</sup>	1.2 <sup>g</sup>	1.8 <sup>d</sup>	0.5 <sup>h</sup>	1.7 <sup>c</sup>	0.3 <sup>h</sup>
<i>L. monocytogenes</i>	Q	3.3 <sup>a</sup>	0.8 <sup>i</sup>	2.0 <sup>b</sup>	0.5 <sup>g</sup>	1.9 <sup>b</sup>	0.0 <sup>f</sup>
	Q-AEL	1.8 <sup>c</sup>	1.3 <sup>g</sup>	2.0 <sup>c</sup>	0.9 <sup>g</sup>	1.6 <sup>c</sup>	0.4 <sup>h</sup>
<i>S. dysenteriae</i>	Q	3.1 <sup>b</sup>	0.0 <sup>h</sup>	2.2 <sup>a</sup>	0.0 <sup>h</sup>	2.2 <sup>a</sup>	0.0 <sup>f</sup>
	Q-AEL	3.5 <sup>a</sup>	1.5 <sup>f</sup>	2.9 <sup>a</sup>	1.0 <sup>g</sup>	2.6 <sup>a</sup>	0.6 <sup>h</sup>
<i>E. coli</i>	Q	2.8 <sup>c</sup>	0.0 <sup>h</sup>	2.1 <sup>ab</sup>	0.0 <sup>h</sup>	2.0 <sup>b</sup>	0.0 <sup>f</sup>
	Q-AEL	3.0 <sup>c</sup>	1.0 <sup>h</sup>	2.2 <sup>b</sup>	0.6 <sup>h</sup>	2.0 <sup>b</sup>	0.4 <sup>h</sup>

Q = quitosano; AEL = aceite esencial de limón; NP = nanopartículas elaboradas por nanoprecipitación; NC = nanocápsulas elaborados por nanoencapsulación; AEL = aceite esencial de limón. \*Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

La Figura 1 muestra el efecto antibacteriano de las nanopartículas de quitosano y de las nanocápsulas de quitosano que contienen aceite esencial de tomillo sobre el crecimiento de 6 bacterias presentes en los alimentos: *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *S. typhi*, *S. dysenteriae* y *E. coli*. Las variables que

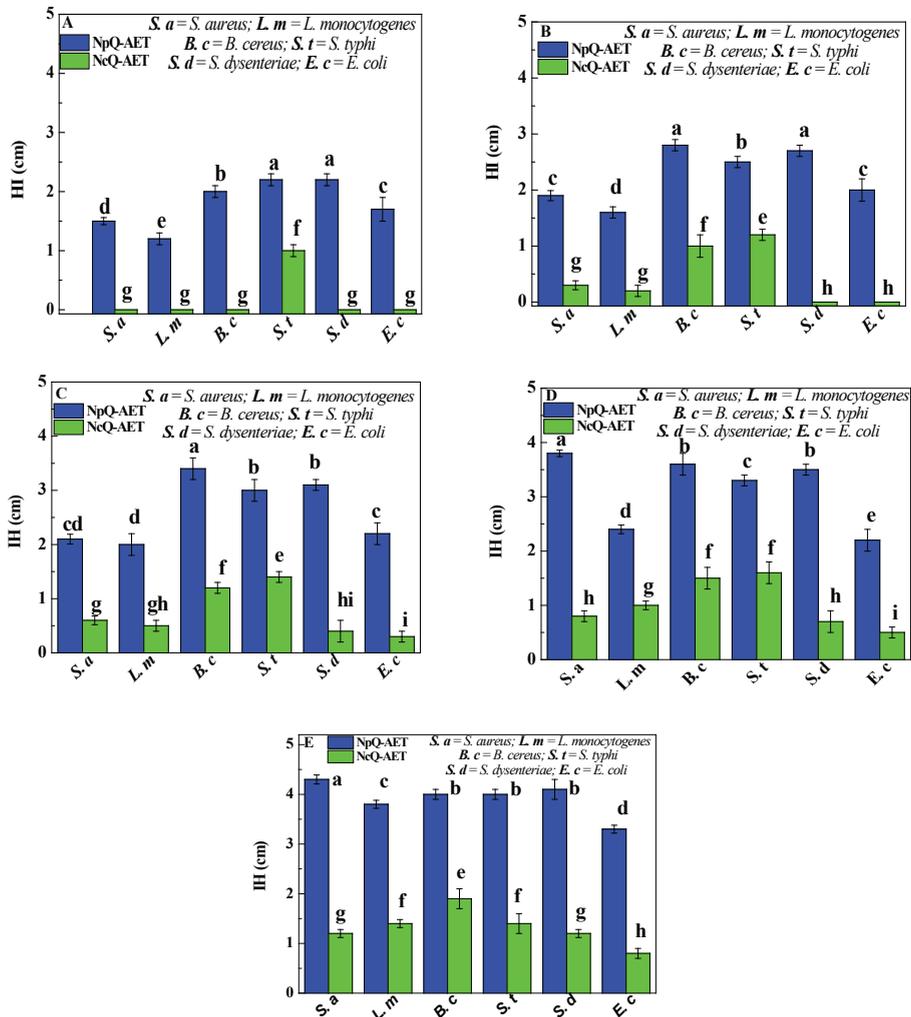


Figura 1. Efecto de las nanopartículas de quitosano (NpQ) y nanocápsulas de quitosano (NcQ) adicionadas con aceite esencial de tomillo (AET) sobre el crecimiento (halo de inhibición) de bacterias de los alimentos en diferentes concentraciones A) 2.5 μL, B) 5 μL, C) 10 μL, D) 20 μL and E) 40 μL de volumen mínimo inhibitorio. Los datos representan la media ± desviación estándar. Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

se presentan son la medición del halo de inhibición (HI) con relación a los diferentes volúmenes considerados como volumen mínimo inhibitorio (2.5, 5, 10, 20 y 40  $\mu\text{L}$ ). Se observa que el efecto inhibitorio fue mayor para las nanopartículas que para las nanocápsulas con aceite esencial de tomillo. De igual forma que este fue mayor para el volumen de 40  $\mu\text{L}$ , siendo el halo de inhibición de 4.3 cm para *S. aureus* en el caso de las nanopartículas y de 1.9 cm para *B. cereus* para las nanocápsulas. Además de lo explicado anteriormente sobre la diferencia de liberación del aceite entre nanopartículas y nanocápsulas, se ha reportado en la literatura que partículas de tamaño más pequeño, pueden destruir con mayor facilidad la membrana celular de las bacterias teniendo en consecuencia una mayor actividad bactericida [44, 45]. En este trabajo se observó un tamaño de nanopartículas ( $6.4 \pm 0.5$  nm) menor que de nanocápsulas ( $9.1 \pm 1.6$  nm) [38].

### ***3.2. Evaluación del efecto de las nanopartículas de quitosano y de nanopartículas adicionadas con extractos vegetales de arándano y nanche o aceite esencial de tomillo en el desarrollo de in vitro de hongos fitopatógenos***

En la Tabla 4 se observan los resultados del efecto *in vitro* de los diferentes tratamientos con nanopartículas de quitosano (NpQ) y con nanopartículas de quitosano adicionadas con extracto etanólico de arándano (NpQ-EEA) para concentraciones de 0.05 % (NpQ) y del 5 % para el extracto etanólico (EEA), de igual forma para quitosano solo al 2 %, observando diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). Se obtuvo que el mayor porcentaje de inhibición micelial fue sobre el hongo *A. alternata* fue para el aislado de higo a un volumen de 500  $\mu\text{l}$  tanto para las NpQ como para las NpQ-EEA. En cuanto a la inhibición de la germinación y la esporulación para el aislado de romero, hubo 100 % de inhibición y 0 esporas  $\text{ml}^{-1}$  para las NpQ a al mayor volumen (500  $\mu\text{l}$ ). Por lo tanto, el tratamiento con NpQ a un volumen de 500  $\mu\text{l}$  resultó ser el más efectivo en la inhibición tanto del aislado de higo como del de romero. El efecto de inhibición de las NpQ sobre hongos ha sido ampliamente reportado en la literatura [46]. Por otra parte, el efecto antifúngico de NpQ-EEA no está reportado por otros autores. Sin embargo, se ha estudiado que extractos botánicos han resultado menos efectivos que el quitosano en la inhibición del crecimiento micelial de hongos y en ocasiones han mostrado un efecto contrario, estimulando la esporulación [47].

Tabla 4. Efecto de quitosano, nanopartículas de quitosano y nanopartículas de quitosano adicionadas con extracto etanólico de arándano, en el desarrollo *in vitro* de *A. alternata* aislado de higo y romero, por un periodo de incubación de 7-8 días a una temperatura de incubación de 28 °C.

Tratamientos	Volumen ( $\mu$ l)	<i>A. alternata</i> (higo) Inhibición micelial (%)	<i>A. alternata</i> (romero)		
			Inhibición micelial (%)	Inhibición de la germinación (%)	Esporulación (esporas ml <sup>-1</sup> )*
PDA		0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	26.0 <sup>a</sup>	1.63 x 10 <sup>8a</sup>
Q		6.0 <sup>a</sup>	1.2 <sup>a</sup>	37.5 <sup>a</sup>	9.3 x 10 <sup>7b</sup>
NpQ	250	50.2 <sup>b</sup>	47.7 <sup>b</sup>	41.1 <sup>a</sup>	1.7 x 10 <sup>7c</sup>
NpQ	500	83.1 <sup>c</sup>	83.0 <sup>c</sup>	100 <sup>c</sup>	0 <sup>d</sup>
NpQ-EEA	250	50.3 <sup>b</sup>	43.8 <sup>b</sup>	45.2 <sup>ab</sup>	1.57 x 10 <sup>7c</sup>
NpQ-EEA	500	83.3 <sup>c</sup>	76.5 <sup>c</sup>	75.1 <sup>b</sup>	1.33 x 10 <sup>6c</sup>

PDA = agar papa dextrosa, Q = quitosano; NpQ = nanopartículas de quitosano; NpQ-EEA = nanopartículas de quitosano con extracto etanólico de arándano. \*Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

La Tabla 5 muestra el efecto *in vitro* de los diferentes tratamientos con NpQ y con nanopartículas de quitosano adicionadas con extracto metanólico de nanche (NpQ-EMN) para concentraciones de 0.05 % (NpQ) y del 5 % para el extracto etanólico de nanche (EEA) y quitosano solo al 2.5 % para volúmenes de 250, 500 y 750  $\mu$ l y comparando con Sportak, un fungicida comercial a un volumen de 0.01 ml. Existen diferencias significativas entre los tratamientos ( $P < 0.05$ ). La mayor inhibición micelial se observó para las NpQ-EMN para los volúmenes de 500 y 750  $\mu$ l y para el fungicida comercial Sportak tanto para el aislado de papaya como para el de guanábana, mostrando un 100 % de inhibición de la germinación de *C. gloeosporioides*. Igualmente, a medida que aumenta la concentración, se incrementa el efecto sobre el hongo pasando de fungistático a fungicida. Este comportamiento es contrario al del extracto de arándano sobre *A. alternata*, lo cual puede deberse a la composición o a una menor volatilización de este o a su mecanismo de acción sobre el hongo como se mencionó anteriormente, existiendo en este caso, un efecto sinérgico entre el extracto metanólico de nanche y las nanopartículas de quitosano. El efecto de NpQ sobre *C. gloeosporioides* ha sido reportado por otros autores [48, 49].

Tabla 5. Efecto de quitosano, nanopartículas de quitosano y nanopartículas de quitosano adicionadas con extracto metanólico de nanche, en el desarrollo *in vitro* de *C. gloeosporioides* aislado de papaya y guanábana, por un periodo de incubación de 7-8 días a una temperatura de incubación de 28 °C.

Tratamientos	Volumen ( $\mu$ l)	Papaya		Guanábana	
		Inhibición micelial (%)	Inhibición de la germinación (%)	Inhibición micelial (%)	Inhibición de la germinación (%)
PDA		0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>	0.0 <sup>a</sup>
Q		9.4 <sup>b</sup>	0.0 <sup>a</sup>	9.0 <sup>a</sup>	2.0 <sup>a</sup>
NpQ	250	19.4 <sup>b</sup>	0.0 <sup>a</sup>	33.0 <sup>b</sup>	7.0 <sup>b</sup>
NpQ	500	53.4 <sup>c</sup>	0.0 <sup>a</sup>	49.0 <sup>c</sup>	8.0 <sup>b</sup>
NpQ	750	57.0 <sup>c</sup>	11.0 <sup>b</sup>	59.4 <sup>d</sup>	7.0 <sup>b</sup>
NpQ-EMN	250	44.0 <sup>d</sup>	47.0 <sup>c</sup>	52.8 <sup>c</sup>	10.0 <sup>b</sup>
NpQ-EMN	500	71.2 <sup>e</sup>	100 <sup>d</sup>	82.0 <sup>e</sup>	100 <sup>c</sup>
NpQ-EMN	750	79.6 <sup>f</sup>	100 <sup>d</sup>	82.0 <sup>e</sup>	100 <sup>c</sup>
Sportak		80.0 <sup>f</sup>	100 <sup>d</sup>	82.0 <sup>e</sup>	100 <sup>c</sup>

PDA = agar papa dextrosa, Q = quitosano; NpQ = nanopartículas de quitosano; NpQ-EMN = nanopartículas de quitosano con extracto metanólico de nanche. \*Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

En la Tabla 6, se observan los resultados de las cubiertas nanoestructuradas con quitosano y quitosano adicionado con aceite esencial de tomillo en la inhibición micelial y en la germinación de hongos fitopatógenos aislados de diferentes frutos para una concentración de aceite esencial de tomillo del 5 %, aceite de canola 0.1 % y glicerol 0.3 %. se observan diferencias significativas entre tratamientos. Se observa como a medida que aumenta la concentración de las NpQ-AET de 50, 53 a 55 % en la formulación, hubo una mayor inhibición del crecimiento micelial llegando hasta un 100 % para un 55 % de NpQ-AET para todos los hongos estudiados si presentar germinación. Estos resultados concuerdan con los reportados por Zahid y colaboradores [50] y Correa-Pacheco et al. [30] para *C. gloeosporioides* aplicando nanoemulsiones de quitosano y cubiertas nanoestructuradas de NpQ-AET, en aislados de pitahaya y aguacate, respectivamente.

Tabla 6. Efecto de las cubiertas nanoestructuradas de quitosano con aceite esencial de tomillo (AET) en la inhibición micelial y germinación de hongos fitopatógenos al final del periodo de incubación.

Tratamientos	(%) Inhibición micelial / (%) germinación					
	<i>A. alternata</i> (higo)	<i>C. gloeosporioides</i> (papaya)	<i>C. gloeosporioides</i> (guanábana)	<i>C. fragariae</i> (chirimoya)	<i>R. stolonifer</i> (papaya)	<i>R. stolonifer</i> (fresa)
PDA	0 <sup>a</sup> /85 <sup>d</sup>	0 <sup>a</sup> /92 <sup>ab</sup>	0 <sup>a</sup> /97 <sup>c</sup>	0 <sup>a</sup> /100 <sup>c</sup>	0 <sup>a</sup> /95 <sup>c</sup>	0 <sup>a</sup> /94 <sup>b</sup>
Q 98.6 % + NpQ-AET 1.0 %	0 <sup>a</sup> /46 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup> /90 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup> /95 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup> /97 <sup>bc</sup>	0 <sup>a</sup> /100 <sup>c</sup>	0 <sup>a</sup> /95 <sup>b</sup>
Q 89.6 % + NpQ-AET 10 %	0 <sup>a</sup> /57 <sup>c</sup>	0 <sup>a</sup> /89 <sup>a</sup>	0 <sup>a</sup> /94 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup> /96 <sup>b</sup>	0 <sup>a</sup> /99 <sup>c</sup>	0 <sup>a</sup> /96 <sup>bc</sup>
Q 49.6 % + NpQ-AET 50 %	19.2 <sup>b</sup> /90 <sup>c</sup>	17.7 <sup>b</sup> /89 <sup>a</sup>	30.0 <sup>b</sup> /98 <sup>c</sup>	85.0 <sup>b</sup> /95 <sup>b</sup>	72.5 <sup>b</sup> /84 <sup>b</sup>	62.0 <sup>b</sup> /92 <sup>b</sup>
Q 46.6 % + NpQ-AET 53 %	70.2 <sup>c</sup> /0 <sup>a</sup>	65.0 <sup>c</sup> /91 <sup>ab</sup>	92.0 <sup>c</sup> /100 <sup>c</sup>	100 <sup>c</sup> /0 <sup>a</sup>	100 <sup>c</sup> /0 <sup>a</sup>	62.4 <sup>b</sup> /0 <sup>a</sup>
Q 44.6 % + NpQ-AET 55 %	100 <sup>d</sup> /0 <sup>a</sup>	100 <sup>d</sup> /99 <sup>c</sup>	100 <sup>d</sup> /0 <sup>a</sup>	100 <sup>c</sup> /0 <sup>a</sup>	100 <sup>c</sup> /0 <sup>a</sup>	100 <sup>c</sup> /0 <sup>a</sup>

PDA = agar papa dextrosa; Q = quitosano; NpQ = nanopartículas de quitosano; AET = aceite esencial de tomillo. \*Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ). Valores de  $P$  después de ser transformados.

### 3.3. Evaluación del efecto de la aplicación de cubiertas nanoestructuradas en el control de hongos fitopatógenos y en la calidad postcosecha de aguacate y fresa

En la Tabla 7, se muestran los resultados de la evaluación *in situ* de las cubiertas sobre el aguacate cv Hass. Se observa que la incidencia de la enfermedad fue mayor para el fruto sin cubierta (84.6 %) comparado con el fruto con cubierta (54.0 %) al igual que el índice de severidad con 2.6 y 1.7, respectivamente, observándose diferencias estadísticas significativas ( $P < 0.05$ ) entre ambos valores. Notoriamente, la firmeza se mantuvo en mayor grado para el fruto con cubierta. Por otra parte, la calidad de la fruta no se vio afectada por la cubierta ya que no se observaron diferencias estadísticas significativas para la pérdida de peso, SST, contenido de materia seca (CMS) y acidez. Se ha demostrado en la literatura la efectividad del AET en

conjunto con el quitosano para reducir la antracnosis causada por *C. gloeosporioides* en aguacate, cuyo modo de acción se asocia a la alteración de la membrana del hongo y al contenido de fenoles del aceite que los sitios de activaciones de las enzimas fúngicas y el metabolismo celular del mismo [51, 52].

Tabla 7. Efecto de las cubiertas nanoestructuradas de quitosano y aceite esencial de tomillo en el desarrollo de *C. gloeosporioides* y en la calidad postcosecha del aguacate cv “Hass” por un periodo de 8 días de almacenamiento.

Tratamientos	Incidencia* (%)	Severidad*	Pérdida de peso* (%)	SST* (°Brix)	Firmeza* (N)	CMS* (%)	Acidez* (%)
Sin cubierta	84.6 <sup>a</sup>	2.6 <sup>a</sup>	11.51 <sup>a</sup>	0.88 <sup>a</sup>	18.6 <sup>a</sup>	22.6 <sup>a</sup>	0.05 <sup>a</sup>
Con cubierta	54.0 <sup>b</sup>	1.7 <sup>b</sup>	11.76 <sup>a</sup>	0.78 <sup>a</sup>	30.2 <sup>b</sup>	22.9 <sup>a</sup>	0.06 <sup>a</sup>

Escala del índice de severidad: 1 = 0 %, 2 = 1-25 %, 3 = 26-50 %, 4 = 51-75 % y 5 = 76-100 % de la superficie de la fruta con síntomas de antracnosis. \*Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

La Figura 2, muestra los resultados de la aplicación de cubiertas nanoestructuradas sobre la respuesta en las variables de firmeza, acidez y SST en fresas inoculadas con el hongo *C. fragariae* durante un periodo de 9 días de almacenamiento

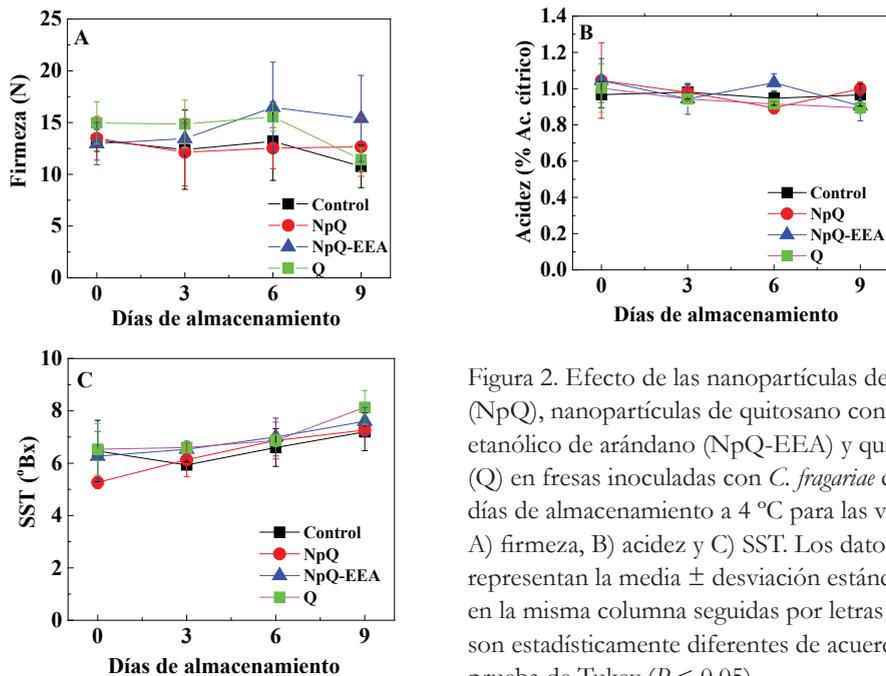


Figura 2. Efecto de las nanopartículas de quitosano (NpQ), nanopartículas de quitosano con extracto etanólico de arándano (NpQ-EEA) y quitosano (Q) en fresas inoculadas con *C. fragariae* durante 9 días de almacenamiento a 4 °C para las variables: A) firmeza, B) acidez y C) SST. Los datos representan la media  $\pm$  desviación estándar. Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes de acuerdo con la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ).

a una temperatura de 4 °C. Los tratamientos corresponden a 75  $\mu\text{L}/\text{mL}$  de las NpQ y de NpQ-EAA, y 1.5 % de Q, además de un grupo control para frutos sin cubiertas. Se obtuvo que no hubo diferencias significativas entre tratamientos ni días para las variables evaluadas. Esto pudo deberse al grado uniforme de madurez de los frutos. Vargas y colaboradores [53] reportaron este mismo comportamiento para fresas almacenadas a 4 °C con cubiertas de quitosano y ácido oleico para la acidez y SST. De igual forma, los SST mostraron este mismo comportamiento para fresas recubiertas con diferentes concentraciones de propóleo y NpQ a la misma temperatura de refrigeración [54, 55].

### ***3.4. Caracterización de nanopartículas de quitosano y pineno y su toxicidad en un modelo murino***

El ensayo de toxicidad en un modelo murino solo se realizó para las nanopartículas de quitosano cargadas con el pineno y el recubrimiento elaborado con estas nanopartículas.

La Figura 3A muestra NpQ-P de forma esférica con un tamaño de  $5 \pm .07\text{nm}$ . Asimismo, presenta una distribución binomial en la cual 81.5 % de su población tiene un tamaño de  $3.9 \pm .5 \text{ nm}$  y un potencial Z de 13.4 a 14.9 mV (Figura 3B). Este tamaño de partículas ya fue reportado en trabajos similares del grupo de investigación para nanopartículas de quitosano con aceite esencial de limón [19]. En el análisis de FTIR de la Figura 3C, se encontraron los grupos hidroxilos y amino característicos de Q, NpQ y NpQ-P correspondientes a las longitudes de onda de  $3400\text{-}3800 \text{ cm}^{-1}$  y  $1400$  y  $1560\text{cm}^{-1}$ , respectivamente [56]. En el espectro del P (pineno) y NpQ-P se observó la superposición de las señales de estiramiento de los grupos aromáticos del pineno entre  $3200\text{-}3000 \text{ cm}^{-1}$  y del grupo metilo entre  $2880\text{-}2860 \text{ cm}^{-1}$  con el grupo amino, evidenciándose la presencia de los grupos aromáticos del pineno y la matriz del quitosano, como consecuencia del encapsulamiento o formación de enlaces entre ellos.

La toxicidad subcrónica en el modelo murino fue evaluada después de 28 días de la administración por vía oral de la dosis de 2.5 g/kg de peso corporal de las NpQ-P y RNpQ-P No hubo muerte en los ratones ni se presentaron conductas anormales como se observa en la Tabla 8. Autores como Aguilar-Santamaría [37] administraron extracto etanólico, metanólico y acuoso de arnica roja (*Galphimia glauca*), reportando cambios en la disminución en los reflejos y el aumento en la deshidratación, letargo y piloerección en comparación con los ratones testigo. Por

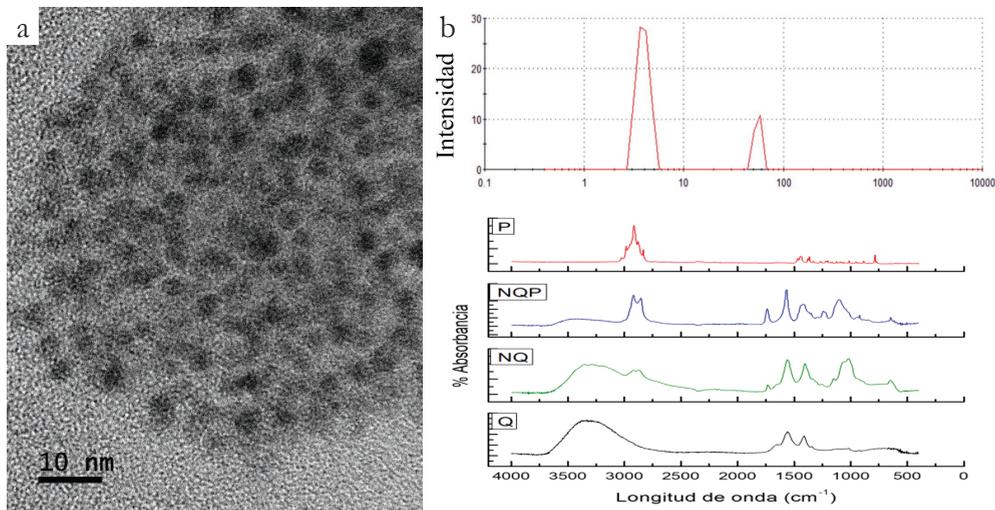


Figura 3. Caracterización del quitosano (Q), nanopartículas de quitosano con  $\alpha$ -pineno (NpQ-P) y  $\alpha$ -pineno (P): A) Micrografía de NpQ-P por TEM, B) Distribución de tamaño de partículas NpQ-P por DLS y C) Espectro FTIR de Q (negro), NQ (verde), NpQ-P (azul) y P (rojo).

lo tanto, al no presentarse cambios en la conducta del ratón, es indicativo de daños a nivel de sistema nervioso central, lo cual no se observó en el presente ensayo.

Tabla 8. Variables conductuales para el ensayo de toxicidad subcrónica observados durante 28 días en ratones hembra ICR.

	Agua destilada	NpQ-P	RNpQ-P
Agarre de fuerza	N	N	N
Reflejos	N	N	N
Equilibrio	N	N	N
Alarma	N	N	N
Defecación/urinación	N	N	N
Piloerección	NP	NP	NP
Deshidratación	NP	NP	NP
Ataxia	NP	NP	NP
Letargo	NP	NP	NP

N: Normal; NP: No presentó; NpQ-P = nanopartículas de quitosano cargadas con  $\alpha$ -pineno; (RNpQ-P) =recubrimiento nanoestructurado de nanopartículas de quitosano con  $\alpha$ -pineno.

Por otra parte, se evaluó el peso corporal y la diferencia de peso hígado/riñón de cada animal semanalmente hasta el día 28. En cuanto al peso, se observó un

incremento entre los grupos dentro de los parámetros normales sin diferencias significativas ( $P < 0.94$ ) y la proporción en porcentaje del peso del hígado y del riñón no mostró diferencias estadísticas significativas entre los grupos ( $P < 0.051$ ) como se muestra en la Tabla 9.

Tabla 9. Efecto de las NPQ-P y del RNpQ-P en el peso del ratón, hígado y riñón.

Tratamientos	Peso del ratón (g)				Relación órgano/ peso corporal (%)	
	Semana 1	Semana 2	Semana 3	Semana 4	Hígado	Riñón
Agua destilada	26.3±2.8 <sup>a</sup>	26.3±2.4 <sup>a</sup>	27.1±2.5 <sup>a</sup>	27.1±2.3 <sup>a</sup>	5.5±0.4 <sup>a</sup>	0.6±0.05 <sup>a</sup>
NpQ-P	26.0±0.7 <sup>a</sup>	26.4±1.4 <sup>a</sup>	27.5±1.8 <sup>a</sup>	28.1±1.6 <sup>a</sup>	5.8±0.8 <sup>a</sup>	0.7±0.04 <sup>a</sup>
RNpQ-P	26.0±0.8 <sup>a</sup>	26.0±1.6 <sup>a</sup>	26.0±1.2 <sup>a</sup>	25.4±2.5 <sup>a</sup>	6.0±0.3 <sup>a</sup>	0.7±0.07 <sup>a</sup>

\*Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ). Peso de hígado de ratón ( $F = 1.1514$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.252$ ) y de riñón ( $F = 3.654$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.051$ ). NPQ-P = NpQ-P = nanopartículas de quitosano cargadas con  $\alpha$ -pineno; (RNpQ-P) = recubrimiento nanoestructurado de nanopartículas de quitosano con  $\alpha$ -pineno.

La medición de la hepatotoxicidad mediante los perfiles de actividad enzimática de fosfatasa alcalina (FAL), alanina aminotransferasa (ALT) y aspartato aminotransferasa (AST) no mostraron diferencias significativas de los tratamientos comparados con el testigo, sin causar un aumento en la actividad enzimática, demostrando que no son tóxicos ya que no afectaron al animal a nivel hepático. Los resultados se muestran en la Tabla 10.

Tabla 10. Actividad enzimática de FAL, ALT y AST en suero de ratón expuestos por 28 días a las NpQ-P y al RNpQ-P.

UI/L	Agua destilada	NpQ-P	RNpQ-P
ALT	6.5±2.8 <sup>a</sup>	10.3±1.6 <sup>a</sup>	7.2±2.4 <sup>a</sup>
AST	13.4±5.0 <sup>a</sup>	17.3±3.8 <sup>a</sup>	22.1±5.8 <sup>a</sup>
FAL	47.4±12.3 <sup>a</sup>	41.4±11.2 <sup>a</sup>	37.4±10.8 <sup>a</sup>

\*Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ). FAL = fosfatasa alcalina; ALT = alanina aminotransferasa; AST = aspartato aminotransferasa; NpQ-P = nanopartículas de quitosano cargadas con  $\alpha$ -pineno; (RNpQ-P) = recubrimiento nanoestructurado de nanopartículas de quitosano con  $\alpha$ -pineno.

En la Tabla 11, se observan los resultados de las pruebas de genotoxicidad y citotoxicidad, mostraron que hubo un incremento positivo y no dañino para el modelo murino estudiado ya que los valores de EPC/1000ET (EPC = eritrocitos

policromáticos, ET = eritrocitos totales) presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para NpQ-P comparados con el control ( $p = 0.001$ ). De igual forma, los valores de EMN/10000ET (EMN = eritrocitos micronucleados) presentaron diferencias estadísticas entre el control y el tratamiento con NpQ-P ( $p = 0.006$ ), con una disminución de los EMN indicando que no hubo lesiones cromosómicas inducidas. Entre el control y el recubrimiento nanoestructurado (RNpQ-P) no se observaron diferencias estadísticas tanto para EPC como para EMN. En cuanto a los valores de EPCMN/1000EPC (EPCMN = eritrocitos policromáticos micronucleados) no se observan diferencias significativas entre los tratamientos. Debido a que no hubo un aumento de la cantidad de micronúcleos lo cual se relaciona con daños a nivel genéticos y al no presentarse diferencias significativas en los valores de EPCMN, se concluye que no hubo genotoxicidad a diferencia de otros trabajos [37] donde si se ha reportado genotoxicidad en modelos murinos usando extractos de berenjena espinosa (*Solanum chrysotrichum*) a una concentración de  $1\text{g}/\text{kg}^{-1}$  de peso. Esto se explicó por una disminución en EPC y EMN en comparación en los testigos tanto positivo como negativo, ciclo-fosfamida y placebo, respectivamente.

Tabla 11. Evaluación de la genotoxicidad y citotoxicidad de NpQ-P y RNpQ-P.

Tratamientos	EPC/1000ET	EMN/10000ET	EPCMN/1000EPC
Agua destilada	21.0±3.4 <sup>ab</sup>	3.7±0.8 <sup>a</sup>	1.7±1.0 <sup>a</sup>
NpQ-P	26.3±2.4 <sup>a</sup>	2.0±0.6 <sup>b</sup>	1.7±1.0 <sup>a</sup>
RNpQ-P	18.7±2.1 <sup>b</sup>	4.7±1.9 <sup>a</sup>	1.3±0.5 <sup>a</sup>

\*Medias en la misma columna seguidas por letras diferentes son estadísticamente diferentes según la prueba de Tukey ( $P < 0.05$ ). NpQ-P = nanopartículas de quitosano cargadas con  $\alpha$ -pineno; (RNpQ-P) = recubrimiento nanoestructurado de nanopartículas de quitosano con  $\alpha$ -pineno; EPC = eritrocitos policromáticos, ET = eritrocitos totales; EMN = eritrocitos micronucleados; EPCMN = eritrocitos policromáticos micronucleados. Conteo de EPC/1000 ET ( $F = 12.56$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.001$ ), EMN/10000 ET ( $F = 7.206$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.006$ ) y EPCMN/1000 EPC ( $F = 0.278$ ,  $gl = 2$ ,  $P < 0.761$ ).

#### 4. Conclusiones

Los resultados demostraron que el aceite esencial de tomillo incorporado en las NpQ fue efectivo en la inhibición *in vitro* e *in vivo* para los diferentes microorganismos estudiados. En cuanto a los extractos botánicos, el efecto inhibitorio fue diferente dependiendo del extracto, en algunos casos fue mayor para NpQ con el extracto encapsulado (EMN) y en otros fue menor (EEA) comparado con cubiertas con NpQ solas. De igual forma, las nanopartículas fueron más

efectivas que las nanocápsulas de quitosano tanto con AEL como con el AET en el control de microorganismos a las mayores concentraciones de agente bioactivo usado. En general, la aplicación de las cubiertas nanoestructuradas inhibieron notablemente el desarrollo de los microorganismos patógenos en relación a los frutos no tratados, presentando la adición de agentes bioactivos como aceites esenciales o extractos botánicos un efecto sinérgico y en la mayoría de los casos sin afectar la vida de anaquel de los frutos tratados durante el almacenamiento. En el desarrollo de cubiertas nanoestructuradas es importante considerar factores como concentración de los componentes en las formulaciones, el tipo de inóculo y el hospedero. Por otra parte, debido a la ausencia de regulaciones sobre los nanomateriales, existen muchas inquietudes respecto al impacto sobre las personas y el medio ambiente en el largo plazo. De tal manera que se requieren más estudios en la aplicación de la nanotecnología en el procesamiento y empaque, nanotoxicidad, regulación, análisis de riesgos y beneficios.

### **Agradecimientos**

Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por su apoyo. De igual forma a la Red de Nanociencia y Micro Nanotecnología del IPN.

## Bibliografía

1. He, X., Deng, H., & Hwang, H. (2019). The current application of nanotechnology in food and agriculture. *J. Food Drug Anal.*, 27, 1-21.  
<https://doi.org/10.1016/j.jfda.2018.12.002>
2. FAO SOFA report 2019: *New insights into food losses and waste*. <https://www.ifpri.org/blog/fao-sofa-report-2019-new-insights-food-loss-and-waste> [Fecha de acceso febrero del 2021].
3. Bautista-Baños, S. (2014). *Postharvest Decay. Control Strategies* (1<sup>ra</sup> edición). Academic Press, Elsevier, UK.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00001-6>
4. Singh, D., & Sharma, R. R. (2018). Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables and Their Management. En Siddiqui, M. W. (Ed.), *Postharvest Disinfection of Fruits and Vegetables*. Academic Press, Elsevier, UK.  
<https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812698-1.00001-7>
5. Ventura-Aguilar, R. I., Bautista-Baños, S., Flores-García, G., & Zavaleta-Avejar, L. (2018). Impact of chitosan based edible coatings functionalized with natural compounds in *Colletotrichum fragariae* development and the quality of strawberries. *Food Chem.*, 262, 421-149.  
<https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.063>
6. Jiang, G., Zhang, Z., Li, F., Rui, X., & Aisa, H. K. (2021). A comprehensive review on the research progress of vegetable edible films. *Arab. J. Chem.*, 14(103049), 1-8.  
<https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2021.103049>
7. Baldoni, D., Ventura-Aguilar, R.I., Hernández-López, M., Corona-Rangel, M.L., Barrera-Necha, L.L., Correa-Pacheco, Z. et al. (2016). Calidad postcosecha de higos 'black mission' tratados con cubiertas naturales. *Rev. Iberoam. Tecnol. Postcosecha*, 17(2), 267-275.
8. Bautista-Baños, S., Ventura-Aguilar, R. I., Correa-Pacheco, Z., & Corona-Rangel, M. L. (2017). Chitosan: A versatile antimicrobial polysaccharide for fruit and vegetables in postharvest-A review. *Rev. Chapingo ser. Horticultura*, 23(2), 103-121.  
<https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2016.11.030>
9. Abdollahzadeh, E., Nematollahi, A., & Hosseini, H. (2021). Composition of antimicrobial edible films and methods for assessing their antimicrobial activity: A review. *Trends Food Sci. Tech.*, 110, 291-303.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.084>
10. Yousuf, B., Wu, S., & Siddiqui, M. W. (2021). Incorporating essential oils or compounds derived thereof into edible coatings: Effect on quality and shelf life of fresh/fresh-cut produce. *Trends Food Sci. Tech.*, 108, 245-257.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2021.01.016>

11. Kouhi, M., Prabhakaran, P., & Ramakrishna, S. (2020). Edible polymers: An insight into its application in food, biomedicine and cosmetics. *Trends Food Sci. Tech.*, 103, 248-263. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.05.025>
12. Hui-Ting, C., Ying-Hung, C., Chi-Lin, W., Shang-Tzen, C., Tun-Tschu, C., & Yu-Chang, S. (2008). Antifungal activity of essential oil and its constituents from *Calocedrus macrolepis* var. *Formosana* Florin leaf against plant pathogenic fungi. *J. Biores. Technol.*, 99, 6266-6270. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.12.005>
13. Alishahi, A., Mirvaghe, A., Tehrani, M. R., Farahmand, H., Shojaosadati, S.A., Dorkoosh, F. A. et al. (2011). Shelf life and delivery enhancement of vitamin C using chitosan nanoparticles. *Food Chem.*, 126, 935-940. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.086>
14. Rowe, D. J. (2005). *Chemistry and Technology of Flavors and Fragrances*. CRC Press, USA. <https://doi.org/10.1002/9781444305517>
15. Mandal, S., Mandal, V., & Das, A. K. (2015). *Essential of Botanical Extractions. Principles and Applications*. Academic Press, Elsevier, UK.
16. Al-Tayyar, N. A., Youssef, A., & Al-Hindi, R. (2020). Edible coatings and nanoemulsions for enhancing shelf life and reducing foodborne pathogens of fruits and vegetables: A review. *Sustain. Mater. Technol.*, 26(e00215), 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.susmat.2020.e00215>
17. Chawla, R., Sivakumar, S., & Kaur, H. (2021). Antimicrobial edible films in food packaging: Current scenario and recent nanotechnological advancements- a review. *Carbohydr. Polym. Technol. Appl.*, 2(100024), 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2020.100024>
18. Jesse, I. A., Mamman, P. G., Umar, A. O., Aliyu, A. M., Ibrahim, H. O., Busari, M. B. et al. (2018). Application of nanoparticles in the control and management of pathogenic microorganisms. *J. Public Health Dis.*, 1(2), 15-21.
19. Bundschuh, M., Filser, J., Lüderwald, S., McKee, M., Metreveli, G., Schaumann, G. et al. (2018). Nanoparticles in the environment: where do we come from, where do we go to? *Environ. Sci. Eur.*, 30(6), 1-17. <https://doi.org/10.1186/s12302-018-0132-6>
20. Khan, I., Saeed, K., & Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arab. J. Chem.*, 12, 908-931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
21. Sotelo-Boyás, M. E., Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., & Corona-Rangel, M. L. (2017). Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles and nanocapsules incorporated with lime essential oil and their antibacterial activity against food-borne pathogens. *LWT - Food Sci. Technol.*, 77, 15-20. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2016.11.022>

22. Reynolds, G. (2007). *FDA recommends nanotechnology research, but not labelling*. FoodProductionDaily.com.  
<https://www.foodnavigator.com/Article/2007/07/26/FDA-recommends-nanotechnology-research-but-not-labeling> [Fecha de acceso 8 marzo 2021].
23. Sorrentino, A., Gogorrasi, & Vittoria, V. (2007). Potential perspectives of bio-nano-composites for food packaging applications. *Trends Food Sci. Technol.*, 18(2), 84-95.  
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.09.004>
24. Aparicio-García, P., Ventura-Aguilar, R. I., Del Río-García, J. C., Hernández-López, M., Guillén-Sánchez, D., Salazar-Piña, D. et al. (2021). Edible chitosan/propolis coatings and their effect on ripening, development of *Aspergillus flavus*, and sensory quality in fig fruit, during controlled storage. *Plants*, 10(112), 1-12.  
<https://doi.org/10.3390/plants10010112>
25. Istúriz-Zapata, M. A., Hernández-López, M., Correa-Pacheco, Z. N., & Barrera-Necha, L. L. (2020). Quality of cold-stored cucumber as affected by nanostructured coatings of chitosan with cinnamon essential oil and cinnamaldehyde. *LWT-Food Sci. Technol.* 123(109089), 1-7.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109089>
26. Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., Ramos-García, M. L., Martínez-González, M. C., & Hernández-Romano, J. (2019). Physicochemical characterization of and antimicrobial activity of edible propolis-chitosan nanoparticles film. *Prog. Org. Coat.*, 137(105326), 1-14.  
<https://doi.org/10.1016/j.porgcoat.2019.105326>
27. Correa-Pacheco, Z. N., García-Paniagua, K. D., Bautista-Baños, S., & Corona-Rangel, M. L. (2019). Effect of chitosan-thyme essential oil nanocoatings on postharvest quality of tomato fruit. *Rev. Mex. Fitopatol.*, 37(1), 29-36.
28. González-Saucedo, A., Barrera-Necha, L. L., Ventura-Aguilar, R. I., Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., & Hernández-López, M. (2019). Extensión of the postharvest quality of bell pepper by applying nanostructured coatings of chitosan with *Byrsonima crassifolia* extract (L.) Kunth. *Postharvest Biol. Tec.*, 149, 74-82.  
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2018.11.019>
29. Hernández-López, G., Ventura-Aguilar, R. I., Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., & Barrera-Necha, L. (2020). Nanostructured chitosan edible coating loaded with  $\alpha$ -pinene for the preservation of the postharvest quality of *Capsicum annuum* L. and *Alternaria alternata* control. *Int. J. Biol. Macromol.*, 165, 1881-1888.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.094>
30. Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., Marquina-Valle, M. A., & Hernández-López, M. (2017). Effect of nanostructured chitosan and chitosan-thyme essential oil coatings on *Colletotrichum gloeosporioides* growth in vitro and on cv Hass and fruit quality. *J. Phytopathol.*, 165, 297-305.  
<https://doi.org/10.1111/jph.12562>

31. Lara-Cortés, E., Troncoso-Rojas, R., Hernández-López, M., & Bautista-Baños, S. (2016). Evaluación del cinamaldehído en la conservación de dalias comestibles, en condiciones diferentes de almacenamiento. *Rev. Chapingo ser. Horticultura*, 22(3), 177-189.
32. Black-Solís, J., Ventura-Aguilar, R. I., Barrera-Necha, L. L., & Bautista-Baños, S. (2017). Caracterización química, variabilidad composicional y modelamiento matemático del efecto de aceites esenciales en *Alternaria alternata*. *Rev. Mex. Fitopatol.*, 35(2), 204-226.  
<https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1612-5>
33. Luque-Alcaraz, A., Lizardi, J., Goycoolea, F., Valdez, M., Acosta, A., Iloki-Assanga, S. et al. (2012). Characterization and antiproliferative activity of nobiletin-loaded chitosan nanoparticles. *J. Nanomater.*, 265161, 1-7.  
<https://doi.org/10.1155/2012/265161>
34. Lozano, M., Torrecilla, D., Torres, D., Vidal, A., Domínguez, F., & Alonso, M. (2008). Highly efficient system to deliver taxanes into tumor cells: docetaxel-Loaded chitosan oligomer colloidal carriers. *Biomacromolecules*, 9, 2186–2193.
35. Ramos-García, M., Bautista-Baños, S., Barrera-Necha, L. L. Bosquez-Molina, E., Alia-Tejagal, I., & Estrada Carrillo, M. (2010). Compuestos antimicrobianos adicionados en recubrimientos comestibles para uso en productos hortofrutícolas. *Rev. Mex. Fitopatol.*, 28, 44-57.
36. Barnes, J., Balaguer, L., Manrique, E., Elvira, S., & Davison, A. (1992). A reappraisal of the use of DMSO for the extraction and determination of chlorophylls “a” and “b” in lichens and higher plants. *Environ. Exp. Bot.*, 32(2), 85-100.  
[https://doi.org/10.1016/0098-8472\(92\)90034-Y](https://doi.org/10.1016/0098-8472(92)90034-Y)
37. Aguilar-Santamaría, L., Ramírez, G., Herrera-Arellano, A., Zamilpa, A., Jiménez, J. E., Alonso-Cortés, D. et al. (2007). Toxicological and cytotoxic evaluation of standardized extracts of *Galphimia glauca*. *J. Ethnopharmacology*, 109, 35-40.  
<https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.06.013>
38. Sotelo-Boyás, M. E., Bautista-Baños S., Valverde-Aguilar, G., Plascencia-Jatomea, M., Correa, Z. N., Jiménez-Aparicio, A. et al. (2015). Characterization of chitosan nanoparticles added with essential oils. *In vitro* effect on *Pectobacterium carotovorum*. *Rev. Mex. Ing. Quím.*, 14(3), 589-599.
39. Sotelo-Boyás, M. E., Correa-Pacheco, Z. N., Corona-Rangel, M. L., Villanueva-Arce, R., & Bautista-Baños, S. (2019). Cellular alterations in *Pectobacterium carotovorum* treated with nanostructured formulations during the incubation time. *Arch. Microbiol.*, 201, 615-622.  
<https://doi.org/10.1007/s00203-019-01628-w>
40. Judefeind, A., & de Villiers, M. (2009). Drug loading into and in vitro release from nano-sized drug delivery systems. En M. de Villiers, P. Aramwit, G. Kwon (Eds.), *Nanotechnology in drug delivery*. Springer, USA.  
[https://doi.org/10.1007/978-0-387-77668-2\\_5](https://doi.org/10.1007/978-0-387-77668-2_5)

41. Sotelo-Boyás, M. E., Correa-Pacheco, A., Bautista-Baños, S., & Gómez y Gómez, Y. (2017). Release study and inhibitory activity of thyme essential oil-loaded chitosan nanoparticles and nanocapsules against foodborne bacteria. *Int. J. Biol. Macromol.*, 103, 409-414.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.063>
42. Li, J., & Zhuang, S. (2020). Antibacterial activity of chitosan and its derivatives and their interaction mechanism with bacteria: Current state and perspectives. *Eur. Polym. J.*, 138(109984), 1-12.  
<https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109984>
43. Liew, S. N., Utra, U., Alias, A. K., Tan, T. B., Tan, C. P., & Yussof, N. S. (2020). Physical, morphological and antibacterial properties of lime essential oil nanoemulsions prepared via spontaneous emulsification method. *LWT-Food Sci. Technol.*, 128(109388), 1-8.  
<https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109388>
44. Elsabee, M., & Abdou, E. (2013). Chitosan based edible films and coatings: a review. *Mater. Sci. Eng. C*, 33, 1819-1841.  
<https://doi.org/10.1016/j.msec.2013.01.010>
45. Zhang, H., Jung, J., & Zhao, Y. (2016). Preparation, characterization and evaluation of antibacterial activity of catechins and catechins-Zn complex loaded-chitosan nanoparticles of different particle sizes. *Carbohydr. Polym.*, 137, 82-91.  
<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.10.036>
46. Barrera-Necha, L. L., Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., Martínez Jiménez J. E., & Morán Mejía, A. (2016). Synthesis and characterization of chitosan nanoparticles loaded botanical extracts with antifungal activity on *Colletotrichum gloeosporioides* and *Alternaria* species. *Adv. Microbiol.*, 8, 286-296.
47. Abdel-Aliem, H., Gibriel, A., Rasmy, N., Sahab, A., El-Nekeety, A., & Abdel-Wahhab, M. (2019). Antifungal efficacy of chitosan nanoparticles against phytopathogenic fungi and inhibition on zearaleone production by *Fusarium graminearum*. *Com. Sci.*, 10(3), 338-345.  
<https://doi.org/10.14295/cs.v10i3.1899>
48. Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., & Bosquez-Molina, E. (2004). Growth inhibition of selected fungi by chitosan and plant extracts. *Rev. Mex. Fitopatol.*, 22(2), 178-186.
49. Chookhongka, N., Sopondilok, T., & Photchanachai, S. (2013). Effect of chitosan and chitosan nanoparticles on fungal growth and chilli seed quality. *Acta Hort.*, 973, 231-237.  
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.973.32>
50. Zahid, N., Alderson, P., Ali, A., Maqbool, M., & Manickam, S. (2013). *In Vitro* control of *Colletotrichum gloeosporioides* by using chitosan loaded nanoemulsions. *Acta Hort.*, 1012, 769-774.  
<https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.1012.104>

51. Correa-Pacheco, Z. N., Bautista-Baños, S., Hernández-López, M., & Marquina-Valle, M. A. (2018). Evaluation of nanoformulations on *in vitro* development of fungal phytopathogens. *Rev. Mex. Fitopatol.*, 36(3), 457-467.  
<https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1803-2>
52. García, F., & Davidov-Pardo, G. (2021). Recent advances in the use of edible coatings for preservation of avocados: A review. *J. Food Sci.*, 86(1), 6-15.  
<https://doi.org/10.1111/1750-3841.15540>
53. Vargas, M., Albors, A., Chiralt, A., & González-Martínez, C. (2006). Quality of cold-stored strawberries as affected by chitosan-oleic acid edible coatings. *Postharvest Biol. Technol.*, 41, 164-171.  
<https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.03.016>
54. Martínez-González, M. C., Bautista-Baños, S., Correa-Pacheco, Z. N., Corona-Rangel, M. L., Ventura-Aguilar, R. I., Del Río-García, J. C. et al. (2020). Effect of nanostructured chitosan/propolis coatings on the quality and antioxidant capacity of strawberries during storage. *Coatings*, 10(90), 1-12.  
<https://doi.org/10.3390/coatings10020090>
55. Costantini, R., Ventura-Aguilar, R. I., Hernández-López, M., Bautista-Baños, S., & Barrera-Necha, L. L. (2018). Potencial antifúngico in vitro e in situ de nanopartículas de quitosano y extracto de arándano sobre *Colletotrichum fragariae* en fresa. *Rev. Mex. Fitopatol.*, 19(1), 1-12.
56. Luque-Alcaraz, A. G., Cortez-Rocha, M. O., Velazquez-Contreras, C. A., Acosta-Silva, A. L., Santacruz-Ortega, H. del C., Burgos-Hernandez, A. et al. (2016). Enhanced Antifungal Effect of Chitosan/Pepper Tree (*Schinus molle*) Essential Oil Bionanocomposites on the Viability of *Aspergillus parasiticus* Spores. *J. Nanomater.*, 2016(6060137), 1-10.  
<https://doi.org/10.1155/2016/6060137>

# CAPÍTULO 1

## ÁREA DE MATERIALES

### EFFECTO DEL PARÁMETRO $\mu$ EN LA POLARIZACIÓN DE UN SENSOR DE PH DE ESTADO SÓLIDO CON $\beta_{INT}$ Y $C_{EQ}$ COMO PARÁMETROS CLAVE

---

**José Luis Hernández-López<sup>\*1</sup>, Miguel Alemán-Arce,  
Norberto Hernández-Como<sup>\*2</sup>**

Centro de Nanociencias y Micro y Nanotecnologías, Instituto Politécnico Nacional. México.

<sup>\*1</sup>jhernandez36020@gmail.com, <sup>\*2</sup>nohernandezc@ipn.mx

Hernández-López, J. L., Alemán-Arce, M., & Hernández-Como, N. (2021). Efecto del parámetro  $\mu$  en la polarización de un sensor de pH de estado sólido con  $\beta_{int}$  y  $C_{eq}$  como parámetros clave En E. San Martín-Martínez (Ed.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III* (pp. 171-192). Barcelona, España: Omniascience.

## Resumen

Un *transistor de efecto de campo selectivo a iones de compuerta extendida* (acrónimo en inglés, EG-ISFET) puede utilizarse como un detector potenciométrico de iones hidrógeno ( $H^+$ ) si dichos iones se encuentran lo suficientemente cerca de la superficie sensora. Se ha reportado que al usar electrolitos simétricos (1:1) de fuerza iónica ( $\mu$ ) mayor que 0.010 M tanto co-iones como contra-iones compiten simultáneamente en el proceso de adsorción superficial del  $H^+$ , afectando la carga superficial neta. Partiendo de datos experimentales de densidad de carga superficial ( $\sigma_0$ ), conceptos de doble capa eléctrica debida a Helmholtz, Gouy-Chapman-Stern, el modelo de solvatación de los iones de Bockris-Devanathan-Muller, propiedades eléctricas de la capa de Stern ( $d_{Stern}$ ) y la teoría extendida de la disociación de sitios de enlace, se estableció una metodología general para caracterizar la interfaz *Aislante/Electrolito*. Con ella, se facilita el estudio del efecto del parámetro en la relación ( $\psi_0/pH$ ) de un EG-ISFET, en términos de la capacidad reguladora intrínseca ( $\beta_{inv}$ ) y capacitancia equivalente ( $C_{eq}$ ) como parámetros clave. La polarización de un sensor de pH de estado sólido, a base de alúmina nanoestructurada, presentó una excelente sensibilidad y linealidad (0.0507 V/pH,  $R^2 = 0.9966$ ), haciendo de este nanomaterial un buen prospecto para aplicaciones microanalíticas.

**Palabras Clave:** Alúmina, capacidad reguladora intrínseca, capacitancia equivalente, densidad de carga superficial, fuerza iónica, EG-ISFET, pH, polarización, punto de carga cero, relación ( $\psi_0/pH$ ), sensor de pH de estado sólido.

## 1. Introducción

Desde que el concepto de *transistor de efecto de campo selectivo a iones* (acrónimo en inglés,

ISFET) fue propuesto por primera vez por Bergveld en la década de 1970, su sensibilidad al pH fue remarcable [1]. El principio de operación de un ISFET fue descrito por Bergveld y Sibbald [2] al presentar una expresión para la corriente del drenador,  $I_D$ , en la región no saturada:

$$I_D = \mu_n C_{ox} \left( \frac{W}{L} \right) \left\{ \left[ V_{GS} - \left( E_{Ref} - \psi_0 + \chi^{sol} - \frac{\Phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{ox} + Q_{ss} + Q_B}{C_{ox}} \right) \right] V_{DS} - 1/2 V_{DS}^2 \right\} \quad (1)$$

válida para  $V_{DS} < (V_{GS} - V_{Th})$ ; donde  $\mu_n$  es la movilidad electrónica promedio en el canal de inversión;  $W$  y  $L$  son el ancho y la longitud del canal, respectivamente;  $E_{Ref}$  es la contribución del electrodo de referencia;  $V_{DS}$  y  $V_{GS}$  son la tensión aplicada entre las terminales de *drenador* (Drain) a *fuentes* (Source) y la tensión aplicada entre las terminales de *compuerta* (Gate) a *fuentes* (Source), respectivamente;  $\Phi_{Si}$  es la función trabajo del semiconductor tipo  $n$  (en este caso, Si);  $q$  es la carga elemental del electrón;  $C_{ox}$  es la capacitancia de la capa de óxido de la compuerta;  $Q_{ox}$ ,  $Q_{ss}$  y  $Q_B$  son las cargas localizadas en la capa de óxido, las cargas localizadas en la zona de inversión (estados superficiales e interfaciales) y la carga en la zona de agotamiento, respectivamente;  $\chi^{sol}$  es el potencial originado por las moléculas polares del solvente en la superficie del dieléctrico;  $\phi_f$  es la diferencia de potencial entre los niveles de energía de Fermi del Si, dopado e intrínseco.

Todos los parámetros son constantes, excepto el potencial electrostático que se desarrolla en la superficie de la capa de óxido de la compuerta,  $\psi_0$  y el término  $\chi^{sol}$ . Como el término  $\chi^{sol}$  se asume ser independiente del pH, por lo tanto, los cambios que ocurren en la corriente del drenador  $I_D$  son atribuidos a cambios en el parámetro  $\psi_0$  solamente.

Los procesos que tienen lugar en la interfaz *Aislante/Electrólito* y su relación con la respuesta del dispositivo al variar el pH del medio electrolítico son todavía objeto de estudio.

Siu y Cobbold [3] observaron tiempos de respuesta cortos y una sensibilidad por debajo del límite de Nernst (0.05919 V/pH a 25 °C) en el sistema Si/SiO<sub>2</sub>/Electrólito, concluyendo que equilibrios de adsorción superficial entre el

aislante de la compuerta y el electrolito gobiernan el mecanismo de respuesta de un ISFET.

Yates et al. [4] introdujeron el modelo de los sitios de enlace usado en química coloidal para describir las propiedades de la interfaz óxido-electrolito en fase acuosa. Este modelo fue posteriormente adoptado para describir la interfaz *Semiconductor/Aislante/Electrolito* (acrónimo en inglés, EIS).

Hoy en día, el modelo presentado por Bousse [5] sigue siendo aceptado como un referente al describir la respuesta de un ISFET a base de  $\gamma$ -alúmina a variaciones en el pH del medio electrolítico, sin embargo, el modelo no es válido en la totalidad del intervalo de pH (e.g., 0 a 14) y el efecto de la fuerza iónica,  $\mu$ , fue despreciado.

Van Hal et al. [6] derivaron una nueva expresión general en términos de la capacidad reguladora intrínseca ( $\beta_{int}$ ) y la capacitancia equivalente ( $C_{eq}$ ) como parámetros clave. Estudiando a los óxidos  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$  y  $\text{Ta}_2\text{O}_5$ , en fase acuosa, demostraron que  $(\psi_0/pH) \propto \beta_{int}$  y que la sensibilidad al pH de un ISFET podría ser optimizada al usar un óxido con una alta densidad superficial de sitios activos ( $N_s$ ) y un  $\Delta pK = (pK_b - pK_a)$  pequeño. Aunque el parámetro  $\beta_{int}$  minimiza el efecto de la concentración de electrolito, consideraron una capacitancia de Stern ( $C_{Stern}$ ) constante de  $0.2 \text{ F/m}^2$  en todos sus cálculos.

La capa de Stern ( $d_{Stern}$ ) actúa como un capacitor de placas paralelas entre el *plano interno de Helmholtz* (acrónimo en inglés, IHP) y el *plano externo de Helmholtz* (acrónimo en inglés, OHP) y contribuye significativamente al modelo de Gouy-Chapman [7] al incrementar el valor numérico de  $\psi_0$  y limitar la máxima concentración de contra-iones en la interfaz *Aislante/Electrolito*.

Recientemente, Brown et al. [8] reportaron que en la interfaz  $\text{SiO}_2$ -NaCl en fase acuosa, la capa de Stern sufre una compresión (se hace más delgada) al incrementarse la fuerza iónica del medio electrolítico, concluyendo que la capacitancia de Stern no es constante.

Estos mismos autores [9] propusieron la teoría del campo-medio, la cual se expresa en términos de los potenciales electrostático y de hidratación. Este modelo de doble capa eléctrica incorpora el término de la especificidad iónica, las propiedades de hidratación de la superficie cargada y las propiedades eléctricas de la capa de Stern, la cual se analiza en términos del tamaño efectivo de los contra-iones considerando su capa de hidratación [10].

Una reciente adición a esta teoría considera al tamaño finito del contra-ión como parámetro que afecta la sensibilidad al pH de un ISFET [11]. La ecuación de sensibilidad puede ser modificada al introducir las siguientes correcciones:

$$\frac{\partial \psi_0}{\partial pH_B} = -2.303 \left( \frac{k_B T}{q} \right) 1 / (1 + \alpha - \delta) \quad (2)$$

$$\delta = \frac{2a^3 c_B \sinh\left(\frac{q\psi_0}{k_B T}\right)}{1 + 4a^3 c_B \left[\sinh\left(\frac{q\psi_0}{2k_B T}\right)\right]^2} \quad (3)$$

donde  $pH_B$  se refiere al pH en el seno de la disolución electrolítica,  $c_B$  es la concentración de electrólito y  $\alpha$  es el radio iónico hidratado (e.g.,  $Na^+$ , 450 pm;  $Cl^-$ , 300 pm) [12].

Actualmente, con las técnicas de fabricación de *transistores de película delgada* (acrónimo en inglés, TFT) se logra sustituir o añadir a la capa de óxido base otros materiales nanoestructurados aislantes con propiedades físicas y químicas superiores, e.g., ZnO [13], InGaZnO [14, 15].

Sistemas similares podrían contener adicionalmente ligandos biológicos activos, cuya afinidad por un analito en particular podría cuantificarse mediante experimentos estímulo-respuesta [16].

El ISFET basado en el chip de Si combina las propiedades químicamente sensibles de las membranas de vidrio y otros materiales nanoestructurados avanzados con las características de conversión de impedancias del *transistor de efecto de campo metal-óxido-semiconductor* (acrónimo en inglés, MOSFET), lo cual ha trascendido en la definición del concepto moderno de integración analítica, mejor conocido como *lab-on-a-chip*.

La caracterización de circuitos integrados fabricados con tecnología microelectrónica persigue como objetivo final el asegurar la calidad y funcionalidad de los chips. Sin embargo, a pesar de los avances de las últimas décadas aún queda mucho por investigar sobre aspectos teóricos y tecnológicos que mejorarían el funcionamiento de este tipo de transducción y que se extenderían a otras áreas de aplicación como son la biomédica, ambiental, de seguridad alimentaria, militar y de biotecnología.

En virtud de lo anterior, en este trabajo se estudia el efecto del parámetro  $\mu$  en la relación  $(\psi_0/pH)$  de un EG-ISFET comercial, en términos de la capacidad reguladora intrínseca ( $\beta_{inv}$ ) y capacitancia equivalente ( $C_{eq}$ ) como parámetros clave. Con ello, se lograría identificar, seleccionar y evaluar nuevos materiales nanoestructurados sensibles a iones  $H^+$ , en presencia de disoluciones electrolíticas de naturaleza y composición controlables; asimismo, la simulación de la operación de un sensor de pH de estado sólido nos ayudaría a entender su principio de funcionamiento y a definir la configuración electrónica más apropiada para el desarrollo y puesta a prueba de prototipos experimentales con propósitos sensoriales, factibles de ser integrados en procesos de fabricación de tecnología del estado sólido como son los *transistores a base de películas delgadas* (acrónimo en inglés, TFT).

## 2. Metodología

### 2.1. La interfaz Aislante/Electrólito

En esta sección se deduce la expresión general que caracteriza la sensibilidad al pH de un ISFET, la cual se define como la razón de cambio del potencial electrostático superficial,  $\psi_0$ , con respecto al cambio del pH en el seno de la disolución electrolítica (*subíndice*), *i.e.*,  $\delta\psi_0/\delta pH_B$ .

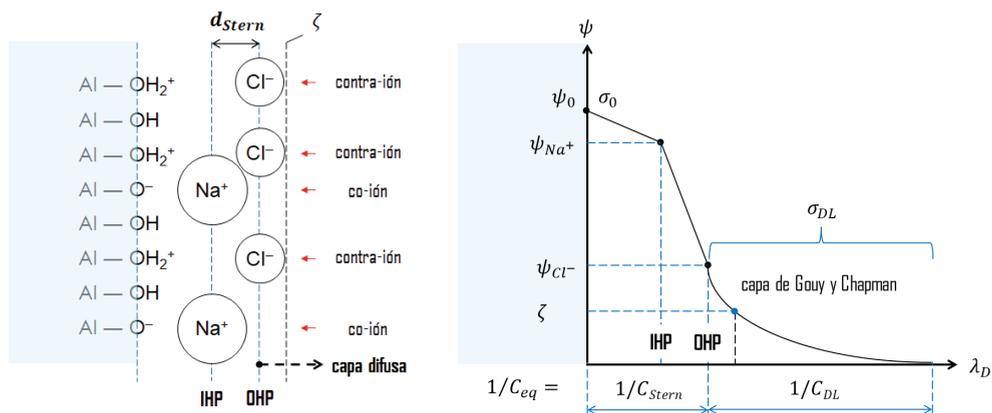
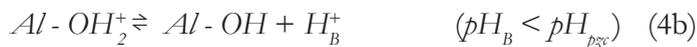


Figura 1. Modelo de doble capa eléctrica debida a Gouy-Chapman y Stern mostrando la distribución de iones solvatados y moléculas de agua, la capa de Stern ( $d_{Stern}$ ) y la capa de carga difusa, una densidad de carga superficial  $\sigma_0$  (positiva/negativa) y el perfil característico de potencial como una función de la distancia  $\lambda_D$  (longitud de Debye) a partir de la superficie del óxido. El potencial  $-\zeta$  se sitúa a una profundidad o distancia característica  $(1/e)$  a partir de donde comienza la capa de carga difusa (*i.e.*, OHP).

La teoría de la *disociación de sitios de enlace* (acrónimo en inglés, BSD) describe el mecanismo por el cual se carga un óxido, e.g.,  $Al_2O_3$ , como el equilibrio químico existente entre los sitios activos superficiales  $Al-OH$  y los iones  $H^+$  presentes en el seno de la disolución electrolítica (*subíndice*). Las reacciones superficiales son las siguientes:



Las constantes de equilibrio ácido-base (adimensionales) son, respectivamente

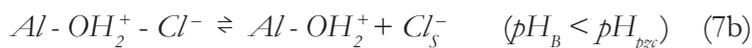
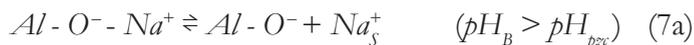
$$K_a = \frac{(\nu_{Al-O^-})(a_{H_s^+})}{\nu_{Al-OH}} \quad \text{y} \quad K_b = \frac{(\nu_{Al-OH})(a_{H_s^+})}{\nu_{Al-OH_2^+}} \quad (5)$$

donde  $\nu_i$  es el número de sitios activos por unidad de área y  $a_{H_s^+}$  es la actividad de los iones  $H^+$  en la superficie (*subíndice*) del aislante, relacionada con la actividad de los iones  $H^+$  en el seno de la disolución electrolítica (*subíndice*),  $a_{H_B^+}$ , por medio de la ecuación de Nernst

$$a_{H_s^+} = a_{H_B^+} \cdot \exp(-q\psi_0 / k_B T) \quad (6)$$

donde  $q$  es la carga elemental del electrón,  $k_B$  es la constante de Boltzmann y  $T$  es la temperatura absoluta.

De acuerdo con la teoría *extendida de la disociación de sitios de enlace* (acrónimo en inglés, EBSD) al incluirse una sal, e.g., NaCl, como electrólito simétrico (1:1), en la disolución electrolítica, la disociación anfotérica expresada en la teoría BSD tiene que considerar adicionalmente las siguientes ecuaciones superficiales:



Cuyas constantes de equilibrio iónico (adimensionales) son, respectivamente:

$$K_{Na^+} = \frac{[Al-O^-][Na_s^+]}{[Al-O^- - Na^+]} \quad \text{y} \quad K_{Cl^-} = \frac{[Al-OH_2^+][Cl_s^-]}{[Al-OH_2^+ - Cl^-]} \quad (8)$$

Debido a que en el proceso de adsorción superficial tanto co-iones como contra-iones dependen de la existencia de los sitios activos  $Al-O^-$  y  $Al-OH_2^+$ , la

formación de los complejos superficiales:  $Al-O^- - Na^+$  y  $Al-OH_2^+ - Cl^-$ , reajusta el equilibrio ácido-base original y, en consecuencia, afecta la carga superficial neta.

La densidad de carga superficial,  $\sigma_0$ , se define por la siguiente ecuación canónica:

$$\sigma_0 = q (v_{Al-OH_2^+} - v_{Al-O^-}) = qN_s (\Theta^+ - \Theta^-) \quad (9)$$

donde  $N_s$  es el número de sitios activos totales por unidad de área;  $\Theta^+$  y  $\Theta^-$  son las fracciones de  $N_s$  portando una carga, *i.e.*,  $Al-OH_2^+$  y  $Al-O^-$ , respectivamente. Las fracciones  $\Theta^+$  y  $\Theta^-$  son calculadas a partir de las constantes de equilibrio ácido-base:

$$\Theta^+ = [Al-OH_2^+] = N_s \left[ \frac{K_b a_{H_s^+}^2}{(K_a + a_{H_s^+} + K_b a_{H_s^+}^2)^2} \right] \quad (10a)$$

$$\Theta^- = [Al-O^-] = N_s \left[ \frac{K_a}{(K_a + a_{H_s^+} + K_b a_{H_s^+}^2)^2} \right] \quad (10b)$$

y sustituidas en la ecuación canónica de  $\sigma_0$  para finalmente obtener una expresión analítica de la forma  $\sigma_0 = f(K_a, K_b, a_{H_s^+})$ :

$$\sigma_0 = qN_s \left[ \frac{a_{H_s^+}^2 - K_a K_b}{(K_a K_b - K_b a_{H_s^+} + a_{H_s^+}^2)^2} \right] = -q[B] \quad (11)$$

Donde  $[B]$  es el número de grupos cargados negativamente menos el número de grupos cargados positivamente por unidad de área. El término  $pH_{pzc}$ , es el pH en el *punto de carga cero* (acrónimo en inglés, PZC), mismo que se define como el valor numérico de pH en el cual ambas fracciones son iguales y  $[B]$  es igual a cero.

El cambio en el número de grupos cargados como resultado de un incremento infinitesimal en el  $pH_s$  es la capacidad reguladora intrínseca,  $\beta_{int}$ :

$$\frac{\delta\sigma_0}{\delta pH_s} = -q \frac{\delta[B]}{\delta pH_s} \quad (12a)$$

$$= -qN_s \left[ \frac{K_b a_{H_s^+}^2 + 4K_a K_b a_{H_s^+} + K_a K_b^2}{(K_a K_b + K_b a_{H_s^+} + a_{H_s^+}^2)^2} \right] (2.303 a_{H_s^+}) \quad (12b)$$

$$= -q\beta_{int} \quad (12c)$$

La carga en el electrólito es igual, pero de signo contrario, a la carga en la superficie del óxido. El modelo de Gouy-Chapman es usado para describir el lado que abarca al electrólito en el modelo de la doble capa eléctrica. El modelo de Stern incorpora una capa de carga difusa que se extiende hacia el seno de la disolución electrolítica iniciando a una cierta distancia  $x_2$  con respecto a la superficie del óxido. La distancia  $x_2$ , o también denotada como  $d_{Stern}$  en la literatura, corresponde al plano de máximo acercamiento de los centros de los iones en la disolución. La carga en la *capa difusa* (acrónimo en inglés, DL) se define por la siguiente expresión:

$$\sigma_{DL} = - (8k_B T \varepsilon_w \varepsilon_0 n^0)^{1/2} \sinh\left(\frac{zq\Phi_2}{2k_B T}\right) = -C_e \psi_0 = -\sigma_0 \quad (13)$$

donde  $\varepsilon_w$  es la permitividad relativa del agua,  $\varepsilon_0$  es la permitividad del espacio libre;  $\Phi_2$  es el potencial a  $x_2$ ;  $n^0$  es el número concentración de cada ión en el seno de la disolución electrolítica y  $z$  es la magnitud de la carga en los iones. La habilidad de un electrólito de almacenar carga en respuesta a un cambio en el potencial electrostático superficial es la capacitancia equivalente:

$$\frac{\delta\sigma_{DL}}{\delta\psi_0} = \frac{-\delta\sigma_0}{\delta\psi_0} \quad (14a)$$

$$= \frac{-\left(\frac{2\varepsilon_w \varepsilon_0 z^2 q^2 n^0}{k_B T}\right)^{1/2} \cosh\left(\frac{zq\Phi_2}{2k_B T}\right)}{1 + \left(\frac{x_2}{\varepsilon_w \varepsilon_0}\right) \left(\frac{2\varepsilon_w \varepsilon_0 z^2 q^2 n^0}{k_B T}\right)^{1/2} \cosh\left(\frac{zq\Phi_2}{2k_B T}\right)} \quad (14b)$$

$$= -C_e \quad (14c)$$

De la combinación de ambos lados de la capa eléctrica [ecuaciones (12c) y (14c)] se obtiene

$$\frac{\delta\psi_0}{\delta pH_S} = \frac{\delta\psi_0}{\delta\sigma_0} \frac{\delta\sigma_0}{\delta pH_S} = \frac{-q\beta_{int}}{C_e} \quad (15)$$

La relación entre  $pH_S$  y  $pH_B$  está dada por la relación de Nernst [ecuación (6)]. Al sustituir la ecuación (6) en la ecuación (15) y después de reorganizar términos se obtiene la expresión final de la sensibilidad del término  $\psi_0$  con respecto al  $pH_B$ :

$$\frac{\delta\psi_o}{\delta pH_B} = -2.303 \left( \frac{\kappa_B T}{q} \right) \alpha \text{ con } \alpha = \frac{1}{\left( \frac{2.303 \kappa_B T C_{eq}}{q^2 \beta_{int}} \right) + 1} \quad (16)$$

donde  $\alpha$  es el llamado parámetro de sensibilidad (adimensional), el cual queda determinado tanto por la temperatura como por la densidad y tipo de sitios activos superficiales que son capaces de hidrolizarse. El parámetro  $\alpha$  varía numéricamente entre 0 y 1 dependiendo de la capacidad reguladora intrínseca ( $\beta_{int}$ ) y capacitancia equivalente ( $C_{eq}$ ).

## 2.2. Efecto de la fuerza iónica

Datos experimentales concernientes a las propiedades ácido-base ( $pK_a$ ,  $pK_b$ ) y superficiales ( $\sigma_0$ ,  $N_s$ ,  $S_{BET}$ ,  $pH_{pzc}$ ) de alúmina nanoestructurada ( $8 \text{ OH}^-/\text{nm}^2$ ,  $128 \mu\text{C}/\text{cm}^2$ ) en disoluciones electrolíticas de NaCl ( $\mu = 0.001, 0.010$  y  $0.100 \text{ M}$ ) a diferentes valores numéricos de pH ( $pH_B = 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5, 7.5, 8.0, 8.5, 9.0, 9.5$  y  $10.0$ ) y  $T = 298.15 \text{ K}$ , fueron obtenidos a través de las referencias [17-19].

## 2.3. Polarización de un sensor de pH de estado sólido

La polarización de un EG-ISFET consiste en realizar medidas de la tensión  $V_{Ref}$ , a corriente de drenador  $I_D$  y a tensión  $V_{DS}$  constantes (cf. Figura 2) [20-22]. A este método de polarización se le llama método de medidas a corriente constante.

Como la *compuerta* (Gate) actual del ISFET es ahora la componente metálica del electrodo de referencia (RE), a la cual se aplica la tensión *compuerta-fuente*,  $V_{GS}$ , conviene referirse mejor a ella como la tensión de polarización,  $V_{Ref}$ , dejando la notación  $V_{GS}$  para la polarización del MOSFET.

Esta configuración eléctrica/electrónica permite aplicar un potencial negativo de retroalimentación entre las terminales del electrodo de referencia respecto a la *fuelle* (Source),  $E_{Ref}$ , para mantener la corriente de *drenador*  $I_D$  constante, de tal forma que cuando la tensión de umbral  $V_{Th}$  varía debido a cambios en el parámetro  $a_{H^+}$ , ésta se compensa automáticamente por una variación de la tensión de polarización  $V_{Ref}$ . De esta manera, se consigue mantener constante la conductancia del canal de inversión del EG-ISFET y, por lo tanto, la corriente  $I_D$  que circula por el mismo.

La hoja técnica conteniendo datos eléctricos y electrónicos propios de un MOSFET comercial de canal tipo  $n$  (del tipo de enriquecimiento), utilizado para simular la polarización del sensor de pH de estado sólido, fue obtenida de las referencias [23-25].

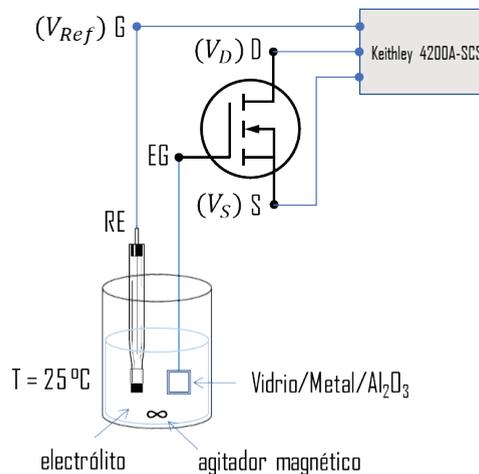


Figura 2. Montaje experimental usado para la medición del pH de una disolución electrolítica por medio de un *sistema de caracterización de semiconductores* (acrónimo en inglés, SCS) Keithley 4200A, al cual se conectan el electrodo de referencia (RE) y el sensor de pH de estado sólido. El MOSFET de canal tipo  $n$  (del tipo de enriquecimiento) y la *compuerta extendida* EG (a base de alúmina nanoestructurada) constituyen el sensor de pH de estado sólido (EG-ISFET).

### 3. Resultados y Discusión

#### 3.1. La interfaz Aislante/Electrolito

En las Figuras 3, 4 y 5 se muestran: la capacidad reguladora intrínseca, la capacitancia equivalente y la sensibilidad de la interfaz *Aislante/Electrolito* como una función del  $\Delta pH$  en disoluciones electrolíticas de NaCl (0.001, 0.010 y 0.100 M). De aquí en adelante, el término  $\Delta pH$  se define como la diferencia de pH entre  $pH_B$  y  $pH_{pH}$ .

La Figura 3 muestra variaciones en la capacidad reguladora intrínseca dependientes de la concentración de electrolito, siendo más evidente, la variación correspondiente a una fuerza iónica  $\mu = 0.001$  M.

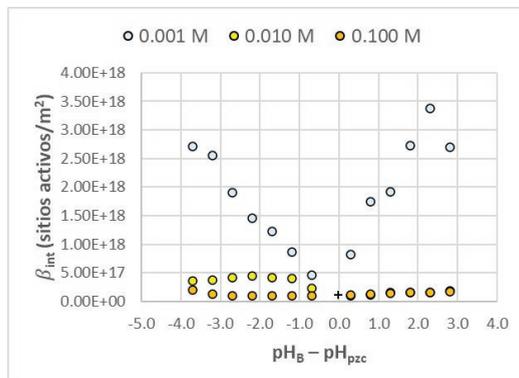


Figura 3. Comparación de la capacidad reguladora intrínseca ( $\beta_{int}$ ) teórica del óxido que compone la *compuerta extendida* (a base de alúmina nanoestructurada) en disoluciones electrolíticas de NaCl ( $\mu = 0.001, 0.010$  y  $0.100$  M) [ecuación (12c)]. Intervalo de : 3.5 a 10,  $pH_{pzc} = 7.2$ .

En la Figura 4 se observan pequeñas variaciones en la capacitancia equivalente en la cercanía del *punto de carga cero*, sobretodo, a las fuerzas iónicas baja ( $\mu = 0.001$  M) e intermedia ( $\mu = 0.010$  M).

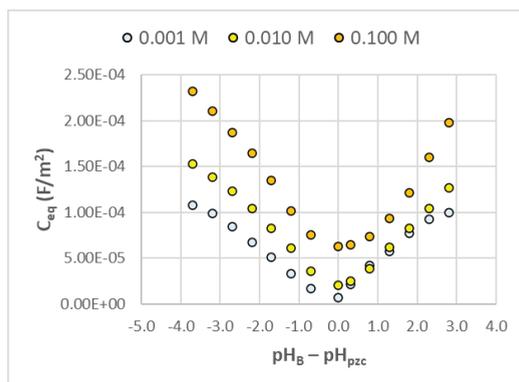


Figura 4. Comparación de la capacitancia equivalente ( $C_{eq}$ ) teórica del óxido que compone la *compuerta extendida* (a base de alúmina nanoestructurada) en disoluciones electrolíticas de NaCl ( $\mu = 0.001, 0.010$  y  $0.100$  M) [ecuación (14c)]. Intervalo de  $pH_B$ : 3.5 a 10,  $pH_{pzc} = 7.2$ .

En la Figura 5 se observa que existen variaciones en la relación ( $\psi_0/pH$ ), o sensibilidad, en el *punto de carga cero* o en la cercanía del *punto de carga cero*. En consecuencia, puede concluirse que la capacidad reguladora intrínseca es el principal parámetro que influye en la sensibilidad del óxido que compone la *compuerta extendida* (alúmina nanoestructurada). Debe mencionarse que la capacidad reguladora intrínseca debería de tener un valor numéricamente alto para poder alcanzar una sensibilidad cercana al valor teórico máximo de  $0.059191$  V/pH.

Adicionalmente, un valor numérico de capacidad reguladora intrínseca alto podría conseguirse si la cantidad de sitios activos totales ( $N_s$ ) es alta también, como puede apreciarse en la ecuación (12), o bien, si el  $\Delta pK = (pK_b - pK_a)$  es pequeño. Un valor numérico de  $\Delta pK$  pequeño significa que existe un número relativamente grande de grupos en las inmediaciones del *punto de carga cero*.

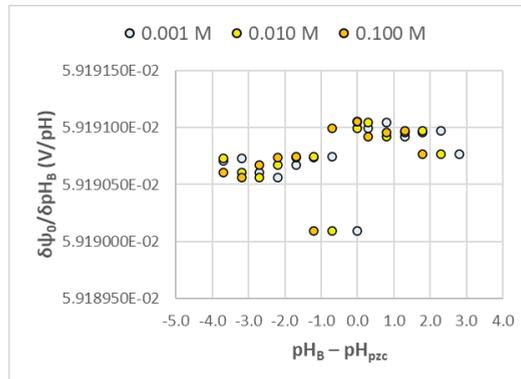


Figura 5. Comparación de la sensibilidad ( $\psi_0 / pH_B$ ) teórica del óxido que compone la *compuerta extendida* (a base de alúmina nanoestructurada) en disoluciones electrolíticas de NaCl ( $\mu = 0.001, 0.010$  y  $0.100$  M) [ecuación (16)]. Intervalo de  $pH_B$ : 3.5 a 10,  $pH_{pzc} = 7.2$ .

Este hecho no se deduce directamente a partir de la ecuación (12c) sino que se observa mejor en la Figura 6, en la cual se muestra que las fracciones de grupos cargados difieren en función del  $\Delta pH$ .

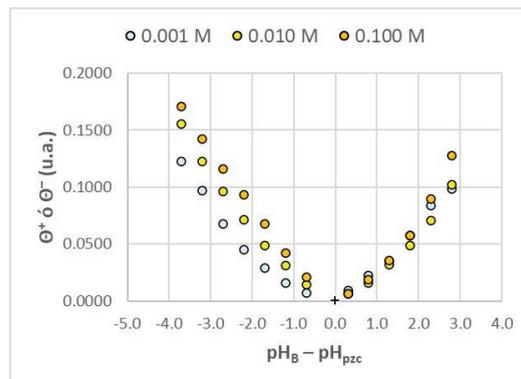


Figura 6. Fracciones de grupos cargados  $\Theta^+$  y  $\Theta^-$  del óxido que compone la *compuerta extendida* (a base de alúmina nanoestructurada) en disoluciones electrolíticas de NaCl ( $\mu = 0.001, 0.010$  y  $0.100$  M) [ecuaciones (10a) y (10b)]. Intervalo de  $pH_B$ : 3.5 a 10,  $pH_{pzc} = 7.2$ .

### 3.2. Efecto de la fuerza iónica

La respuesta del sensor de pH de estado sólido a cambios graduales en la fuerza iónica se explica por el cambio en la capacitancia equivalente, ecuación (13), la cual es dependiente de la concentración de electrólito. A partir de la ecuación (14) puede observarse que la fuerza iónica influye directamente en la capacitancia equivalente.

La Figura 7 muestra la variación de la capacitancia equivalente como una función de  $pH_B$  a distintas fuerzas iónicas ( $\mu = 0.001, 0.010$  y  $0.100$  M). En esta Figura se observan variaciones en la capacitancia equivalente alrededor del *punto de carga cero*. La variación más drástica corresponde a la fuerza iónica  $\mu = 0.001$  M.

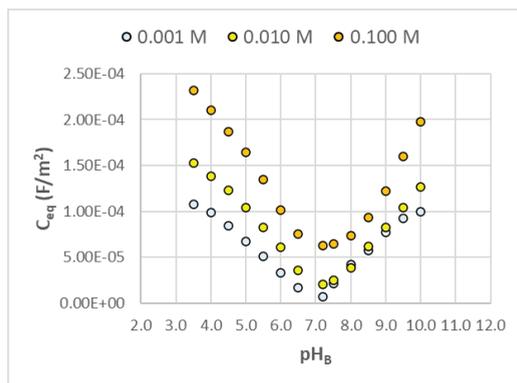


Figura 7. Capacitancia equivalente ( $C_{eq}$ ) del óxido que compone la *compuerta extendida* (a base de alúmina nanoestructurada) en disoluciones electrolíticas de NaCl ( $\mu = 0.001, 0.010$  y  $0.100$  M) [ecuación (14c)].

Un valor numérico más pequeño de capacitancia equivalente (*cf.* Figura 7,  $\mu = 0.100$  M) ocasiona cambios más pequeños en  $pH_S$ , sobretodo en la cercanía del *punto de carga cero* (*cf.* Figura 8,  $\mu = 0.100$  M).

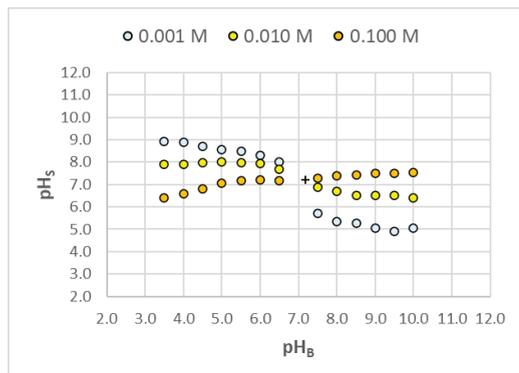


Figura 8. Comportamiento del  $pH_S$  del óxido que compone la *compuerta extendida* (a base de alúmina nanoestructurada) en función del  $pH_B$  en disoluciones electrolíticas de NaCl ( $0.001, 0.010$  y  $0.100$  M) [ecuación (6)].

Sin embargo, debido a que este cambio en  $pH_c$  es relativamente más pequeño, la capacidad reguladora intrínseca se verá menos afectada a lo largo de la escala de pH ya que el ascenso o descenso de esta curva ocurre más suavemente, como puede observarse en la Figura 9,  $\mu = 0.100$  M. Este hecho explica el por qué valores numéricos más pequeños de capacidad reguladora intrínseca compensan la influencia de la fuerza iónica parcialmente.

Por otro lado, se observaron variaciones en el parámetro de sensibilidad  $\alpha$  mucho menores al 1 % (cf. Figura 10), las cuales son mucho más pequeñas que las observadas para la capacitancia equivalente (cf. Figura 7). No obstante que se observa una diferencia en valores numéricos, el parámetro  $\alpha$  se incrementa en el siguiente orden de fuerza iónica:  $0.001 > 0.010 > 0.100$  M.

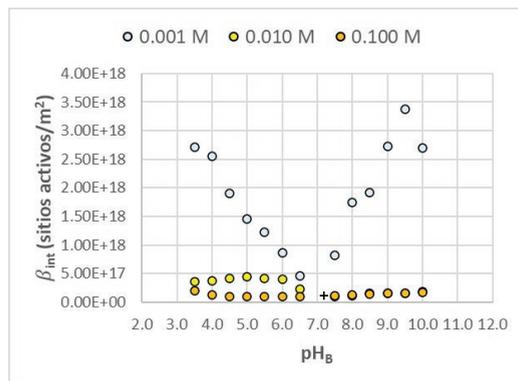


Figura 9. Capacidad reguladora intrínseca ( $\beta_{int}$ ) del óxido que compone la *compuerta extendida* (a base de alúmina nanoestructurada) en disoluciones electrolíticas de NaCl ( $\mu = 0.001, 0.010$  y  $0.100$  M) [ecuación (12c)].

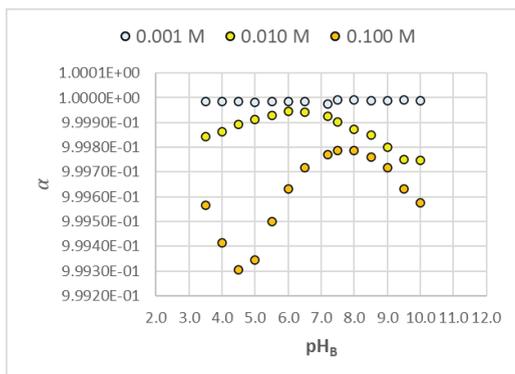


Figura 10. Parámetro de sensibilidad ( $\alpha$ ) del óxido que compone la *compuerta extendida* (a base de alúmina nanoestructurada) en disoluciones electrolíticas de NaCl ( $0.001, 0.010$  y  $0.100$  M) [ecuación (16)].

En general, la sensibilidad teórica al pH de la interfaz *Aislante/Electrolito* fue distinta a las concentraciones de electrolito utilizadas en este trabajo.

La Figura 11 muestra que el potencial electrostático superficial es influenciado significativamente por la fuerza iónica. Se observaron variaciones no lineales en el parámetro  $\psi_0$  a las fuerzas iónicas baja e intermedia ( $\mu = 0.001$  y  $0.010$  M), mientras que, en el caso contrario, a la fuerza iónica más alta,  $\mu = 0.100$  M, la dependencia del parámetro  $\psi_0$  con el  $pH_B$  es prácticamente lineal ( $y = -0.0501x + 0.362$ ,  $R^2 = 0.995$ ). Ello implica que los disturbios ocasionados por el efecto de la fuerza iónica son minimizados. La inclusión de datos experimentales del parámetro  $\sigma_0$  en el modelamiento de la doble capa eléctrica fue conveniente ya que se logró distinguir entre los casos de alta o baja adsorción de contra-iones.

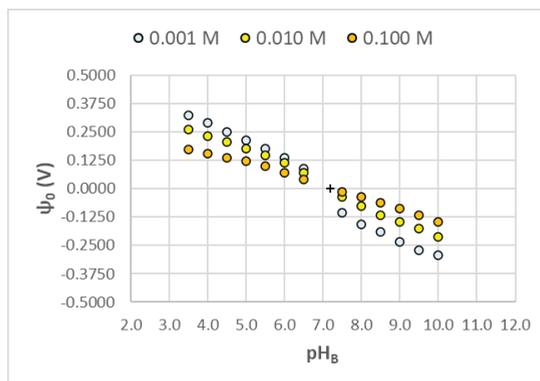


Figura 11. Potencial electrostático superficial ( $\psi_0$ ) del óxido que compone la *compuesta extendida* (a base de alúmina nanoestructurada) en disoluciones electrolíticas de NaCl (0.001, 0.010 y 0.100 M) [ecuación (13)].

Si la adsorción de contra-iones no estuviera presente [ecuaciones (7a) y (7b)], *i.e.*, que sólo tuvieran lugar equilibrios ácido-base [ecuaciones (4a) y (4b)], se incrementaría la contribución del parámetro  $C_{eq}$  y tendería a disminuir la sensibilidad cuando la fuerza iónica se incrementase. Sin embargo, se ha observado que tal comportamiento se vuelve despreciable si se mantiene una fuerza iónica alta en el medio electrolítico, *e.g.*, del orden de 0.100 M ó 1 M [5]. En acuerdo con los resultados de este trabajo, se seleccionó una fuerza iónica de  $\mu = 0.100$  M para simular la polarización del sensor de pH de estado sólido (*cf.* Sección 3.3).

### 3.3. Polarización de un sensor de pH de estado sólido

Las *curvas características* tanto de *salida* ( $I_D - V_{DS}$ ) como de *transferencia* ( $I_D - V_{Ref}$ ) del dispositivo electrónico se obtuvieron a una tensión de *drenador* (Drain) a *fuentes* (Source) ( $V_{DS}$ ) de 0.5 V. De esta manera, las variables independientes son la tensión de umbral  $V_{Tb}$  y la tensión de polarización ( $V_{Ref}$ ).

Para la adecuada operación del sensor de pH de estado sólido fue necesario contar con un electrodo de referencia de Ag|AgCl en NaCl 3 M (0.195 V vs. ENH) a 25 °C. El electrodo de referencia tiene como objetivo el fijar un  $E_{Ref}$  estable y reproducible a partir del cual pueda generarse el canal de inversión entre las terminales de *drenador* (Drain) a *fuentes* (Source) del MOSFET.

Los resultados de caracterización eléctrica se presentan en las Figuras 12, 13, 14 y 15.

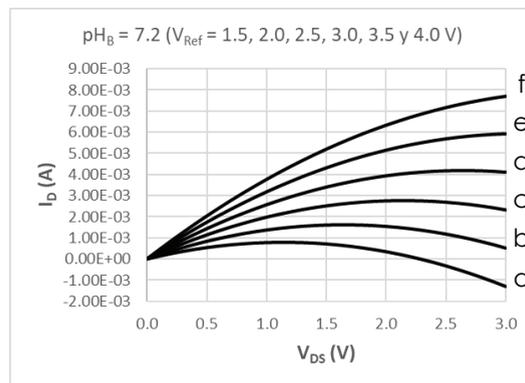


Figura 12. *Curvas características de salida  $I_D$  -  $V_{DS}$*  obtenidas para una disolución electrolítica de NaCl ( $\mu = 0.100$  M) a  $pH_B = 7.2$ ,  $T = 298.15$  K.

De la gráfica anterior, se seleccionó aquella tensión de polarización cuya corriente de drenador alcance un valor constante a  $pH_B = 7.2$ , *i.e.*, el punto **d**,  $V_{Ref} = 3.0$  V.

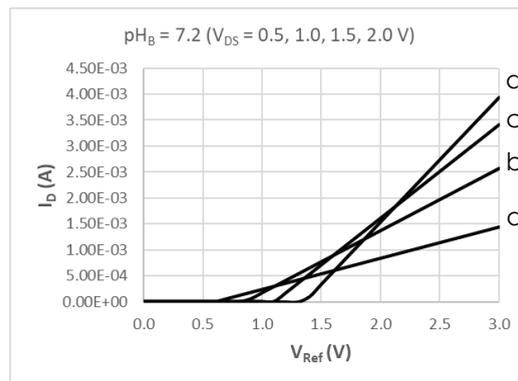


Figura 13. *Curvas características de transferencia  $I_D$  -  $V_{Ref}$*  obtenidas para una disolución electrolítica de NaCl ( $\mu = 0.100$  M) a  $pH_B = 7.2$ ,  $T = 298.15$  K.

De la gráfica anterior, se seleccionó aquella tensión de *drenador* (Drain) a *fuentes* (Source) ( $V_{DS}$ ) cuya variación en la curva  $I_D$  -  $V_{Ref}$  presente la pendiente más baja, *i.e.*, el punto **a**,  $V_{DS} = 0.5$  V.

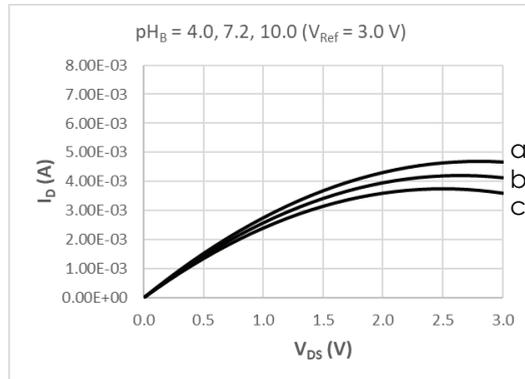


Figura 14. Curvas características de salida  $I_D - V_{DS}$  obtenidas para una disolución electrolítica de NaCl ( $\mu = 0.100$  M) y distintos valores numéricos de (4.0, 7.2 y 10.0),  $T = 298.15$  K.

La Figura 15 describe la funcionalidad del EG-ISFET como un sensor de pH de estado sólido, ilustrando como el nivel de pH modula la tensión de umbral  $V_{Th}$ .

Debido a que el  $pH_B$  se incrementa gradualmente, el parámetro  $\psi_0$  se vuelve más negativo y, en consecuencia, se acumula un mayor número de portadores de carga positivos ( $b^+$ ) en la interfaz *Semiconductor/Aislante/Electrólito*. Debido a ello, se requiere aplicar una tensión de *bias* o tensión de polarización ( $V_{Ref}$ ) más alta para mantener el canal de inversión entre las terminales de *drenador* (Drain) a *fuelle* (Source). Esta condición explica el por qué ocurren los desplazamientos o corrimientos hacia la derecha de las gráficas  $I_D - V_{Ref}$  al incrementarse el pH de la disolución electrolítica.

Para la determinación de la tensión de umbral ( $V_{Th}$ ) se puede seguir el *método de extrapolación en la zona lineal* [25] o el *método de medidas a corriente constante* [20]. De

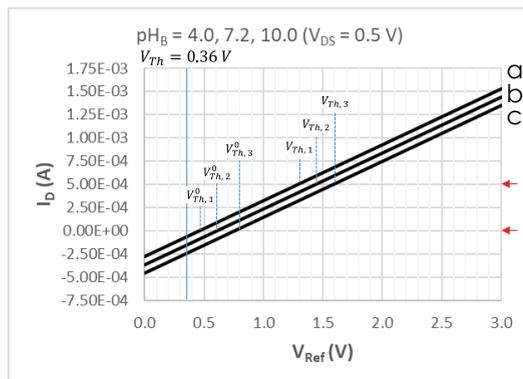


Figura 15. Curvas características de transferencia  $I_D - V_{Ref}$  obtenidas para una disolución electrolítica de NaCl ( $\mu = 0.100$  M) y distintos valores numéricos de  $pH_B$  (4.0, 7.2 y 10.0),  $T = 298.15$  K. Para mayor claridad, se indica con una línea vertical continua el valor numérico de la tensión de umbral del EG-ISFET ( $V_{Th} = 0.36$  V); y con líneas discontinuas, puntos de variación eléctrica  $i$ -ésima ( $i = 1, 2, 3$ ) y  $j$ -ésima ( $j = 1, 2, 3$ ) correspondientes a las tensiones de umbral  $V_{Th}^0$  y  $V_{Th}$  obtenidas por el *método de extrapolación en la zona lineal* y el *método de medidas a corriente constante*, respectivamente.

acuerdo con la ecuación (1),  $I_D$  es proporcional a  $V_{Ref}$  para valores numéricos fijos de  $V_{DS}$ . Aunque valores numéricos pequeños de  $V_{DS}$  se observan en la práctica, esta región no es exactamente lineal, sino que su pendiente tiende a disminuir de manera muy suave. El problema consiste en hallar el valor de  $V_{Ref}$  para el cual empieza la *zona lineal*.

Así, el comportamiento de la transconductancia, cuya definición es,

$$g_m = \frac{\partial I_D}{\partial V_{Ref}} \quad (17)$$

será creciente hasta llegar al inicio de la *zona lineal* para luego disminuir progresivamente y de manera suave. Esto significa que el valor de  $V_{Ref}$  correspondiente al máximo valor de la transconductancia es el valor donde comienza la *zona lineal*.

Si se realiza una extrapolación lineal en esta zona, el intercepto con el eje de las abscisas, correspondiente a  $V_{Ref}(V_{Th}^0)$ , dará un valor muy cercano a la tensión de umbral, que puede ser escrita como,

$$V_{Th} = V_{Th}^0 - \gamma \quad (18)$$

donde  $\gamma$  es una constante. La principal desventaja de este método radica en que al ser un método derivativo es muy sensible al ruido [26]. Sin embargo, llegado a este punto se podría utilizar un método numérico de extrapolación por mínimos cuadrados [27] con el cual se podría reducir o eliminar la mayor parte del ruido presente en la señal original.

Para el caso teórico que nos ocupa en el presente trabajo, las *curvas características de transferencia* siguieron una tendencia lineal, ajustándose a una función matemática del tipo  $y = mx + b$ , por lo que no fue necesario recurrir al posterior tratamiento de los datos.

Para extraer los valores numéricos de tensión de umbral  $V_{Th}$  correspondientes a los distintos valores numéricos de pH se realizó una interpolación lineal a corriente de drenador constante, *e.g.*,  $I_D = 500 \mu A$ . Este punto de operación se localiza en la *zona lineal*, también llamada región óhmica o de no-saturación.

Finalmente, en la Figura 16 se observa que el EG-ISFET es un dispositivo electrónico cuya tensión umbral ( $V_{Th}$ ) es dependiente del pH del medio electro-lítico. Lo cual implica que los niveles de corriente de drenador  $I_D$  son proporcionales a los niveles de pH de la disolución electrolítica analizada.

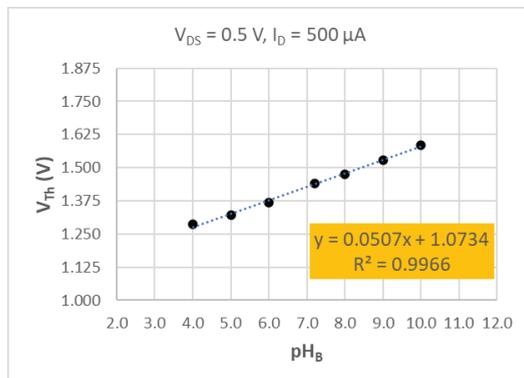


Figura 16. Sensibilidad de un EG-ISFET a base de alúmina nanoestructurada en una disolución electrolítica de NaCl ( $\mu = 0.100$  M) a distintos valores numéricos de  $pH_B$  (4.0, 5.0, 6.0, 7.2, 8.0, 9.0 y 10.0),  $T = 298.15$  K. Para la extracción de los valores numéricos de la tensión de umbral  $V_{Tb}$  se utilizó el *método de medidas a corriente constante*.

La sensibilidad calculada en este trabajo se encuentra en gran acuerdo con la sensibilidad reportada en la literatura para  $\gamma\text{-Al}_2\text{O}_3$  (0.0485 V/pH) [5], concluyendo que el óxido que compone la *compuerta extendida* actúa como un excelente receptor de iones  $H^+$ .

#### 4. Conclusiones

Se estableció una metodología general para facilitar el modelamiento de la interfaz *Aislante/Electrolito* de un sensor de pH de estado sólido basado en alúmina nanoestructurada. Se realizó la simulación de las curvas de corriente-voltaje del drenador mostrando las *zonas* características de operación: *lineal* y de *saturación*. Se obtuvo una excelente sensibilidad y linealidad (0.0507 V/pH,  $R^2 = 0.9966$ ) en la respuesta de la tensión de umbral ( $V_{Tb}$ ) en función de la acidez de un electrolito simétrico (1:1), manteniendo una fuerza iónica constante ( $\mu = 0.100$  M), en el intervalo de pH de 4.0 a 10. Otras figuras de mérito tales como la deriva, histéresis y el ruido electroquímico no fueron consideradas en este trabajo por lo que debieran explorarse a nivel laboratorio.

## Bibliografía

1. Bergveld, P. (1970) Development of an ion-sensitive solid-state device for neurophysiological measurements. *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, BME-17, 7071.  
<https://doi.org/10.1109/TBME.1970.4502688>
2. Bergveld, P., & Sibbald, A. (1988). Analytical and biomedical applications of ion-selective field-effect transistors, Volume XXIII. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B.V.
3. Siu, W. M., & Cobbold, R. S. C. (1979). Basic properties of the electrolyte—SiO<sub>2</sub>—Si system: Physical and theoretical aspects. *IEEE Transactions on Electron Devices*, 26(11), 1805-1815.  
<https://doi.org/10.1109/T-ED.1979.19690>
4. Yates, D. E., Levine, S., & Healy, T. W. (1974). Site-binding model of the electrical double layer at the oxide/water interface. *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, 70, 1807-1818.
5. Bousse, L., de Rooij, N. F., & Bergveld, P. (1983). The influence of counter-ion adsorption on the  $\phi_0$ /pH characteristics of insulator surfaces. *Surface Sci.*, 135, 479-496.  
[https://doi.org/10.1016/0039-6028\(83\)90237-6](https://doi.org/10.1016/0039-6028(83)90237-6)
6. van Hal, R. E. G., Eijkel, J. C. T., & Bergveld, P. (1995). A novel description of ISFET sensitivity with the buffer capacity and double-layer capacitance as key parameters. *Sensors and Actuators B*, 24-25, 201-205.  
[https://doi.org/10.1016/0925-4005\(95\)85043-0](https://doi.org/10.1016/0925-4005(95)85043-0)
7. Shang, J., Lo, K.Y., & Quigley, R.M. (2011). Quantitative determination of potential distribution in Stern–Gouy double-layer model. *Canadian Geotechnical Journal*, 31, 624-636.  
<https://doi.org/10.1139/t94-075>
8. Brown, M. A., Volpe Bossa, G., & May, S. (2015). Emergence of a Stern Layer from the Incorporation of Hydration Interactions into the Gouy–Chapman Model of the Electrical Double Layer. *Langmuir*, 31, 11477-11483.  
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b02389>
9. Brown, M. A., Goel, A., & Abbas, Z. (2016). Effect of electrolyte concentration on the Stern layer thickness at a charged interface. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 55, 3790-3794.
10. Bockris, J. O'M, & Reddy, A. K. N. (2003). *Electroquímica Moderna*, Volumen 1. Barcelona: Reverté.
11. Parizi, K. B., Xu, X., Pal, A., Hu, X., & Wong, H. S. P. (2017). ISFET pH Sensitivity: Counter-Ions Play a Key role. *Sci. Rep.*, 7, 41305.  
<https://doi.org/10.1038/srep41305>
12. Kielland, J. J. (1937). Individual Activity Coefficients of Ions in Aqueous Solutions. *Am. Chem. Soc.*, 59, 1675-1678.  
<https://doi.org/10.1021/ja01288a032>
13. Ghoneim, M. T., Sadraei, A., de Souza, P., Moore, G. C., Bazant, M. Z., & Dagdeviren, C. (2018). A Protocol to Characterize pH Sensing Materials and Systems. *Small Methods*, 1800265.  
<https://doi.org/10.1002/smt.201800265>

14. Takechi, K., & Iwamatzu, S. (2019). Sensor applications of InGaZnO thin-film transistors. *Japanese Journal of Applied Physics*, 58, 090504.  
<https://doi.org/10.7567/1347-4065/ab1fc0>
15. Lopez Castillo, M. A., Toledo-Guizar, P. G., Andraca Adame, J. A., Garcia, R., Hernandez Cuevas, F. J., Aleman, M. et al. (2020). Decreasing the  $V_{th}$  shift of InGaZnO thin-film transistors under positive and negative bias stress using SU-8 as etch-stop and passivation layer. *Semicond. Sci. Technol.*, 35, 125024.  
<https://doi.org/10.1088/1361-6641/abbd0e>
16. Kaisti, M. (2017). Detection principles of biological and chemical FET sensors. *Biosens. Bioelectron.*, 98, 437-448.  
<https://doi.org/10.1016/j.bios.2017.07.010>
17. Lützenkirchen, J. L., Preočanin, T., Kovačević, D., Tomišić, V., Lövgren, L., & Kallay, N. (2012). Potentiometric titrations as a tool for surface charge determination. *Croatica Chemica Acta*, 85(4), 391-417.  
<https://doi.org/10.5562/cca2062>
18. Ntalikwa, J. W. (2007). Determination of surface charge density of  $\alpha$ -alumina by acid-base titration. *Bull. Chem. Soc. Ethiop.*, 21, 117-128.  
<https://doi.org/10.4314/bcse.v21i1.61391>
19. Todorović, Z. N., & Milonjić, S. K. J. (2004). Determination of intrinsic equilibrium constants at an alumina/electrolyte interface. *Serb. Chem. Soc.*, 69, 1063-1072.  
<https://doi.org/10.2298/JSC0412063T>
20. Bergveld, P. (1981). The operation of an ISFET as an electronic device. *Sensors and Actuators*, 1, 17-29.  
[https://doi.org/10.1016/0250-6874\(81\)80004-2](https://doi.org/10.1016/0250-6874(81)80004-2)
21. Alegret, S., del Valle, M., & Merkoçi, A. (2004). *Sensores Electroquímicos*. Cataluña: Universitat Autònoma de Barcelona.
22. Jackson, R. G. (2004). *Novel Sensors and Sensing*. Bristol: IOP Publishing Ltd.
23. Sinha, S., Rathore, R., Sinha, S. K., Sharma, R., Mukhiya, R., & Khana, V. K. (2014). Modeling and simulation of ISFET microsensor for different sensing films. *ISSS International Conference on Smart Materials, Structures and Systems*, Bangalore, India.
24. Manual del Usuario (2021). *C-V Characterization of MOS Capacitors Using the 4200A-SCS Parameter Analyzer*. Ohio: Tektronix.
25. Geiger, R. L., Allen, P. E., & Strader, N. R. (1990). *VLSI Design Techniques for Analog and Digital Circuits*. Singapore: McGraw-Hill, Inc.
26. Das, M. P., & Bhuyan, M. (2013). Modeling of pH Dependent Electrochemical Noise in Ion Sensitive Field Effect Transistors ISFET. *Sensors & Transducers*, 149, 102-108.
27. Mathews, J. H., & Fink, K. D. (2000). *Métodos Numéricos con MATLAB*. Madrid: Prentice-Hall Iberia S.R.L.

## CAPÍTULO 2 ÁREA DE MATERIALES

# SÍNTESIS DE $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ MEDIANTE MÉTODO PECHINI Y DIFERENTES TRATAMIENTOS TÉRMICOS PARA OPTIMIZAR PROPIEDADES TERMOELÉCTRICAS

---

**Carolina Estrada-Moreno<sup>1</sup>, Edna Carina de la Cruz Terrazas<sup>2</sup>,  
Miguel Antonio Domínguez-Crespo<sup>1,3</sup>,  
Hans-Peter Martin<sup>4</sup>, Miguel A. Frutis<sup>5</sup>,  
Aidé Minerva Torres-Huerta<sup>1,3\*</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, CICATA Altamira, km 14.5 Carretera Tampico-Puerto Industrial Altamira, Altamira, Tamaulipas. CP 89600, México.

<sup>2</sup>CONACYT, Instituto Politécnico Nacional, CICATA Altamira, km 14.5 Carretera Tampico-Puerto Industrial Altamira, Altamira, Tamaulipas. CP 89600, México.

<sup>3</sup>Instituto Politécnico Nacional, UPII Hidalgo, Carretera Pachuca-Actopan km 1+500 San Agustín Tlaxiaca, Cd del Conocimiento y la Cultura, Hidalgo. CP 42612, México.

<sup>4</sup>Fraunhofer-Institut für Keramische Technologien und Systeme IKTS. Winterbergstraße 28, 01277 Dresden, Germany.

<sup>5</sup>Instituto Politécnico Nacional, CICATA Legaria, Calz Legaria 694, Col. Irrigación, Miguel Hidalgo, CP 11500 Ciudad de México, CDMX, México.

Estrada-Moreno, C., de la Cruz Terrazas, E. C., Domínguez-Crespo, M. A., Martín, H. P., Frutis, M. A., & Torres-Huerta. A. M. (2021). Síntesis de  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  mediante método Pechini y diferentes tratamientos térmicos para optimizar propiedades termoeléctricas En E. San Martín-Martínez (Ed.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III* (pp. 193-214). Barcelona, España: Omniascience.

## Resumen

En este trabajo se sintetizaron cobaltitas de sodio,  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ , utilizando el método Pechini. Se obtuvieron polvos a 300 °C, se proponen dos procedimientos; en el primero, los polvos se trataron con etapas intermedias de tiempo y temperatura hasta alcanzar una temperatura de 880 °C y diferentes tiempos; en el segundo procedimiento, los polvos se trataron sin etapas intermedias, hasta llegar a una temperatura de 880 °C, a diferentes tiempos. Las muestras obtenidas se analizaron mediante difracción de rayos X; espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier, microscopía electrónica de barrido y efecto Hall, para determinar estructura, composición química, morfología y propiedades eléctricas. Las cobaltitas sintetizadas cristalizan con una estructura hexagonal y presentan una microestructura en capas; se observan granos de diferentes tamaños y formas, antes de compactar y sinterizar las muestras a 920 °C; después del sinterizado, los granos son más uniformes. La temperatura de sinterización mayor a 900 °C provoca la descomposición de la  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ , contribuyendo a la aparición de otras fases y la volatilización del sodio. Los valores de las propiedades eléctricas se atribuyen al cambio de microestructura y la aparición de otra fase, y que se inicia la degradación del  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ; los resultados obtenidos de la densidad de portadores de carga indican que el material obtenido es un termoelectrico tipo *p*. El procedimiento 1 es el óptimo para la síntesis, para evitar la evaporación de Na y obtener propiedades termoelectricas mejoradas.

**Palabras clave:**  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ; método Pechini; termoelectricos; propiedades eléctricas; efecto Hall.

## 1. Introducción

Los materiales termoeléctricos se han estudiado para producir energía limpia y disminuir la crisis energética y contaminación ambiental [1], debido a que estos materiales convierten, de manera directa, la energía térmica a energía eléctrica. La energía térmica se considera como una fuente secundaria de energía, la cual se disipa en la atmósfera como calor, lo que es aprovechado por los materiales termoeléctricos para producir electricidad, utilizando el principio del efecto Seebeck [2]. Este efecto es el fenómeno en el cual se genera una fuerza electromotriz a partir de gradientes de temperatura, y se expresa mediante el coeficiente Seebeck [3]:

$$\alpha = - \Delta V / \Delta T \quad (1)$$

Donde  $\alpha$ : coeficiente Seebeck; V: potencial eléctrico; y, T: temperatura absoluta.

El desempeño de los materiales termoeléctricos se determina mediante el valor de mérito,  $ZT$ , que es adimensional y se calcula con la ecuación 2 [4, 5]:

$$ZT = (\alpha^2 \sigma T) / \kappa \quad (2)$$

Donde  $\alpha$ : coeficiente Seebeck;  $\sigma$ : conductividad eléctrica;  $\kappa$ : conductividad térmica; T: temperatura absoluta.

Para que las energías limpias compitan con las energías producidas a partir de recursos no renovables, se requiere que la tecnología sea accesible y efectiva; la efectividad de los materiales termoeléctricos depende de  $ZT$ : si el valor es alto, indica una alta eficiencia de conversión de energía; un valor alto de  $ZT$  se alcanza maximizando el factor de potencia ( $FP = \alpha^2 \sigma$ ) y minimizando la conductividad térmica [6]. La conductividad térmica total ( $\kappa$ ), incluye las contribuciones de la conductividad térmica de la red cristalina, proveniente de fonones ( $\kappa_l$ ), y la conductividad térmica electrónica, proveniente de los portadores electrónicos ( $\kappa_e$ ) [7, 8]. Debido a que las conductividades térmica (electrónica) y eléctrica son interdependientes de acuerdo a la Ley de Wiedemann-Franz, la opción es disminuir la conductividad de la red [2]. En consecuencia, la síntesis de materiales termoeléctricos de alta temperatura, con baja conductividad térmica ( $\kappa$ ), alto coeficiente Seebeck ( $\alpha$ ) y conductividad eléctrica ( $\sigma$ ), sigue siendo un gran desafío [9,10]; además, se requiere que los materiales sean estables, no tóxicos y con elementos que, de preferencia, sean abundantes en la naturaleza [8]. Los materiales termoeléctricos tradicionales se basan en materiales semiconductores o tipo metal como Bi-Te; las desventajas de estos materiales es que funcionan a bajas temperaturas

porque pueden oxidarse o fundirse a altas temperaturas en aire, y son tóxicos [4]. Por otra parte, los óxidos metálicos presentan ventajas sobre los materiales termoelectricos tradicionales, que incluyen bajos costos, estabildades química y térmica a altas temperaturas, no tóxicos, relativamente fáciles de sintetizar y diversas composiciones con propiedades ajustables; sin embargo, debido a sus bajas conductividades electrónicas, tradicionalmente, se habían evitado en aplicaciones termoelectricas [7, 11]. Los materiales de bajas dimensiones se han propuesto para producir termoelectricos por  $\sigma$  (aumenta),  $\kappa$  (disminuye) y porque se pueden obtener propiedades termoelectricas mejores que las reportadas para los materiales tradicionales para esta aplicación [7]. Los materiales óxidos metálicos bidimensionales (2D) se han estudiado para diversas aplicaciones como almacenamiento de energía, electrónica, catálisis, y almacenamiento de información, debido a sus propiedades que difieren de sus contrapartes en bulto [12, 13]. Las estructuras 2D provienen de óxidos con estructura en capas, como la que presentan los óxidos de cobalto  $\text{A}_x\text{CoO}_x$  (A es un ión álcali), cuya estructura es tipo delafosita, descrita como hojas de octaedros de  $\text{CoO}_6$ , compartiendo los bordes, intercalados con iones álcalis [12, 14]. La investigación de los óxidos de cobalto (cobaltitas) ha sido por el potencial de algunos de ellos para usarse como materiales termoelectricos de alta temperatura [15]. Entre las cobaltitas 2D, se encuentra la cobaltita de sodio ( $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ), que exhibe propiedades útiles como baja conductividad térmica; sin embargo, el sodio puede volatilizarse a las temperaturas de procesamiento típico de los cerámicos, provocando cambios en la estequiometría del material y el crecimiento del grano, lo que incide en las propiedades termoelectricas [6, 10]. La cobaltita  $\text{NaCo}_2\text{O}_4$  fue sintetizada y estudiada como un nuevo material de referencia para superconductores de alta temperatura; sin embargo, al determinar sus propiedades de transporte, se encontró que tiene una potencia termoelectrica de un orden de magnitud mayor a la de superconductores de alta temperatura ( $100 \mu\text{-K}^{-1}$  a 300 K), baja resistividad ( $200 \mu\Omega\text{cm}$  a 300 K) y baja movilidad,  $\mu$  ( $13 \text{ cm}^2\text{-V}^{-1}$ ); estos resultados demostraron el potencial del  $\text{NaCo}_2\text{O}_4$  como material termoelectrico [14] y fue el punto de partida para investigaciones sistemáticas de las cobaltitas en aplicaciones termoelectricas, cambiando completamente el entendimiento tradicional de los materiales óxidos en investigaciones termoelectricas [3, 11]. Dependiendo del valor de  $x$  en  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ , las propiedades y, en consecuencia, las aplicaciones del material son diferentes [16]; también, se ha reportado que  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ , con valores de  $x = 0.5\text{-}0.9$ , tiene una estructura hexagonal, con grupo espacial  $\text{P6}_3/\text{mmc}$  y parámetros de red,  $a = 0.284 \text{ nm}$  y  $c = 1.081 \text{ nm}$ , en las fases P2 y P'3 [16, 17]. Los métodos de química del estado sólido son los métodos de síntesis tradicionales de cerámicos, como la reacción

en estado sólido (RES); éste es un método relativamente simple, ya que se mezclan los reactivos en polvo y se calientan para obtener el producto; sin embargo, entre las desventajas de la RES se encuentran la limitación por el transporte de masa para que ocurra la reacción completa y la dificultad para controlar la morfología de las partículas obtenidas, entre otras [18]. Las alternativas a los métodos de estado sólido son las técnicas húmedas (disolución), que incluyen coprecipitación, sol-gel de coloides o compuestos órgano-metálicos, hidrotermal, pirólisis de pulverización (spray) y proceso de gel de polímeros orgánicos o medios polimerizables en presencia de complejos metálicos (*in-situ*); estas técnicas permiten obtener materiales con propiedades “a la medida” y con mejor desempeño que los materiales convencionales [19, 20]. El método Pechini es una variación de la última técnica mencionada (complejo polimerizable *in-situ*); con este método se logran reducir las segregaciones de metales particulares y asegurar una composición homogénea, mediante el uso de un ácido  $\alpha$ -hidroxicarboxílico, como el ácido cítrico, y un alcohol polihidroxi, como el etilén-glicol, y se describe en diferentes fuentes bibliográficas [19-21].

En este trabajo se presenta la síntesis, usando el método Pechini, del  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ , el estudio estructural, composición química y análisis morfológico y su relación con las propiedades eléctricas, aplicando diferentes tratamientos térmicos. Se utilizaron las siguientes técnicas: difracción de rayos X (DRX) para determinar la estructura, espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) para la composición química, microscopía electrónica de barrido (MEB) para el análisis morfológico y el efecto Hall para propiedades eléctricas.

## 2. Metodología

### 2.1. Síntesis de $\text{Na}_x\text{CoO}_2$

Para la síntesis del compuesto se utilizaron acetato de sodio trihidratado ( $\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , Sigma Aldrich, 99 % pureza) y acetato de cobalto tetrahidratado ( $\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_4\text{Co}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ , Sigma Aldrich, 98 % pureza) como precursores metálicos; etanol ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OH}$ , Sigma Aldrich,  $\geq 99.5$  % pureza), etilén-glicol (anhidro,  $\text{HOCH}_2\text{CH}_2\text{OH}$ , Sigma Aldrich, 99.8 % pureza) y ácido cítrico ( $\text{HOC}(\text{COOH})(\text{CH}_2\text{COOH})_2$ , Sigma Aldrich,  $\geq 99.5$  % pureza) para el complejo polimérico. En un matraz Erlenmeyer de 250 mL de capacidad, se mezclaron cantidades requeridas de acetato de sodio y de acetato de cobalto para obtener diferentes proporciones molares (Tabla 1) y se agregan 5.8 mL de etilenglicol y 80 mL de etanol para diluir la mezcla. El matraz con la disolución se coloca en una parrilla de calentamiento

con agitación constante, hasta alcanzar una temperatura de 75 °C (348.15 K). A esta temperatura se agrega el ácido cítrico (9.89 g) que, al igual que el etilenglicol, es para formar el complejo polimérico. El sistema se mantiene a 75 °C (348.15 K) durante una hora para obtener el complejo metálico; transcurrido este tiempo, se aumenta la temperatura a 100 °C (373.15 K) para eliminar el exceso de líquido y obtener un gel, que se transfiere a crisoles de alúmina para continuar su secado en una mufla a 300 °C (573.15 K), durante 3 h. A partir de estos polvos tratados a 300 °C (573.15 K), se obtuvieron muestras utilizando dos procedimientos diferentes, de acuerdo a lo reportado por Wang et al [22]; el primer procedimiento consistió en un sinterizado por etapas, primero a 420 °C (693.15 K), durante 6 h, y luego a 760 °C (1033.15 K), durante 6 h, para luego terminar con una temperatura de 880 °C (1153.15 K); en esta última etapa, se obtuvieron diferentes muestras porque el tiempo de sinterizado se varió de 2 a 17 h. En el segundo procedimiento, los polvos obtenidos a 300 °C (573.15 K) se sinterizaron, en una sola etapa, a 880 °C (1153.15 K), esta parte se realizó para minimizar la pérdida de sodio; el tiempo de sinterizado se varió de 7 a 17 h (Figura 1). En la Tabla 1 se muestran condiciones que se utilizaron para cada procedimiento. De cada uno de estos procedimientos se obtiene un polvo negro, el cual se prensa a 528 MPa, para formar comprimidos (13 mm de diámetro y 1.5 mm de espesor) que serán sometidos al proceso de sinterizado a una temperatura de 920 °C (1193.15 K).

Tabla 1. Parámetros de síntesis de  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ .

Muestra	Temperatura (°C)	Tiempo (h)	Relación molar Na:Co
Procedimiento 1: 420 °C (693.15 K), 6 h; 760 °C (1033.15 K), 6 h;			
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_{1,t_{7.5},r_{1:1}}$ )	880	7.5	1:1
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_{1,t_{17},r_{1:1}}$ )		17	1:1
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_{1,t_{2},r_{2:1}}$ )		2	2:1
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_{1,t_{5},r_{2:1}}$ )		5	2:1
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_{1,t_{7},r_{2:1}}$ )		7	2:1
Procedimiento 2			
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_{2,t_{8},r_{1:1}}$ )	880	8	1:1
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_{2,t_{17},r_{1:1}}$ )		17	1:1
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_{2,t_{8},r_{2:1}}$ )		8	2:1
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_{2,t_{17},r_{2:1}}$ )		17	2:1

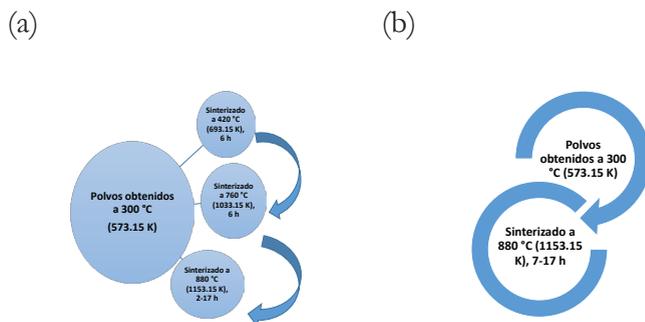


Figura 1. Esquema de (a) Procedimiento 1, (b) Procedimiento 2.

## 2.2. Caracterización de $\text{Na}_x\text{CoO}_2$

La caracterización estructural del material se realizó por la técnica de difracción de rayos X (DRX) en un difractómetro Bruker D8 Advance, utilizando radiación  $\text{Cu-K}\alpha$  ( $\lambda = 0.15406 \text{ nm}$ ) a 30 kV y 25 mA, en un intervalo  $2\theta = 10\text{-}90^\circ$  y paso de  $0.02^\circ \text{ min}^{-1}$ , en la geometría de Bragg-Brentano. Se utilizó espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) en un espectrómetro Spectrum One de Perkin Elmer, en un intervalo de  $4000 \text{ a } 650 \text{ cm}^{-1}$ , para analizar la composición química de la muestra y la eliminación de los reactivos. La morfología de las muestras se analizó mediante microscopía electrónica de barrido (MEB), en un microscopio JEOL JSM-6390LV, con un voltaje de aceleración de 20 kV a diferentes aumentos; el análisis químico se realizó en un microscopio Inca X-sigth Oxford Instrument 7582 que tiene acoplado un detector de espectroscopía de rayos X por dispersión de energía (EDS). Para determinar la densidad de portadores ( $n$ ) y la movilidad ( $\mu$ ), se realizaron mediciones de Efecto Hall a 300 K y un campo magnético de 0.550 T, con una configuración de van der Pauw, en un equipo ECOPIA HMS 3000.

## 3. Resultados y discusión de resultados

### 3.1. Caracterización estructural por difracción de rayos X (DRX)

En cada sección, se presentan resultados de muestras seleccionadas. En la Figura 2 se presentan los patrones de DRX de las muestras  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{7.5}r_{1.1}$ ) y  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{17}r_{1.1}$ ), (Figura 2a-b), además de la muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{17}r_{1.1}$ ) sinterizada a  $920^\circ\text{C}$  (1193 K), durante 15 h (Figura 2c). Se observa que la muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{7.5}r_{1.1}$ ) contiene señales, sin identificar, que indican que el compuesto

obtenido tiene una mezcla de fases (Figura 2a); esta muestra se trató a  $880\text{ }^\circ\text{C}$  durante 7.5 h, y el resultado de DRX sugiere que se requiere más tiempo para lograr que las otras fases se transformen a  $\text{NaCoO}_2$ . Esto se confirma con la muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_{17}t_{17}r_{1:1}$ ), que se obtuvo con el mismo procedimiento y relación molar Na:Co, sólo se varió el tiempo (Tabla 1) a 17 h; en su espectro (Figura 2b) se observan señales más definidas, aunque es posible detectar señales no identificadas, que indican la presencia de fases secundarias. Al aumentar la temperatura (a  $920\text{ }^\circ\text{C}$  ( $1193\text{ K}$ )) y un tiempo de sinterización de 15 h, se observa que las señales detectadas en las muestras  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_{17.5}t_{7.5}r_{1:1}$ ) y  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_{17}t_{17}r_{1:1}$ ) están ausentes; sin embargo, surgen dos señales pequeñas entre  $14^\circ$  y  $15^\circ$ . Se ha reportado que la fase  $\text{NaCo}_2\text{O}_4$  se obtiene a una temperatura aproximada de  $650\text{ }^\circ\text{C}$  ( $923.15\text{ K}$ ) y es estable en un intervalo desde esta temperatura de  $650\text{ }^\circ\text{C}$  ( $923.15\text{ K}$ ) a  $\sim 900\text{ }^\circ\text{C}$  ( $1173.15\text{ K}$ ), punto donde inicia su degradación y continúa hasta  $950\text{ }^\circ\text{C}$  ( $1223\text{ K}$ ) [10]; entonces, las señales detectadas entre  $14^\circ$  y  $15^\circ$  se podrían atribuir al inicio de la degradación del  $\text{NaCo}_2\text{O}_4$  ya que, como se mencionó anteriormente, la etapa de sinterización de la pastilla se realizó a  $920\text{ }^\circ\text{C}$  ( $1193\text{ K}$ ), sin sodio excedente. En la Figura 2 se incluye un aumento de la señal más intensa, el plano (002), donde se observa un desplazamiento de esta señal, lo que indica que hay un cambio en la celda unitaria del compuesto (en forma o tamaño) [23]. Los espectros fueron comparados con la carta cristalográfica ICDD 01-073-0133 que corresponde al compuesto estequiométrico  $\text{NaCo}_2\text{O}_4$ , con una estructura cristalina hexagonal y grupo espacial  $\text{P6}_3/\text{mmc}$  [16, 17].

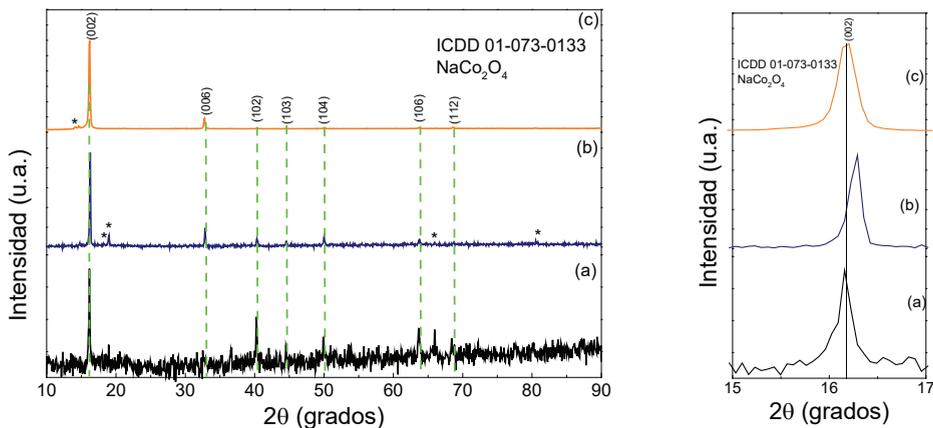


Figura 2. Patrones de difracción del (a)  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_{17.5}t_{7.5}r_{1:1}$ ), (b)  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_{17}t_{17}r_{1:1}$ ), (c) muestra de (b) sinterizada a  $920\text{ }^\circ\text{C}$  durante 15 h.

En la Figura 3 se observan los patrones de difracción de la muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1.1}$ ) y después de haberse sinterizado a  $920^\circ\text{C}$  (1193 K) y  $950^\circ\text{C}$  (1223 K). En este caso, la estructura del compuesto coincide con la carta cristalográfica ICDD 00-030-1182, que corresponde a una estructura hexagonal de una fase  $\text{Na}_{0.71}\text{Co}_{0.91}\text{O}_2$ , con grupo espacial  $\text{P6}_3/\text{mmc}$  [16,17,24]. Se observa, igual que en la Figura 2, que la señal más intensa para el espectro de la Figura 3a, corresponde al plano (002) a  $16.27^\circ$ . Al sinterizar las muestras a temperaturas mayores a  $900^\circ\text{C}$ , se detectan señales que no se encuentran en la carta cristalográfica mencionada; esto se atribuye a la degradación del compuesto y a la pérdida de la estequiometría por la volatilidad del sodio [10]. Se observa que las intensidades cambian al aumentar la temperatura de  $880^\circ\text{C}$  a  $920^\circ\text{C}$  y  $950^\circ\text{C}$ , lo que indica que existen cambios en las posiciones atómicas dentro de la celda unitaria, lo que implica cambios en la estructura del material [23]. Estos resultados indican que la temperatura de sinterización para la pastilla debe disminuirse a menos de  $900^\circ\text{C}$  para evitar la degradación del material. La Figura 3 también presenta un aumento en dos zonas: de  $15^\circ$  a  $18^\circ$ , para identificar las diferencias en la señal del plano (002), y de  $36^\circ$  a  $38^\circ$ , para identificar las diferencias en la señal del plano (100). Se detectan desplazamientos en estas señales, conforme aumenta la temperatura, lo que indica cambios en la forma y tamaño de la celda unitaria [23].

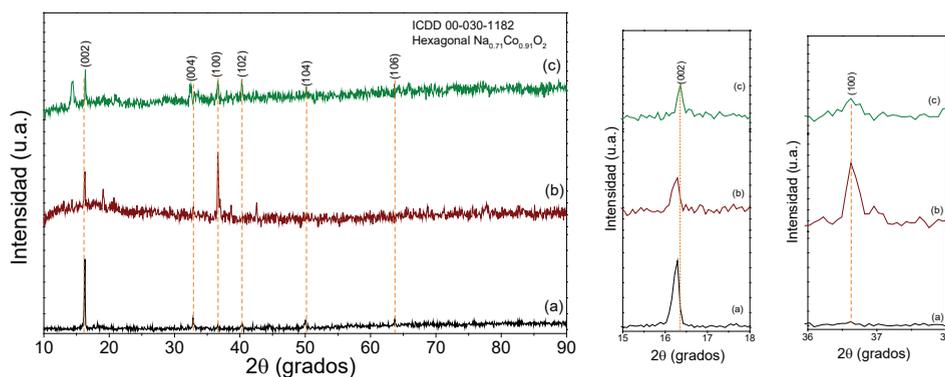


Figura 3. Patrones de difracción de (a)  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1.1}$ ), (b) muestra de (a) sinterizada a  $920^\circ\text{C}$  durante 10 h, (c) muestra de (a) sinterizada a  $950^\circ\text{C}$  durante 10 h.

### 3.2. Caracterización mediante FT-IR

En la Figura 4 se presenta el espectro FTIR de las muestras  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{17}r_{1.1}$ ),  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1.1}$ ), y muestras compactadas y sinterizadas a  $920^\circ\text{C}$ . La identificación de las señales se presenta en la Tabla 2. Estas bandas coinciden con lo reportado por algunos autores que obtuvieron diferentes cobaltitas

[25-28]respectively. The study of the mechanism of gelling of transition metal ion Co(II). Como puede observarse en la Tabla 2 y la Figura 4, las bandas detectadas a 3454 y 1674  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen a agua adsorbida [28]; la señal a 1674  $\text{cm}^{-1}$ , también corresponde al grupo  $\text{COO}^-$  del grupo carboxilo presente en el ácido cítrico [27]. Las bandas a 1442, 1056 y 848  $\text{cm}^{-1}$  se atribuyen a las vibraciones de Na-O [28, 29], lo que confirma la formación de una fase  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ; la señal a 848  $\text{cm}^{-1}$  también se atribuye a agua adsorbida [30]. Las bandas a 1674 y 1056  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a estiramiento asimétrico del  $\text{COO}^-$  y a la vibración del C-O, respectivamente, proveniente del  $-\text{COOH}$  del ácido carboxílico y el ácido cítrico [27]. Las bandas a 653 y 569  $\text{cm}^{-1}$  provienen del estiramiento del enlace oxígeno-metal (M-O, M = metal, Na, Co), que se detectan entre 400 y 650  $\text{cm}^{-1}$  [26,27,30,31]Mn, Cu, Zn. La presencia de grupos como  $\text{COO}^-$  indica que, a pesar de las temperaturas utilizadas, existen trazas de material orgánico provenientes de las materias primas (ácido cítrico, por ejemplo) [27]. Al comparar los espectros de las muestras  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{17}r_{1:1}$ ) y  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1:1}$ ) (Figura 4 a-b), se observa que al usar el procedimiento dos (tratamiento directo de 880 °C), disminuyen las bandas correspondientes a los grupos  $\text{OH}^-$  y  $\text{COO}^-$  (3454 y 1674  $\text{cm}^{-1}$ ), lo que indica la ausencia o reducción de residuos orgánicos; para la muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1:1}$ ) se observa que, al sinterizar a 920 °C (Figura 4c), desaparece la señal característica M-O a 653  $\text{cm}^{-1}$ ; esto confirma los resultados observados en DRX (Figura 3); es decir, el compuesto  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  se degrada y se forman otras fases. Por otro lado, para la muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{17}r_{1:1}$ ), se observa el aumento en la banda a 653  $\text{cm}^{-1}$  (M-O) y la disminución de las bandas provenientes de los reactivos y del agua, es decir, los grupos  $\text{COO}^-$  y  $\text{OH}^-$  (Figura 4d); corroborando, nuevamente, los resultados observados en DRX (Figura 2).

Tabla 2. Asignaciones de las bandas de espectros FT-IR.

Señal ( $\text{cm}^{-1}$ )	Modo de vibración	Grupo funcional, asignación
3454	$\nu_{\text{sim}}$ (estiramiento simétrico)	$\text{OH}^-$ , Adsorción de agua
2984	$\nu$ (estiramiento)	CH, precursores
1674	$\delta$ (flexión) $\nu_{\text{asim}}$ (estiramiento asimétrico)	$\text{OH}^-$ , Adsorción de agua $\text{COO}^-$ , del carboxilo
1442	$\pi$ (vibración)	Na-O
1056	$\pi$ (C-O) (vibración)	$\text{COO}^-$ , del carboxilo
	$\pi$ (vibración)	Proviene del $-\text{COOH}$ , por el ácido cítrico Na-O
848	$\pi$ (vibración)	Na-O, $\text{OH}^-$ , Adsorción de agua
653	$\pi$ (vibración)	M-O
569	$\pi$ (vibración)	M-O

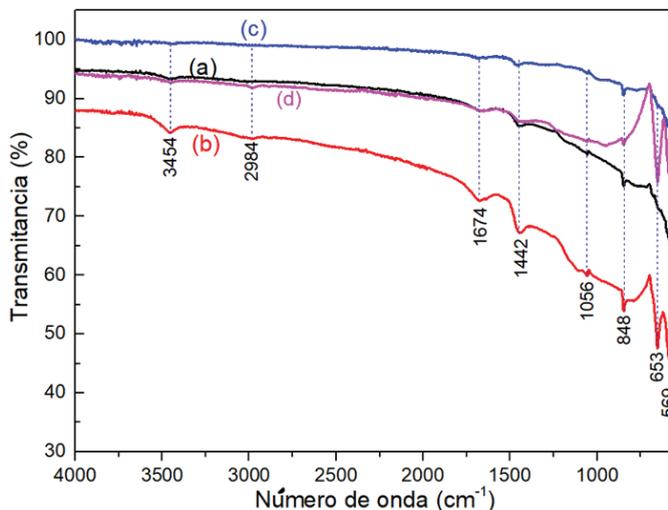


Figura 4. Espectro FTIR de las muestras (a)  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{17}r_{1:1}$ ), (b)  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1:1}$ ), (c) muestra (b) sinterizada a 920 °C, (d) muestra (a) sinterizada a 920 °C.

### 3.3. Análisis de morfología y composición atómica

En la Figura 5 se observa la morfología de las muestras  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{7.5}r_{1:1}$ ) y  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1:1}$ ), obtenida con el microscopio electrónico de barrido.  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{7.5}r_{1:1}$ ) presenta granos tipo placas, de tamaño y forma irregular, con algunos aglomerados (Figura 5a); la microestructura tipo placas confirma la obtención de una fase del compuesto  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ , ya que es típica de estos materiales 2D, debido a su estructura cristalográfica [12, 14]. Las condiciones térmicas y los tiempos utilizados para obtener esta muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{7.5}r_{1:1}$ ), procedimiento 1: 420 °C (693.15 K), 6 h; 760 °C (1033.15 K), 6 h, 880 °C, 7.5 h, influyen en el crecimiento de los granos a expensas de otros más pequeños, lo que produce esta microestructura de tamaños y formas irregulares. El análisis elemental obtenido con EDS, Figura 5b, muestra únicamente sodio, cobalto y oxígeno (Na, Co y O), lo que confirma nuevamente la formación de una fase del  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ . En el caso de la muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1:1}$ ), Figura 5c, se observa una microestructura mixta, con granos uniformes y compactos (sin poros o huecos entre ellos), junto con granos uniformes, en tamaño y forma, orientados al azar, que crecen a partir de los granos compactos; ambos tipos de granos presentan morfología tipo placas, evidenciando la naturaleza 2D de estos compuestos [12, 14]. En la Figura 5d se presenta la muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1:1}$ ), compactada y sinterizada a 920 °C. Se observan granos de diferentes tamaños, en forma de capas y más regulares que

las muestras antes de esta temperatura; también, es posible distinguir otra fase, en forma de placas delgadas y perpendiculares a los granos sobre los que han crecido; se detectan poros, que posiblemente surgieron durante la degradación del  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  y la descomposición de las trazas de los compuestos precursores detectados por FT-IR [32]. Estos resultados concuerdan con lo observado por DRX y FT-IR: al aumentar la temperatura, la cobaltita se degrada y produce otra fase.

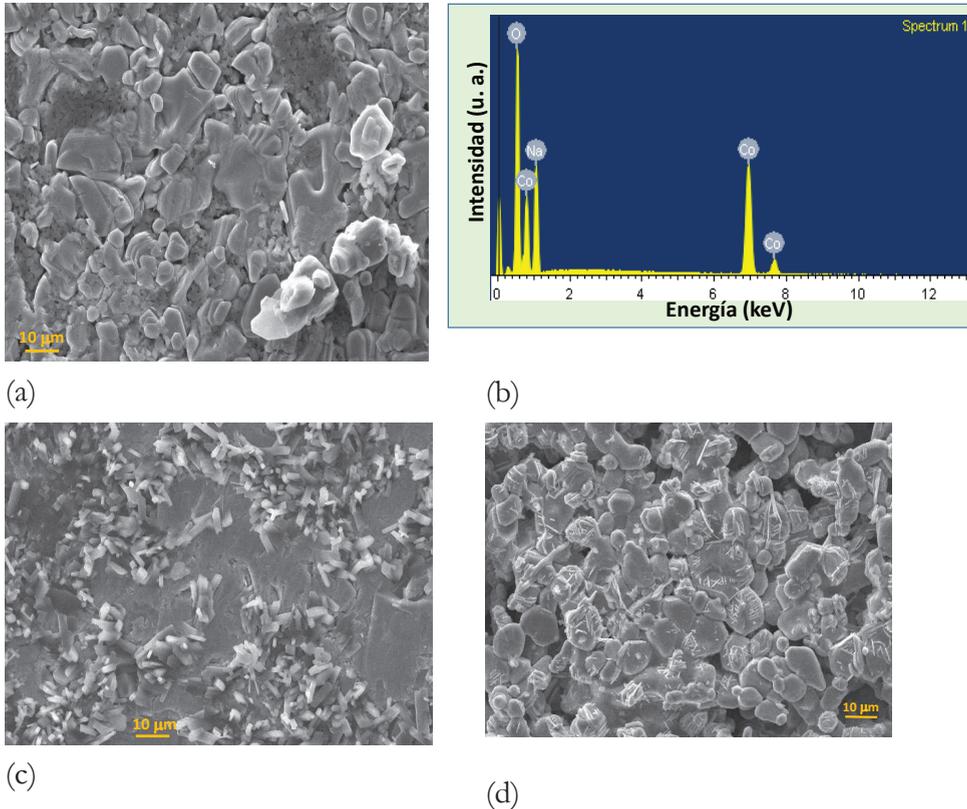


Figura 5. a) Micrografía de muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_{1t_{7.5}r_{1.1}}$ ), b) análisis composicional (por EDS) de la muestra (a), c)  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_{2t_{17}r_{1.1}}$ ), d) muestra (c) sinterizada a 920 °C durante 10 h.

En la Figura 6 se presentan los resultados de los análisis EDS de las muestras  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_{1t_{17}r_{1.1}}$ ),  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_{2t_{17}r_{1.1}}$ ), y muestra  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_{2t_{17}r_{1.1}}$ ) sinterizada a 920 °C y, en la Tabla 3, se presentan las composiciones atómicas sin considerar el carbono, la fórmula empírica de los compuestos y la relación Na/O de cada compuesto. La presencia de carbono se atribuye a residuos de los precursores, en particular del ácido cítrico y los acetatos de sodio y cobalto, que a pesar de las temperaturas utilizadas, no lograron eliminarse del todo, porque los grupos hidroxilo y carbonilos se adsorben sobre la superficie, en particular, los provenientes del

ácido cítrico que producen un efecto de impedimento estérico [31]. La variación en la composición atómica de sodio, cobalto y oxígeno, se relaciona con las rutas de síntesis utilizadas; principalmente, con las temperaturas y los tiempos, y con fases detectadas en DRX. En particular, la muestra sinterizada a 920 °C presenta una composición baja de sodio, lo que podría ser el resultado de la volatilización del sodio y la degradación del  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ , que se produce a temperaturas superiores a 900 °C [10]. De estos resultados, sin considerar el contenido de carbono, las fórmulas empíricas de las muestras son  $\text{Na}_{1.35}\text{CoO}_{3.12}$ , para las condiciones  $p_1t_{17}r_{1.1}$ ;  $\text{Na}_{3.89}\text{CoO}_{10.17}$ , para las condiciones  $p_2t_{17}r_{1.1}$ ; y,  $\text{Na}_{0.5}\text{CoO}_{1.4}$ , para la muestra sinterizada a 920 °C. A partir de las fórmulas empíricas, donde se considera que los porcentajes atómicos corresponden a una fase, los compuestos obtenidos a las condiciones  $p_1t_{17}r_{1.1}$  y  $p_2t_{17}r_{1.1}$  presentan valores de la relación Na/O más cercanos (0.43 y 0.38) al valor del compuesto estequiométrico ( $\text{NaCoO}_2$ , Na/O = 0.5), a diferencia de la muestra sinterizada a 920 °C (Na/O = 0.21); con estos datos, se corrigieron las fórmulas, en términos de la composición del catión, quedando de la siguiente manera:  $\text{Na}_{0.86}\text{CoO}_2$ ,  $\text{Na}_{0.76}\text{CoO}_2$  y  $\text{Na}_{0.42}\text{CoO}_2$ , para las condiciones mencionadas anteriormente (Tabla 3).

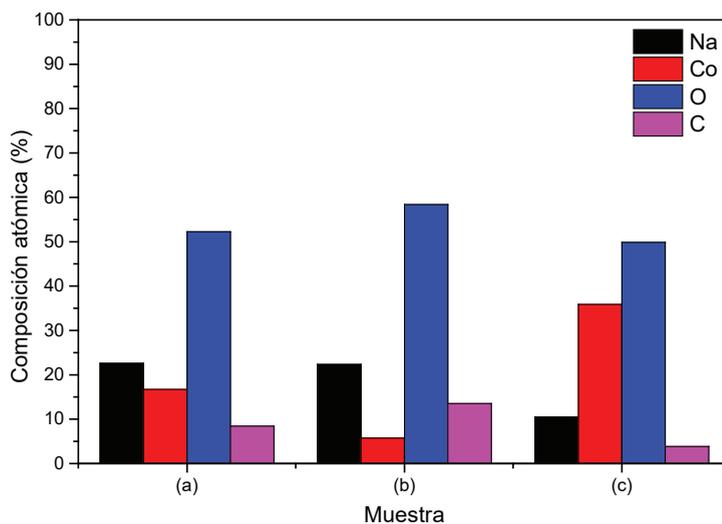


Figura 6. Composición atómica de las muestras (a)  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{17}r_{1.1}$ ), (b)  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1.1}$ ), (c) muestra (b) sinterizada a 920 °C.

Se ha reportado que las cobaltitas en capas con fórmula general  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $x \sim 0.6 - 0.7$ ), presentan un comportamiento híbrido entre metales y sistemas aislantes, lo que hace que estos materiales tengan valores de propiedades termoeléctricas casi 10 veces mayores que los de metales típicos, con baja resistividad

eléctrica, densidad de portadores mayores y movilidad mucho menores [33–35]. Se espera, en consecuencia, que los compuestos  $\text{Na}_{0.86}\text{CoO}_2$  y  $\text{Na}_{0.76}\text{CoO}_2$  presenten propiedades termoeléctricas comparables a los materiales termoeléctricos tradicionales; por otro lado, el compuesto  $\text{Na}_{0.42}\text{CoO}_2$  se considera altamente deficiente en sodio [24], y se espera que sus propiedades termoeléctricas sean pobres. En la siguiente sección se presentan y discuten los resultados de los análisis de caracterización eléctrica por Efecto Hall.

Tabla 3. Composición atómica de las muestras  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  obtenidas a diferentes condiciones, sin considerar el C, y fórmulas empírica y corregida.

Muestra	Composición atómica, %				Relación Na/O	Fórmula corregida
	Na	Co	O	Fórmula empírica		
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_1 t_{17} r_{1:1}$ )	24.67	18.26	57.06	$\text{Na}_{1.35}\text{CoO}_{3.12}$	0.43	$\text{Na}_{0.86}\text{CoO}_2$
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_2 t_{17} r_{1:1}$ )	25.84	6.64	67.52	$\text{Na}_{3.89}\text{CoO}_{10.17}$	0.38	$\text{Na}_{0.76}\text{CoO}_2$
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_2 t_{17} r_{1:1}$ ), sinterizada a 920 °C	10.88	37.29	51.82	$\text{Na}_{0.3}\text{CoO}_{1.4}$	0.21	$\text{Na}_{0.42}\text{CoO}_2$

### 3.4. Caracterización eléctrica por Efecto Hall

En la Tabla 4 se presentan los resultados obtenidos de la caracterización por Efecto Hall: conductividad eléctrica ( $\sigma$ ), densidad de portadores ( $n$ ) y movilidad ( $\mu$ ) de cada una de las muestras. Las cobaltitas obtenidas por los dos procedimientos y antes de sinterizar presentan valores de  $\sigma$  parecidos ( $0.72$  y  $0.79 \text{ S cm}^{-1}$ ); este resultado puede atribuirse a la estructura cristalina (Figuras 2,3) ya que estos compuestos consisten de una capa  $\text{CoO}_2$  eléctricamente conductora y una capa de Na aislante [22], la microestructura (Figura 5), y al contenido de Na, Co [6] y oxígeno, que provoca que  $\sigma$  disminuya cuando el contenido de oxígeno disminuye, como consecuencia de la formación de vacancias de oxígeno en la red cristalina [36]. Al sinterizar el material a 920 °C, se observa un importante incremento en  $\sigma$  ( $26.17$  y  $44.24 \text{ S cm}^{-1}$ ), que puede atribuirse al cambio de microestructura y la aparición de otra fase, y que se inicia la degradación del  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ , de acuerdo a lo observado en DRX, MEB y a que el compuesto sinterizado presenta deficiencia en el contenido de Na [24]. Al continuar aumentando la temperatura de sinterización a 950 °C, el valor de  $\sigma$  disminuye a  $0.46 \text{ S cm}^{-1}$ , como resultado de una mayor degradación del  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ , la volatilización del sodio y la aparición de otras fases. Estos resultados coinciden con los reportes que mencionan que la magnitud y la dependencia de la

resistividad eléctrica respecto a la temperatura son sensibles al contenido de Na y la no estequiometría en el O [37]. En los resultados de  $n$  y  $\mu$  se observa que las muestras  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_1t_{17}r_{1.1}$ ),  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1.1}$ ) y  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $p_2t_{17}r_{1.1}$ ), 950 °C presentan densidad de portadores mayor y movilidad menor, como se ha reportado en la literatura [33-35], y se puede atribuir a las diferencias en la morfología y composición de las muestras; adicionalmente, se sabe que los valores positivos de  $n$  indican que el transporte de carga se debe a huecos [38] the optimal conditions of synthesizing and purifying carbon nanotubes (CNTs; por lo que, en las cobaltitas obtenidas en este trabajo, los portadores de carga son los huecos y se comporta como semiconductor termoeléctrico tipo  $p$ . El comportamiento de la muestra sinterizada a 950 °C se puede atribuir, además, a la aparición de fases ricas en Co. Se ha reportado que el sodio influye en la concentración de portadores, por lo que de interés evitar su volatilización [4]. Es importante mencionar que las estructuras cristalinas en capas, como las cobaltitas, y los materiales policristalinos presentan anisotropía [36], por lo que es recomendable hacer mediciones utilizando diferentes direcciones cristalográficas y determinar en qué dirección se tendrían las mejores propiedades.

Tabla 4. Resultados obtenidos de la caracterización por efecto Hall.

Muestra	Fórmula corregida	$\sigma$ (S cm <sup>-1</sup> )	$n$ (cm <sup>-3</sup> )	$\mu$ (cm <sup>2</sup> V <sup>-1</sup> s <sup>-1</sup> )
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_1t_{17}r_{1.1}$ )	$\text{Na}_{0.86}\text{CoO}_2$	0.72	2.09E19	0.22
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_1t_{17}r_{1.1}$ ), 920 °C	-	26.17	9.34E18	17.40
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_2t_{17}r_{1.1}$ )	$\text{Na}_{0.76}\text{CoO}_2$	0.79	8.30E18	0.59
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_2t_{17}r_{1.1}$ ), 920 °C	$\text{Na}_{0.42}\text{CoO}_2$	44.24	1.25E19	21.90
$\text{Na}_x\text{CoO}_2$ ( $p_2t_{17}r_{1.1}$ ), 950 °C	-	0.46	5.16E19	0.05

#### 4. Conclusiones

A partir de la síntesis del  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  mediante el método Pechini y caracterización estructural, química, composicional, morfológica y eléctrica, se obtienen las siguientes conclusiones:

Las cobaltitas presentan cambios estructurales dependiendo de la temperatura de procesamiento; al aumentar la temperatura a más de 900 °C, se inicia un proceso de degradación y volatilización de sodio, que se determinó durante los análisis de DRX y se confirmaron con los resultados de FT-IR, donde se detectan los cambios en las bandas correspondientes a los grupos funcionales provenientes de los precursores. La estructura cristalina para el material sintetizado coincidió con el grupo espacial  $P6_3/mmc$  que corresponde a una fase hexagonal; se requiere un

análisis Rietveld para determinar la pureza de la fase y si es una fase P2 o P'3. A partir del análisis de FT-IR, se determinó que los precursores utilizados se presentan en trazas en los compuestos obtenidos, a pesar de las temperaturas utilizadas; se observa la presencia de vibraciones provenientes del enlace M-O (M = metal) para las muestras, excepto para la muestra sinterizada a 920 °C, ya que dicha señal está ausente, confirmando los resultados obtenidos por DRX. El análisis de morfología muestra granos irregulares, tanto en formas y tamaños, aunque se observa la microestructura tipo placas, característica de materiales 2D. En el análisis químico composicional se obtuvo carbono, que se atribuye a los restos de los precursores presentes en la muestras analizadas; las composiciones propuestas, sin considerar el contenido de carbono, son  $\text{Na}_{1.35}\text{CoO}_{3.12}$ ,  $\text{Na}_{3.89}\text{CoO}_{10.17}$  y  $\text{Na}_{0.3}\text{CoO}_{1.4}$ ; a partir de las fórmulas empíricas y la relación Na/O, se obtuvieron las fórmulas corregidas:  $\text{Na}_{0.86}\text{CoO}_2$ ,  $\text{Na}_{0.76}\text{CoO}_2$  y  $\text{Na}_{0.42}\text{CoO}_2$ ; el último compuesto presenta deficiencia en Na. A partir de los resultados obtenidos del efecto Hall, se determina que las propiedades de conductividad eléctrica, portadores de carga y movilidad dependen de la estructura cristalina, morfología, microestructura, composición y pureza de la fase; el material se comporta como semiconductor tipo *p*, con huecos como portadores de carga. Adicionalmente, se confirma el carácter híbrido de los compuestos sintetizados. Al utilizar un tratamiento térmico sin etapas intermedias (de 300 a 880 °C), el gasto energético del proceso disminuye. Por otro lado, la variación de los tiempos y temperaturas de sinterizado permite controlar las propiedades termoeléctricas: en el procedimiento 1, disminuye considerablemente la evaporación del sodio; sin embargo, necesita un periodo de calcinación de al menos 17 h a 880 °C, favoreciendo la disminución de la relación señal-ruido y la estructura cristalina presenta un crecimiento favorable en el plano (002) y una conductividad eléctrica superior a la muestra inicial. Con base en los resultados obtenidos, este procedimiento 1 es el óptimo para la síntesis, con un tiempo de 17 h de calcinación y 10 h de sinterizado a 920 °C, para evitar la evaporación de Na, obteniendo propiedades termoeléctricas mejoradas.

## Agradecimientos

Los autores agradecen a Mario Trache del Instituto Fraunhofer de Dresden Alemania, por su apoyo en las mediciones de efecto Hall. Estrada-Moreno agradece al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada para la realización de estudios de posgrado y la Secretaría de Investigación y Posgrado del IPN por la beca otorgada para la realización de estancia en el Instituto Fraunhofer. Al SNI-CONACYT, al IPN por los apoyos otorgados a los autores a través de COFAA-IPN y los proyectos SIP2021-0691 y SIP2021-0664.

## Bibliografía

1. Li, X., Zhang, L., & Tang, X. (2017). Preparation by Poly(Acrylic Acid) Sol–Gel Method and Thermoelectric Properties of  $\gamma$ - $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  Bulk Materials. *J. Electron. Mater.*, 46, 6311-6318. <https://doi.org/10.1007/s11664-017-5582-x>
2. Ahmed, F., Munir, A., Saqib, M., & Anis-ur-Rehman, M. (2015). Introducing Rare Earth Dopants for Controlled Conductivity in Thermoelectric Cobaltites. *J. Supercond. Nov. Magn.* 28, 961-964. <https://doi.org/10.1007/s10948-014-2735-5>
3. Beretta, D., Neophytou, N., Hodges, J. M., Kanatzidis, M. G., Narducci, D., Martin-Gonzalez, M. et al. (2019). Thermoelectrics: From history, a window to the future. *Mater. Sci. Eng. R Reports*, 138, 100501. <https://doi.org/10.1016/j.mser.2018.09.001>
4. Ruan, C., Fan, M., Zhang, Y., Song, H., Li, X. J., & Hao, H. (2020). Enhancing the thermoelectric properties of  $\text{Bi}_2\text{Ba}_2\text{Co}_2\text{O}_y$  by dispersing SiC nanoparticles based on Na element doping. *Ceram. Int.*, 46, 6899-6905. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2019.11.185>
5. Gómez, L., Galeano, V., Gómez, A., Paucar, C., & Morán, O. (2016). Thermoelectric response of oxygen nonstoichiometric  $\text{YBaCo}_2\text{O}_{5+\delta}$  cobaltites synthesized via non-ion selective EDTA-citrate-metal complexing. *Ceram. Int.* 42, 13368-13377. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2016.05.088>
6. Yu, J., Chen, K., Azough, F., Alvarez-Ruiz, D. T., Reece, M. J., Freer, R. (2020). Enhancing the thermoelectric performance of calcium cobaltite ceramics by tuning composition and processing. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 12, 47634-47646. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c14916>
7. Puri, N., Tandon, R. P., & Mahapatro, A.K. (2019). Significant enhancement in thermoelectric power factor of bulk nanostructured calcium cobalt oxide ceramics. *ACS Appl. Energy Mater.*, 2, 269-277. <https://doi.org/10.1021/acsaem.8b01205>
8. Baran, J. D., Molinari, M., Kulwongwit, N., Azough, F., Freer, R., Kepaptsoglou, D. et al. (2015). Tuning Thermoelectric Properties of Misfit Layered Cobaltites by Chemically Induced Strain. *J. Phys. Chem. C*, 119, 21818-21827. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.5b05583>
9. Kilinc, E., Uysal, F., Celik, E., & Kurt, H. (2020). High-Temperature Thermoelectric Properties of Sol–Gel Processed  $\text{Ca}_{2.5}\text{Ag}_{0.3}\text{RE}_{0.2}\text{Co}_4\text{O}_9$  (RE: Y and Rare-Earths) Materials. *Phys. status solidi*, 217, 2000056. <https://doi.org/10.1002/pssa.202000056>

10. Jakubczyk, E. M., Mapp, A., Chung, C. C., Sansom, C. L., Jones, J. L., & Dorey, R. A. (2019). Enhancing thermoelectric properties of  $\text{NaCo}_2\text{O}_4$  ceramics through Na pre-treatment induced nano-decoration. *J. Alloys Compd.*, 788, 91-101.  
<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.02.199>
11. Baran, J. D., Kepaptsoglou, D., Molinari, M., Kulwongwit, N., Azough, F., Freer, R. et al. (2016). Role of Structure and Defect Chemistry in High-Performance Thermoelectric Bismuth Strontium Cobalt Oxides. *Chem. Mater.*, 28, 7470-7478.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.6b03200>
12. Azor, A., Ruiz-Gonzalez, M. L., Gonell, F., Laberty-Robert, C., Parras, M., Sanchez, C. et al. (2018). Nickel-Doped Sodium Cobaltite 2D Nanomaterials: Synthesis and Electrocatalytic Properties. *Chem. Mater.*, 30, 4986-4994.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.8b01146>
13. Krishnan, S. G., Arunachalam, A., Jagadish, P., & Khalid, M. (2020). 2D Materials for Supercapacitor and Supercapattery Applications. *ACS Symp. Ser.*, 1353, 33-47.  
<https://doi.org/10.1021/bk-2020-1353.ch002>
14. Terasaki, I., Sasago, Y., & Uchinokura, K. (1997). Large thermoelectric power in single crystals. *Phys. Rev. B - Condens. Matter Mater. Phys.*, 56, R12685-R12687.  
<https://doi.org/10.1103/PhysRevB.56.R12685>
15. Hejtmánek, J., Veverka, M., Knížek, K., Fujishiro, H., Hebert, S., Klein, Y. et al. (2006). Cobaltites as perspective thermoelectrics. *Mater. Res. Soc. Symp. Proc.*, 886, 35-43.  
<https://doi.org/10.1557/PROC-0886-F01-07>
16. Carlier, D., Blangero, M., Ménétrier, M., Pollet, M., Doumerc, J. P., & Delmas, C. (2009). Sodium ion mobility in  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$  ( $0.6 < x < 0.75$ ) cobaltites studied by  $^{23}\text{Na}$  MAS NMR. *Inorg. Chem.*, 48, 7018-7025.  
<https://doi.org/10.1021/ic900026c>
17. Ohta, H., Kim, S., Ohta, S., & Koumoto, K. (2005). Lateral Diffusion of Na into a Cobalt Oxide Epitaxial Layer 2005. *Growth (Lakeland)*, 2, 25-28.  
<https://doi.org/10.1021/cg049818c>
18. Danks, A. E., Hall, S. R., & Schnepf, Z. (2016). The evolution of “sol-gel” chemistry as a technique for materials synthesis. *Mater. Horizons*, 3, 91-112.  
<https://doi.org/10.1039/C5MH00260E>
19. Segal, D. (1997). Chemical synthesis of ceramic materials. *J. Mater. Chem.*, 7, 1297-1305.  
<https://doi.org/10.1039/a700881c>
20. Kakihana, M., & Yoshimura, M. (1999). Synthesis and characteristics of complex multicomponent oxides prepared by polymer complex method. *Bull. Chem. Soc. Jpn.*, 72, 1427-1443.  
<https://doi.org/10.1246/bcsj.72.1427>

21. Pechini, M. P. (1967). Method of Preparing Lead and Alkaline Earth Titanates and Niobates and Coating Method Using the Same to Form a Capacitor. US Patent No. 3330697.
22. Wang, L., Wang, M., & Zhao, D. (2009). Thermoelectric properties of c-axis oriented Ni-substituted NaCoO<sub>2</sub> thermoelectric oxide by the citric acid complex method. *J. Alloys Compd.*, 471, 519-523.  
<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2008.04.013>
23. Ladd, M., & Palmer, R. (2013). *Structure Determination by X-ray Crystallography*. ISBN 9781461439561.  
<https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3954-7>
24. Peleckis, G., Motohashi, T., Karppinen, M., & Yamauchi, H. (2003). Enhanced thermoelectric properties of Na<sub>x</sub>CoO<sub>2</sub> whisker crystals. *Appl. Phys. Lett.*, 83, 5416-5418.  
<https://doi.org/10.1063/1.1634371>
25. Predoana, L., Jitianu, A., Voicescu, M., Apostol, N. G., & Zaharescu, M. (2015). Study of formation of LiCoO<sub>2</sub> using a modified Pechini aqueous sol-gel process. *J. Sol-Gel Sci. Technol.*, 74, 406-418.  
<https://doi.org/10.1007/s10971-014-3611-2>
26. Merabet, L., Rida, K., & Boukmouche, N. (2018). Sol-gel synthesis, characterization, and supercapacitor applications of MCo<sub>2</sub>O<sub>4</sub> (M = Ni, Mn, Cu, Zn) cobaltite spinels. *Ceram. Int.*, 44, 11265-11273.  
<https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.03.171>
27. Dolla, T. H., Pruessner, K., Billing, D. G., Sheppard, C., Prinsloo, A., Carleschi, E. et al. (2018). Sol-gel synthesis of M<sub>n</sub>xNi<sub>1-x</sub>Co<sub>2</sub>O<sub>4</sub> spinel phase materials: Structural, electronic, and magnetic properties. *J. Alloys Compd.*, 742, 78-89.  
<https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.01.139>
28. Shirpour, M., Cabana, J., & Doeff, M. (2013). New materials based on a layered sodium titanate for dual electrochemical Na and Li intercalation systems. *Energy Environ. Sci.*, 6, 2538-2547.  
<https://doi.org/10.1039/c3ee41037d>
29. Rami Reddy, B. V., Ravikumar, R., Nithya, C., & Gopukumar, S. (2015). High performance Na<sub>x</sub>CoO<sub>2</sub> as a cathode material for rechargeable sodium batteries. *J. Mater. Chem. A*, 3, 18059-18063.  
<https://doi.org/10.1039/C5TA03173G>
30. Socrates, G. (2001). *Infrared and Raman characteristic group frequencies. Tables and charts*. ISBN 978-0-470-09307-8.

31. Razavi, F. S., Hajizadeh-Oghaz, M., Amiri, O., Morassaei, M. S., & Salavati-Niasari, M. (2021). Barium cobaltite nanoparticles: Sol-gel synthesis and characterization and their electrochemical hydrogen storage properties. *Int. J. Hydrogen Energy*, 46, 886-895.  
<https://doi.org/10.1016/j.ijhydene.2020.09.196>
32. Varalakshmi, N., Narayana, A. L., Hussain, O. M., & Sreedhar, N. Y. (2021). Improved supercapacitive performance of low pore size and highly stable nanostructured  $\text{NiCo}_2\text{O}_4$  electrodes. *J. Solid State Electrochem.*, 1411-1420.  
<https://doi.org/10.1007/s10008-021-04911-3>
33. Haerter, J. O., Peterson, M. R., & Shastry, B. S. (2006). Strong correlations produce the Curie-Weiss phase of  $\text{Na}_x\text{CoO}_2$ . *Phys. Rev. Lett.*, 97, 2-5.  
<https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.97.226402>
34. Doumerc, J. P., Blangero, M., Pollet, M., Carlier, D., Darriet, J., Berthelot, R. et al. (2009). Transition-metal oxides for thermoelectric generation. *J. Electron. Mater.*, 38, 1078-1082.  
<https://doi.org/10.1007/s11664-008-0625-y>
35. Nakatsugawa, H., & Nagasawa, K. (2004). Evidence for the two-dimensional hybridization in  $\text{Na}_{0.79}\text{CoO}_2$  and  $\text{Na}_{0.84}\text{CoO}_2$ . *J. Solid State Chem.*, 177, 1137-1145.  
<https://doi.org/10.1016/j.jssc.2003.10.035>
36. Schrade, M., Norby, T., & Finstad, T. G. (2015). Hall effect measurements on thermoelectric  $\text{Ca}_3\text{Co}_4\text{O}_9$ : On how to determine the charge carrier concentration in strongly correlated misfit cobaltites. *J. Appl. Phys.*, 117, 0-6.  
<https://doi.org/10.1063/1.4921861>
37. Fujita K., Mochida, T., & Nakamura, K. (2001). High-Temperature Thermoelectric Properties of  $\text{Na}_x\text{CoO}_2-\delta$  Single Crystals. *Jpn. J. Appl. Phys.*, 40, 4644-4647.  
<https://doi.org/10.1143/JJAP.40.4644>
38. Brachetti-Sibaja, S. B., Palma-Ramírez, D., Torres-Huerta, A. M., Domínguez-Crespo, M. A., Dorantes-Rosales, H. J., Rodríguez-Salazar, A. E. et al. (2021). Cvd conditions for mwcnts production and their effects on the optical and electrical properties of ppy/mwcnts, pani/mwcnts nanocomposites by in situ electropolymerization. *Polymers (Basel)*, 13, 1-29.  
<https://doi.org/10.3390/polym13030351>



# CAPÍTULO 3 ÁREA DE MATERIALES

## FORMACIÓN DE PELÍCULAS DE ÁCIDO OCTADECILFOSFÓNICO PARA INCREMENTAR LAS PROPIEDADES DE BARRERA DE SUSTRATOS Ti6Al4V

---

**K. Anaya-Garza<sup>1</sup>, M. A. Domínguez-Crespo<sup>2\*</sup>,  
A. M. Torres-Huerta<sup>2</sup>, S. B. Brachetti-Sibaja<sup>3</sup>**

<sup>1</sup>Instituto Politécnico Nacional, CICATA-Altamira, CIAMS, km 14.5 carretera Tampico Puerto Industrial Altamira, Tamps. CP 89600, México.

<sup>2</sup>Instituto Politécnico Nacional, UPIIH-Hidalgo, Carretera Pachuca - Actopan Kilómetro 1+500, Pachuca Ciudad del Conocimiento y la Cultura, San Agustín Tlaxiaca, Hidalgo. CP 42162, México.

<sup>3</sup>Tecnológico Nacional de México, IT de Ciudad Madero, D.E.P.I. Ave Primero de Mayo S.N. Col. Los Mangos, Cd. Madero, Tamps. CP 89449 México.

mdominguezc@ipn.mx

Anaya-Garza, K., Domínguez-Crespo, M. A., Torres-Huerta, A. M., & Brachetti-Sibaja, S. B. (2021). Formación de películas de ácido octadecilfosfónico para incrementar las propiedades de barrera de sustratos Ti6Al4V. En E. San Martín-Martínez (Ed.), *Avances de investigación en Nanociencias, Micro y Nanotecnologías. Volumen III* (pp. 215-238). Barcelona, España: Omniascience.

## Resumen

La aleación Ti6Al4V es ampliamente utilizada en la producción de implantes ortopédicos debido a que presenta propiedades mecánicas adecuadas, alta resistencia a la corrosión y biocompatibilidad. No obstante, presenta baja bioactividad, pobre resistencia al desgaste y a la corrosión por agrietamiento, ocasionando reacciones biológicas que disminuyen su vida útil dentro del cuerpo humano. La formación de películas de ácido octadecilfosfónico (OPA, por sus siglas en inglés), sobre la superficie de diversos metales, se ha utilizado para mejorar su resistencia a la corrosión; sin embargo, la interacción entre ambos no está bien definida y hasta la fecha no se ha reportado la carta cristalográfica del ácido octadecilfosfónico. En este trabajo, se realizó un análisis estructural de películas de OPA depositadas sobre la aleación Ti6Al4V utilizando la técnica de dip-coating con el fin de determinar su estructura cristalina. Para ello se utilizó el método de refinamiento de Rietveld empleando los programas HighScore Plus® y FullProf Suite®. A partir del ajuste atómico realizado, se determinó que la estructura cristalina que presentó un valor de bondad del ajuste ( $\chi^2$ ) más bajo es la monoclinica simple perteneciente a un grupo espacial  $P 1 21 1$ ; por lo que se asume que ésta es la estructura a la que pertenece el OPA bajo las condiciones de síntesis realizadas. Adicionalmente, se determinó que las propiedades de barrera de estos recubrimientos incrementan de manera importante la resistencia a la transferencia de carga, por ende, disminuyendo la velocidad de corrosión de la aleación Ti6Al4V.

**Palabras clave:** Biomateriales, corrosión, películas, ácido octadecilfosfónico, estructura cristalina.

## 1. Introducción

En la actualidad, los implantes médicos con mayor demanda son aquellos causados por enfermedades degenerativas e inflamatorias que afectan a huesos y articulaciones. Entre éstas, se incluyen la osteoartritis degenerativa, artritis degenerativa, artritis reumatoide, osteonecrosis (inducida por esteroides, post-traumática o idiopática), condiciones de cadera congénitas (displasia del desarrollo de la cadera), neoplasias y osteoporosis. En el ser humano cualquiera de estas condiciones ocasiona dolor o la pérdida de las propiedades mecánicas del hueso y/o de las articulaciones, requiriendo implantes o prótesis, dispositivos ortopédicos dentro del cuerpo [1-3].

En este sentido, la evolución y desarrollo de materiales ha permitido que una gran mayoría de los pacientes afectados alivien su enfermedad a través de estos dispositivos. Para que un material sea elegible como implante médico debe presentar ciertas características, como son: poseer propiedades mecánicas similares a los huesos que se desean sustituir, no causar toxicidad o carcinogenicidad, no presentar una respuesta inmunológica, deben ser bio-compatibles y presentar una alta resistencia a la corrosión. Por esta razón, son conocidos también como biomateriales, pueden producirse a partir de materiales cerámicos, metálicos o poliméricos. Son utilizados principalmente en placas de fijación para fracturas, tornillos, reemplazos articulares, cables de ortodoncia, vástago femoral, soportes para válvulas cardíacas, implantes dentales y reemplazos de huesos del oído interno [4, 5].

En particular, los materiales metálicos que son comúnmente empleados como implantes médicos son: acero inoxidable (ASTM F138 y ASTM F745), magnesio, titanio, cobalto y sus aleaciones. Dentro de las aleaciones de titanio, la aleación Ti6Al4V es la más utilizada con este fin [6]; esta aleación puede presentar tres fases diferentes  $\alpha$ ,  $\alpha+\beta$  y  $\beta$ . La adición de aluminio en la aleación estabiliza la fase  $\alpha$  mientras que el vanadio, la fase  $\beta$ . Adicionalmente, se puede utilizar en otras aplicaciones de la industria automotriz, aeroespacial, química, marina y biomédica [4, 7].

La aleación Ti6Al4V ha mostrado excelentes resultados en resistencia mecánica y biocompatibilidad; no obstante, presenta una baja bioactividad y su superficie es susceptible al desgaste, provocando corrosión por desgaste o agrietamiento. Durante este proceso, se ve comprometida la integridad mecánica, tensión superficial (adherencia), que provoca reacciones biológicas y la liberación del vanadio,

induciendo un aflojamiento aséptico en implantes de larga duración [8-10]. Se ha reportado que partículas de titanio liberadas a partir de implantes ortopédicos pueden invadir pulmones, hígado y bazo generando una respuesta inmune, dolor y el fallo del implante [11, 12]. Un método para reducir el desgaste y mejorar la resistencia a la corrosión de los biomateriales es la modificación de sus superficies mediante diferentes tratamientos superficiales y recubrimientos [13, 14].

Para determinar los tratamientos superficiales adecuados, es necesario conocer la interacción que ocurre en este tipo de materiales al integrarse en el cuerpo humano. La respuesta inicial que experimentan los biomateriales al ser implantados es casi instantánea. Primero, sobre la superficie del implante se absorben moléculas de agua formando una capa de hidratación; poco después se absorben también los iones. Después, se inicia la absorción de las proteínas; la configuración de esta capa de proteínas promueve la subsecuente interacción del material con las células, ya que éstas actúan como traductoras entre la superficie del material y los receptores celulares, determinando el destino del implante en el medio biológico (Figura 1) [15]. La absorción de las capas de agua, iones y proteínas sobre la superficie del implante conforman la primera etapa del proceso de osteointegración. La segunda etapa es el proceso de inflamación (con una duración de aproximadamente dos semanas); la tercera etapa consiste en la proliferación y diferenciación de células endoteliales, seguido de la cuarta etapa: la adherencia, proliferación y diferenciación de los osteoblastos. En la etapa final se obtiene una buena osteointegración [16-18]. Este proceso es de vital importancia para el éxito de la interacción entre biomaterial y el medio circundante, por lo tanto, también de la implantación.

El medio fisiológico es considerado extremadamente agresivo para los biomateriales metálicos, por lo que su funcionalidad dentro del cuerpo depende altamente de la química de los fluidos que rodean al implante. El fluido biológico extracelular (del tejido celular externo), como la sangre y el fluido intersticial; contienen una gran cantidad de materiales orgánicos e inorgánicos necesarios para el cuerpo. Estos son complejos y están compuestos por sales, algunos metales, aminoácidos, azúcares, proteínas, células, etc. Estos componentes producen aniones como cloruro ( $\text{Cl}^-$ ), fosfatos ( $\text{PO}_4^-$ ), bicarbonatos ( $\text{HCO}_3^-$ ) y cationes como potasio ( $\text{K}^+$ ), sodio ( $\text{Na}^+$ ), calcio ( $\text{Ca}^{+2}$ ) y magnesio ( $\text{Mg}^{+2}$ ). El pH normal de la sangre y del fluido intersticial usualmente se mantiene entre 7.35 y 7.45, no obstante, puede disminuir hasta 5.2 durante la implantación en tejido calcificado, normalizándose después de dos semanas; la temperatura se mantiene cercana a

los 37 °C. La alta concentración de iones y el cambio en el pH aceleran el proceso de corrosión de los biomateriales metálicos, lo que puede generar la liberación de iones metálicos [4, 18].

Las articulaciones metal-metal generan aproximadamente entre  $6.7 \times 10^{12}$  y  $2.5 \times 10^{14}$  partículas a partir del desgaste, la corrosión superficial o la combinación de ambos. La ingesta de nanopartículas metálicas ( $< 150$  nm) de las células ocurre por un proceso de endocitosis, particularmente fagocitosis y pinocitosis. Partículas más grandes ( $> 150$  nm) pueden estimular la fagocitosis en células especializadas tales como macrófagos. Una vez internalizada, la partícula metálica puede inducir citotoxicidad, daño cromosómico y estrés oxidativo. El Titanio puede generar especies reactivas de oxígeno, tales como el radical superóxido ( $O_2^-$ ) y el radical hidroxilo ( $OH^\cdot$ ); estas especies reactivas de oxígeno pueden provocar daño al ADN, proteínas y lípidos. Las partículas metálicas liberadas por los biomateriales metálicos poseen una capacidad limitada para activar macrófagos y pueden ocasionar osteólisis por una reacción inmune relacionada a hipersensibilidad [17, 19].

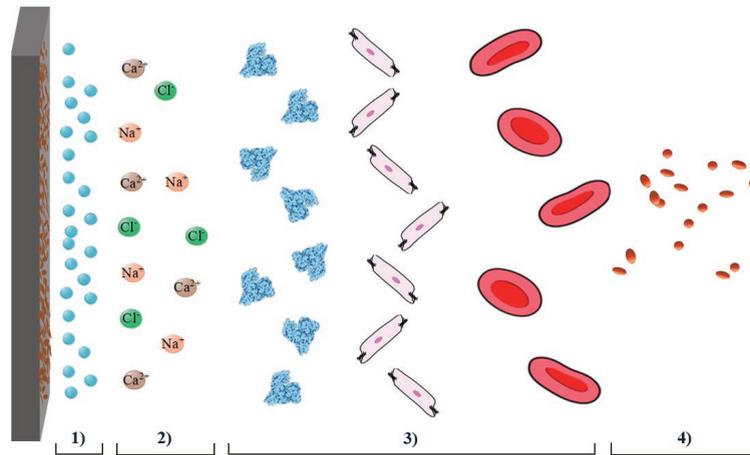


Figura 1. Esquema de la interfase implante-medio biológico. Eventos a nivel molecular sobre la superficie del implante: 1) adsorción de moléculas de agua; 2) incorporación de iones; 3) adsorción de biomoléculas; 4) liberación de material metálico.

De esta manera, los tratamientos superficiales o recubrimientos deberán cumplir con los mismos requisitos de un biomaterial, pero al mismo tiempo, incrementar las propiedades de barrera evitando un detrimento en las propiedades mecánicas, presentar una alta adherencia y rugosidad, evitar un peso excesivo en el dispositivo final y una relación costo-beneficio muy superior al que presenta un implante sin un proceso de modificación superficial. Los métodos utilizados

para la modificación de superficies pueden ser físicos o químicos. La técnica de pulverización catódica, tratamientos térmicos, rociado térmico, tratamientos de conversión química, electrodeposición y técnicas de mojado en diferentes medios son algunas de las técnicas más utilizadas para lograr una modificación superficial en estos materiales.

Las técnicas de mojado se han adoptado por su sencillez y bajo costo, además que a través de ellas se pueden lograr tratamientos superficiales o recubrimientos con un empaquetamiento y ordenamiento adecuado para su uso en implantes médicos. Particularmente, el método por inmersión (dip-coating) permite la modificación superficial a través de las siguientes etapas 1) inmersión: el sustrato se sumerge a una velocidad controlada; 2) proceso: el sustrato se mantiene sumergido durante un tiempo lo suficientemente largo para permitir la formación del tratamiento superficial o recubrimiento; 3) extracción: se extrae al sustrato a una velocidad controlada; 4) secado a temperatura ambiente y 5) evaporación de los compuestos volátiles a temperaturas elevadas (Figura 2). Como es de esperarse parámetros como la viscosidad, gravedad y la tensión superficial tienen un papel importante en la modificación superficial y/o en la formación del recubrimiento [20, 21].

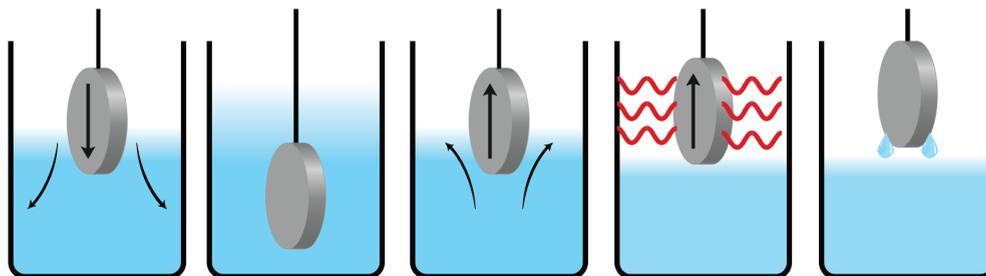


Figura 2. Recubrimiento por inmersión, de izquierda a derecha. El proceso de recubrimiento se inicia por sumergir al sustrato, después de un tiempo de espera (inmersión) comienza la extracción y finaliza con el secado; además, la etapa de evaporación intermedia entre la extracción y el secado.

Una de las soluciones que ha sido explorada para la modificación superficial de sustratos metálicos son los ácidos alquilofosfónicos ( $R-PO(OH)_2$ ). Estos compuestos están formados por cadenas anfífilas lineales que pueden formar enlaces M-O-P con diversos metales tales como Ti, Zr, Zn, Al, entre otros (Figura 3) [22]. Se han realizado investigaciones con la intención de aumentar la hidrofobicidad de compuestos organometálicos, mejorando su desempeño como refuerzo en matrices poliméricas mediante la adición de ácido octadecilfosfónico (OPA); demostrando que existe interacción química entre ellos [23, 24]. El ácido octadecilfosfónico ha sido utilizado en la formación de películas sobre la superficie de

diferentes aleaciones metálicas para prevenir el proceso de corrosión; se ha reportado que estos recubrimientos presentan un buen desempeño como barreras protectoras, aumentando la resistencia a la degradación de las aleaciones [25, 26].

Recubrimientos de OPA se han empleado además sobre superficies de  $TiO_2$  para evitar la adsorción de bacterias [27, 28]; en  $TiAlN$  para disminuir la energía superficial y mejorar sus propiedades funcionales [29]; electrodos metálicos (por ejemplo, Ag), dieléctricos (como óxido de indio estaño y óxido de hafnio), utilizados en transistores orgánicos, para modular la función de trabajo, energía superficial y la cinética de la transferencia de electrones [30, 31]. Recientemente, se han reportado estudios de simulaciones de dinámica molecular para determinar el mecanismo molecular de adherencia del OPA sobre la superficie de  $\alpha-Al_2O_3$  (0001) [32]. Estas investigaciones indican que se debe tener un control adecuado de los parámetros de síntesis, ya que puede ocasionar defectos en la película formada, debido a las moléculas de ácido octadecilfosfónico que no se adhieren correctamente al sustrato, por lo que se sugiere su uso en disolventes polares para su corrección [33].

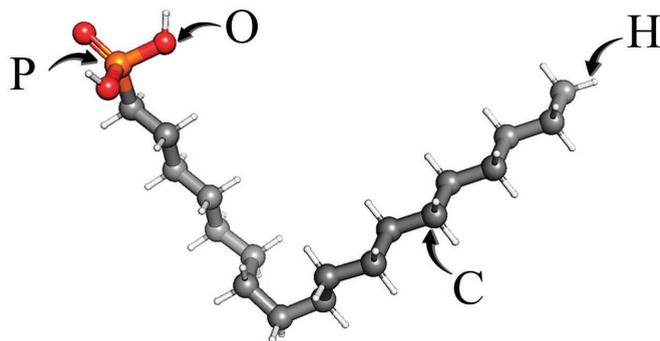


Figura 3. Estructura química del OPA.

Como es de esperarse uno de los retos más importantes cuando se utiliza OPA, es la determinación de la forma en que interactúa con la superficie metálica en la que se deposita, así como el tipo de estructura cristalina. El principal problema en este último caso es que el Centro Internacional de Datos de Difracción (ICDD) no tiene en su banco de datos una carta cristalográfica de ácido octadecilfosfónico que apoye a la identificación de las fases durante el crecimiento de películas en materiales metálicos.

Por esta razón, tomando como referencia los antecedentes descritos, en esta investigación se presenta un análisis estructural del crecimiento de películas de ácido octadecilfosfónico (OPA) depositadas sobre la superficie de Ti6Al4V mediante la técnica de inmersión (dip-coating), con el fin de determinar el tipo de estructura cristalina que se deposita en el sustrato metálico y evaluar sus propiedades de barrera utilizando la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica y un medio que emula las condiciones del medio fisiológico (buffer fosfato salino, PBS). Para conseguirlo, después de realizar la síntesis del sistema OPA/Ti6Al4V a dos diferentes tiempos de inmersión, se realizó un análisis estructural utilizando un refinamiento Rietveld a través de los programas HighScore Plus® y FullProf Suite®, proponiendo las posiciones atómicas de sus bases de datos.

El refinamiento Rietveld es un método utilizado para caracterizar materiales cristalinos de los cuales se desconoce su estructura cristalina, se ajusta un modelo a los datos experimentales obtenidos mediante difracción de rayos X. Los requerimientos básicos para realizar el refinamiento Rietveld son: 1) datos precisos de difracción del material evaluado; 2) un modelo inicial que sea razonablemente cercano a la estructura cristalina del material de interés; 3) un modelo que describa con precisión las formas, anchuras y cualquier error sistemático en las posiciones de las señales de Bragg en el patrón de difracción.

En general el refinamiento Rietveld se basa en el método de mínimos cuadrados a fin de minimizar la siguiente función residual:

$$\rho = \sum_{i=1}^N w_i (y_i^{obs} - y_i^{calc})^2 \quad (1)$$

A partir de esta función y las ecuaciones (2 - 5) se pueden comparar los residuales esperado, ponderado, perfil y Bragg:

Residual esperado ( $R_E$ ):

$$R_E = 100 \sqrt{\frac{(N - P + C)}{\sum_{i=1}^N w_i (y_i^{obs})^2}} \quad (2)$$

Residual de perfil ponderado ( $R_{WP}$ , por sus siglas en inglés):

$$R_{WP} = 100 \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N w_i (y_i^{obs} - y_i^{calc})^2}{\sum_{i=1}^N w_i (y_i^{obs})^2}} \quad (3)$$

Residual perfil ( $R_p$ ):

$$R_p = 100 \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (y_i^{obs} - y_i^{calc})^2}{\sum_{i=1}^N y_i^{obs}}} \quad (4)$$

Residual de Bragg:

$$R_B = 100 \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N N_{ref} (I_i^{obs} - I_i^{calc})^2}{\sum_{i=1}^N I_i^{obs}}} \quad (5)$$

En estas ecuaciones,  $N$  es el número total de posiciones  $2\theta_i$ ,  $w_i$  es el factor de peso (peso estadístico para cada reflexión);  $y_i^{obs}$  el número de cuentas experimentales para cada ángulo  $2\theta_i$ ;  $y_i^{calc}$  el número de cuentas calculadas para cada ángulo  $2\theta_i$ ;  $I_i^{obs}$  es la intensidad integrada para cada ángulo  $2\theta_i$ ;  $I_i^{calc}$  es la intensidad integrada calculada para cada ángulo  $2\theta_i$ ,  $N - P + C$  es el número de grados de libertad [34-37].

## 2. Metodología

### 2.1. Materiales y reactivos

El ácido octadecilfosfónico (97 %) y la solución salina amortiguada por fosfatos (PBS) fueron adquiridos en la compañía Sigma-Aldrich Co., el alcohol etílico (etanol, 96 %) en Fermont. El sustrato utilizado en este estudio fueron Ti6Al4V grado quirúrgico en forma de discos con diámetro de 20 mm y espesor de 2 mm. Previo al depósito, los sustratos se desbastaron con papel de SiC utilizando grados desde 400 a 1500. Los residuos se eliminaron en disoluciones de agua destilada, etanol, acetona en baño ultrasónico y fueron secados a temperatura ambiente.

### 2.2. Síntesis de las películas de OPA

La formación de las películas de OPA sobre la superficie de los sustratos de Ti6Al4V se realizó empleando una disolución de ácido octadecilfosfónico la cual se preparó usando 0.01724g de ácido octadecilfosfónico que se introdujeron en un matraz de tres bocas en conjunto con 50 mL de etanol, añadidos para alcanzar una concentración de 1mM. Después, el matraz se conectó a un condensador de reflujo y colocó en un baño de aceite a 40 °C durante 2 horas. En la última etapa, la disolución se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, se utilizaron 80 mL de la disolución y se colocaron en el vaso de precipitados del

equipo de inmersión modelo Dip Coating WHL-30B. Los sustratos fueron, a su vez colocados en el brazo de velocidad controlada. Los experimentos se realizaron a temperatura ambiente, utilizando dos tiempos de inmersión (20 y 30 h), una velocidad de inserción y extracción de 1 mm/min. El secado de la disolución se realizó a temperatura ambiente, el cual fue seguido por un proceso de evaporación efectuada en una mufla marca Lindbergh BF51894C y, finalmente, se enfriaron a temperatura ambiente.

### 3.

#### 3.1. *Caracterización estructural mediante DRX y refinamiento Rietveld*

Los recubrimientos del sistema OPA/Ti6Al4V se caracterizaron estructuralmente mediante un equipo de difracción de rayos X marca Bruker modelo D8 Advance, el cual está equipado con un detector LINXEYE. Los datos fueron recolectados en el intervalo  $2\theta$  desde 5 hasta  $90^\circ$  con un paso de  $0.02^\circ \text{ min}^{-1}$  utilizando una radiación  $\text{Cu}_{K\alpha}$  ( $\lambda = 1.5406 \text{ \AA}$ ). Para comparación, se evaluó un espectro de polvos de OPA. Los espectros de difracción de rayos-X fueron analizados mediante el método de refinamiento de Rietveld utilizando los programas HighScore Plus® [38] y FullProf Suite® [39]. Como se mencionó previamente, la carta cristalográfica del OPA no se ha encontrado en la literatura por lo que inicialmente se utilizaron cartas cristalográficas con patrones de difracción de rayos-X similares y que están en la biblioteca de datos del programa HighScore Plus.

Para el refinamiento en el programa HighScore Plus® se utilizó un polinomio de cuatro coeficientes, el término  $1/X$  y la función pseudo-Voight se utilizó para ajustar la forma de las señales; esta función también se empleó para realizar el refinamiento en el programa FullProf Suite®.

#### 3.2. *Caracterización morfológica*

La caracterización morfológica del sistema OPA/Ti6Al4V se realizó utilizando un equipo JEOL JSM 6701F a diferentes aumentos y un voltaje de aceleración de 5 kV.

#### 3.3. *Espectroscopia de impedancia electroquímica*

La espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS, por sus siglas en inglés) se realizó en una celda de tres electrodos a  $20^\circ \text{C}$ , en una disolución PBS, que

emula las condiciones del medio fisiológico, usando un Potenciostato Gamry Reference 600; las muestras se estabilizaron durante 30 min antes de las evaluaciones. El electrodo de trabajo consistió en un área expuesta de 0.7 cm<sup>2</sup> de la superficie de las muestras con y sin recubrimiento. El electrodo de referencia fue un electrodo de Calomel saturado (SCE, por sus siglas en inglés) y una barra de grafito se empleó como contraelectrodo. Las medidas de impedancia se obtuvieron con una señal sinusoidal de voltaje de 10 mV de amplitud aplicada en un intervalo de frecuencia de 100 kHz a 0.01 Hz (diez puntos de frecuencia por década). Todas las mediciones se realizaron por triplicado.

#### 4. Resultados y discusión

##### 4.1. Análisis Morfológico del sistema OPA/Ti6Al4V

En la Figura 4 a-d se presentan las micrografías de los sistemas OPA/Ti6Al4V producidos a dos tiempos de inmersión (20 y 30 h) y diferentes magnificaciones. La molécula de OPA presenta una longitud de onda de  $\sim 15$  Å, por lo que se ha observado previamente que el análisis morfológico es complicado. Sin embargo, bajo las condiciones de síntesis se puede observar en estas imágenes que la película presenta aglomerados de la molécula, por lo que se puede inferir que la película se formó a partir de nucleación de partículas mismas que fueron creciendo hasta formar el recubrimiento. Muy probablemente este crecimiento se dio a partir de la composición de las fases  $\alpha$  y  $\beta$  características de esta aleación. El tamaño de estos aglomerados es difícil de determinarse con exactitud; sin embargo, se observa que son del orden micrométrico, las cuales a su vez están integrados por partículas más pequeñas. En estas micrografías también puede observarse que debido al mecanismo de crecimiento se presentan porosidades superficiales,

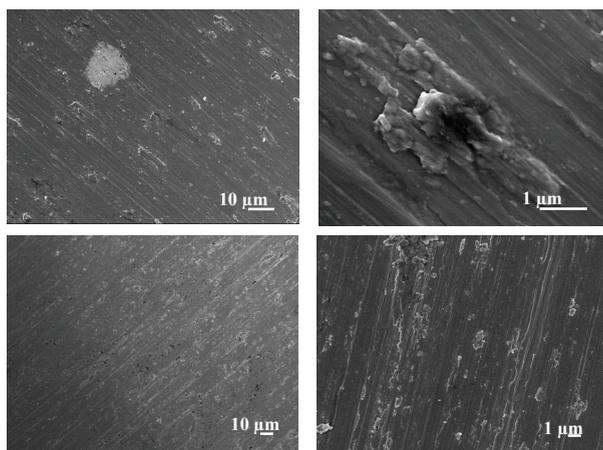


Figura 4. Micrografías de SEM de la aleación Ti6Al4V recubierta con OPA utilizando dos tiempos de inmersión. a-b) 20 h y c-d) 30 h.

mismas que disminuyen con el tiempo de inmersión. Las líneas observadas están relacionadas con el procedimiento de pulido mecánico.

#### 4.2. Patrones de difracción de rayos X

En la Figura 5 se muestran los patrones de difracción de los cristales del OPA (tal como se recibieron), los sustratos de Ti6Al4V sin recubrir y los sistemas OPA/Ti6Al4V con dos tiempos de inmersión (20 y 30 h). Los espectros de difracción muestran para el caso de los cristales de OPA, la aparición de reflexiones a  $5^\circ$ ,  $7.6^\circ$  y  $12.7^\circ$ . Por su parte, el sustrato metálico sin recubrir presenta tres principales reflexiones que se localizan aproximadamente a  $32.3^\circ$  ( $100$ ) $_{\alpha}$ ,  $38.1^\circ$  ( $002$ ) $_{\alpha}$ ,  $39.6^\circ$  ( $110$ ) $_{\beta}$ ,  $40.2^\circ$  ( $101$ ) $_{\alpha}$ ,  $53.4^\circ$  ( $102$ ) $_{\alpha}$ ,  $64.6^\circ$  ( $110$ ) $_{\alpha}$ , y  $71.1^\circ$  ( $211$ ) $_{\alpha}$  ( $103$ ) $_{\beta}$  que corresponden a las fases hexagonal de  $\alpha$ -Ti (JCPDS # 44-1294) y cúbica de  $\beta$ -Ti (JCPDS # 44-1288). Por su parte, los sistemas OPA/Ti6Al4V presentan las principales reflexiones de sustrato, OPA así como la aparición dos pequeñas reflexiones localizadas aproximadamente a  $22.2^\circ$  y  $25.9^\circ$  ( $\theta$ - $2\theta$ ), las cuales se han atribuido a la interacción de la OPA y la superficie metálica [23,24]. La intensidad de las señales disminuye al aumentar el tiempo de inmersión de 20 a 30 h, por lo que se observa que a 30 h estas señales se integran en una sola reflexión. La disminución de la intensidad de las señales es característica de la reducción en la cristalinidad de película.

El refinamiento Rietveld intentó realizarse en los sistemas OPA/ Ti6Al4V; sin embargo, como era de esperarse, el número de conteos (intensidades) fue demasiado pequeño para la obtención de resultados confiables durante el análisis de la estructura cristalina de OPA, por lo que el refinamiento Rietveld se realizó a partir del patrón de difracción de OPA cristalino.

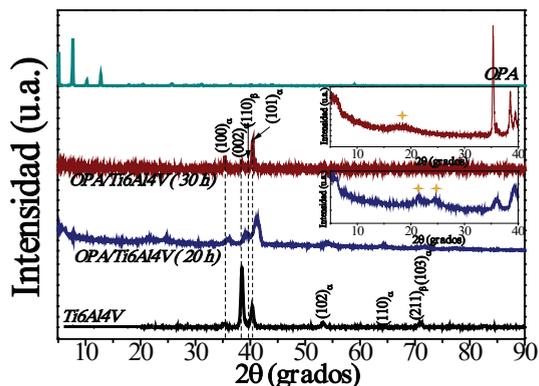


Figura 5. Patrones de difracción del OPA en polvo, las aleaciones Ti6Al4V sin recubrir y recubiertas con las películas de OPA.

### 4.3. Refinamiento Rietveld

En literatura se ha encontrado que la identificación de materiales desconocidos se realiza principalmente utilizando la técnica de difracción de rayos X en polvo, una técnica no destructiva con la cual se examinan fases, textura, cristalinidad, etc. A partir de la información obtenida de esta técnica, se puede realizar el análisis de la estructura cristalina de materiales desconocidos o nuevos, cuya estructura no se encuentra en las bases de datos, utilizando el método de refinamiento Rietveld empleando diversos softwares [40].

Como se mencionó anteriormente, la intensidad de las señales de las películas del OPA sobre la aleación Ti6Al4V no es suficiente para realizar el análisis de su estructura mediante el método de refinamiento Rietveld, por lo que se utilizaron los datos del patrón de difracción de OPA en polvo. Esta información fue utilizada para refinamiento Rietveld combinando los programas HighScore Plus® y FullProf suite®. Primero, se realizó una búsqueda de cartas cristalográficas cuyo compuesto estuviera formado a partir de los mismos elementos que componen de OPA, con patrones de difracción con señales en las mismas posiciones o posiciones cercanas a las encontradas en las cartas cristalográfica del OPA experimental, utilizando diversas bases de datos mediante el programa HighScore Plus®. A partir de esta búsqueda se encontraron coincidencias mostradas en la Tabla I. Como puede apreciarse en esta Tabla, todas las estructuras que se acercan a las reflexiones de la OPA ajustan con la fase monoclinica. Por lo que éstas se evaluaron mediante el refinamiento Rietveld utilizando los resultados experimentales. Es importante mencionar que las coordenadas atómicas de la estructura del OPA se obtuvieron a partir de los archivos de información cristalográfica (5FIC.cif) [41].

Tabla 1. Información cristalográfica de la base de datos contenida en el programa HighScore plus® como punto de partida para el refinamiento Rietveld.

<i>Núm. Carta cristalográfica</i>	<i>Estructura cristalina</i>	<i>Grupo espacial</i>	<i>Núm. de grupo espacial</i>	<i>Fórmula química</i>
96-201-2866	monoclinica	P 1 21 1	4	P8.00O32.00H40.00C28.00
96-402-1899	monoclinica	C 1 2 1	5	C176.00H128.00O16.00P8.00
96-431-0891	monoclinica	C 1 2/c 1	15	P8.00O16.00C248.00H248.00
96-430-9594	monoclinica	C 1 2/c 1	14	P4.00C136.00H172.00O12.00
96-222-7302	monoclinica	C 1 2/c 1	14	P4.00O16.00C168.00H252.00

A partir de los refinamientos realizados se observó que el valor de la bondad del ajuste del patrón de difracción experimental más bajo se obtuvo al compararlo con la carta cristalográfica JCPDS # 96-201-2866 ( $\chi^2 = 53$ ) utilizando el software HighScore plus®, mientras que el ajuste mínimo que se obtuvo en el programa Fullprof Suite® fue de  $\chi^2 = 59.2$  para esta misma carta. Es evidente que este valor puede resultar muy alto para cualquier análisis de este tipo; sin embargo, la aproximación se considera adecuada si se toma en cuenta la complejidad de la molécula (OPA) y la carencia de datos disponibles. De esta manera, la estructura cristalina del ácido octadecilfosfónico a temperatura ambiente es monoclinica simple con una simetría  $P 1 21 1$ , grupo espacial 4. En la Tabla II se presentan los resultados del ajuste obtenido mediante el refinamiento Rietveld en etapas inicial, intermedia y final del análisis realizado utilizando el programa Fullprof Suite®. Por su parte, en la Figura 6 se muestran los cambios en el refinamiento a través de las diferentes posiciones atómicas propuesta para la estructura de la OPA. En esta Figura, las diferencias en los perfiles calculados y experimentales indican un mejor ajuste.

Tabla 2. Resultados del refinamiento Rietveld para la estructura cristalina de ácido octadecilfosfónico utilizando como referencia la carta cristalográfica JCPDS # 96-201-2866.

<i>Ajuste</i>	<i>Inicial</i>	<i>Intermedio</i>	<i>Final</i>
Sistema cristalino	Monoclínico	Monoclínico	Monoclínico
Grupo espacial	P 1 21 1	P 1 21 1	P 1 21 1
$a$ (Å)	5.07(5)	5.60(1)	5.58(6)
$b$ (Å)	23.24(1)	23.41(5)	23.21(4)
$c$ (Å)	8.76(1)	8.64(2)	8.75(4)
$\beta$ (°)	98.3(2)	97.3(3)	97.0(1)
$V$ (Å <sup>3</sup> )	1150.2(1)	1124.8(5)	1125.7(4)
Factores R			
$R_p$ (%)	89.7	103	41.3
$R_{wp}$ (%)	95	95-4	53.4
$R_{exp}$ (%)	7.57	7.84	6.93
$\chi^2$	157	148	59.2

Las diferencias con el ajuste experimental son bastante aceptables con  $R_{exp} = 6.93$  %, mientras que en el caso de los residuales de ponderados y de perfil son altos con valores de  $R_p = 41.3$  % y  $R_{wp} = 53.4$  %, respectivamente. Los parámetros de

celda unitaria que corresponde a este ajuste son:  $a = 5.583(6) \text{ \AA}$ ,  $b = 23.210(4) \text{ \AA}$ ,  $c = 8.753(3) \text{ \AA}$ ,  $\beta = 97.03(13)^\circ$ ,  $V = 1125.7(14) \text{ \AA}^3$  y contiene 122 átomos, 2 moléculas por celda unitaria.

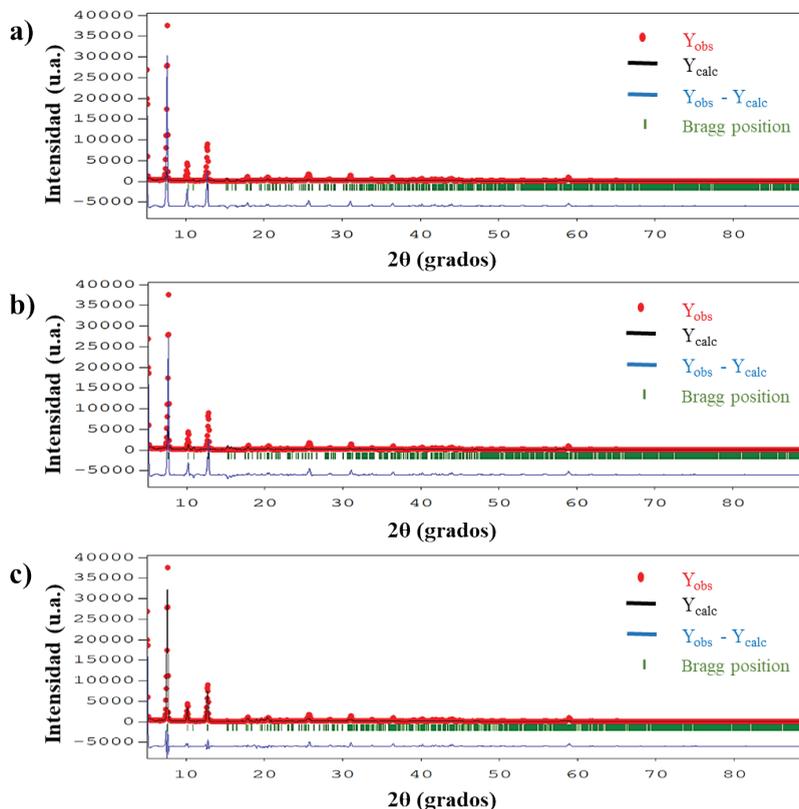


Figura 6. Gráficas del refinamiento Rietveld para el OPA en polvo a lo largo del análisis. Etapa inicial (a), intermedia (b) y final (c).

En la Figura 7 se muestra una propuesta de los diagramas de celda unitaria del ácido octadecilfosfónico utilizando los resultados por etapa del refinamiento Rietveld. Estas celdas fueron construidas en el programa Diamond® mediante los archivos CIF generados [42].

Los parámetros del refinamiento de la etapa inicial (Figura 7 a) no presentan una variación drástica respecto a la etapa intermedia (Figura 7 b); sin embargo, a medida que se refinaron los parámetros iniciales, se presentan una estructura muy diferente. Los cambios en las posiciones atómicas pueden en gran medida modificar las propiedades del sistema OPA/Ti6AL4V. Por esta razón, con el fin de complementar la información y recordando que el objetivo de este estudio era

determinar la estructura cristalina de los recubrimientos de OPA sobre la aleación Ti6Al4V, así como sus propiedades de barrera en un medio que simule un medio fisiológico; se realizó un análisis de los sistemas OPA/Ti6Al4V mediante espectroscopia de impedancia electroquímica.

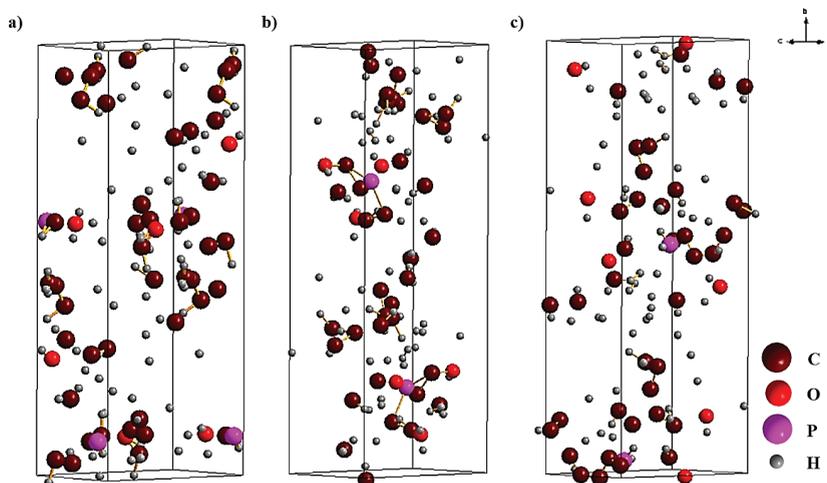


Figura 7. Diagramas de la celda unitaria del OPA en polvo a lo largo del refinamiento de Rietveld. Etapa inicial (a), intermedia (b) y final (c).

#### 4.4. Espectroscopia de Impedancia Electroquímica

La Figura 8 muestra los espectros obtenidos mediante la técnica de espectroscopia de impedancia electroquímica utilizando una disolución de PBS. Para comparación, se presenta el desempeño electroquímico de sustratos sin recubrir de Ti6Al4V. Todos los espectros presentan una sola constante de tiempo con una influencia directa sobre las propiedades de barrera del tiempo de inmersión de los recubrimientos aplicados. En el diagrama de Nyquist se puede observar claramente que las propiedades de barrera de la aleación Ti6Al4V se incrementan de manera importante con la adición de los recubrimientos de OPA. Una comparación rápida de este comportamiento sugiere que la resistencia a la polarización se modifica de  $24 \text{ k}\Omega \text{ cm}^{-2}$  para el sustrato desnudo y se incrementa entre  $256.2 \text{ k}\Omega \text{ cm}^{-2}$  -  $0.86 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-2}$  con un tiempo de 20 y 30 h de inmersión, respectivamente. Este comportamiento puede corroborarse con los diagramas de impedancia total y ángulo de fase en donde se observa un incremento en la respuesta capacitiva (de altas a bajas frecuencias) a mayores tiempos de inmersión. Para determinar los valores de la resistencia a la transferencia de carga de las muestras analizadas, se realizó un ajuste mediante el uso de circuitos equivalentes. Los

circuitos equivalentes propuestos para el sustrato sin recubrir es  $R_s(R_{ct}CPEdc)$ , mientras que para los sistemas OPA/ Ti6Al4V se propuso un circuito  $R_s(R_r (R_{ct} CPEdc) CPEr)$ . En estos circuitos  $R_s$  describe la resistencia a la solución,  $R_r$  es la resistencia del recubrimiento y  $R_{ct}$  es la resistencia al a transferencia de carga. Por su parte, la capacitancia de la doble capa eléctrica fue ajustada mediante un elemento de fase constante. El elemento de fase constante se utilizó para ajustar las desviaciones de la idealidad del semicírculo y son referidas en este caso a rugosidades observadas durante el crecimiento de la película. Por lo tanto  $CPEr$ , está relacionada con la capacitancia del recubrimiento, mientras que  $CPEdc$  con la capacitancia de la doble capa eléctrica.

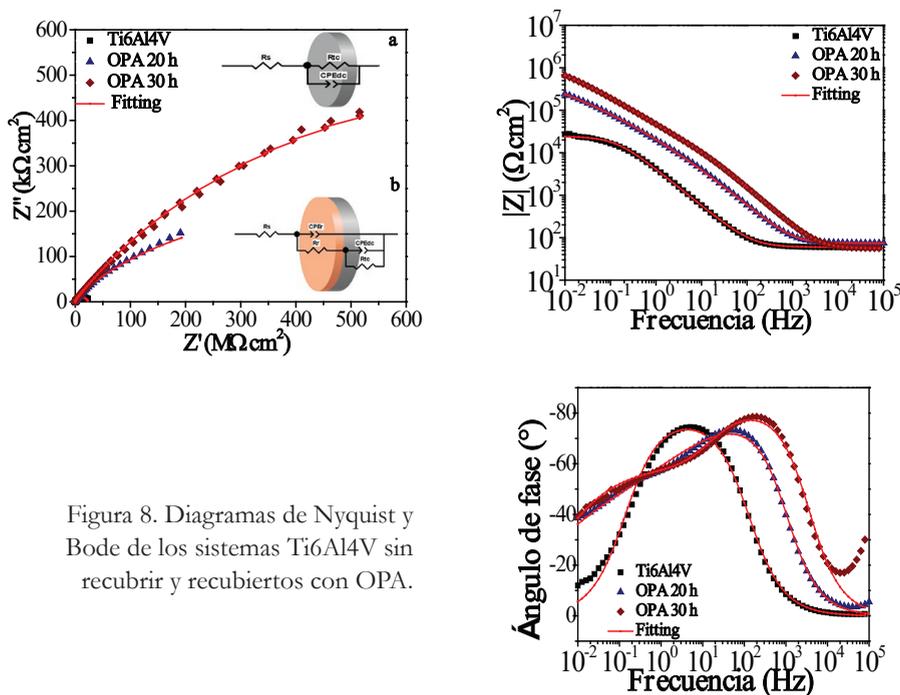


Figura 8. Diagramas de Nyquist y Bode de los sistemas Ti6Al4V sin recubrir y recubiertos con OPA.

Los resultados del ajuste realizado a los datos experimentales a partir de los circuitos propuestos se presentan en la Tabla III. Los valores de resistencia a la disolución se encuentran en el intervalo observado para este tipo de electrolitos, mientras que los valores de  $n$  se encuentran en congruencia con el ajuste de la capacitancia a partir del elemento de fase constante del recubrimiento, el cual es cercano a la unidad. Por su parte, en el mejor de los casos se observó un incremento en las propiedades de barrera de hasta casi dos órdenes en magnitud en comparación con el sustrato. Si bien es cierto que el tiempo de inmersión es muy

alto en comparación con los dos experimentos propuestos, la aplicación de estos materiales puede justificar en un balance de costo-beneficio.

Tabla 3. Valores obtenidos a partir de la simulación de la aleación Ti6Al4V sin recubrir y recubierta con el OPA en PBS.

Muestra	CPE <sub>r</sub>			CPE <sub>dc</sub>			Equiv.		
	R <sub>s</sub>	Y <sub>O<sub>1r</sub></sub>	n <sub>1</sub>	R <sub>r</sub>	Y <sub>O<sub>2dc</sub></sub>	n <sub>2</sub>	R <sub>tc</sub>	Circuit	
	( $\Omega \text{ cm}^2$ )	( $\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ s}^n$ )		( $\Omega \text{ cm}^2$ )	( $\Omega^{-1} \text{ cm}^2 \text{ s}^n$ )		( $\Omega \text{ cm}^2$ )	$\chi^2$ ( $10^{-3}$ )	
Ti6Al4V	59.24	-	-	-	4.73E-5	0.87	24.43E3	2.49	a
20 h	73.81	3.95E-6	0.92	730	12.24E-6	0.59	833E3	1.01	b
30 h	55.93	1.66E-8	0.92	17.29E3	5.44E-6	0.69	1.84E6	13.41	b

Específicamente con 30 h de inmersión la reducción en la velocidad de corrosión puede estar relacionado con varios factores, por ejemplo, el mayor espesor que tienen las películas en comparación con las de 20 h; asimismo, la reducción en la porosidad de los recubrimientos a tiempos mayores, lo cual se observó en la inspección morfológica de las muestras. Finalmente, un factor que puede influir es el tipo de estructura cristalina del recubrimiento y su interacción con el sustrato metálico. Durante el crecimiento de los sustratos y su posterior secado, se liberan no solo disolventes, sino una cantidad de energía debida a las diferencias en los coeficientes de expansión térmica entre el polímero y metal, lo cual puede modificar los tamaños de cristalita en el recubrimiento. Sin embargo, en este caso los tamaños fueron muy similares por lo que este factor no debe afectar el desempeño final del material. En lo que respecta a la estructura cristalina, la cual se sugiere es monoclinica, ésta afectará principalmente, las propiedades mecánicas del sistema, las cuales no fueron evaluadas durante esta investigación.

## 5. Conclusiones

En este estudio se evaluó la estructura cristalina del ácido octadecilfosfónico en polvo, un material empleado como película para prevenir el proceso de corrosión en la superficie de la aleación Ti6Al4V, cuya carta cristalográfica no ha sido reportada en literatura. La estrategia inicial se enfocó en analizar morfológicamente el crecimiento de los recubrimientos de OPA en sustratos metálicos, utilizando tiempos de inmersión a 20 y 30 h. El crecimiento de estas películas ocurre mediante islas presumiblemente en la fase  $\beta$ -Ti, para después recubrir con el tiempo de inmersión la superficie del sustrato. Películas más uniformes y una

menor porosidad se observaron a 30 h. Los espectros de DRX indican una interacción fuerte de OPA la cual se presenta con la aparición de pequeñas reflexiones que no aparecen en el sustrato metálico ni en el material reactivo. A partir de los resultados obtenidos en el refinamiento Rietveld a través de los softwares HighScore Plus® y FullProf Suite®, se sugiere que la estructura de la OPA es monoclinica con una simetría  $P 1 21 1$ , no obstante que el valor de  $\chi^2$  es alto para esta determinación. La resistencia a la transferencia de carga es incrementada hasta en dos órdenes de magnitud cuando se aplica un recubrimiento de OPA en la superficie de Ti6Al4V. Aunque el tiempo de aplicación es largo 30 h, el costo beneficio en estos materiales justifica su aplicación. Finalmente, las propiedades de barrera están relacionadas con las características del recubrimiento como lo es la reducción en la porosidad y espesor que puede alcanzarse con tiempos de inmersión prolongados.

### **Agradecimientos**

K. Anaya Garza agradece por su beca a CONACYT (492198), COFAA y SIP-IPN. Los autores también están agradecidos por el soporte financiero proporcionado por el Instituto Politécnico Nacional a través de SIP 20210691, 20210664, 20210681, 20210693 y COFAA; CONACYT a través de CB-2015-252181 y SNI-CONACYT.

## Bibliografía

1. Liu, Y., Rath, B., Tingart, M., & Eschweiler, J. (2020). Role of implants surface modification in osseointegration: A systematic review. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 108(3), 470-484.  
<https://doi.org/10.1002/jbm.a.36829>
2. Kremers, H. M., Lewallen, E. A., van Wijnen, A. J., & Lewallen, D. G. (2016). Clinical factors, disease parameters, and molecular therapies affecting osseointegration of orthopedic implants. *Current molecular biology reports*, 2(3), 123-132.  
<https://doi.org/10.1007/s40610-016-0042-6>
3. Geetha, M., Singh, A. K., Asokamani, R., & Gogia, A. K. (2009). Ti based biomaterials, the ultimate choice for orthopaedic implants—a review. *Progress in materials science*, 54(3), 397-425.  
<https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2008.06.004>
4. Singh, R., & Dahotre, N. B. (2007). Corrosion degradation and prevention by surface modification of biometallic materials. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 18(5), 725-751.  
<https://doi.org/10.1007/s10856-006-0016-y>
5. Veiga, C., Davim, J., & Loureiro, A. (2012). Properties and applications of titanium alloys: a brief review. *Rev. Adv. Mater. Sci.*, 32(2), 133-148.
6. Sridhar, T., Vinodhini, S., Kamachi Mudali, U., Venkatachalapathy, B., & Ravichandran, K. (2016). Load-bearing metallic implants: electrochemical characterisation of corrosion phenomena. *Materials Technology*, 31(12), 705-718.  
<https://doi.org/10.1080/10667857.2016.1220752>
7. Almanza, E., Pérez, M., Rodríguez, N., & Murr, L. (2017). Corrosion resistance of Ti-6Al-4V and ASTM F75 alloys processed by electron beam melting. *Journal of Materials Research and Technology*, 6(3), 251-257.  
<https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2017.05.003>
8. Dalmiglio, M., Schaaff, P., Holzwarth, U., Chiesa, R., & Rondelli, G. (2008). The effect of surface treatments on the fretting behavior of Ti-6Al-4V alloy. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials*, 86(2), 407-416.  
<https://doi.org/10.1002/jbm.b.31034>
9. Saleh, L. S., & Bryant, S. J. (2015). In vitro and in vivo models for assessing the host response to biomaterials. *Drug Discovery Today: Disease Models*, 24, 13-21.  
<https://doi.org/10.1016/j.ddmod.2018.04.002>
10. Sullivan, S. J., & Topoleski, L. T. (2015). Surface modifications for improved wear performance in artificial joints: a review. *Jom*, 67(11), 2502-2517.  
<https://doi.org/10.1007/s11837-015-1543-0>

11. Javed, F., Al-Hezaimi, K., Almas, K., & Romanos, G. E. (2013). Is titanium sensitivity associated with allergic reactions in patients with dental implants? A systematic review. *Clinical implant dentistry and related research*, 15(1), 47-52.  
<https://doi.org/10.1111/j.1708-8208.2010.00330.x>
12. Olmedo, D., Guglielmotti, M. B., & Cabrini, R. L. (2002). An experimental study of the dissemination of titanium and zirconium in the body. *Journal of materials science: Materials in medicine*, 13(8), 793-796.  
<https://doi.org/10.1023/A:1016131310025>
13. Bose, S., Robertson, S. F., & Bandyopadhyay, A. (2018). Surface modification of biomaterials and biomedical devices using additive manufacturing. *Acta biomaterialia*, 66, 6-22.  
<https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.11.003>
14. Gans, A., Dressaire, E., Colnet, B., Saingier, G., Bazant, M. Z., & Sauret, A. (2019). Dip-coating of suspensions. *Soft matter*, 15(2), 252-261.  
<https://doi.org/10.1039/C8SM01785A>
15. Silva-Bermudez, P., & Rodil, S. (2013). An overview of protein adsorption on metal oxide coatings for biomedical implants. *Surface and Coatings Technology*, 233, 147-158.  
<https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2013.04.028>
16. Bai, L., Du, Z., Du, J., Yao, W., Zhang, J., Weng, Z. et al. (2018). A multifaceted coating on titanium dictates osteoimmunomodulation and osteo/angio-genesis towards ameliorative osseointegration. *Biomaterials*, 162, 154-169.  
<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2018.02.010>
17. Doorn, P. F., Campbell, P. A., Worrall, J., Benya, P. D., McKellop, H. A., & Amstutz, H. C. (1998). Metal wear particle characterization from metal on metal total hip replacements: transmission electron microscopy study of periprosthetic tissues and isolated particles. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials*, 42(1), 103-111.  
[https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4636\(199810\)42:1<103::AID-JBM13>3.0.CO;2-M](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4636(199810)42:1<103::AID-JBM13>3.0.CO;2-M)
18. Ratner, B. D. (2015). Healing with medical implants: The body battles back. *Science translational medicine*, 7(272), 272fs4-272fs4.  
<https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aaa5371>
19. Kubrak, O. I., Husak, V. V., Rovenko, B. M., Storey, J. M., Storey, K. B., Lushchak, V. I. et al. (2011). Cobalt-induced oxidative stress in brain, liver and kidney of goldfish *Carassius auratus*. *Chemosphere*, 85(6), 983-989.  
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2011.06.078>
20. Schneller, T., Waser, R., Kosec, M., & Payne, D. (2013). *Chemical solution deposition of functional oxide thin films*. Springer.  
<https://doi.org/10.1007/978-3-211-99311-8>

21. Tang, X., & Yan, X. (2017). Dip-coating for fibrous materials: mechanism, methods and applications. *Journal of Sol-Gel Science and Technology*, 81(2), 378-404.  
<https://doi.org/10.1007/s10971-016-4197-7>
22. Guerrero, G., Mutin, P., & Vioux, A. (2001). Anchoring of phosphonate and phosphinate coupling molecules on titania particles. *Chemistry of Materials*, 13(11), 4367-4373.  
<https://doi.org/10.1021/cm001253u>
23. Bac, B. H., Song, Y., Kim, M. H., Lee, Y.-B., & Kang, I. M. (2009). Surface-modified aluminogermanate nanotube by OPA: Synthesis and characterization. *Inorganic Chemistry Communications*, 12(10), 1045-1048.  
<https://doi.org/10.1016/j.inoche.2009.08.017>
24. Sun, Y., Sun, Q., Huang, H., Aguila, B., Niu, Z., Perman, J. A. et al. (2017). A molecular-level superhydrophobic external surface to improve the stability of metal-organic frameworks. *Journal of materials chemistry A*, 5(35), 18770-18776.  
<https://doi.org/10.1039/C7TA05800D>
25. Kosian, M., Smulders, M. M., & Zuilhof, H. (2016). Structure and long-term stability of alkylphosphonic acid monolayers on SS316L stainless steel. *Langmuir*, 32(4), 1047-1057.  
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b04217>
26. Mioč, E. K., Gretić, Z. H., & Ćurković, H. O. (2018). Modification of cupronickel alloy surface with octadecylphosphonic acid self-assembled films for improved corrosion resistance. *Corrosion Science*, 134, 189-198.  
<https://doi.org/10.1016/j.corsci.2018.02.021>
27. Dias, L. F. G., Stamboroski, S., Noeske, M., Salz, D., Rischka, K., Pereira, R. et al. (2020). New details of assembling bioactive films from dispersions of amphiphilic molecules on titania surfaces. *RSC Advances*, 10(65), 39854-39869.  
<https://doi.org/10.1039/D0RA06511K>
28. Zhang, K., Zhu, Y., Liu, X., Cui, Z., Yeung, K. W., Pan, H. et al. (2017). Sr/ZnO doped titania nanotube array: an effective surface system with excellent osteoinductivity and self-antibacterial activity. *Materials & Design*, 130, 403-412.  
<https://doi.org/10.1016/j.matdes.2017.05.085>
29. Theile-Rasche, C., Wiesing, M., Schwiderek, S., Noeske, M., & Grundmeier, G. (2020). How self-assembled organophosphonic acid monolayers on Ti0.5Al0.5N hard coatings affect the adsorption of polycarbonate melt. *Applied Surface Science*, 513, 145701.  
<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.145701>
30. Acton, O., Dubey, M., Weidner, T., O'Malley, K. M., Kim, T. W., Ting, G. G. et al. (2011). Simultaneous Modification of Bottom-Contact Electrode and Dielectric Surfaces for Organic Thin-Film Transistors Through Single-Component Spin-Cast Monolayers. *Advanced Functional Materials*, 21(8), 1476-1488.  
<https://doi.org/10.1002/adfm.201002035>

31. Paniagua, S. A., Giordano, A. J., Smith, O. N. L., Barlow, S., Li, H., Armstrong, N. R. et al. (2016). Phosphonic acids for interfacial engineering of transparent conductive oxides. *Chemical reviews*, 116(12), 7117-7158.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00061>
32. Meltzer, C., Dietrich, H., Zahn, D., Peukert, W., & Braunschweig, B. R. (2015). Self-Assembled monolayers get their final finish via a Quasi-Langmuir–Blodgett transfer. *Langmuir*, 31(16), 4678-4685.  
<https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b00440>
33. Dietrich, H., & Zahn, D. (2017). Molecular Mechanisms of Solvent-Controlled Assembly of Phosphonate Monolayers on Oxide Surfaces. *The Journal of Physical Chemistry C*, 121(33), 18012-18020.  
<https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b05750>
34. Bonetto, R. D., Zalba, P. E., Conconi, M. S., & Manassero, M. (2003). The Rietveld method applied to quantitative phase analysis of minerals containing disordered structures. *Revista geológica de Chile*, 30(1), 103-115.  
<https://doi.org/10.4067/S0716-02082003000100007>
35. Descarrega, J. M. A. (2006). Nociones de cristalografía aplicadas al estudio de materiales policristalinos por difracción de los rayos X. *El método de Rietveld*. (3ª ed.). Castelló de la Plana: Universitat Jaume I.
36. Post, J., & Bish, D. (1989). Rietveld refinement of crystal structures using powder X-ray diffraction data. *Modern Powder Diffraction*, 20, 277-308.  
<https://doi.org/10.1515/9781501509018-012>
37. Toby, B. H. (2006). R factors in Rietveld analysis: How good is good enough? *Powder diffraction*, 21(1), 67-70.  
<https://doi.org/10.1154/1.2179804>
38. Degen, T., Sadki, M., Bron, E., König, U., & Nénert, G. (2014). The highscore suite. *Powder diffraction*, 29(S2), S13-S18.  
<https://doi.org/10.1017/S0885715614000840>
39. Rodríguez-Carvajal, J. (2001). An introduction to the program. In Laboratoire Léon Brillouin.
40. Baskar, M., & Patania, A. (2020). X-Ray Powder Diffraction Data—Identification and Structure Elucidation of Unknown Stone—Rietveld Refinement Approach. *Journal of Biophysical Chemistry*, 11(4), 51-61.  
<https://doi.org/10.4236/jbpc.2020.114005>
41. Gorelik, A., Illes, K., Heinz, L. X., Superti-Furga, G., & Nagar, B. (2016). Crystal structure of mammalian acid sphingomyelinase. *Nature communications*, 7(1), 1-9.  
<https://doi.org/10.1038/ncomms12196>
42. Brandenburg, K. (1998). Diamond version 2.0 impact GbR. Bonn, Germany.



## CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES FINALES

---

En la actualidad la nanotecnología está cumpliendo con sus objetivos, al ser una ciencia y tecnología trans-disciplinaria, está uniendo esfuerzos con las demás ciencias para apoyar con las innovaciones para contrarrestar a la pandemia del COVID 19. Es así que los desarrollos de las vacunas que están administrando en seres humanos contra el virus, el RNAs está siendo nanotransportado a través de liposomas y son los que tienen mayor eficacia, 94 % y 95 % contra el COVID 19.

Esta es una gran motivación para continuar realizando investigación en nano ciencia y nanotecnología aplicada al área de salud sin descuidar las otras áreas del conocimiento como Energía, Medio Ambiente, Alimentos y Seguridad.

En el área de salud los capítulos inician con la elaboración de nanofibras que se emplean como apósitos para el tratamiento de enfermedades infecciosas, incorporando un antibiótico en el interior de las nanofibras, que es una técnica que posiblemente servirá para nuevas innovaciones en otros campos de la salud.

La investigación sobre el método de síntesis de nanopartículas de oro con diferentes azúcares reductores y no reductores presenta una alternativa ecológica y factible de obtención de nanopartículas de oro que a futuro podría tener un uso directo sobre los blancos terapéuticos asociados a padecimientos del sistema nervioso central (SNC), particularmente las enfermedades neurodegenerativas.

La detección temprana Células Tumorales Circulantes (CTC) puede representar la diferencia clínica valuable para el monitoreo de tratamientos, anticipación a recidivas y metástasis. El desarrollo de un nuevo biosensor para detección de CTC

características de cáncer de mama, basado en Espectroscopia de Bioimpedancia Eléctrica (EBiE) asistida con nanopartículas magnéticas (NpM) acopladas a un anticuerpo (Ab) monoclonal que reconoce proteínas de superficie, será un gran avance para la detección de temprana de cáncer de mama.

Nanoestructuras núcleo-coraza de SiO<sub>2</sub>@Au fueron sintetizadas, al conjugar con la proteína *Sambucus nigra*, que podrá servir como un excelente nanosensor de células de cáncer cervicouterino.

En el área de energía se incorporó nanopartículas metálicas a biodiesel en diferentes concentraciones, buscando la aplicación como nanofluidos en ingeniería térmica como enfriadores de paneles solares, en radiadores de motor, almacenadores de energía, sistemas solares térmicos, estanques y celdas solares termoelectricas. Por otro lado la síntesis de películas de óxido de tungsteno mostró respuestas típicas de un semiconductor tipo n en presencia de un gas reductor. El sensor permitió determinar las condiciones óptimas de operación, a saber; 400 °C con 400 y 800 ppm de H<sub>2</sub>.

En el área de los alimentos los recubrimientos nano estructurados en base a quitosano, incorporando también aceites esenciales y extractos vegetales. Mostraron eficacia en la inhibición de microorganismos en frutas o vegetales tratados. Sin afectar la maduración de los mismos.

El área de materiales sintetizó las cobaltitas a temperaturas de 900 °C que cristalizan con una estructura hexagonal y presentan una microestructura en capas, las propiedades eléctricas se atribuyen al cambio de microestructura y la aparición de otra fase, y que se inicia la degradación del Na<sub>x</sub>CoO<sub>2</sub>; la densidad de portadores de carga indican que el material obtenido es un termoelectrico tipo p.

Las propiedades de barrera de películas de OPA depositadas sobre la aleación Ti<sub>6</sub>Al<sub>4</sub>V empleando la técnica de dip-coating, incrementan de manera importante la resistencia a la transferencia de carga, y disminuyen la velocidad de corrosión de la aleación Ti<sub>6</sub>Al<sub>4</sub>V. Finalmente, un transistor de efecto de campo selectivo a iones de compuerta extendida (acrónimo en inglés, EG-ISFET) puede utilizarse como un detector potenciométrico de iones hidrógeno (H<sup>+</sup>) si dichos iones se encuentran lo suficientemente cerca de la superficie sensora.

Los avances en nanotecnología desarrollado por el IPN, están innovando en todos los campos del conocimiento y áreas de interés de la red de nanociencias, micro y nanotecnología, para implementar a futuro en resolver problemas que requiere la sociedad.





La ciencia de los materiales a escala nanométrica, está desarrollando materiales en las diversas áreas del conocimiento. Es necesario ahora más que nunca buscar en los desarrollos de la nanotecnología la articulación de forma multidisciplinaria el combate a un enemigo viral, COVID-19, que está provocando muchas muertes e infecciones con efectos secundarios en la humanidad, además paralizando las economías y el comportamiento de las sociedades.

La prioridad en nanotecnología en la actualidad debe ser la salud, a través de la aplicación de nanotransportadores de antivirales como los liposomas que transportan el ARNm, con ellos se está pudiendo reducir la pandemia en la mayoría de los países. Se puede realizar pruebas con otros nanotransportadores poliméricos que tienen menor tamaño y que no requieren cadenas de frío tan bajas ( $-70^{\circ}\text{C}$ ), sino transportarlas a temperaturas de  $4^{\circ}\text{C}$ .

Otras estrategias que se deben desarrollar es evitar los contagios a través de cubrebocas antivirales que contienen nanopartículas metálicas muy potentes para desactivar los virus por su tamaño e interacción química que desnaturaliza al virus.

Los otros desarrollos en la nanotecnología en las otras áreas de la ciencia no deben de parar, porque los requerimientos en energía, comunicaciones, alimentos y medio ambiente siguen vigentes en cuanto a las necesidades de mejora y desarrollo de nuevos materiales nanométricos que superan grandemente en sus propiedades físicas, químicas y biológicas a sus formas naturales en bulto.

RED DE NANOCIENCIA  
MICRO NANOTECNOLOGÍA DEL  
INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL

 OmniaScience  
Monographs

ISBN 978-84-123480-1-9



9 788412 348019 >