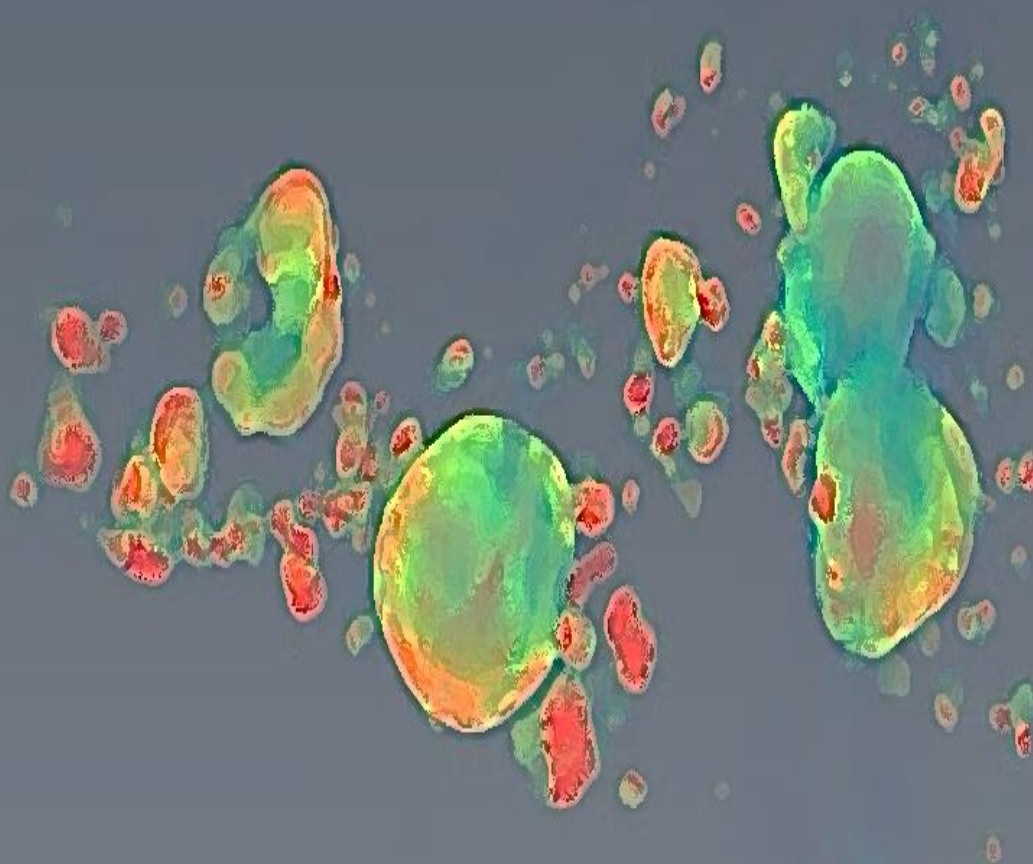


Síntesis y caracterización de nanopartículas metalopoliméricas sensibles a pH y temperatura.

Aplicación a la mejora de la respuesta catalítica de nanopartículas metálicas



TESIS DOCTORAL

MANUEL DOÑA FLORES

JULIO 2020



UNIVERSIDAD DE MÁLAGA
FACULTAD DE CIENCIAS
DEPARTAMENTO DE QUÍMICA ORGÁNICA





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

AUTOR: Manuel Doña Flores

 <http://orcid.org/0000-0003-4598-2602>

EDITA: Publicaciones y Divulgación Científica. Universidad de Málaga



Esta obra está bajo una licencia de Creative Commons Reconocimiento-NoComercial-SinObraDerivada 4.0 Internacional:

<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/legalcode>

Cualquier parte de esta obra se puede reproducir sin autorización
pero con el reconocimiento y atribución de los autores.

No se puede hacer uso comercial de la obra y no se puede alterar, transformar o hacer obras derivadas.

Esta Tesis Doctoral está depositada en el Repositorio Institucional de la Universidad de Málaga (RIUMA): riuma.uma.es





Universidad de Málaga
Facultad de Ciencias
Departamento de Química Orgánica

***Síntesis y caracterización de nanopartículas
metalopoliméricas sensibles a pH y
temperatura. Aplicación a la mejora de la
respuesta catalítica de nanopartículas
metálicas***

TESIS DOCTORAL

Manuel Doña Flores

Málaga, Julio de 2020



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



Universidad de Málaga
Facultad de Ciencias
Departamento de Química Orgánica

***Síntesis y caracterización de nanopartículas
metalopoliméricas sensibles a pH y
temperatura. Aplicación a la mejora de la
respuesta catalítica de nanopartículas
metálicas***

Memoria que presenta **Manuel Doña Flores** para optar al grado
de Doctor

Málaga, Julio de 2020

DIRECTORES DE LA TESIS

D. Juan Manuel López Romero

Catedrático Dpto. Química Orgánica
Universidad de Málaga

D. Rafael Conteras Cáceres

Contratado Doctor Dpto. Química
Universidad de Complutense de
Madrid



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR

D. MANUEL DOÑA FLORES,

Estudiante del programa de doctorado en QUÍMICA Y TECNOLOGÍAS QUÍMICAS. MATERIALES Y NANOTECNOLOGÍA de la Universidad de Málaga, autor de la tesis, presentada para la obtención del título de doctor por la Universidad de Málaga, titulada: SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS METALOPOLIMÉRICAS SENSIBLES A pH Y TEMPERATURA. APLICACIÓN A LA MEJORA DE LA RESPUESTA CATALÍTICA DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS.

Realizada bajo la tutorización de Dr. JUAN MANUEL LÓPEZ ROMERO y dirección de Dr. RAFAEL CONTRERAS CÁCERES Y Dr. JUAN MANUEL LÓPEZ ROMERO.

DECLARO QUE:

La tesis presentada es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, conforme al ordenamiento jurídico vigente (Real Decreto Legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo.

Igualmente asumo, ante a la Universidad de Málaga y ante cualquier otra instancia, la responsabilidad que pudiera derivarse en caso de plagio de contenidos en la tesis presentada, conforme al ordenamiento jurídico vigente.

En Málaga, a 1 de JUNIO de 2020

Fdo.: MANUEL DOÑA FLORES





UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

A Pablo
A Blanca



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Índice

Agradecimientos	5
Resumen	7
Abreviaturas y acrónimos.....	9
1. Introducción	11
1.1. Nanopartículas metálicas.....	17
1.1.1. Propiedades plasmónicas	17
1.1.2. Síntesis y funcionalización de nanopartículas metálicas.....	23
1.1.3. Aplicaciones de nanopartículas de oro y de plata.....	40
1.2. Microgeles	43
1.2.1. Síntesis de microgeles.....	51
1.2.2. Microgeles huecos.....	53
1.2.3. Aplicaciones de microgeles	54
1.3. Sistemas híbridos metalopoliméricos	57
1.4. Técnicas instrumentales de caracterización de nanopartículas	60
2. Objetivos.....	63
3. Parte Experimental.....	69
3.1. Reactivos	73
3.2. Preparación de nanopartículas metálicas	74
3.2.1. Síntesis de nanopartículas de oro	74
3.2.2. Obtención de núcleos bimetálicos Au@Ag	75
3.2.3. Funcionalización de la superficie de las nanopartículas metálicas	76

3.3.	Síntesis de sistemas híbridos metalopoliméricos	78
3.3.1.	Obtención de Au@pNIPAM	78
3.3.2.	Obtención de Au@pNIPAM-Alilamina	79
3.3.3.	Sistemas híbridos Au@Ag@pNIPAM-Alilamina	80
3.3.4.	Síntesis de nanopartículas de Au@Ag@pNIPAM@AgST	82
3.3.5.	Síntesis de nanopartículas de pNIPAM@AgST	83
3.4.	Síntesis de microgeles puros con respuesta a pH o temperatura	85
3.4.1.	Microgeles pH sensibles de p4VP	85
3.4.2.	Microgeles termosensibles de pNIPAM	85
3.4.3.	Microgeles pH sensibles de p4VP huecos. Sistemas Janus	86
3.4.4.	Microgeles termosensibles de pNIPAM huecos	88
3.5.	Reacciones de reducción empleando sistemas híbridos metalopoliméricos como catalizador.....	89
3.6.	Instrumentación.....	90
3.7.	Tratamiento informático de los resultados.....	92

Capítulo 1. Estudio cinético de la oxidación del núcleo de oro en sistemas Au@pNIPAM y Au@p4VP..... 93

C.1.1.	Antecedentes	97
C.1.2.	Resultados y discusión	110
C.1.2.1.	Preparación y caracterización morfológica de los sistemas híbridos Au@pNIPAM y pNIPAM huecos.....	110
C.1.2.2.	Cinética de la difusión de los reactivos y oxidación del núcleo en sistemas Au@pNIPAM	118
C.1.2.3.	Caracterización y morfología de los sistemas híbridos pH-sensibles Au@p4VP y p4VP huecos	128
C.1.2.4.	Cinética de la difusión de los reactivos y oxidación del núcleo en sistemas Au@p4VP	133

Capítulo 2. Control de la posición del núcleo en nanopartículas híbridas pH-sensibles de Au@p4VP y en microgeles de p4VP huecos.....	139
C.2.1 Antecedentes.....	143
C.2.2. Resultados y discusión	146
C.2.2.1. Influencia del pH	146
C.2.2.2. Influencia del estabilizante y del entrecruzante	146
C.2.2.3. Influencia del iniciador de polimerización	148
C.2.2.4. Influencia del disolvente	149
C.2.2.5. Influencia del tamaño de la nanopartícula de Au(0)	151
C.2.2.6. Influencia de la funcionalización de la nanopartícula de Au(0)	151
C.2.2.7. Influencia de la presencia de un comonomero en la polimerización	153
C.2.2.8. Oxidación del núcleo de Au(0) en el sistema Au@p4VP-co-MMA	155
 Capítulo 3. Síntesis y caracterización de nanopartículas híbridas termosensibles con propiedades catalíticas	 157
C.3.1. Antecedentes.....	161
C.3.2. Resultados y Discusión	176
C.3.2.1. Preparación y morfología de las nanopartículas híbridas	176
C.3.2.2. Análisis de la termosensibilidad en microgeles híbridos	185
C.3.2.3. Propiedades espectroscópicas (UV-vis y FTIR) de los microgeles híbridos	187
C.3.2.4. Análisis de concentración y área superficial de metal	192
C.3.2.5. Efecto catalítico en función de la temperatura	199
 4. Conclusiones	 213



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Agradecimientos

Me gustaría agradecer a mis directores de Tesis, el Prof. Juan Manuel López Romero y el Dr. Rafael Contreras Cáceres, por brindarme la oportunidad de trabajar en su grupo de investigación. Y por supuesto, por su dedicación y esfuerzo a lo largo de estos años, ya que han contribuido de manera directa y son responsables de gran parte de los buenos resultados que aparecen en esta Tesis. También les agradezco, su paciencia, su apoyo y el ánimo recibido durante todo este tiempo de intenso trabajo.

Agradezco también a todos mis profesores durante los estudios, en especial a los del Departamento de Química Orgánica, a la Dra. María Valpuesta, al Dr. Francisco Sarabia, al Dr. Ezequiel Pérez de Inestrosa, al Dr. Gregorio Torres, al Dr. Francisco Nájera, al Dr. Rafael García, a la Dra. Amelia Díaz y a la Dra. María Soledad Pino, entre otros, por sus valiosas enseñanzas, que tanto me han servido. Y a los demás profesores y compañeros del Departamento de Química Orgánica, en el cual me he sentido un miembro más, pasando momentos inolvidables fuera y dentro del laboratorio. Y en especial al Dr. Miguel García Castro, al Dr. Iván Cheng, a la Dra. Ana Lucena y a mis compañeros doctorandos Cristina Porras, Carlos Alarcón y Alicia Ortega, por su acogida y su amistad, ya que nunca podré olvidar los felices y buenos momentos compartidos.

De una manera particular, agradecer a la Dra. Cristina Lucena su inestimable ayuda con las técnicas de microscopía. Sin su colaboración no hubiera sido posible realizar esta Tesis en el plazo que nos habíamos marcado.

También quiero agradecer a mis compañeros del IES Cánovas del Castillo, por su ánimo y apoyo durante estos tres cursos en los que han tenido que soportarme en muchas ocasiones, cansado y de mal humor. En especial a mis compañeros del Departamento de Física y Química, los profesores Pedro Ramírez y Mauri Ruiz por las risas y los buenos momentos disfrutados en los ratos libres de los que disponemos. Y a mi compañera de fatiga durante el año de prácticas, que es también miembro del grupo de investigación, la Dra. Ana Isabel Moscoso, por su ánimo para

embarcarme en este proyecto y la ayuda que me ha brindado durante este periodo.

Finalmente, el más importante de todos los agradecimientos, en el plano más personal y familiar, a Aurora, por su comprensión, respeto, aliento y el esfuerzo realizado durante estos años a la hora de afrontar tantos días lejos de ella. Y a mis padres, por su apoyo incondicional en cada una de las decisiones que he tenido que tomar durante estos últimos años, y su inestimable ayuda en el cuidado de sus nietos. Sin ellos tampoco hubiera sido posible la realización de esta Tesis.

Resumen

En la actualidad, las dispersiones coloidales de nanopartículas poliméricas constituyen una excelente herramienta para la encapsulación de moléculas de gran interés, como medicamentos, pesticidas, especies contaminantes, proteínas o ácidos nucleicos. Entre estas partículas, se define como micro- o nanogel a la partícula polimérica cuya red se encuentra entrecruzada.

Entre sus principales ventajas se encuentra su biocompatibilidad, la cual se debe, a su vez, a la naturaleza química de los polímeros que las forman. Por ello, pueden actuar como vehículos o contenedores para la acumulación, transporte y liberación controlada de activos en sistemas biológicos. Además, y de manera específica, estas estructuras poliméricas pueden presentar sensibilidad y respuesta a estímulos externos, como cambios de temperatura, pH, fuerza iónica del medio, naturaleza del disolvente, etc. Al mismo tiempo, los microgeles son modulables en composición, en particular, en lo referente a concentración de monómeros y grado de entrecruzamiento, pudiéndose controlar la morfología y tamaño de estas nanopartículas (consiguiendo microgeles macizos, huecos o tipo Janus). También, cabe destacar que, pueden ser funcionalizados en la superficie, de forma que puedan reconocer dianas biológicas, variar su capacidad de encapsulación, e incluso, la velocidad de difusión de los compuestos encapsulados.

Los microgeles han sido empleados también para la estabilización de nanopartículas metálicas (Au, Ag, Cu, etc.), ya sea mediante la encapsulación de éstas o por fijación química sobre la superficie del microgel. Esta capacidad abre la puerta a la síntesis de nuevos nanomateriales denominados materiales híbridos.

Además, estos sistemas híbridos pueden ser utilizados como catalizadores sintonizables, debido a que combinan la capacidad de atrapamiento y de respuesta a estímulos externos del microgel, con la capacidad catalítica de las nanopartículas metálicas incluidas.

En resumen, el trabajo de investigación llevado a cabo en esta Tesis Doctoral consta de dos partes:

1. Se ha realizado el estudio cinético de la reacción de oxidación del núcleo de Au(0) en nanopartículas híbridas que poseen un recubrimiento polimérico sensible al pH (4-vinilpiridina, 4VP) y a la temperatura (N-isopropilacrilamida, NIPAM). A partir de estos sistemas núcleo@corteza se ha llevado a cabo la fabricación de microgeles huecos de pNIPAM y de p4VP. También se han obtenido nanopartículas Janus y se han definido los parámetros experimentales para el control de la posición del núcleo metálico en el sistema híbrido. Este contenido se desarrolla en los capítulos 1 y 2 de la Tesis.

2. Se ha llevado a cabo la síntesis, caracterización y el estudio catalítico de un nuevo tipo de sistema híbrido con estructura núcleo@corteza@satélites. La morfología de estos sistemas consiste en un núcleo esférico bimetalico de Au@Ag encapsulado por una corteza polimérica sensible a la temperatura (pNIPAM), y con nanopartículas de Ag(0) incrustadas en dicha corteza a modo de satélites (Au@Ag@pNIPAM@AgST). En este estudio, se ha tomado como modelo la cinética de reducción del grupo nitro, en la reacción de 4-nitrofenol a 4-aminofenol, y los resultados para este nuevo sistema muestran un rendimiento catalítico superior a otros sistemas híbridos publicados. Este hecho se puede explicar en base al efecto sinérgico del núcleo bimetalico Au@Ag y los satélites (AgST). Por ello, estos nuevos microgeles híbridos podrían ser buenos candidatos para ser empleados en otras reacciones de catálisis heterogénea que se puedan llevar a cabo en el tratamiento de aguas o medios orgánicos. Este contenido se incluye en el Capítulo 3 de la Tesis.

Palabras clave: microgeles pNIPAM, microgeles p4VP, nanopartículas bimetalicas Au@Ag, nanopartículas híbridas, estructura núcleo@corteza, estructura núcleo@corteza@satélites, oxidación del núcleo de Au(0), nanopartículas huecas, nanopartículas Janus, catálisis heterogénea, satélites de plata.

Abreviaturas y acrónimos

@	recubierto o recubrimiento
3BA	ácido 3-butenico
4-Amp	4-aminofenol
4-Nip	4-nitrofenol
4VP	4-vinilpiridina
AA	Ácido ascórbico
AgNO₃	Nitrato de plata
AgNPs	nanopartículas de plata
AgST	nanopartículas de plata incrustadas a modo de satélites
Au15	nanopartículas de oro de 15 nm de diámetro
Au50	nanopartículas de oro de 50 nm de diámetro
AuNPs	nanopartículas de oro
Au@Ag	sistema de oro recubierto de plata
Au@Ag@pNIPAM	sistema de oro recubierto de plata y recubierto de pNIPAM
Au@Ag@pNIPAM@AgST	sistema de oro recubierto de plata y recubierto de pNIPAM y con satélites de plata
Au@3BA	nanopartículas de Au funcionalizadas con ácido 3-butenico
Au@Ag@3BA	nanopartículas de oro recubiertas de plata y funcionalizadas con ácido 3-butenico
Au@pNIPAM	sistema de oro recubierto de pNIPAM
Au@p4VP	sistema de oro recubierto de p4VP
BA	N,N'-metilenbisacrilamida
BDAC	cloruro de bencilhexadecildimetilamonio
co	copolímero
col.	colaboradores
CTAB	bromuro de hexadeciltrimetilamonio
CTAC	cloruro de hexadeciltrimetilamonio
Dis.	dispersión coloidal
Dox	doxorrubicina
DVB	p-divinilbenceno

EDX	espectroscopía de energía de rayos X dispersivos
FTIR	espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier
KPS	persulfato de potasio
LCST	temperatura de transición crítica más baja
LSPR	resonancia del plasmón superficial localizado
MeNP	nanopartículas metálicas
MMA	metacrilato de metilo
NP o NPs	nanopartícula o nanopartículas
pNIPAM	<i>poli-N-isopropilacrilamida</i>
pNN	<i>poli-N-propilacrilamida</i>
PS	<i>poli-estireno</i>
p4VP	<i>poli-4-vinilpiridina</i>
SERS	espectroscopía Raman intensificada en superficie
TEM	microscopía de transmisión electrónica
TGA	análisis termogravimétrico
UV-Vis	espectrofotometría de ultravioleta visible
V50	dihidrocloruro de 2,2'-azobis (2-metilpropionamida)

1. Introducción



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

1. Introducción

1.1.	Nanopartículas metálicas.....	17
1.1.1.	Propiedades plasmónicas	17
1.1.2.	Síntesis y funcionalización de nanopartículas metálicas.....	23
1.1.3.	Aplicaciones de nanopartículas de oro y de plata.....	40
1.2.	Microgeles	43
1.2.1.	Síntesis de microgeles.....	51
1.2.2.	Microgeles huecos.....	53
1.2.3.	Aplicaciones de microgeles	54
1.3.	Sistemas híbridos metalopoliméricos	57
1.4.	Técnicas instrumentales de caracterización de nanopartículas	60



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

La Nanotecnología se define como la ciencia, ingeniería y tecnología relacionadas con el entendimiento, control y uso de los materiales de dimensiones comprendidas entre 1-100 nm. A esta escala la materia presenta características únicas que no son exhibidas por sistemas macroscópicos y, por lo tanto, permite el desarrollo de nuevas aplicaciones.¹

Uno de los aspectos más importantes de la nanotecnología es que se trata de una tecnología de tipo "bottom-up" (de abajo a arriba). Esta metodología se aproxima al método utilizado por la naturaleza para crear materiales.

Otra de las características importantes de las partículas que se encuentran dentro de este rango de tamaños, es su enorme relación superficie/volumen. Esta relación indica que la cantidad de átomos externos, que están presentes en la superficie de la partícula y que son accesibles para reaccionar con el entorno (otros átomos, moléculas...) es muy alto. Esta relación aumenta enormemente a medida que decrece el tamaño de las partículas, tal como se muestra en la siguiente tabla.

Tabla 1.1. Cálculo de la relación superficie/volumen de nanopartículas esféricas.

Diámetro nanopartícula (nm)	Área superficial (nm²)	Volumen (nm³)	Relación Área superficial/Volumen (nm⁻¹)
10	314	523	0.6
100	31400	523600	0.06
1000 (1 μm)	3141600	523600000	0.006

Dicho de otra manera, para una misma cantidad de masa o volumen de material, el aprovechamiento del área superficial de ese material a escala nanométrica es mayor que cuando se trabaja con ese material a mayor escala.

¹ Shapira, P., Youtie, J., Porter, A. L. (2010). The emergence of social science research on nanotechnology. *Scientometrics*, 85(2), 595–611.

Entre los diferentes materiales que más se han estudiado a escala nanométrico están los metales, sobre todo oro, plata, platino y cobre, los polímeros, los compuestos de carbono, como nanotubos o grafeno, y otros sistemas compuestos.

En esta Tesis Doctoral se ha trabajado con nanopartículas metálicas de oro y de plata, nanopartículas poliméricas y sistemas híbridos formados por combinación de nanopartículas metálicas y poliméricas. Por lo tanto, en las siguientes páginas de esta Introducción, se comentan los aspectos más relevantes acerca de propiedades fisicoquímicas, síntesis y aplicabilidad de estos materiales, con el objetivo de fundamentar y contextualizar el trabajo de investigación que se ha llevado a cabo.

1.1. Nanopartículas metálicas

Durante las últimas décadas, las nanopartículas compuestas por metales como el oro, la plata, el platino, el cobre, etc., han atraído gran interés en varias áreas de investigación debido a sus posibles aplicaciones en multitud de campos como catálisis, fotónica, electrónica, desarrollo de biosensores y en aplicaciones terapéuticas.

En el caso de las nanopartículas de oro, se han estudiado en profundidad durante el pasado siglo, y en los últimos años su síntesis se ha ido perfeccionando con el objetivo de producir diferentes morfologías y tamaños, y optimizarla para poder llevarla a cabo en múltiples disolventes con alto grado de reproducibilidad.

El interés por estas nanopartículas de oro es debido a sus propiedades plasmónicas, catalíticas y a su biocompatibilidad, existiendo, por ello, una gran cantidad de potenciales aplicaciones, y en particular, terapéuticas.

En el caso de las nanopartículas de plata, el otro tipo de nanopartículas metálicas que guarda relación con nuestra investigación, en los últimos años también se han investigado por tener unas propiedades similares a las de oro. A ellas se une que la plata presenta actividad antimicrobiana,² por lo que su uso se ha extendido como bactericida y fungicida en medicina, biotecnología, tratamiento de aguas y en otros productos de consumo.³

1.1.1. Propiedades plasmónicas

Cuando un campo electromagnético externo interactúa con la nube de electrones de una nanopartícula metálica de tamaño menor que la longitud de onda de la radiación incidente, se produce una

2 Chen, X., Schluesener, H. J. (2008). Nanosilver: a nanoproduct in medical application. *Toxicol. Lett.*, 176(1), 1–12.

3 Khaydarov, R. R., Khaydarov, R. A., Gapurova, O., Estrin, Y., Evgrafoba, F., Scheper, T., Sho, S. Y. Antimicrobial effects of silver nanoparticles synthesized by an electrochemical method. En *Nanostructured Materials for Advanced Technological Applications. NATO Science for Peace and Security Series B: Physics and Biophysics*. Springer, Dordrecht. 2009.

deslocalización de la nube de electrones libres presentes en la superficie de la nanopartícula metálica. Debido a este movimiento electrónico, se produce un aumento de la carga en un lado de la partícula y un defecto de carga en el otro lado, formándose un dipolo eléctrico en la nanopartícula.⁴ Este hecho se esquematiza en la Figura 1.1. Este fenómeno se denomina “plasmón” y cuando la frecuencia del plasmón entra en resonancia con la frecuencia de la radiación incidente se produce el fenómeno de “resonancia de plasmón superficial localizado,” en inglés *localized surface plasmon resonance (LSPR)*. El control del tamaño de las nanopartículas metálicas es muy importante, ya que define, entre otras, sus propiedades ópticas y magnéticas.

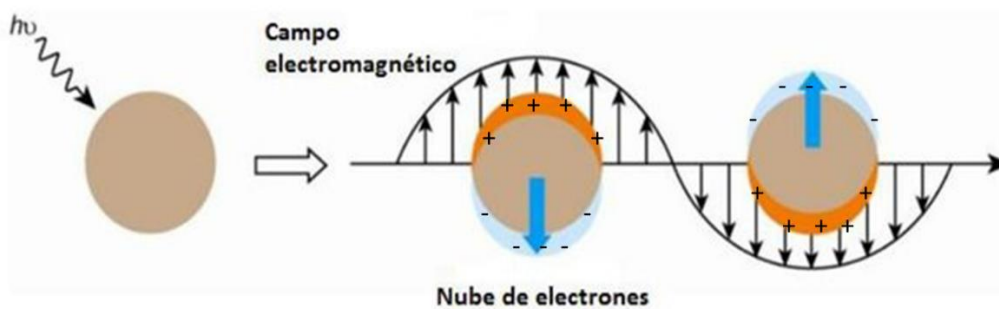


Figura 1.1. Deslocalización de los electrones en una nanopartícula metálica producido por la interacción de un campo electromagnético externo.

La primera de las teorías que proporciona una explicación teórica para la dispersión y la absorción de la luz por parte de nanopartículas metálicas es la Teoría de Mie.⁵ En ella se da solución a las ecuaciones de Maxwell para la interacción de la luz con nanopartículas metálicas esféricas y de tamaño menor al de la longitud de onda de la luz incidente, aunque no a otras morfologías, ya que sólo considera interacciones de tipo dipolar.

4 Kreibitz, U., Vollmer, M. *Optical properties of metal clusters*. Springer. Berlin. **1995**.

5 Horvath, H. (2009). Gustav Mie and the scattering and absorption of light by particles: historic developments and basics. *J. Quant. Spectrosc. Radiat. Transf.*, 110(11), 787–799.

Cuando el tamaño de la partícula aumenta, y se hace comparable al valor de la longitud de onda de la radiación incidente, o cuando la morfología de partícula es diferente a la esférica (nanocilindros, nanotriángulos, etc.), o incluso cuando las partículas metálicas se encuentran rodeadas por un recubrimiento de agente estabilizante, los plasmones que se producen están asociados a distribuciones de carga más complejas que la dipolar. En estos casos se forman cuadrupolos, octupolos, etc. Para su explicación teórica, la Teoría de Mie se ha visto ampliada o modificada por distintos autores. Por ejemplo, la Teoría de Mie-Gans,⁶ es utilizada de forma frecuente para explicar el comportamiento óptico de nanopartículas metálicas con forma elíptica, como puede ser la de los nanocilindros metálicos.

Como conclusión teórica y experimental de esta interacción entre la onda electromagnética y las nanopartículas metálicas, se puede afirmar que la oscilación electrónica que se produce en las nanopartículas alcanza un máximo de intensidad a una determinada frecuencia. Ese valor máximo, que puede ser medido con un espectrofotómetro en el rango del espectro ultravioleta-visible,⁷ se debe a la resonancia del plasmón superficial localizado (LSPR). De igual forma, la Teoría de Mie establece que la posición de la banda del plasmón en el espectro, es decir, la longitud de onda a la que se observa el máximo de absorción, así como su intensidad y su anchura dependen del **tamaño** y la **forma** de la nanopartícula,⁸ del tipo de **material**,⁹ y del **índice de refracción** del medio que se encuentra alrededor de las mismas.

El valor del LSPR aporta información sobre las propiedades ópticas y electromagnéticas de las partículas metálicas. Es importante destacar, que la modificación del campo electromagnético de forma local cerca

6 Gans, R. (1992). Über die form ultramikroskopischer goldteilchen. *Ann. Phys.*, 37, 881–890.

7 Haiss, W., Thanh, N. T. K., Aveyard, J., Fernig, D. G. (2007). Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV–Vis Spectra. *Anal. Chem.*, 79(11), 4215–4221.

8 Ruiz-Muelle, A. B., Kuttner, C., Alarcón-Fernández, C., López-Romero, J. M., Uhlmann, P., Contreras-Cáceres, R., Fernández, I. (2019). Hybrid surfaces active in catalysis based on gold nanoparticles modified with redox-active pendants and polymer brushes. *Appl. Surf. Sci.*, 143598.

9 Huang, X., El-Sayed, M. A. (2010). Gold nanoparticles: optical properties and implementations in cancer diagnosis and photothermal therapy. *J. Adv. Res.*, 1(1), 13–28.

de la superficie de las nanopartículas se puede aprovechar en espectroscopia SERS (Surface-Enhanced Raman Scattering).

Centrándonos en las nanopartículas esféricas de oro, que son las más estudiadas y también son uno de los objetivos de análisis en nuestra investigación, en la Figura 1.2 (derecha) se observa como la posición del LSPR de nanopartículas de oro se centra alrededor de 520 nm, para partículas de 10 nm, y se desplaza a mayores longitudes de onda a medida que aumenta el tamaño de partícula. Como consecuencia de este hecho, y como se observa en la fotografía incluida en la Figura 1.2 (izquierda), la luz reflejada por las nanopartículas de oro, que es la complementaria a la absorción del plasmón, varía el color de la dispersión debido a que el plasmón superficial localizado se desplaza hacia longitudes de onda mayores a medida que aumenta el tamaño de las nanopartículas.

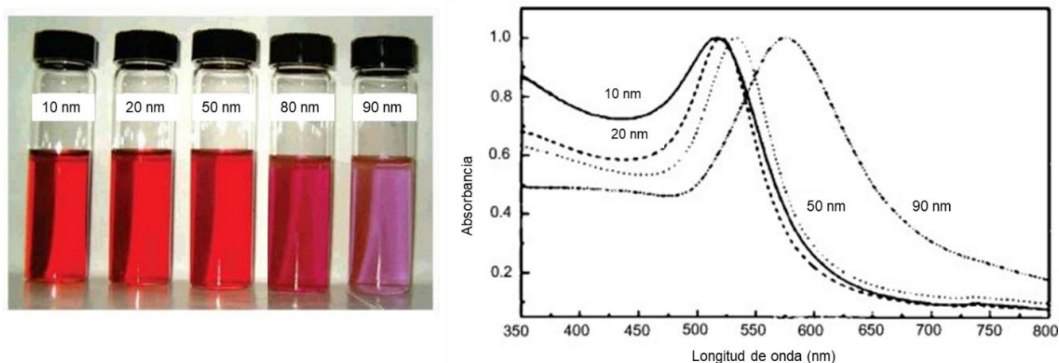


Figura 1.2. Muestras de dispersiones coloidales de nanopartículas de oro de distintos tamaños (izquierda) y representación de su espectro de absorción UV-VIS (derecha).

Como se ha comentado, la Teoría de Mie explica que la forma de una nanoestructura también determina las características del LSPR, es decir, la morfología de una nanopartícula influye en el aumento del campo electromagnético cercano a la superficie de la misma, ya que afecta a la deslocalización de la nube electrónica. Un ejemplo lo encontramos en geometrías que presentan puntas o vértices, como son los prismas triangulares, los cuales producen una mayor deslocalización de electrones, si se compara con el producido en superficies curvas (esferas).

Véase la Figura 1.3, donde se muestran imágenes de microscopía electrónica de nanoesferas y nanoprismas triangulares de oro de 50 nm aprox. (Figura 1.3.A y 1.3.B, respectivamente) y sus espectros de absorción ultravioleta-visible (UV-Vis, Figura 1.3.C y 1.3.D, respectivamente). Como se puede observar en los espectros, hay un desplazamiento plasmónico hacia mayores longitudes de onda para el caso de los triángulos, en comparación con el producido en el plasmón de oro para una dispersión de nanopartículas esféricas de igual concentración y tamaño (se desplaza de 554 a 580 nm).

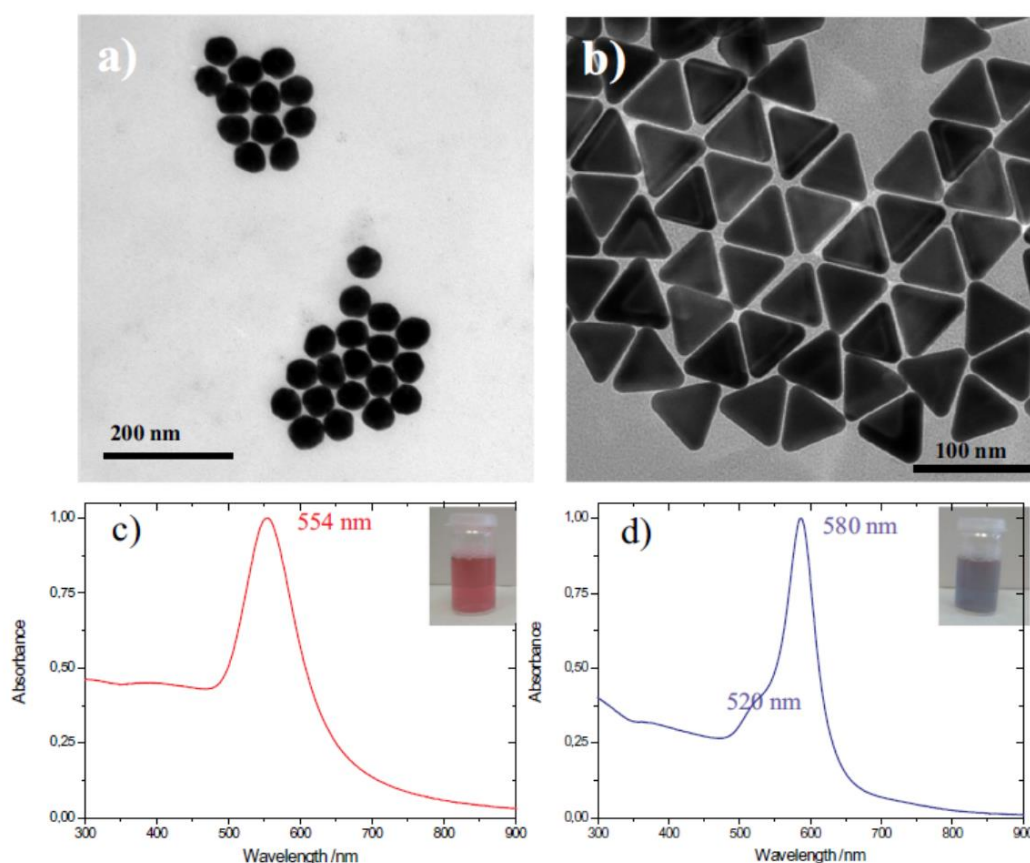


Figura 1.3. Imágenes TEM y espectros UV-Vis normalizado para nanopartículas de oro con forma de (a, c) nanoesferas y (b, d) nanoprismas triangulares.

El LSPR asociado a nanopartículas de plata presenta el máximo de absorbancia alrededor de 400 nm. Como era de esperar, su posición final depende del tamaño y de la forma de estas nanopartículas, pudiéndose observar bandas de absorción desplazadas hacia longitudes de onda

mayores, llegando incluso hasta los 700 nm, dependiendo de la geometría.¹⁰

Como se ha indicado anteriormente, la posición de la banda plasmónica también depende del índice de refracción del medio. Este depende del disolvente y el agente surfactante o estabilizante empleados durante la preparación de las nanopartículas metálicas. Como se ha indicado, este comportamiento también fue predicho en la Teoría de Mie. Una aplicación directa de esta dependencia es la medida de la constante dieléctrica local a partir de la medida de la posición de la banda de plasmón superficial. Como ejemplo, Pérez-Juste y col. estudiaron la relación entre el desplazamiento de la banda LSPR y el cambio en el índice de refracción para nanocilindros de oro.¹¹ Estos investigadores observaron que los nanocilindros de Au producen un cambio de color cuando se introducen en diferentes disolventes con índice de refracción distinto. También demostraron la relación lineal que existe entre la posición de la banda del plasmón (longitud de onda) de oro con el índice de refracción del medio.

Cabe destacar en este punto el comportamiento plasmónico de nanopartículas bimetálicas de tipo núcleo@corteza, que son nanopartículas de oro recubiertas de plata (Au@Ag), como las que integran los núcleos de los sistemas híbridos estudiados en esta Tesis Doctoral. En la Figura 1.4 se muestra el espectro de UV-Vis de una muestra de Au@Ag, donde se observa la absorbancia máxima del sistema. El espectro de absorción muestra una única banda a una longitud de onda intermedia entre las observadas para las nanopartículas de oro y plata puros.^{12,13} Como puede observarse en la figura, la intensidad observada para el plasmón de plata es mayor que en el caso del oro, por lo que la

-
- 10 Cruz, D. A., Rodríguez, M. C., López, J. M., Herrera, V. M., Orive, A. G., Creus, A. H. (2012). Metallic nanoparticles and surface plasmons: a deep relationship. *Av. Cienc. Ing.*, 3(2), 67–78.
 - 11 Pérez-Juste, J., Pastoriza-Santos, I., Liz-Marzan, L., Mulvaney, P. (2005). Gold nanorods: synthesis, characterization and applications. *Coord. Chem. Rev.*, 249(17–18), 1870–1901.
 - 12 Simon, J., Nampoori, V. P. N., Kailasnath, M. (2019). Facile synthesis of Au-Ag core shell and nanoalloy using femtosecond laser ablation and their optical characterization. *Optik*, 163168.
 - 13 Zhu, J. (2005). Theoretical study of the optical absorption properties of Au-Ag bimetallic nanospheres. *Physica E Low Dimens. Syst. Nanostruct.*, 27(1–2), 296–301.

intensidad de la banda de las nanopartículas bimetálicas disminuye a medida que aumenta la proporción de oro.

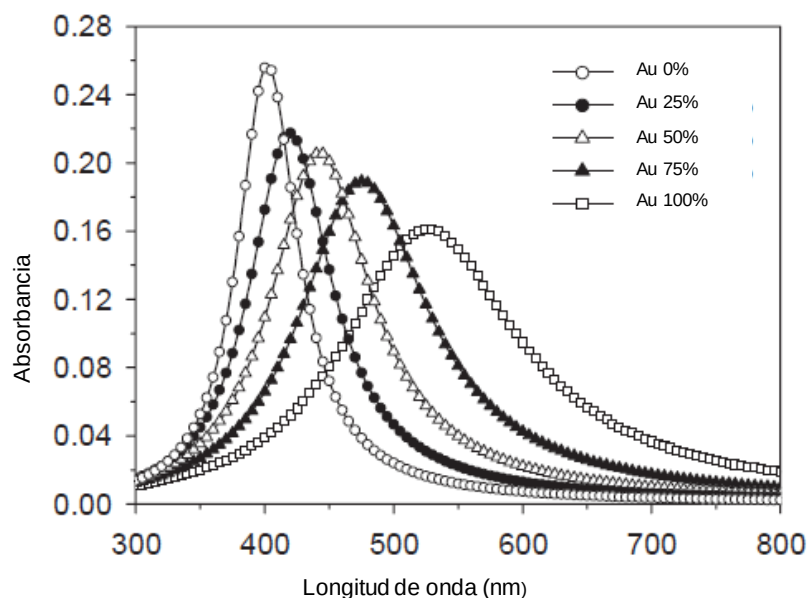


Figura 1.4. Espectros de absorción UV-Vis para nanopartículas bimetálicas del tipo Au(núcleo)@Ag(corteza) con diferente proporción de oro.

1.1.2. Síntesis y funcionalización de nanopartículas metálicas

Los métodos de síntesis de nanopartículas metálicas suelen agruparse en dos categorías. Por un lado, las síntesis denominadas “de arriba hacia abajo” (top-down), que consiste en la división de metales macroscópicos en porciones más pequeñas. Esta metodología involucra tanto métodos físicos, como la molienda, la ablación láser, la descomposición térmica, la volatilización del sólido seguido por la condensación de los componentes volátiles, etc., como también métodos químicos de disgregación de la materia.

Por otro lado, las síntesis denominadas “de abajo hacia arriba” (bottom-up), son más utilizadas, ya que si se compara con el método top-down, se consigue controlar mejor la distribución de tamaños de las nanopartículas fabricadas. Los métodos bottom-up son, en su mayoría, procedimientos químicos en los que se consigue la fabricación de nanopartículas por condensación de átomos o entidades moleculares.

Esta introducción se centra en esta última metodología, porque es la que seguimos en la síntesis de las nanopartículas de oro y de plata estudiadas en este trabajo de investigación.

- **Métodos de síntesis de nanopartículas de oro**

Las técnicas químicas más comunes y reproducibles para la síntesis de nanopartículas de oro se basan en la reducción química de una sal de oro a su forma metálica. De esta forma se genera en el medio una dispersión de núcleos de Au(0).

Para controlar el crecimiento inicial de estos primeros núcleos de Au(0), denominados "semillas", y para prevenir la agregación de las nanopartículas finales, se utilizan agentes estabilizantes. Estos pueden ser polímeros, tensioactivos, etc., que una vez unidos a las nanopartículas hacen que se formen coloides dispersos y estables.¹⁴

Uno de los métodos más utilizados para la preparación de nanopartículas de oro es el de Turkevich.¹⁵ En él se reduce y estabiliza hidrocloreuro de oro (III) con citrato de sodio en medio acuoso. Esta técnica permite obtener nanopartículas esféricas de 20 a 200 nm de diámetro, monodispersas, con un rango de tamaño controlado y con gran reproducibilidad.^{16,17}

El tamaño de las nanopartículas obtenidas está determinado por la concentración de citrato de sodio y la concentración de sal de oro. Mientras que a altas concentraciones de citrato se generan muchos puntos de nucleación y el tamaño de nanopartícula final es más pequeño, cuando la concentración de citrato es baja, se generan menos puntos de nucleación y conlleva un crecimiento mayor de estas.¹⁸

-
- 14 Fuente, J. M., Gazu, V. *Nanobiotechnology: inorganic nanoparticles vs organic nanoparticles*. Elsevier. Zaragoza. **2012**.
 - 15 Turkevich, J., Stevenson, P. C., Hillier, J. **(1951)**. A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Disc. Farad. Soc.*, 11, 55–65.
 - 16 Schmid, G. **(1992)**. Large clusters and colloids-metals in the embryonic state. *Chem. Rev.* 92, 1709–1727.
 - 17 Grabar, K. C., Freeman, R. G., Hommer, M. B., Natan, M. J. **(1995)**. Preparation and characterization of Au colloid monolayers. *Anal. Chem.*, 67(4), 735–743.
 - 18 Frens, G. **(1973)**. Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. *Nat. Phys. Sci.*, 241(105), 20–22.

El proceso global se esquematiza en la Figura 1.5.

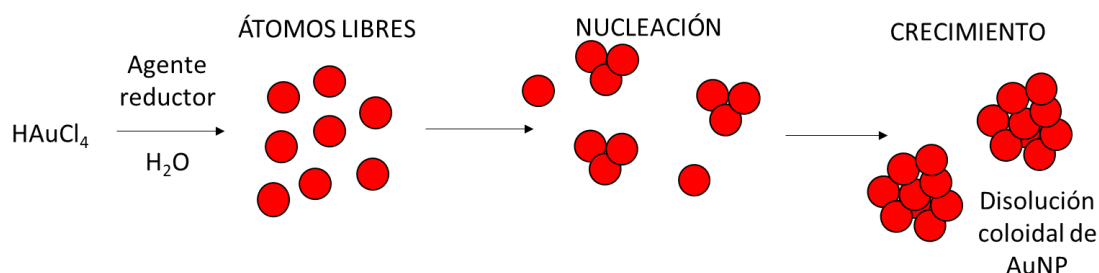


Figura 1.5. Esquema representativo del mecanismo de formación de nanopartículas de oro (AuNPs).

De igual forma, la velocidad de adición del agente reductor también influye en el tamaño y distribución de las nanopartículas de oro obtenidas. Cuanto más rápida es la adición, más pequeñas y monodispersas se obtienen.¹⁹

Una vez sintetizados los primeros núcleos de oro esféricos estabilizados por citrato, estos tienen de forma habitual entre 12 y 18 nm de diámetro. Para aumentar el tamaño de partícula, se lleva a cabo lo que se conoce como “*método de crecimiento mediado por semilla*,” en el que se puede utilizar una amplia gama de agentes reductores y estabilizantes. En estas síntesis existe el problema de que incluso en presencia de una única semilla, se produce una nucleación adicional en el medio de reacción, aumentando así la polidispersidad.

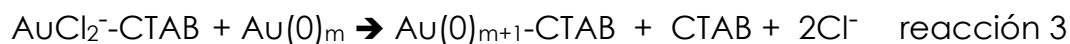
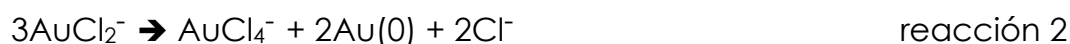
No obstante, Murphy y col. prepararon partículas esféricas en un amplio rango de tamaños muy uniformes, de 5-40 nm, evitando la nucleación adicional.²⁰ Los núcleos principales fueron semillas de oro de 3.5 nm preparadas por reducción de la sal de oro con borohidruro sódico en presencia de citrato como agente estabilizante. Las etapas de crecimiento se llevaron a cabo en agua en presencia de agentes tensioactivos. La nucleación secundaria durante la etapa de crecimiento

19 Brust, M., Walker, M., Bethell, D., Schiffrin, D. J. Whyman, R. (1994). Synthesis of thiol-derivatized gold nanoparticles in a 2-phase liquid-liquid system. *J. Chem. Soc., Chem. Commun.* 801–802.

20 Jana, N. R., Gearheart, L., Murphy, C. J. (2001). Evidence for seed-mediated nucleation in the chemical reduction of gold salts to gold nanoparticles. *Chem. Mater.* 13(7), 2313–2322.

se inhibió controlando las condiciones de crecimiento, y en particular, mediante el uso de ácido ascórbico como agente reductor. Este compuesto, debido a su carácter reductor débil y cuando se encuentra presente el agente tensioactivo, no produce la reducción directa de la sal de Au^{3+} a $\text{Au}(0)$, solo a Au^+ .

Por ejemplo, en presencia del tensioactivo bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB), el ácido ascórbico reduce Au^{3+} a Au^+ según la reacción 1 y, sin embargo, la reducción de Au^+ a Au^0 , según la reacción 2, no ocurre. En consecuencia, la reducción de Au^+ sólo puede proceder por transferencia de electrones desde la superficie de las semillas de oro ($\text{Au}(0)_m$) ricas en electrones, según la reacción 3. De esta forma se evita la nucleación adicional.



Para la obtención de nanopartículas de oro con formas distintas a la esférica se han descrito diferentes procedimientos. Por ejemplo, técnicas de síntesis electroquímica, como el depósito electroquímico de oro en el interior de los poros, a modo de plantillas, de policarbonato o alúmina, procedimientos de bioreducción, etc. No obstante, la metodología más común, al igual que para las nanopartículas esféricas, es también la síntesis mediada por semilla. En la Figura 1.6 se muestra algunas imágenes obtenidas por microscopía electrónica de nanopartículas de oro de diferentes geometrías, todas ellas descritas en bibliografía y preparadas siguiendo el método de síntesis mediada por semilla.

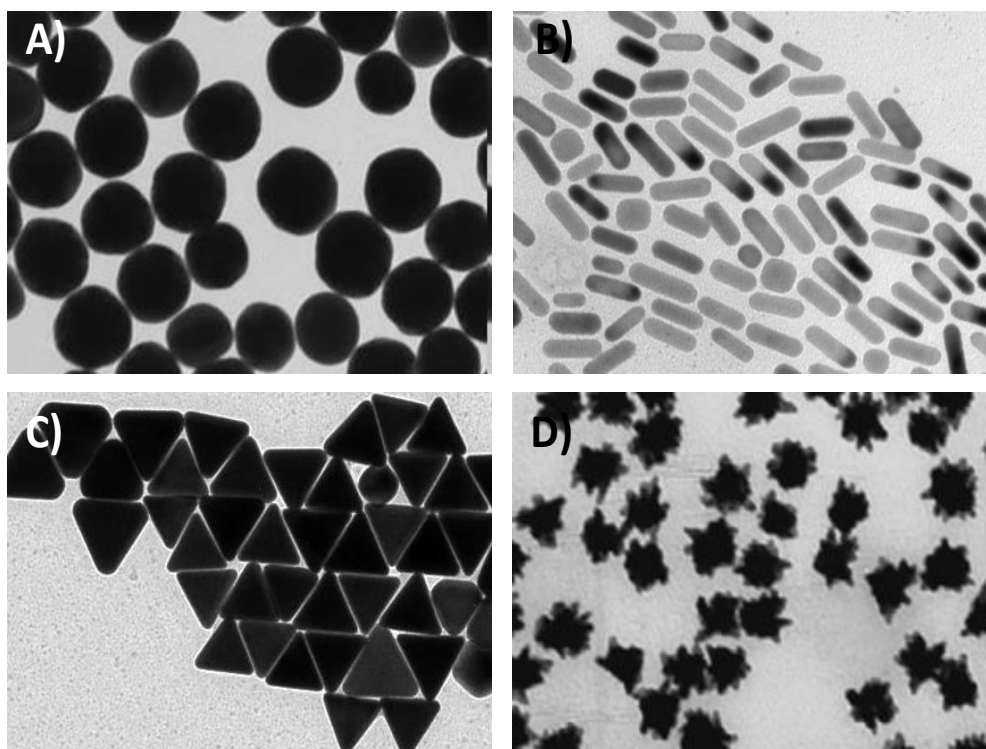


Figura 1.6. Imágenes TEM de nanopartículas de oro con distintas morfologías: A) nanoesferas, B) nanocilindros, C) nanoprismas triangulares y D) nanoestrellas.

Así, por ejemplo, la síntesis de una mezcla de nanoprismas triangulares y nanooctaedros de oro se ha llevado a cabo por miembros de nuestro grupo de investigación. Estas estructuras se obtienen tratando una mezcla de HAuCl_4 y BDAC (cloruro de bencildimetilamonio) con un agente reductor, ácido 3-butenico (3BA), a una temperatura controlada.²¹ La separación de las distintas morfologías se lleva a cabo por el método de “floculación inducida por micelas tensioactivas,” concentrando el crudo de reacción mediante centrifugación y dispersándolo posteriormente en un medio acuoso con una alta concentración de tensioactivo, en este caso CTAC (Figura 1.7).

21 Casado-Rodríguez, M. A., Sánchez-Molina, M., Lucena-Serrano, A., Lucena-Serrano, C., Rodríguez-González, B., Algarra, M., Contreras-Cáceres, R., López-Romero, J. M. (2016). Synthesis of vinyl-terminated Au nanoprisms and nanooctahedra mediated by 3-butenic acid: direct Au@pNIPAM fabrication with improved SERS capabilities. *Nanoscale*, 8(8), 4557–4564.

Como puede observarse en el esquema incluido en la Figura 1.7, en este método de separación, la sedimentación de las partículas se produce en varias fases, siendo los nanoprismas triangulares, debido a su morfología más plana, comparada con los octaedros, los que sedimentan en primer lugar. Esto se favorece optimizando la concentración de tensioactivo. Los nanoprismas se recogen en el fondo del vial y los nanooctaedros, cuya morfología es más esférica, se mantienen dispersos.

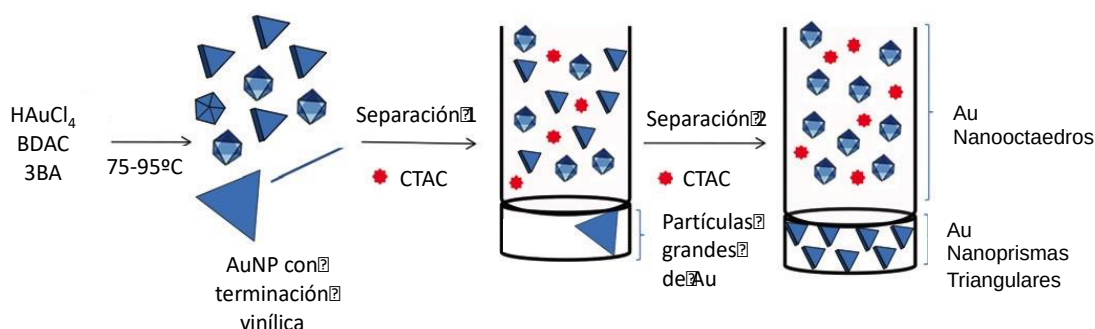


Figura 1.7. Esquema de la preparación de nanopartículas de oro con geometría de prisma triangular y octaédrica, y su separación por el método de floculación inducida por micelas.

• Métodos de síntesis de nanopartículas de plata

Durante los últimos años, se ha publicado varios métodos para la síntesis de nanopartículas de plata, los cuales son similares a los empleados para la obtención de nanopartículas de oro.

Cabe destacar en el caso de las nanopartículas de plata que, junto a los métodos físicos y químicos, se han desarrollado métodos de síntesis basados en el uso de microorganismos, a los que se denomina métodos biológicos o “química verde.” En estos, a partir de una sal de plata, y bajo las condiciones adecuadas, la propia bacteria es capaz de sintetizar las nanopartículas de plata.²²

22 Fayaz, A. M., Balaji, K., Girilal, M., Yadav, R., Kalaichelvan, P. T., Venketesan, R. (2010). Biogenic synthesis of silver nanoparticles and their synergistic effect with antibiotics: a study against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nanomedicine*, 6(1), 103–109.

Centrándonos en los métodos químicos, que son los que hemos llevado a cabo en este trabajo de investigación, casi todos los protocolos existentes en bibliografía se basan en la reducción de una sal de plata mediante diferentes agentes reductores y en presencia de estabilizantes y disolventes.²³

Como agentes reductores para la síntesis de nanopartículas de plata se han publicado numerosas opciones. Entre ellas se encuentran reductores fuertes como borohidruro de sodio²⁴ (NaBH_4) o hidrógeno elemental, reductores moderados como citrato de sodio o ácido ascórbico,²⁵ y reductores débiles como etilenglicol, glucosa o fructosa.^{26,27}

En general, los agentes reductores fuertes, conducen a la formación de nanopartículas de menor tamaño debido a que la velocidad de reacción en la etapa de nucleación es mayor.

Como puede apreciarse en las imágenes incluidas en la Figura 1.8, en estos métodos de síntesis, tanto la morfología como el tamaño de las nanopartículas de plata se puede controlar variando las condiciones experimentales.²⁸ En estas imágenes, obtenidas por microscopía electrónica, se observan morfologías muy diversas, desde esferas o cubos, hasta bipirámides trigonales o esferoides, e incluso fibras. Los tamaños observados para las partículas son del orden de 100 nm, siendo el de las fibras del orden de micras.

-
- 23 Haider, A., Kang, I.-K. (2015). Preparation of silver nanoparticles and their industrial and biomedical applications: a comprehensive review. *Adv. Mater. Sci. Eng.*, 1–16.
 - 24 Wang, W., Gu, B. (2004). Preparation and characterization of silver nanoparticles at high concentrations in concentrated dispersions. *ACS Symposium Series. Washington, DC.* 1–14.
 - 25 Velikov, K. P., Zegers, G. E., van Blaaderen, A. (2003). Synthesis and characterization of large colloidal silver particles. *Langmuir* 19(4), 1384–1389.
 - 26 Raveendran, P., Fu, J., Wallen, S. L. (2003). Completely “green” synthesis and stabilization of metal nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.*, 125(46), 13940–13941.
 - 27 Li, P., Li, S., Wang, Y., Zhang, Y., Han, G. (2017). Green synthesis of β -CD-functionalized monodispersed silver nanoparticles with enhanced catalytic activity. *Colloids Surf. A*, 520, 26–31.
 - 28 Rycenga, M., Cobley, C. M., Zeng, J., Li, W., Moran, C. H., Zhang, Q. (2011). Controlling the synthesis and assembly of silver nanostructures for plasmonic applications. *Chem. Rev.*, 111(6), 3669–3712.

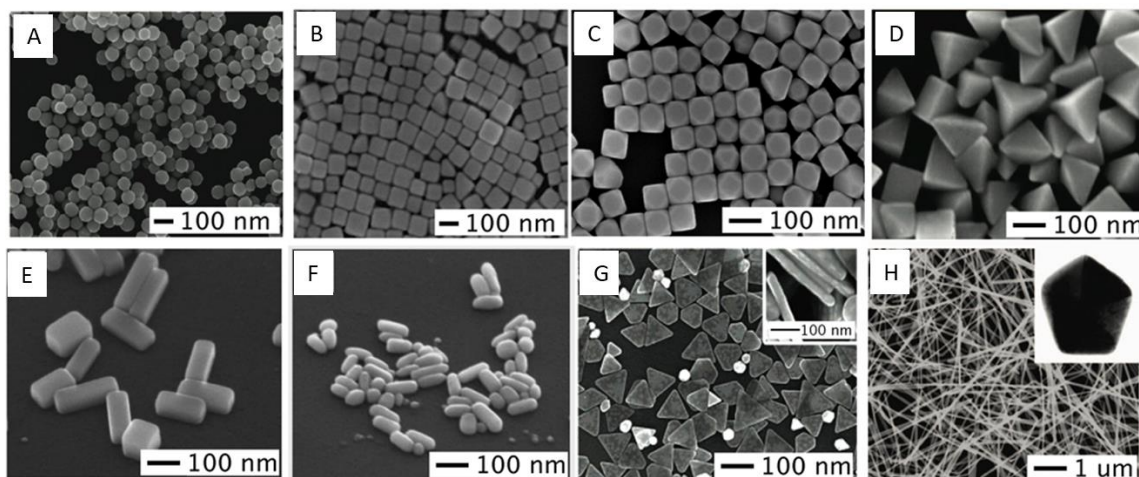
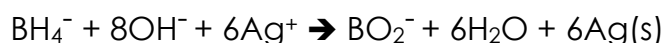


Figura 1.8. Imágenes TEM de nanopartículas de plata con diversas geometrías: A) esfera, B) cubo, C) cubo truncado, D) bipirámide trigonal, E) prisma, F) esferoide, G) triángulo, y H) fibra.

El método más común de preparación de nanopartículas de plata, que es el que se sigue en este trabajo de investigación para la formación de satélites de plata, es el desarrollado por Creighton y Lee. Se trata de un método análogo al de Turkevich para nanopartículas de oro, pero usando nitrato de plata como fuente metálica y borohidruro sódico o citrato sódico como agente reductor.^{29,30} La reacción que se produce se indica a continuación:



Siguiendo esta metodología es posible sintetizar nanopartículas de plata en concentraciones elevadas y generar suspensiones estables de morfología esférica de 10 nm de diámetro y con una buena homogeneidad.

-
- 29 Creighton, J. A., Blatchford, C. G., Albrecht, M. G. (1979). Plasma resonance enhancement of Raman scattering by pyridine adsorbed on silver or gold sol particles of size comparable to the excitation wavelength. *J. Chem. Soc., Faraday Trans. II*, 75, 790–800.
- 30 Lee, P. C., Meisel, D. (1982). Adsorption and surface-enhanced Raman of dyes on silver and gold sols. *J. Phys. Chem.*, 86(17), 3391–3395.

- **Síntesis de nanopartículas bimetálicas de tipo núcleo@corteza (Au@Ag)**

Las nanopartículas bimetálicas formadas por un núcleo de oro y un recubrimiento de plata, con estructura de tipo núcleo@corteza (Au@Ag), han sido estudiadas en menor medida que las formadas por metales puros. En particular, se han preparado para determinar cómo se ve afectado el LSPR por la estructura núcleo@corteza y compararlo con el plasmón de las correspondientes nanopartículas compuestas de metales puros.³¹ También se han sintetizado nanopartículas bimetálicas núcleo@corteza con el objetivo de estudiar sus propiedades catalíticas. Las partículas resultantes de oro y plata han mostrado una notable actividad catalítica sinérgica, que puede ajustarse de manera sistemática cambiando la composición o la morfología de estas nanopartículas.³²

En general, las nanopartículas bimetálicas también se preparan por reducción de los precursores metálicos y se lleva a cabo en dos pasos, el primero de generación del núcleo y el segundo de formación del recubrimiento. El procedimiento químico típico utiliza HAuCl_4 y un reductor como citrato sódico para preparar la semilla de oro, y AgNO_3 como aporte de plata, ambos en diversas fracciones molares. El proceso de reducción de Ag^+ a $\text{Ag}(0)$ se realiza por tratamiento con NaBH_4 en presencia de citrato sódico como estabilizante. De esta forma, se genera una corteza de plata sobre el núcleo de oro, realizándose todo ello en medio acuoso.³³

La estabilización de las nanopartículas puede realizarse mediante el uso de agentes tensioactivos, dendrímeros,³⁴ etc., como en el caso de las

-
- 31 Link, S., Wang, Z. L., El-Sayed, M. A. (1999). Alloy formation of gold-silver nanoparticles and the dependence of the plasmon absorption on their Composition. *J. Phys. Chem. B*, 103(18), 3529–3533.
 - 32 Zhang, Q., Xie, J., Lee, J. Y., Zhang, J., Boothroyd, C. (2008). Synthesis of Ag@Ag@Au metal core/alloy shell bimetallic nanoparticles with tunable shell compositions by a galvanic replacement Reaction. *Small*, 4(8), 1067–1071.
 - 33 Mallin, M. P., Murphy, C. J. (2002). Solution-phase synthesis of sub-10 nm Au-Ag alloy nanoparticles. *Nano Lett.*, 2(11), 1235–1237.
 - 34 Wilson, O. M., Scott, R. W. J., García-Martínez, J. C., Crooks, R. M. (2005). Synthesis, characterization and structure-selective extraction of 1-3 nm diameter Au-Ag dendrimer-encapsulated bimetallic nanoparticles. *J. Am. Chem. Soc.*, 127(3), 1015–1024.

correspondientes compuestas por metales puros, o por inmovilización sobre superficies de sílice, alúmina, o incluso sobre agentes porosos tipo zeolita, donde las nanopartículas se forman entre las oquedades del material.^{35,36}

En esta Tesis Doctoral, se usa un agente reductor suave, como es el ácido ascórbico. El método empleado consiste en una adición simultánea de reactivos (precursor de plata y agente reductor) con un flujo controlado y por separado, sobre una dispersión de nanopartículas de oro usada como semilla.

No obstante, otra metodología que proporciona buenos resultados en la formación de recubrimientos de plata sobre núcleos de oro, es el método del tampón de glicina, el cual ha sido aplicado al recubrimiento con plata de nanocilindros de oro.³⁷ Este método también ha sido probado en este trabajo con buenos resultados. En la Figura 1.9 (arriba) se muestra el esquema sintético seguido para la preparación de partículas bimetalicas consistentes en nanocilindros de oro recubiertos de una corteza de plata. En la Figura 1.9 (abajo) también se incluye una imagen obtenida por microscopía electrónica de la estructura obtenida. Del análisis dimensional de dicha imagen, se concluye que el recubrimiento de plata tiene 8 nm de espesor y se encuentra sobre un nanocilindro de oro de 10 nm de anchura. Asimismo, variando las concentraciones de sal de plata es posible controlar el espesor del recubrimiento de plata.

-
- 35 Liu, X., Wang, A., Yang, X., Zhang, T., Mou, C.-Y., Su, D.-S., Li, J. (2009). Synthesis of thermally stable and highly active bimetallic Au-Ag nanoparticles on inert supports. *Chem. Mater.*, 21(2), 410–441.
 - 36 Jiang, H.-L., Akita, T., Ishida, T., Haruta, M., Xu, Q. (2011). Synergistic catalysis of Au@Ag core-shell nanoparticles stabilized on metal-organic framework. *J. Am. Chem. Soc.*, 133(5), 1304–1306.
 - 37 Contreras-Cáceres, R., Dawson, C., Formanek, P., Fischer, D., Simon, F., Janke, A., Stamm, M. (2013). Polymers as templates for Au and Au@Ag bimetallic nanorods: UV-Vis and surface enhanced Raman spectroscopy. *Chem. Mater.*, 25(2), 158–169.

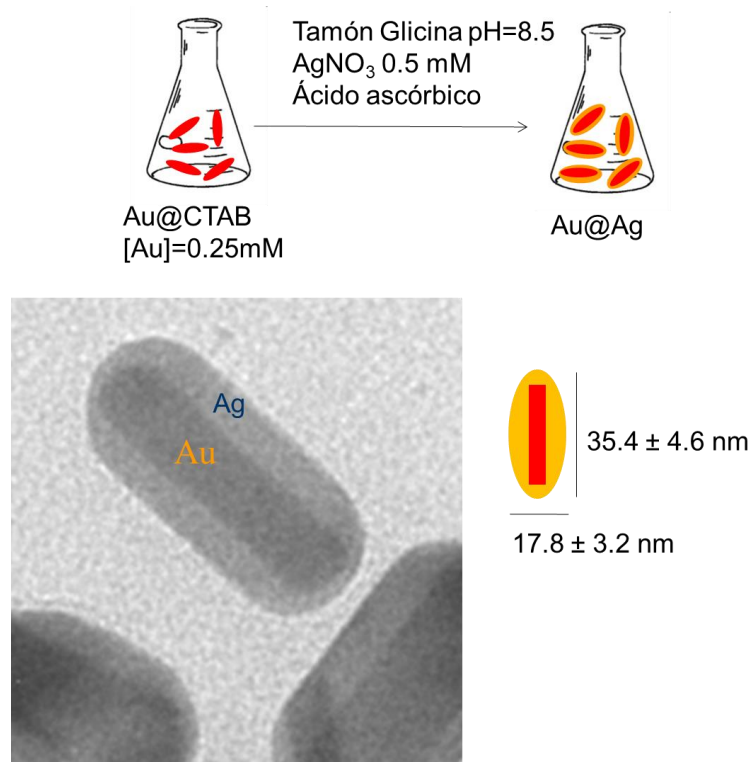


Figura 1.9. Esquema sintético seguido para la obtención de nanocilindros de oro recubierto de plata según el método del tampón de glicina (arriba) e imagen TEM representativa del sistema formado y sus dimensiones (abajo).

Por último, cabe indicar que en publicaciones recientes se ha descrito la preparación de nanopartículas bimetálicas por métodos biológicos o, como ya se ha mencionado, “química verde,” en los que se emplea un microorganismo que construye la nanopartícula bimetálica.³⁸

- **Estabilización de las nanopartículas metálicas**

Uno de los principales problemas de las nanopartículas metálicas es su inestabilidad. Esto se debe a que presentan un área superficial muy grande comparada con su masa, lo que las hace termodinámicamente inestables.

Aunque pueden permanecer estables en el medio de síntesis, cualquier cambio de concentración o fuerza iónica del medio puede provocar su

38 Shankar, S. S., Rai, A., Ahmad, A., Sastry, M. (2004). Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core-Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth. *J. Colloid Interf. Sci.*, 275(2), 496–502.

agregación. Por ello, es preciso el uso de agentes estabilizantes que las haga cinética y termodinámicamente más estables, siendo capaces de impedir la agregación de partículas mediante la generación de fuerzas de Van der Waals o electrostáticas, o mediante impedimento estérico.

Por ejemplo, se ha recurrido a la utilización de dendrímeros^{39,40,41,42,43} y copolímeros biocompatibles⁴⁴ para obtener nanopartículas de oro estéricamente estabilizadas en dispersión acuosa y, además, hacerlas biocompatibles. En el caso de empleo de copolímeros, el tamaño y morfología del sistema preparado se puede controlar por modificación de parámetros de síntesis, tales como la composición del copolímero y las concentraciones relativas del mismo y del cloruro de oro, utilizado como fuente de oro.

El uso de tensioactivos, y en particular, bromuro o cloruro de hexadeciltrimetil amonio (CTAB o CTAC, respectivamente), ha demostrado ser muy eficiente para la síntesis de nanopartículas de oro y de plata, con diferentes composiciones, tamaño y formas.⁴⁵ En la Figura 1.10, donde se muestra el esquema de la estructura de estos sistemas, se observa que la molécula de CTAB, que tiene una naturaleza anfifílica, estabiliza la nanopartícula de oro formando una micela alrededor de la misma. Las bicapas de CTAB se disponen en una estructura tipo cabeza polar-cola apolar alternadas, de manera que se contrarresta la repulsión electrostática y se favorecen las interacciones hidrofóbicas.

-
- 39 Esumi, K., Suzuli, A., Aihara, N., Usui, K., Torigoe, K. (1998). Preparation of gold colloids with UV irradiation using dendrimers as stabilizer. *Langmuir* 14(3), 3157–3159.
 - 40 Shi, X., Ganser, T. R., Sun, K., Balogh, L. P., Baker, J. R. (2006). Characterization of crystalline dendrimer-stabilized gold nanoparticles. *Nanotechnology*, 17, 1071–1078.
 - 41 Shi, X., Wang, S., Meshinchi, S., Van Antwerp, M. E., Bi, X., Lee, I., Baker, J. R. (2007) Dendrimer-entrapped gold nanoparticles as a platform for cancer-cell targeting and imaging. *Small*, 3, 1245–1252.
 - 42 Shi, X., Wang, S., Sun, H., Baker, J. R. (2007). Improved biocompatibility of surface functionalized dendrimer-entrapped gold nanoparticles. *Soft Matter.*, 3, 71–74.
 - 43 Shi, X., Lee, I., Baker, J. R. (2008). Acetylation of dendrimer-entrapped gold and silver nanoparticles. *J. Mater. Chem.*, 18, 586–593.
 - 44 Yuan, J. J., Schmid, A., Armes, S. P. (2006). Facile synthesis of highly biocompatible poly(2-(methacryloyloxy)ethyl phosphorylcholine)-coated gold nanoparticles in aqueous solutions. *Langmuir*, 22, 11022–11027.
 - 45 Henglein, A., Giersig, M. (1999). Formation of colloidal silver nanoparticles: capping action of citrate. *J. Phys. Chem. B*, 103(44), 9533–9539.

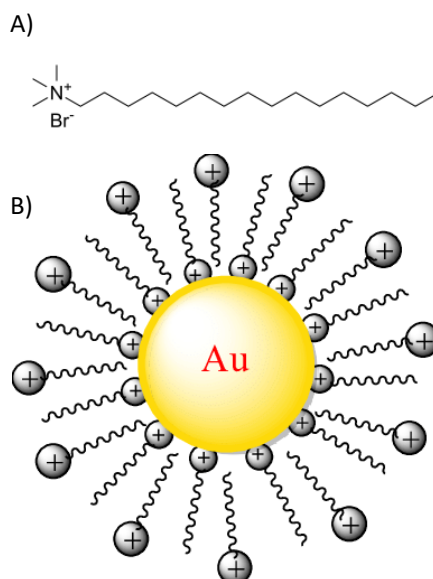


Figura 1.10. A) Fórmula de la molécula de CTAB y B) esquema de la estructura de una micela de Au@CTAB.

Murphy y col. explicaron el crecimiento selectivo de nanopartículas de oro de distinta geometría a la esférica, estabilizadas con CTAB.⁴⁶ Estos autores comprobaron que el crecimiento se produce de distinta forma en los diferentes planos cristalográficos y propusieron que los grupos de cabeza de CTAB se unen preferentemente a aquellos planos de oro existentes en la dimensión más larga, en comparación con los planos en los extremos de la partícula. Por lo tanto, el crecimiento de las nanopartículas de oro con distintas caras estará regido por la formación de la capa micelar que se genere, impedido donde esa capa es más compacta y favorecido donde lo es menos.

Una característica importante de las nanopartículas estabilizadas con CTAB es que pueden ser funcionalizadas y, por consiguiente, actuar como sustratos para diversas moléculas en su superficie, ya sea para mejorar su estabilidad como para cumplir algún tipo de función biológica o química.⁴⁷

46 Johnson, C. J., Dujardin, E., Davis, S. A., Murphy, C. J., Mann, S. (2002). Growth and form of gold nanorods prepared by seed-mediated, surfactant-directed synthesis. *J. Mater. Chem.*, 12(6), 1765–1770.

47 Cai, W., Gao, T., Hong, H., Sun J. (2008). Applications of gold nanoparticles in cancer nanotechnology (Review). *Nanotechnol. Sci. Appl.*, 1, 17–32.

- **Potencial Zeta y diámetro hidrodinámico**

Como apunte importante en esta Introducción, y debido a que, en la sección de Resultados y Discusión de cada capítulo, se analizará el diámetro hidrodinámico de las nanopartículas, cabe destacar que el uso de tensioactivos para la síntesis de nanopartículas implica un aumento del diámetro efectivo de la misma. Esto es debido a que, en disolución, el diámetro de la partícula pasaría a incluir el grosor de la capa orgánica de surfactante, además de las de las moléculas de disolvente que se encuentran alrededor.

En la Figura 1.11 se muestra un esquema de la situación producida por este hecho. La densidad de carga eléctrica en una nanopartícula, por ejemplo de oro, es mucho mayor cerca del coloide, como se indica en la Figura 1.11 con cargas negativas azules cerca del tensioactivo, constituyendo en conjunto la capa de Stern. Esta concentración de cargas disminuye gradualmente hasta hacerse cero en el límite con la denominada capa difusa. El potencial eléctrico del punto donde se unen la capa difusa y la de Stern puede determinarse experimentalmente y representa la energía mínima por unidad de carga que es necesaria dar al sistema para separar la partícula de su atmósfera iónica. A ese potencial se le conoce como potencial Zeta (Figura 1.11) y a esa distancia se le denomina diámetro hidrodinámico (D_h). Mientras el diámetro de las nanopartículas metálicas se puede estimar usando microscopia electrónica de transmisión, el D_h se tiene que determinar mediante técnicas específicas, como la Dispersión Dinámica de Luz (DLS).

Cabe también indicar que cuanto mayor es el potencial Zeta de una dispersión coloidal de nanopartículas metálicas, mayor es la estabilidad de esa dispersión.

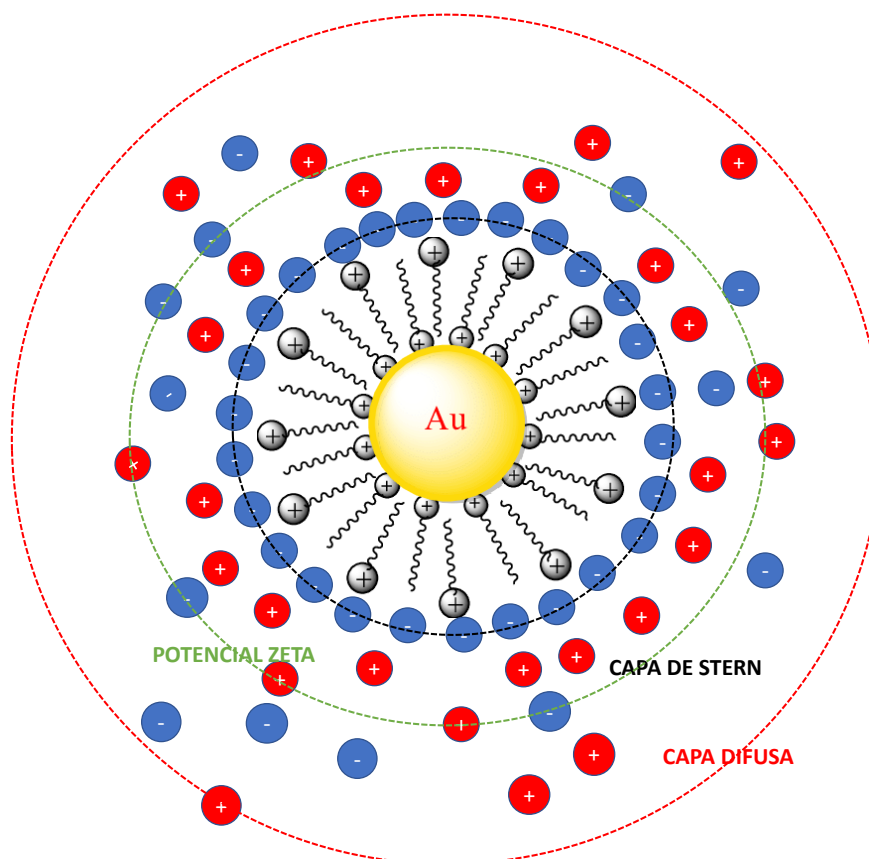


Figura 1.11. Esquema de la estructura de doble capa que muestra la capa de Stern y la capa difusa de una micela de Au@CTAB.

• Funcionalización de nanopartículas de oro y de plata

La funcionalización de las nanopartículas de oro se realiza de forma general mediante la formación enlaces entre grupos tiol (-SH) y el oro,⁴⁸ aunque también se puede realizar con los grupos amino, fosfito o bisulfito con el oro, ya que esta muestra también afinidad por los mismos. Mediante la formación de estas uniones, se han unido numerosas moléculas a la superficie de las nanopartículas de oro con distintos propósitos, lo que ha ampliado el rango de aplicación de estas y ha demostrado que es un sistema muy versátil.

48 Shimmin, R. G., Schoch, A. B., Braun, P. V. (2004). Polymer size and concentration effects on the size of gold nanoparticles capped by polymeric thiols. *Langmuir* 20(13), 5613–5620.

Los procedimientos de modificación postsintética para funcionalizar la superficie de la partícula pueden tener el objetivo de crear sistemas biocompatibles. En estos casos es común el uso *oligo*(etilenglicol) (OEG) o *poli*(etilenglicol) (PEG).^{49,50,51,52,53,54,55,56}

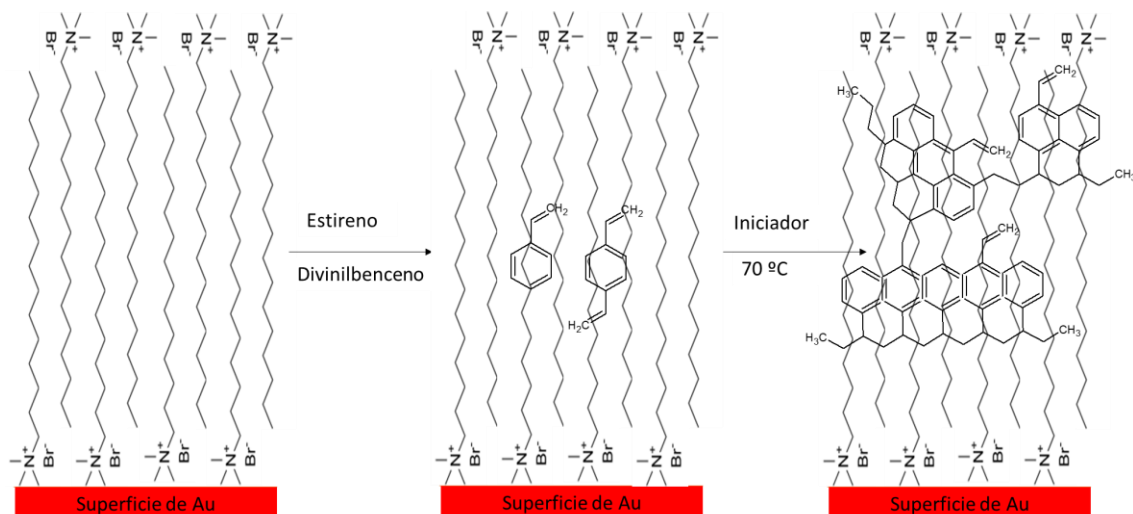


Figura 1.12. Representación esquemática de la funcionalización del sistema Au@CTAB con grupos vinilo. Los monómeros (estireno y divinilbenceno) se colocan en la capa hidrofóbica CTAB, que posteriormente se polimeriza.

- 49 Fan, J., Chen, S. W., Gao, Y. (2003). Coating gold nanoparticles with peptide molecules via a peptide elongation approach. *Colloids Surf., B*, 28, 199–207.
- 50 Otsuka, H., Akiyama, Y., Nagasaki, Y., Kataoka, K. (2001). Quantitative and reversible lectin-induced association of gold nanoparticles modified with α -lactosyl- Ω -mercapto-poly(ethylene glycol). *J. Am. Chem. Soc.*, 123, 8226–8230.
- 51 Otsuka, H., Nagasaki, Y., Kataoka, K. (2003). PEGylated nanoparticles for biological and pharmaceutical applications. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 55, 403–419.
- 52 Olivier, J. C., Huertas, R., Lee, H. J., Calon, F., Pardridge, W. M. (2002). Synthesis of pegylated immunonanoparticles. *Pharm. Res.* 19, 1137–1143.
- 53 Ishii, T., Otsuka, H., Kataoka, K., Nagasaki, Y. (2004). Preparation of functionally PEGylated gold nanoparticles with narrow distribution through autoreduction of auric cation by alpha-biotinyl-PEG-block-[poly(2-(N,N-dimethylamino)ethyl methacrylate)]. *Langmuir*, 20, 561–564.
- 54 Khalil, H., Mahajan, D., Rafailovich, M., Gelfer, M., Pandya, K. (2004). Synthesis of zerovalent nanophase metal particles stabilized with poly(ethylene glycol). *Langmuir*, 20, 6896–6903.
- 55 Tshikhudo, T. R., Wang, Z., Brust, M. (2004). Biocompatible gold nanoparticles. *Mater. Sci. Technol.*, 20, 980–984.
- 56 Takae, S., Akiyama, Y., Otsuka, H., Nakamura, T., Nagasaki, Y., Kataoka, K. (2005). Ligand density effect on biorecognition by PEGylated gold nanoparticles: regulated interaction of RCA (120) lectin with lactose installed to the distal end of tethered PEG strands on gold surface. *Biomacromol.*, 6, 818–824.

Otra posibilidad, aparte de estos grupos funcionales que se anclan directamente a la superficie del oro, es aprovechar el recubrimiento de tensioactivo para funcionalizar la nanopartícula. Un ejemplo de funcionalización polimérica se muestra en la Figura 1.12. En esta se representa cómo el recubrimiento inicial de las nanopartículas de oro, formado por el tensioactivo catiónico (CTAB), proporciona un ambiente hidrófobo, en el ejemplo, de aproximadamente 3 nm de espesor (Au@CTAB), que se puede funcionalizar por incorporación de moléculas orgánicas hidrófobas que se adicionan en la dispersión acuosa.

Por lo tanto, moléculas como estireno o divinilbenceno (insolubles en agua) se distribuyen principalmente en la bicapa de CTAB presente sobre la superficie de oro, cuando son añadidas a la dispersión coloidal de las nanopartículas de oro. Esto hace que la nanopartícula quede funcionalizada con terminaciones vinílicas accesibles, por ejemplo, para formar recubrimientos poliméricos sobre la misma, lo que se haría por adición de monómeros vinílicos y de un iniciador de polimerización radicalaria.

En esta Tesis Doctoral, se utiliza una molécula bifuncional para la generación de dobles enlaces terminales, el ácido 3-butenóico (3BA). Esta molécula se une a la superficie de la nanopartícula de oro por el grupo carboxílico, quedando accesible el doble enlace terminal que se aprovecha después para generar un recubrimiento polimérico sobre la partícula mediante adición de un monómero y su polimerización por radicales libres.

El caso de las nanopartículas de plata, tanto su estabilización como su funcionalización, se lleva a cabo de forma muy similar a las de oro. Como se ha comentado, la prevención de la agregación de estas en disolución se realiza por adición de agentes estabilizantes, siendo uno de los tensioactivos más empleados el CTAB.^{57, 58}

Directamente sobre la superficie del metal, los ligandos orgánicos de

57 Brust, M., Kiely, C. J. (2002). Some recent advances in nanostructure preparation from gold and silver particles: a short topical review. *Colloids Surf. A*, 202(2-3), 175-186.

58 Centrone, A., Penzo, E., Sharma, M., Myerson, J. W., Jackson, A. M., Marzari, N., Stellacci, F. (2008). The role of nanostructure in the wetting behavior of mixed-monolayer-protected metal nanoparticles. *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 105(29), 9886-9891.

cadena alquílica larga con grupos funcionales como tioles, carboxilatos,⁵⁹ fosfinas⁶⁰ o aminas,⁶¹ son los más empleados en la funcionalización directa de estas nanopartículas.

En nuestro caso, usaremos alilamina, que es también una molécula bifuncional (alqueno-amina). Esta molécula, por un lado, puede ser un buen ligando de estabilización de los cationes Ag^+ y, por otro, su doble enlace permite copolimerizar con el microgel, funcionalizando a este.

1.1.3. Aplicaciones de nanopartículas de oro y de plata

Las nanopartículas de oro despiertan un gran interés debido a sus propiedades plasmónicas y a su enorme relación superficie/volumen, como se ha comentado anteriormente. Adicionalmente, presentan una baja toxicidad en el organismo y, como ya se ha mencionado, pueden ser estabilizadas y funcionalizadas con multitud de ligandos para conseguir nanosistemas óptimos para las distintas aplicaciones. Por todo ello, sus aplicaciones son muy numerosas.

Entre las aplicaciones de las **nanopartículas de oro** destacan las biomédicas, ya que estas nanopartículas presentan potencial como:

- Agentes fototerapéuticos en el tratamiento del cáncer, al emitir un intenso calor cuando son irradiadas con la frecuencia correcta de luz láser o mediante otra fuente de energía,⁶⁷ o en el diagnóstico por imágenes (biosensores ópticos).⁶⁸

59 Kashiwagi, Y., Yamamoto, M., Nakamoto, M. (2006). Facile size-regulated synthesis of silver nanoparticles by controlled thermolysis of silver alkylcarboxylates in the presence of alkylamines with different chain lengths. *J. Colloid Interface Sci.*, 300(1), 169–175.

60 Green, M., Allsop, N., Wakefield, G., Dobson, P. J., Hutchison, J. L. (2002). Trialkylphosphine oxide/amine stabilised silver nanocrystals-the importance of steric factors and Lewis basicity in capping agents. *J. Mater. Chem.*, 12(9), 2671–2674.

61 Jana, S., Ghosh, S., Nath, S., Pande, S., Praharaj, S., Panigrahi, S., Pal, T. (2006). Synthesis of silver nanoshell-coated cationic polystyrene beads: a solid phase catalyst for the reduction of 4-nitrophenol. *Appl. Catal. A*, 313 (1), 41–48.

67 Zharov, V. P., Mercer, K. E., Galitovskaya, E. N., Smeltzer, M. S. (2006). Photothermal nanotherapeutics and nanodiagnostics for selective killing of bacteria targeted with gold nanoparticles. *Biophys. J.*, 90, 619–627.

68 Jain, P. K., Huang, X., El-Sayed, I. H., El-Sayed, M. A. (2008). Noble metals on the nanoscale: optical and photothermal properties and some applications in imaging, sensing, biology and medicine. *Acc. Chem. Res.*, 41(12), 1578-1586.

- Nanoestructuras útiles para el transporte y la vectorización selectiva de fármacos y macromoléculas terapéuticas. Se utilizan en la fabricación de “sistemas inteligentes” que liberan la molécula terapéutica de forma controlada.⁶⁹ Esta liberación puede ser inducida mediante la activación con un estímulo interno, por ejemplo, un cambio de pH, o externo, por ejemplo, una fuente de luz láser.
- Vehículo de plásmidos, ARN, ADN, etc. en terapia génica.⁷⁰ La nanopartícula de oro puede ser funcionalizada de forma adecuada y presentar una elevada relación carga/portador, constituyendo así una interesante apuesta en terapia génica.
- Biosensores no ópticos (electroquímicos y piezoeléctricos).⁷¹

Por su parte, las **nanopartículas de plata**, como se ha publicado en la literatura, presentan aplicaciones asociadas a sus propiedades físicas, químicas y biológicas. Encontrando aplicaciones:

- Como biosensores ópticos, debido a sus propiedades fotónicas.⁷²
- Conservación de alimentos,⁷³ tejidos antimicrobianos,⁷⁴ o como desinfectantes,⁷⁵ gracias a su gran efectividad antihongos y como bactericida.⁷⁶

69 Mellman, I., Fuchs, R., Helenius, A. (1986). Acidification of the endocytic and exocytic pathways. *Annu. Rev. Biochem.*, 55, 663–700.

70 Miller, A. D. (1992). Human gene-therapy comes of age. *Nature*, 357, 455–460.

71 Jiang, P., Wang, Y., Zhao, L., Ji, C., Chen, D., Nie, L. (2018). Applications of gold nanoparticles in non-optical biosensors. *Nanomaterials*, 8(12), 977–997.

72 McFarland, A. D., Van Duyne, R. P. (2003). Single silver nanoparticles as real-time optical sensors with zeptomole sensitivity. *Nano Letters*, 3(8), 1057–1062.

73 Berekaa, M. M. (2015). Nanotechnology in food industry; advances in food processing, packaging and food safety. *Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci.*, (5), 345–357.

74 Zhang, F., Wu, X., Chen, Y., Lin, H. (2009). Application of silver nanoparticles to cotton fabric as an antibacterial textile finish. *Fibers Polym.*, 10(4), 496–501.

75 Jain, P., Pradeep, T. (2005). Potential of silver nanoparticle-coated polyurethane foam as an antibacterial water filter. *Biotechnol. Bioeng.*, 90(1), 59–63.

76 Chen, X., Schluesener, H. J. (2008). Nanosilver: a nanoproduct in medical application. *Toxicol. Lett.*, 176 (1), 1–12.

- En cuanto a las aplicaciones industriales y medioambientales, son excelentes nanocatalizadores en reacciones químicas de transferencia de electrones. Esto es debido a:
 - i) Que presentan un plasmón de superficie sintonizable y efectos fototérmicos.
 - ii) Una excelente resistencia a la corrosión y oxidación del aire.
 - iii) Que tienen una gran superficie combinada con un gran número de sitios reactivos.

En este punto cabe destacar, por similitud con las aplicaciones de los sistemas híbridos objetivo de esta Tesis, que las partículas de plata son esenciales para convertir los desechos peligrosos en productos menos dañinos. Por ejemplo, producen la erradicación completa de compuestos nitroaromáticos, que en muchos casos se encuentran en ambientes acuáticos, sin generar subproductos peligrosos, a través de la degradación catalítica.⁷⁷ Además, favorecen la conversión de 4-nitrofenol a 4-aminofenol, así como la formación de otros aminoderivados por hidrogenación de compuestos nitroaromáticos, manteniendo de esta manera un ambiente más limpio. Todo ello conlleva, como se ha indicado, el que tengan numerosas aplicaciones industriales,⁷⁸ incluida su participación en procesos de fabricación de medicamentos, pesticidas, etc.

-
- 77 Tzounis, L., Contreras-Cáceres, R., Schellkopf, L., Jehnichen, D., Fischer, D., Cai, C., Stamm, M. (2014). Controlled growth of Ag nanoparticles decorated onto the surface of SiO₂ spheres: a nanohybrid system with combined SERS and catalytic properties. *RSC Adv.*, 4(34), 17846–17855.
- 78 Jiang, Z.-J., Liu, C.-Y., Sun, L.-W. (2005). Catalytic properties of silver nanoparticles supported on silica spheres. *J. Phys. Chem. B*, 109(5), 1730–1735.

1.2. Microgeles

Los microgeles se pueden definir como partículas de naturaleza polimérica entrecruzadas, que se encuentran dispersas en un fluido, y cuyas dimensiones van desde las decenas de nanómetros hasta el micrómetro. Estos sistemas se obtienen mediante un proceso de polimerización de sus monómeros en presencia de un agente entrecruzante, que suele ser un compuesto con al menos dos grupos funcionales polimerizables.

La estructura del microgel presenta enlaces covalentes formando un entramado polimérico, y por ello los microgeles tienen una alta estabilidad, resistencia y cierto grado de flexibilidad.

Los microgeles son sistemas sensibles a determinados estímulos externos, como son la temperatura, el pH, la naturaleza del disolvente, la concentración iónica, o el campo eléctrico.^{79,80} Esta propiedad hace que a menudo sean considerados como materiales "inteligentes" (smart materials), y por ello presentan un gran número de aplicaciones.

Una de las propiedades más importantes de los microgeles es que su volumen es afectado por un cambio en una variable externa. Este cambio oscila entre dos estados extremos de volumen, el estado hinchado y el estado colapsado. El término colapsado se corresponde al estado del microgel en el que su estructura reticular no deja huecos para alojar moléculas de disolvente en su interior y, por tanto, ocupa un volumen menor. Por el contrario, el estado hinchado es aquel en el que los huecos del entramado polimérico están ocupados por moléculas de

79 Pelton, R. H., Chibante, P. (1986). Preparation of aqueous latices with *N*-isopropylacrylamide. *Colloids Surf.*, 20(3), 247–256.

80 Hirose, Y., Amiya, T., Hirokawa, Y., Tanaka, T. (1987). Phase transition of submicron gel beads. *Macromol.*, 20(6), 1342–1344.

disolvente, haciendo que el volumen del microgel sea máximo.^{81,82,83}

La transición entre ambos estados se denomina transición de fase en volumen, o simplemente transición de fase.

Los tipos de microgeles que más interés atraen son los microgeles cuyo volumen es sensible a la temperatura y/o al pH. La temperatura a la que el microgel termosensible experimenta la transición de fase se denomina temperatura crítica de transición de fase o en inglés lower critical solution temperature (LCST). Cuando la LCST en disolución está próxima a la temperatura del cuerpo humano, el microgel presenta un especial interés ya que puede resultar muy útil en el campo de la medicina. En el caso de un microgel sensible al pH, la liberación y el transporte de biomoléculas se puede controlar mediante las interacciones electrostáticas, en este caso, controlando el pH.⁸⁷

En la Figura 1.13.A se incluye un esquema que representa la transición de fase entre los dos estados del microgel, hinchado o colapsado. Como se observa en la Figura 1.13.B, la representación gráfica del volumen de los microgeles frente a la temperatura o pH sigue una curva típica que, evidentemente, depende del tipo de microgel que se trate. Del análisis de esta representación se obtiene el punto de inflexión, que está indicado con la línea discontinua (Figura 1.13.B). Este punto de inflexión se corresponde con la temperatura crítica (LCST) o el pH de transición de fase, y divide al microgel en dos estados, el hinchado y el colapsado.

-
- 81 Sawai, T., Yamazaki, S., Ikariyama, Y., Aizawa, M. (1991). pH-Responsive swelling of the ultrafine microsphere. *Macromol.*, 24(8), 2117–2118.
- 82 Swislow, G., Sun, S.-T., Nishio, I., Tanaka, T. (1980). Coil-globule phase transition in a single polystyrene chain in cyclohexane. *Phys. Rev. Lett.*, 44(12), 796–798.
- 83 Wu, X., Pelton, R. H., Hamielec, A. E., Woods, D. R., McPhee, W. (1994). The kinetics of poly(*N*-isopropylacrylamide) microgel latex formation. *Colloid Polym. Sci.*, 272(4), 467–477.
- 87 Das, M., Mardyani, S., Chan, W. C. W., Kumacheva, E. (2006). Biofunctionalized pH-responsive microgels for cancer cell targeting: rational design. *Adv. Mater.*, 18(1), 80–83.

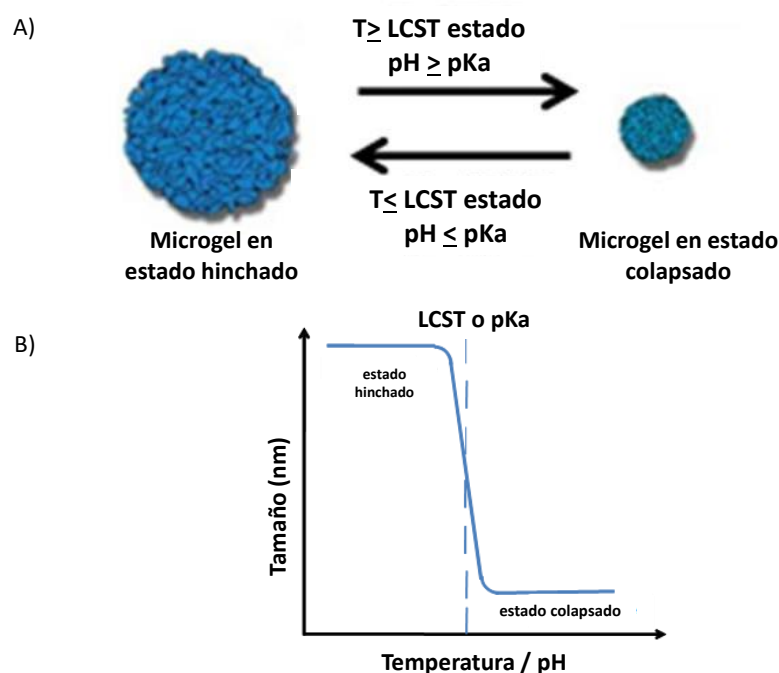


Figura 1.13. A) Esquema de la transición de fase de un microgel. B) Representación del tamaño frente a la temperatura o el pH de un microgel termosensible o pH sensible, respectivamente.

La transición de fase que presenta un coloide termo o pH-sensible, se puede controlar, ya que depende de sus características químicas. Para ello, durante su preparación, se varía la concentración de agente entrecruzante, o se puede incorporar determinadas cantidades de otros comonómeros en el microgel.⁸⁸ Uno de los agentes entrecruzantes más descritos en la bibliografía es *N,N'*-metilenbisacrilamida (BA), que es una molécula relativamente corta y rígida (Figura 1.14).

En los casos en los que se trabaja con un microgel termosensible, como el *p*NIPAM, (*poli-N*-isopropilacrilamida), la elección de BA se debe a la similitud estructural con el monómero (NIPAM). Asimismo, un mayor grado de entrecruzamiento evita que el gel se disuelva en agua a baja temperatura.

88 Feil, H., Bae, Y. H., Feijen, J., Kim, S. W. (1993). Effect of polyelectrolytes on the lower critical solution temperature of ionizable, thermosensitive polymers. *Makromol. Chem. Rapid Commun.*, 14(8), 465–470.

La transición de fase en volumen de un gel puede tener lugar de dos maneras, una continua y otra discontinua, dependiendo de las características y la naturaleza del sistema. En los casos de microgeles se ha observado ambos tipos de transición.⁸⁹ El tipo de transición está regida por el tipo de interacciones involucradas: van der Waals, enlaces de hidrógeno, interacciones electrostáticas e hidrofóbicas. Estas interacciones dependen de la composición química del gel, el grado de entrecruzamiento y la naturaleza y composición del disolvente, y van a determinar la configuración y el tamaño de la red polimérica.⁹⁰ El comportamiento de estos sistemas es explicado por la Teoría Termodinámica de Flory,⁹¹ que tiene en cuenta todas las variables mencionadas.

- **Microgeles termosensibles**

En 1986, Pelton y col. informaron, por primera vez, de la síntesis de un microgel acuoso sensible a la temperatura.⁹² El microgel era una dispersión coloidal monodispersa basada en *N*-isopropilacrilamida, siendo la temperatura crítica de transición de fase en este caso de 32 °C en agua.⁹³ Otros monómeros generadores de microgeles termosensibles publicados se muestran como ejemplo en la Figura 1.14, donde se incluye también el entrecruzante *N,N'*-metilenbisacrilamida. De todos ellos, el microgel basado en *N*-isopropilacrilamida, conocido como *p*NIPAM, es el que más se ha estudiado a lo largo de los últimos años.

89 Dusek, K. *Responsive Gels: Volume Transitions II (Advances in Polymer Science)*. Springer-Verlag. **1993**.

90 Dusek, K. *Responsive Gels: Volume Transitions I (Advances in Polymer Science)*. Springer-Verlag. **1993**.

91 Flory, P. J. *Principles of polymer chemistry*. Cornell University Press. Londres. **1953**.

92 Pelton, R. (2000). Temperature-sensitive aqueous microgels. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 85(1), 1–33.

93 Heskins, M., Guillet, J. E. (1968). Solution properties of poly(*N*-isopropylacrylamide). *J. Macromol. Sci. A*, 2(8), 1441–1455.

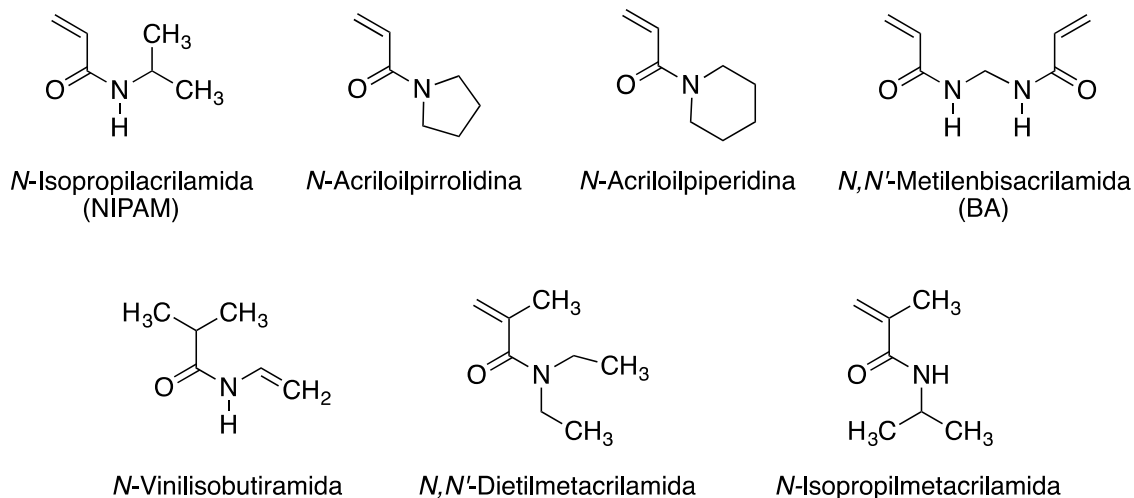


Figura 1.14. Monómeros empleados en la síntesis de microgeles sensibles a la temperatura y fórmula de BA.

La estructura de NIPAM es muy similar a la de acrilamida, ya que la única diferencia es que el primero presenta un grupo isopropilo sobre el átomo de nitrógeno. Esta similitud química se traduce en que muchas de las propiedades de NIPAM son similares a las de acrilamida.^{94,95,96} Sin embargo, como curiosidad, a diferencia de la acrilamida, NIPAM tiene un olor intenso característico, por lo que la presencia de estos monómeros es fácil de detectar.

El proceso de colapso del microgel conlleva cambios importantes en el volumen de las partículas, modificando tanto la hidrodinámica de estas, como la densidad de carga superficial. A temperatura ambiente, los microgeles de pNIPAM tienen un alto contenido de agua en su interior, un índice de refracción similar al del agua y algunos grupos cargados eléctricamente en los extremos de la cadena polimérica. Por el contrario, a temperatura elevada el volumen de las partículas es varias veces

-
- 94 Wooten, W. C., Blanton, R. B., Coover, H. W. (1957). Effect of pH on homopolymerization of *N*-isopropylacrylamide. *J. Polym. Sci.*, 25(111), 403–412.
- 95 Wu, X., Pelton, R. H., Hamielec, A. E., Woods, D. R., McPhee, W. (1994). The kinetics of *poly(N*-isopropylacrylamide) microgel latex formation. *Colloid Polym. Sci.*, 272(4), 467–477.
- 96 Bokias, G., Durand, A., Hourdet, D. (1998). Molar mass control of *poly(N*-isopropylacrylamide) and *poly(acrylic acid)* in aqueous polymerizations initiated by redox initiators based on persulfates. *Macromol. Chem. Phys.*, 199(7), 1387–1392.

menor, la densidad de los grupos cargados eléctricamente es mayor y la diferencia de índice de refracción con respecto al agua es también mayor.

Se ha sugerido que la variación de volumen asociado a la temperatura se produce por un equilibrio hidrófilo/hidrófobo de los grupos laterales del polímero. Para pNIPAM, los grupos -CONH- son hidrófilos y los grupos -CH(CH₃)₂ hidrófobos (Figura 1.15).^{97,98,99}

A bajas temperaturas, la energía que se desprende en la formación de enlaces de hidrógeno entre los grupos hidrófilos y el agua supera la energía libre desfavorable relacionada con la exposición de los grupos hidrófobos al agua (Figura 1.15, izquierda). Esto produce un volumen mayor y una buena solubilidad del polímero en agua. A temperaturas elevadas, los enlaces de hidrógeno se debilitan, mientras que las interacciones hidrofóbicas entre los grupos secundarios hidrofóbicos aumentan (Figura 1.15, derecha). Por ello, a temperaturas superiores a la LCTS, las interacciones entre los grupos hidrófobos se vuelven dominantes, y se produce un colapso de polímero impulsado por entropía. La reducción de volumen en el entramado polimérico se compensa con una ganancia de entropía debido a la liberación de agua estructurada, ordenada en los huecos, alrededor de los grupos hidrófobos en el polímero.

-
- 97 Taylor, L. D., Cerankowski, L. D. (1975). Preparation of films exhibiting a balanced temperature dependence to permeation by aqueous solutions-a study of lower cosolute behavior. *J. Polym. Sci.*, 13(11), 2551–2570.
- 98 Bae, Y. H., Okano, T., Kim, S. W. (1990). Temperature dependence of swelling of crosslinked poly(*N,N'*-alkyl substituted acrylamides) in water. *J. Polym. Sci. B*, 28(6), 923–936.
- 99 Luan, C.-H., Harris, R. D., Prasad, K. U., Urry, D. W. (1990). Differential scanning calorimetry studies of the inverse temperature transition of the polypentapeptide of elastin and its analogues. *Biopolymers*, 29(14), 1699–1706.

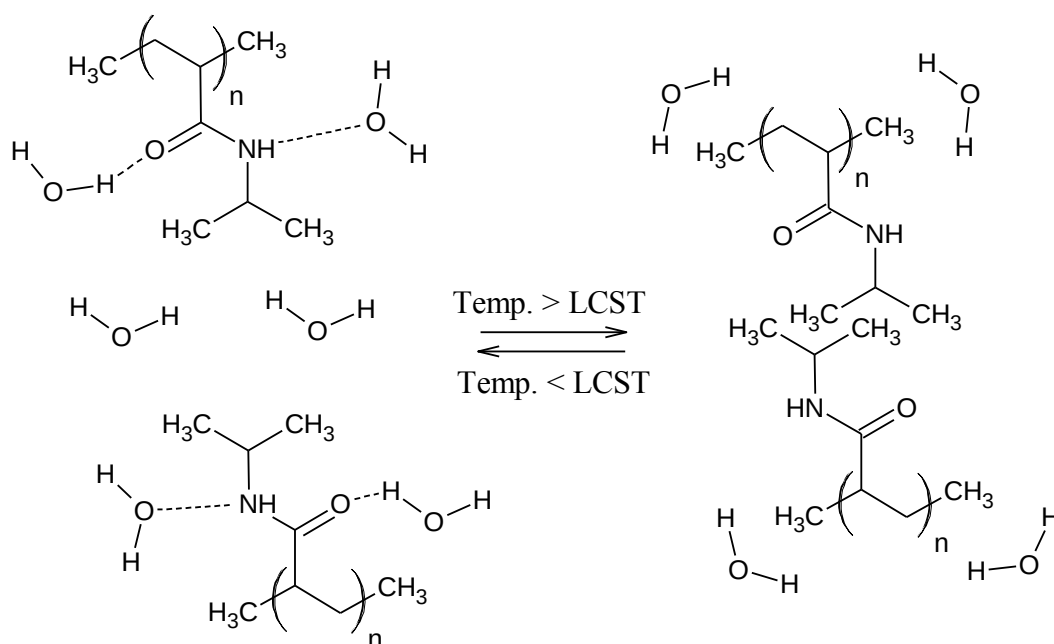


Figura 1.15. Esquema que representa los enlaces de hidrógeno existentes en la estructura de pNIPAM en estado hinchado (izquierda) y su ausencia en el estado colapsado (derecha).

• Microgeles pH-sensibles

Los polímeros sensibles a pH presentan grupos ácidos o básicos débiles que intervienen en reacciones de transferencia de protones como respuesta a cambios de pH en el medio. Los monómeros de estos polímeros suelen ser ácidos carboxílicos, aminas o derivados de ácido fosfórico. En la Figura 1.16 se muestra la estructura química de los monómeros más empleados en la síntesis de microgeles pH-sensibles.¹⁰⁰ En esta figura el butadieno y el estireno son agentes entrecruzantes.

100 Tan, B. H., Tam, K. C. (2008). Review on the dynamics and micro-structure of pH-responsive nano-colloidal systems. *Adv. Colloid Interface Sci.*, 136(1–2), 25–44.

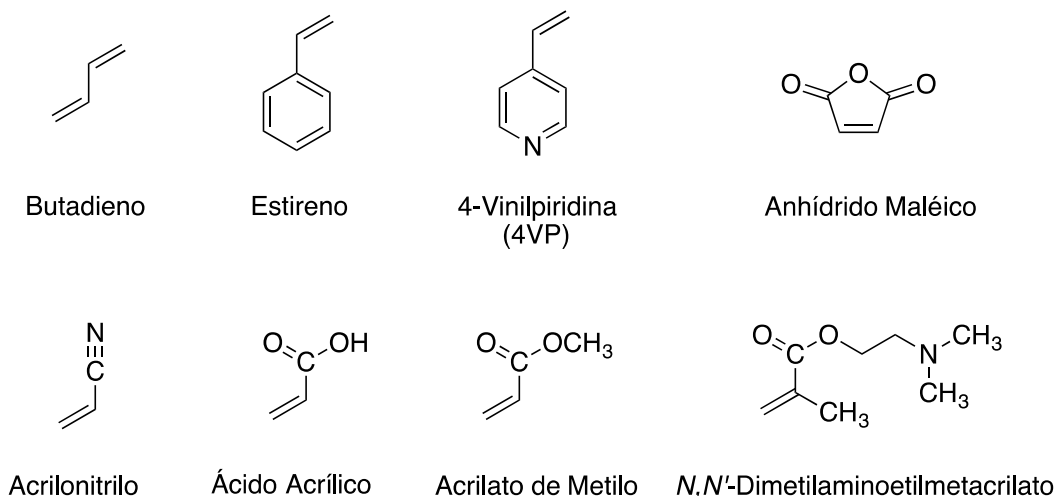


Figura 1.16. Monómeros más empleados en la síntesis de microgeles sensibles a pH y fórmulas de butadieno y estireno .

Los microgeles sensibles al pH han sido estudiados menos que sus análogos termosensibles. En general, se emplean con fines biomédicos, siendo su uso más importante la encapsulación y liberación controlada de fármacos. Con respecto a *poli-4-vinilpiridina* (p4VP), que es el polímero que usamos en este trabajo de investigación, tiene una naturaleza hidrofóbica y una transición de fase a un pH de alrededor de 4.8. Por debajo de este valor de pH, el átomo de nitrógeno de los anillos de piridina presentes en el polímero se encuentra protonado, y la contribución electrostática repulsiva induce a que el microgel se hinche. Por encima de un pH de 4.8, el átomo de nitrógeno se desprotona y la contribución hidrofoba de los grupos aromáticos da como resultado un colapso del microgel. En la Figura 1.17 se muestra un esquema de este proceso de hinchamiento y colapso según el valor de pH.

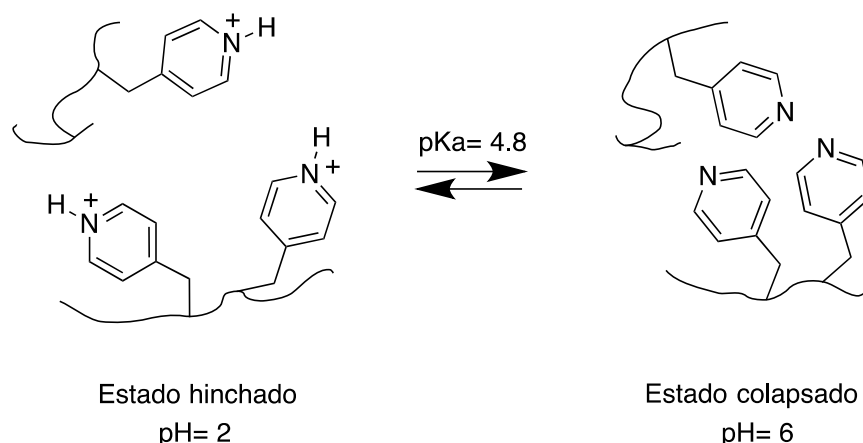


Figura 1.17. Protonación y desprotonación del átomo de nitrógeno en los anillos de piridina, y transición de fase en p4VP.

1.2.1. Síntesis de microgeles

El procedimiento general para la síntesis de microgeles se basa en una reacción de polimerización de un grupo alqueno en fase acuosa. Para llevarla a cabo se mezcla el monómero del microgel con un agente entrecruzante, para añadir a continuación el iniciador de polimerización radicalaria. En nuestro caso, se ha empleado como monómero NIPAM o 4VP, como agente entrecruzante BA y dicloruro de 2,2'-azobis(2-metilpropionamida) (V50) para iniciar la reacción, todo ello en agua a una temperatura de 70 °C .

El mecanismo de esta reacción consta de tres etapas, como se muestra en el esquema incluido en la Figura 1.18. En primer lugar, en la etapa de iniciación, por ruptura homolítica inducida por la temperatura, a partir del iniciador (V50) se generan los primeros radicales libres, los cuales atacan a dobles enlaces de las moléculas monoméricas, dando lugar a nuevos radicales libres. En segundo lugar, esta reacción se propaga alargando la cadena del polímero hasta que, en tercer lugar, en la etapa de terminación, se encuentran dos radicales libres que forman la terminación de la cadena polimérica.

liofilizados sin que pierdan sus propiedades coloidales e hidrodinámicas al ser rehidratados.

Por último, hay que indicar que la caracterización de un microgel se realiza por técnicas típicas utilizadas para caracterizar coloides, incluyendo electroforesis, dispersión dinámica de luz, microscopía electrónica, análisis termogravimétrico, etc.

1.2.2. Microgeles huecos

La síntesis general de microgeles descrita en el apartado anterior es una síntesis relativamente fácil de llevar a cabo, reproducible y que origina microgeles puros y macizos. Este tipo de geles se ha utilizado en la encapsulación, transporte y administración de medicamentos. Sin embargo, también se ha publicado la preparación de microgeles que presentan un hueco en su interior, y se ha comparado sus características y aplicaciones con las de los microgeles macizos como, por ejemplo, en el transporte de fármacos.^{101,102,103}

Se denomina microgel hueco a una estructura polimérica que tiene la misma naturaleza en cuanto a composición y propiedades químicas que un microgel puro y macizo, pero que ha sido sintetizada dejando un espacio vacío en el núcleo de dicho microgel. Para hacer este hueco, la estrategia sintética más usada consiste en llevar a cabo la síntesis del microgel (véase apartado 1.2.1) sobre la superficie de un núcleo, creando un recubrimiento sobre el mismo. La naturaleza de este núcleo es variable y va desde metálica a óxidos de metales, pasando por otros polímeros.

101 Liu, G.; Zhu, C.; Xu, J.; Xin, Y.; Yang, T.; Li, J.; Shi, L.; Guo, Z.; Liu, W. (2013). Thermo-responsive hollow silica microgels with controlled drug release properties. *Colloid Surf., B*, 111, 7–14.

102 Chen, Y., Chen, Y., Nan, J., Wang, C., Chu, F. (2012). Hollow *poly(N-isopropylacrylamide)-co-poly(acrylic acid)* microgels with high loading capacity for drugs. *J. Appl. Polym. Sci.*, 124, 4678–4685.

103 Contreras-Cáceres, R., Leiva, M. C., Ortiz, R., Díaz, A., Perazzoli, G., Casado-Rodríguez, M. A., Melguizo, C., Baeyens, J. M., López-Romero, J. M., Prados, J. C. (2017). Paclitaxel-loaded hollow-*poly(4-vinylpyridine)* nanoparticles enhance drug chemotherapeutic efficacy in lung and breast cancer cell lines. *Nano Res.*, 10(3), 856–875.

Tras el recubrimiento de este núcleo con el microgel, el núcleo se elimina por medio de un procedimiento químico. En la Figura 1.19 se incluye un esquema que resume este proceso.

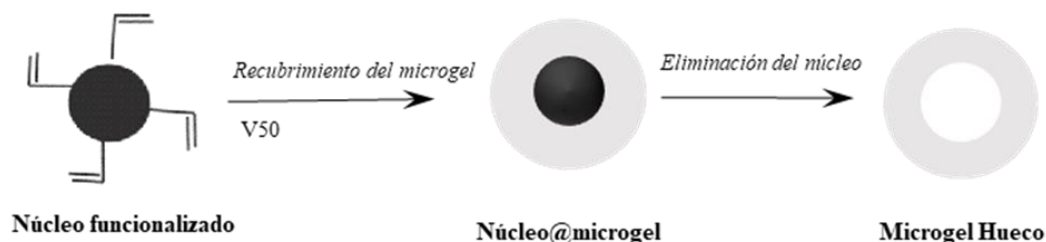


Figura 1.19. Esquema sintético para la fabricación de microgeles huecos.

Los antecedentes más relevantes acerca de síntesis de microgeles huecos serán abordados con mayor profundidad en el Capítulo 1 de esta Tesis.

1.2.3. Aplicaciones de microgeles

Los microgeles acuosos suponen una parte importante de las tecnologías de polímeros a nivel industrial, ya que se aplican en cosméticos, recubrimientos, tecnología de los alimentos, procesos industriales, etc. También se han usado microgeles para la eliminación de iones pesados durante el tratamiento de aguas residuales.^{104,105}

Pero sin duda, las aplicaciones más importantes de los microgeles son las biomédicas, por varios motivos:

104 Bradna, P., Stern, P., Quadrat, O., Snuparek, J. (1995). Thickening effect of dispersions of ethyl acrylate-methacrylic acid copolymer prepared by different polymerization routes. *Colloid Polym. Sci.*, 273(4), 324–330.

105 Morris, G. E., Vincent, B., Snowden, M. J. (1997). Adsorption of lead ions onto *N*-isopropylacrylamide and acrylic acid copolymer microgels. *J. Colloid Interface Sci.*, 190(1), 198–205.

1. Suponen una excelente opción para la encapsulación de moléculas como enzimas, medicamentos, pesticidas, proteínas, contaminantes o ácidos nucleicos.^{106,107,108}

Esto se debe a que su tamaño se encuentra en el rango de los cientos de nanómetros y por ello pueden actuar como vehículos (microcontenedores o microcápsulas) para el transporte de sustancias dentro del organismo hasta alcanzar objetivos diana.¹⁰⁹

Por ejemplo, las nanopartículas poliméricas se han estudiado en el transporte de fármacos anticancerígenos, como fluorouracilo, doxorrubicina, paclitaxel y oxaliplatino.^{110,111,112,113,114,115}

2. Ofrecen la posibilidad de ser modificados en la superficie con moléculas orgánicas o estructuras moleculares, ambas bioactivas, y permitir el desarrollo de dispositivos (biosensores, catalizadores altamente selectivos, etc.) para diversas aplicaciones.

-
- 106 Zelikin, A. N., Li, Q., Caruso, F. (2008). Disulfide-stabilized *poly*(methacrylic acid) capsules: formation, cross-linking, and degradation behaviour. *Chem. Mater.*, 20, 2655-2661.
 - 107 Levy, T., Déjugnat, C., Sukhorukov, G. B. (2008). Polymer micro-capsules with carbohydrate-sensitive properties. *Adv. Funct. Mater.*, 18, 1586-1594.
 - 108 Kozlovskaya, V., Kharlampieva, E., Mansfield, M. L., Sukhishvili, S. A. (2005). *Poly*(methacrylic acid) hydrogel films and capsules: response to pH and ionic strength, and encapsulation of macromolecules. *Chem. Mater.*, 18, 328-336.
 - 109 Peyratout, C. S., Dähne, L. (2004). Tailor-made polyelectrolyte microcapsules: from multilayers to smart containers. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 43, 3762-3783.
 - 110 Agrawal, Y., Girish, M., Chandel, R. Time-domain modeling of current-mode signaling bundled single-wall carbon nanotube interconnects. *Advances in Intelligent Systems and Computing*. Springer. 1-9. 2016.
 - 111 Liu, L., Zeng, J., Zhao, X., Tian, K., Liu, P. (2017). Independent temperature and pH dual-responsive PMAA/PNIPAM microgels as drug delivery system: effect of swelling behavior of the core and shell materials in fabrication process. *Colloid Surf. A*, 526, 48-55.
 - 112 Wang, Y., Nie, J., Chang, B., Sun, Y., Yang, W. (2013). *Poly*(vinylcaprolactam)-based biodegradable multiresponsive microgels for drug delivery. *Biomacromol.*, 14(9), 3034-3046.
 - 113 Smeets, N. M. B., Hoare, T. (2013). Designing responsive microgels for drug delivery applications. *J. Polym. Sci. A*, 51(14), 3027-3043.
 - 114 Vinogradov, S. (2006). Colloidal microgels in drug delivery applications. *Curr. Pharm. Des.*, 12(36), 4703-4712.
 - 115 Contreras-Cáceres, R., Leiva, M. C., Ortiz, R., Díaz, A., Perazzoli, G., Casado-Rodríguez, M. A., Melguizo, C., Baeyens, J. M., López-Romero, J. M., Prados, J. C. (2017). Paclitaxel-loaded hollow-*poly*(4-vinylpyridine) nanoparticles enhance drug chemotherapeutic efficacy in lung and breast cancer cell lines. *Nano Res.*, 10(3), 856-875.

3. Comparados con otras nanopartículas coloidales utilizadas para la encapsulación y administración de fármacos, como polímeros, liposomas, vesículas, micelas o dendrímeros, los microgeles poseen una alta estabilidad y grado de flexibilidad. Pero lo más importante, es que tienen, como se ha comentado, la ventaja de responder a cambios en el medio externo, como temperatura,¹¹⁶ pH,¹¹⁷ naturaleza del disolvente,¹¹⁸ fuerza iónica,¹¹⁹ o incluso, la luz visible.¹²⁰

Con respecto a la aplicabilidad de los microgeles huecos, y tomando como ejemplo la encapsulación de fármacos, las estructuras huecas son más interesantes que las macizas. Esto es debido a la distinta capacidad de encapsulación que ofrecen, pudiéndose variar el tamaño del hueco, lo que unido a las otras variables que se controlan en el microgel, como el grado de entrecruzamiento, ofrecen la posibilidad de ser diseñados para facilitar terapias personalizadas en cuanto a capacidad de carga, vectorización y velocidad de liberación de fármacos en el organismo.

116 Schild, H. G. (2003). *Poly(N-isopropylacrylamide): experiment, theory and application*. *Prog. Polym. Sci.*, 163–249.

117 Sawai, T., Yamazaki, S., Ikariyama, Y., Aizawa, M. (1991). pH-Responsive swelling of the ultrafine microsphere. *Macromol.*, 24(8), 2117–2118.

118 Tanaka, T., Fillmore, D., Sun, S.-T., Nishio, I., Swislow, G., Shah, A. (1980). Phase transitions in ionic gels. *Phys. Rev. Lett.*, 45(20), 1636–1639.

119 McPhee, W., Tam, K. C., Pelton, R. (1993). *Poly(N-isopropylacrylamide) latices prepared with sodium dodecyl sulfate*. *J. Colloid Interface Sci.*, 156(1), 24–30.

120 Suzuki, A., Tanaka, T. (1990). Phase transition in polymer gels induced by visible light. *Nature*, 346(6282), 345–347.

1.3. Sistemas híbridos metalopoliméricos

La investigación sobre nanomateriales híbridos metalopoliméricos, es decir, sistemas coloidales que combinan una parte metálica y una polimérica, es una de las áreas más prolíferas de la nanotecnología de partículas en los últimos años. Los primeros sistemas híbridos de este tipo estaban compuestos por un núcleo metálico encapsulado dentro de una capa de polímero, formando una estructura tipo núcleo@corteza.

Se ha demostrado que estos nanomateriales tienen un mejor rendimiento en detección y catálisis en comparación con los materiales puros, ya que por un lado incluyen las ventajas de nanopartículas metálicas^{121,122,123} y por otro, incorporan múltiples funcionalidades y mejoran la estabilidad coloidal de dichas partículas.^{124,125,126}

Para obtener una morfología núcleo@corteza es necesario, de forma general, un paso inicial de modificación de la superficie de las nanopartículas metálicas. Por ejemplo, el ácido 3-butenóico se ha utilizado para este propósito en la fabricación de microgeles híbridos con núcleo de oro.¹²⁷ Como ya se ha mencionado en esta Introducción, esta molécula aporta su doble enlace terminal a la superficie de la

-
- 121 Lu, Y., Mei, Y., Drechsler, M., Ballauff, M. (2006). Thermosensitive core-shell particles as carriers for Ag nanoparticles: modulating the catalytic activity by a phase transition in networks. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45(5), 813–816.
 - 122 Contreras-Caceres, R., Abalde-Cela, S., Guardia-Girós, P., Fernández-Barbero, A., Pérez-Juste, J., Alvarez-Puebla, R. A., Liz-Marzán, L. M. (2011). Multifunctional microgel magnetic/optical traps for SERS ultradetection. *Langmuir*, 27(8), 4520–4525.
 - 123 Laurenti, M., Guardia, P., Contreras-Cáceres, R., Pérez-Juste, J., Fernandez-Barbero, A., Lopez-Cabarcos, E., Rubio-Retama, J. (2011). Synthesis of thermosensitive microgels with a tunable magnetic core. *Langmuir*, 27(17), 10484–10491.
 - 124 Zha, L. S., Zhang, Y., Yang, W. L., Fu, S. K. (2002). Monodisperse temperature-sensitive microcontainers. *Adv. Mater.*, 14(15), 1090–1100.
 - 125 Kim, J.-H., Lee, T. R. (2004). Thermo- and pH-responsive hydrogel-coated gold nanoparticles. *Chem. Mater.*, 16(19), 3647–3651.
 - 126 Kim, J.-H., Lee, T. R. (2007). Hydrogel-templated growth of large gold nanoparticles: synthesis of thermally responsive hydrogel-nanoparticle composites. *Langmuir*, 23(12), 6504–6509.
 - 127 Álvarez-Puebla, R. A., Contreras-Cáceres, R., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J., Liz-Marzán, L. M. (2008). Au@pNIPAM colloids as molecular traps for surface-enhanced, spectroscopic, ultra-sensitive analysis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 48(1), 138–143.

nanopartícula metálica, uniéndose a ella por el grupo carboxílico y haciendo de soporte para que el microgel se una a ésta y la recubra.

Entre los diferentes recubrimientos poliméricos, los microgeles sensibles a estímulos son los más interesantes. Por ejemplo, se ha publicado la síntesis de nanopartículas de oro esféricas, con tamaño y polidispersidad controlados, siendo después encapsuladas dentro de coloides de pNIPAM.¹²⁸ A la morfología esférica se han sumado con posterioridad otras, como nanocilindros, estrellas o prismas.

Recientemente, se han publicado sistemas metalopoliméricos que presentan estructura diferente a la de núcleo@corteza. En concreto, son sistemas con nanopartículas metálicas distribuidas en la red del microgel, y que se han denominado estructuras núcleo@satélites.¹²⁹

En la Figura 1.20 se muestra, a modo de ejemplo, imágenes de microscopía electrónica de los dos tipos de sistemas híbridos metalopoliméricos.

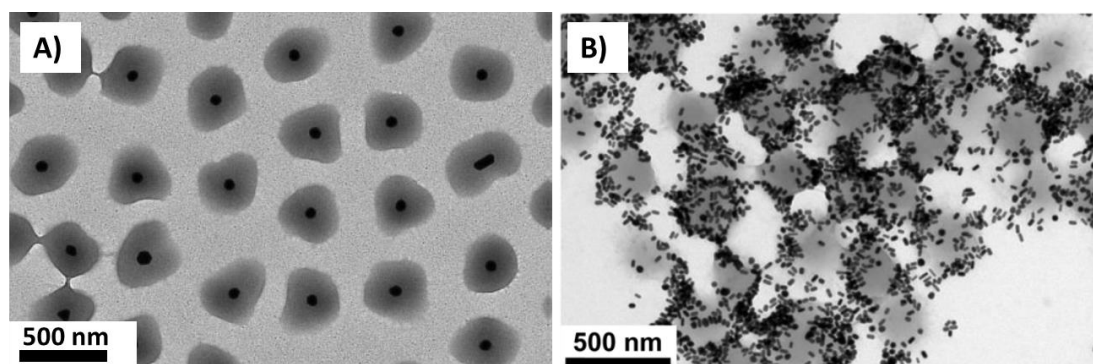


Figura 1.20. Imágenes TEM de sistemas híbridos de oro y pNIPAM: A) tipo núcleo@corteza (Au@pNIPAM) y B) tipo núcleo@satélites (pNIPAM@AuNSt).

-
- 128 Contreras-Cáceres, R., Pacífico, J., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J., Fernández-Barbero, A., Liz-Marzán, L. M. (2009). Au@pNIPAM thermosensitive nanostructures: control over shell cross-linking, overall dimensions, and core growth. *Adv. Funct. Mater.*, 19(19), 3070–3076.
- 129 Fernández-López, C., Polavarapu, L., Solís, D. M., Taboada, J. M., Obelleiro, F., Contreras-Cáceres, R., Pérez-Juste, J. (2015). Gold nanorod–pNIPAM hybrids with reversible plasmon coupling: synthesis, modeling, and SERS properties. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 7(23), 12530–12538.

En la Figura 1.20.A se muestra una imagen de una estructura tipo núcleo@corteza que tiene un núcleo de oro de 50 nm de diámetro recubierto por una capa de pNIPAM, y en la Figura 1.20.B, la imagen corresponde a una estructura formada por un núcleo de pNIPAM que presenta nanocilindros de oro insertados en la superficie del microgel, siendo un ejemplo del tipo núcleo@satélites. Ambos sistemas híbridos se ha comprobado que exhiben actividad catalítica modulable variando la temperatura externa.

Los antecedentes más relevantes acerca de los métodos de síntesis de estos sistemas híbridos, y especialmente sobre los sistemas que contienen oro, plata y pNIPAM, se tratarán con detalle en el Capítulo 3 de esta Tesis.

En cuanto a las aplicaciones de estos sistemas híbridos metalopoliméricos, y en particular de los sistemas a base de Au, Ag y pNIPAM, tan sólo han sido fabricados con el objeto de mejorar la estabilidad coloidal de las nanopartículas metálicas. No obstante, en la actualidad, se buscan nuevas propiedades por combinación, formando diferentes arquitecturas, y con ello nuevas aplicaciones.

Como ya se ha mencionado en el apartado 1.1, la principal limitación de las nanopartículas metálicas es la agregación que se produce cuando se encuentran en dispersión coloidal. Esto se debe a su alta energía superficial, lo que reduce sus aplicaciones prácticas. Para estabilizarlas se añaden tensioactivos y ligandos, pero su uso puede bloquear los sitios catalíticos desactivándolos, y con ello inhibiendo su actividad catalítica. Los sistemas metalopoliméricos de tipo núcleo@satélites presentan una estabilidad coloidal mejorada, disminuyendo la agregación. Sin embargo, los sitios activos del metal siguen estando presentes en su superficie, lo que puede aumentar su rendimiento en catálisis. De igual forma, se podría modular la catálisis en función de la respuesta a estímulos externos como pH, temperatura, fuerza iónica, etc.

1.4. Técnicas instrumentales de caracterización de nanopartículas

La caracterización de las nanopartículas es crucial para lograr entender y controlar su síntesis.

Entendemos por caracterización, la determinación de diferentes parámetros, como son el tamaño, la forma, área superficial, cristalinidad, orientación, dispersión, etc. Esta caracterización se lleva a cabo por diferentes técnicas instrumentales:

- **Microscopía electrónica de transmisión (TEM)**, empleada para la determinación del tamaño y la morfología de las nanopartículas sintetizadas. A su vez, en las imágenes obtenidas durante el análisis, se puede observar si las nanopartículas se encuentran dispersas o aglomeradas.
- **Microscopía electrónica de barrido (SEM)**, utilizada para la comprobación morfológica de alta resolución y tridimensional de las nanopartículas.
- **Dispersión dinámica de la luz (DLS)**, con la que se hace una estimación del diámetro hidrodinámico de las nanopartículas, así como se evalúa su estabilidad y polidispersidad.
- **Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis)**, indispensable para analizar las propiedades ópticas y determinar las concentraciones metálicas en los procedimientos sintéticos.
- **Espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDX)**, que se encuentra acoplada generalmente a la técnica de TEM y con ella se hace un análisis cualitativo y cuantitativo de la composición química de la muestra.
- **Potencial Z**, utilizada para medir la estabilidad de las nanopartículas, consecuencia directa de la presencia de un surfactante adsorbido en la superficie de las nanoestructuras.

- **Análisis termogravimétrico (TGA)**, con la que se comprueba el grado de recubrimiento de materia orgánica presente en las nanopartículas.
- **Espectroscopía infrarroja de reflectancia total atenuada (FTIR-ATR)**, que ayuda a ratificar la presencia y la naturaleza de la materia polimérica presente en las nanoestructuras, ya sea en la etapa de funcionalización de las nanopartículas metálicas, como en la de recubrimiento polimérico, e incluso evaluar el grado de atrapamiento de moléculas de interés en el microgel.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

2. *Objetivos*



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

2. Objetivos

La presente Tesis Doctoral tiene dos objetivos:

Objetivo 1: Síntesis de nanopartículas huecas formadas por microgeles.

Su preparación se propone mediante el crecimiento de un polímero alrededor de un núcleo metálico, en concreto Au(0), seguido de su eliminación mediante reacción de oxidación. El núcleo de oro se preparará siguiendo el método descrito por Turkevich, y su crecimiento a partir del método mediado por semilla. Se llevará a cabo la optimización de esta metodología para microgeles termosensibles (constituidos por pNIPAM) y pH-sensibles (por p4VP).

Se realizará, asimismo, un estudio cinético de la oxidación del núcleo de Au(0) en dos sistemas híbridos diferentes, Au@pNIPAM y Au@p4VP, analizando el efecto que tiene el grado de entrecruzamiento en la oxidación del núcleo metálico, y en su posición en el interior del sistema híbrido. Debido a que la velocidad de oxidación del núcleo metálico está relacionada con la difusión del agente oxidante a través de la red polimérica del microgel, y este a su vez con la liberación de ciertas moléculas, este estudio es una forma de cuantificar los efectos que se producen en estas partículas en la encapsulación y liberación de fármacos, y sus posibles aplicaciones cuando se modifica el grado de agente entrecruzante, pH o temperatura. Además, el control de la posición relativa del núcleo metálico permitiría abordar la preparación de nanopartículas tipo Janus.

Objetivo 2: Síntesis de un nuevo tipo de sistemas híbridos con estructura tipo núcleo@corteza@satélites.

Se propone el estudio de la fabricación de sistemas Au@Ag@pNIPAM funcionalizados con nanopartículas de plata en la corteza polimérica, a modo de satélites, obteniendo de esta manera sistemas núcleo@corteza@satélites (Au@Ag@pNIPAM@AgST) que puedan tener aplicaciones mejoradas en catálisis, bioquímica y biosensores (Figura 2.1).

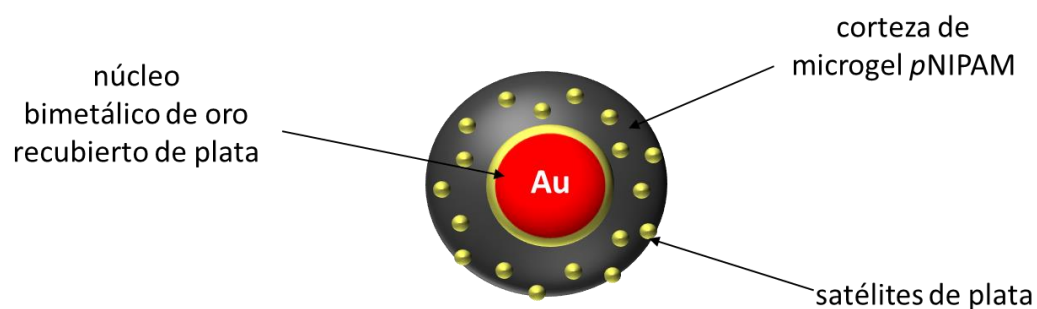


Figura 2.1. Estructura de nanopartícula híbrida metalopolimérica termosensible Au@Ag@pNIPAM@AgST

Como ampliación de este objetivo, se realizará el análisis de estas nuevas nanopartículas híbridas en la catálisis de reacciones orgánicas de referencia, como por ejemplo la reducción del grupo nitro a amino, cuantificando la variación producida en la velocidad de la reacción al variar temperatura, y su relación con la presencia del sistema catalítico híbrido desarrollado.

En la presente Tesis Doctoral, estos objetivos se estructuran en tres capítulos donde se detallan los resultados obtenidos, describiendo previamente la parte experimental de forma común:

- **Objetivo 1.** Los resultados relacionados con este objetivo se incluyen en el *Capítulo 1*, donde se describe el estudio de la síntesis, optimización y caracterización de nanopartículas poliméricas huecas termosensibles y pH-sensibles, y el estudio cinético de la oxidación del núcleo de Au en sistemas Au@pNIPAM y Au@p4VP; y en el *Capítulo 2*, donde se desarrolla los resultados obtenidos en el

control de la posición relativa del núcleo metálico de oro en los sistemas híbridos preparados con p4VP.

- **Objetivo 2.** Los resultados obtenidos en la preparación de nanopartículas híbridas núcleo@corteza@satélites y el estudio de sus propiedades catalíticas, que se describen en el *Capítulo 3*.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

3. *Parte experimental*



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

3. Parte Experimental

3.1.	Reactivos	73
3.2.	Preparación de nanopartículas metálicas	74
3.2.1.	Síntesis de nanopartículas de oro	74
3.2.2.	Obtención de núcleos bimetálicos Au@Ag	75
3.2.3.	Funcionalización de la superficie de las nanopartículas metálicas	76
3.3.	Síntesis de sistemas híbridos metalopoliméricos.....	78
3.3.1.	Obtención de Au@pNIPAM.....	78
3.3.2.	Obtención de Au@pNIPAM-Alilamina.....	79
3.3.3.	Sistemas híbridos Au@Ag@pNIPAM-Alilamina	80
3.3.4.	Síntesis de nanopartículas de Au@Ag@pNIPAM@AgST.....	82
3.3.5.	Síntesis de nanopartículas de pNIPAM@AgST.....	83
3.4.	Síntesis de microgeles puros con respuesta a pH o temperatura.....	85
3.4.1.	Microgeles pH sensibles de p4VP	85
3.4.2.	Microgeles termosensibles de pNIPAM.....	85
3.4.3.	Microgeles pH sensibles de p4VP huecos. Sistemas Janus.....	86
3.4.4.	Microgeles termosensibles de pNIPAM huecos.....	88
3.5.	Reacciones de reducción empleando sistemas híbridos metalopoliméricos como catalizador	89
3.6.	Instrumentación	90
3.7.	Tratamiento informático de los resultados	92



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

3.1. Reactivos

Los reactivos ácido ascórbico (AA, 99 %), bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB, $\geq 99\%$), cloruro de hexadeciltrimetilamonio (CTAC, $\geq 99\%$), cloruro de bencilhexadecildimetilamonio (BDAC, $\geq 99\%$), ácido 3-butenóico (3BA, 97%), alilamina (98%), nitrato de plata (AgNO_3 , $\geq 99\%$), borohidruro de sodio (NaBH_4 , $\geq 96\%$), 4-vinilpiridina (4VP, 95 %), metacrilato de metilo (MMA, 99 %) y *N*-isopropilacrilamida (NIPAM, 97 %), fueron suministrados por Aldrich. También se ha empleado hidrogenotetracloruro de oro(III) trihidrato ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\geq 99.9\%$), citrato trisódico dihidrato ($\geq 99\%$), e hidróxido de sodio ($\geq 98\%$) que fueron proporcionados por Sigma. Fluka suministró *N,N'*-metilenbisacrilamida (BA, $\geq 99.5\%$) y 4-nitrofenol. El iniciador de polimerización dihidrocloruro de 2,2'-azobis(2-metilpropionamida) (V50, 97 %) fue proporcionado por Acros Organics. Todos estos reactivos se usaron sin purificación adicional. El agua utilizada se purificó usando un sistema Milli-Q (Millipore).

Por último, antes de su uso, todo el material de vidrio se limpió con una solución ácida preparada con ácido clorhídrico y ácido nítrico, de concentraciones 36 % y 68 %, respectivamente, en una proporción 3:1 v/v (agua regia) y posteriormente se enjuagó con agua MilliQ.

3.2. Preparación de nanopartículas metálicas

3.2.1. Síntesis de nanopartículas de oro

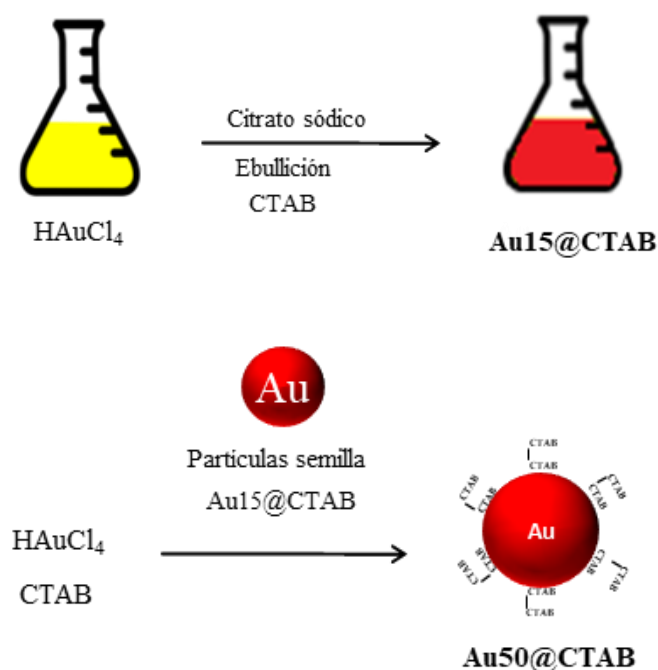


Figura 3.1. Esquema sintético seguido en la obtención de AuNPs de 50 nm de diámetro

En una primera etapa, y con el objetivo de obtener nanopartículas de $\text{Au}(0)$ de 18 nm aprox., en un matraz Erlenmeyer de 100 mL se prepara una disolución de HAuCl_4 (50 mL, 0.5 mM) en agua. Esta disolución se lleva a ebullición, y bajo agitación magnética se le adiciona otra disolución de citrato de sodio preparada previamente (1130 μL , 77.5 mM). Tras 5 min a ebullición, la dispersión de AuNPs formada se deja enfriar hasta alcanzar temperatura ambiente, y se estabilizan por adición gota a gota de esta sobre otra disolución de CTAB (15 mL, 15 mM) con agitación magnética media. A continuación, la concentración de $\text{Au}(0)$ se determina con el valor de la absorbancia a 400 nm. En nuestro caso esta concentración resultó ser de 0.049 mM.¹³⁰

¹³⁰ Para una concentración distinta de semilla es necesario reajustar las concentraciones de los reactivos de la segunda reacción. Véase Capítulo 1, apartado 1.2.1.

En la segunda etapa, en la que se crecen las semillas de AuNPs fabricadas en el paso anterior, se prepara una disolución (100 mL) de HAuCl_4 (1 mM), CTAB (15 mM) y ácido ascórbico (2 mM) en agua, sobre la que se añade la dispersión de semillas obtenida en la primera etapa para alcanzar un tamaño final de 50 nm aprox. (10.86 mL). La mezcla se deja reaccionar durante 1 h a 35 °C. Todo este proceso se refleja en la figura 3.1.

Pasado este tiempo, la mezcla de reacción se deja enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente y, a continuación, se centrifuga a 5500 rpm durante 30 min. Se elimina el sobrenadante y el precipitado se redispersa en 100 mL de CTAB 15 mM. De nuevo, se determina la concentración de Au(0) por medida de absorbancia a 400 nm (en nuestro caso, se obtuvo un valor de 1.2 mM). Este dato es necesario para las siguientes reacciones. El análisis de las dimensiones de las partículas de oro se ha realizado a partir de las imágenes obtenidas por TEM, midiendo un total de 100 AuNPs, y este estudio reveló un diámetro promedio del núcleo de 48.6 ± 3.4 nm.

3.2.2. Obtención de núcleos bimetálicos Au@Ag

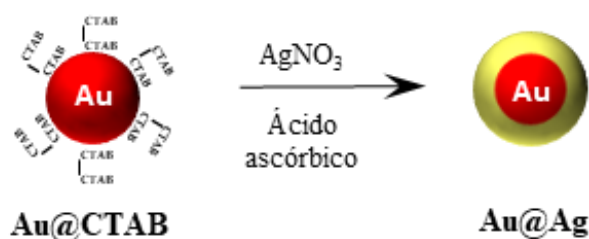


Figura 3.2. Esquema sintético seguido en la obtención de núcleos Au@Ag de 70 nm de diámetro a partir de núcleos de Au de 50 nm de diámetro.

En un matraz de fondo redondo de 50 mL se mezcla la dispersión de AuNPs de 50 nm de diámetro preparada en el apartado 3.2.1 (3.75 mL, 1.2 mM) con agua (6 mL) y una disolución de CTAC (240 μL , 756.3 mM).

El matraz se cierra con un septum, se le proporciona agitación magnética y se coloca en un baño de aceite de silicona a 65 °C. Sobre esta mezcla se gotea, con ayuda de dos bombas independientes de inyección de jeringa programadas ambas a un caudal de 0.17 mL/h, una disolución de AgNO_3 en agua (4 mL, 3.27 mM, 1 eq.) desde una de las jeringas y una disolución de AA (4 mL, 13.08 mM, 4 eq.) desde la otra. Trascurridas 24 h bajo agitación a 65 °C los reactivos se han inyectado en su totalidad, entonces el crudo de reacción se deja enfriar a temperatura ambiente y se centrifuga a 5500 rpm durante 15 min. Este proceso se refleja en la figura 3.2 y lo denominamos Método de Inyección en bomba de jeringa.

A continuación, se elimina el sobrenadante y el precipitado se redispersa en 50 mL de CTAB 15 mM, obteniendo de esta forma los núcleos bimetalícos Au@Ag , que posteriormente se analizan por TEM (Fig. C.3.13) para comprobación del tamaño final y polidispersidad de nanopartículas, y por EDX (Fig. C.3.15) para comprobar la homogeneidad del recubrimiento de $\text{Ag}(0)$.¹³¹ Este estudio reveló un diámetro promedio del núcleo bimetalíco de 63.6 ± 5.9 nm.

3.2.3. Funcionalización de la superficie de las nanopartículas metálicas

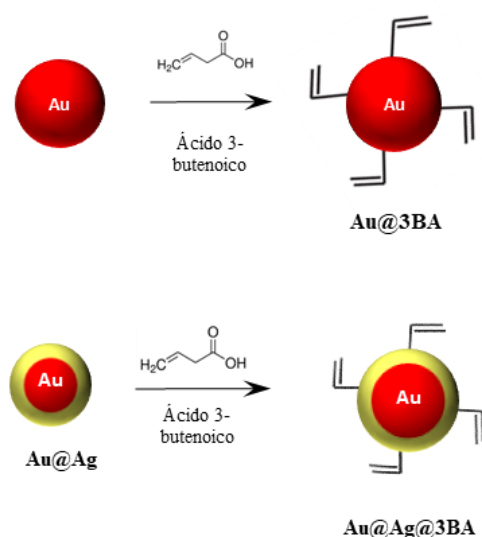


Figura 3.3. Esquema sintético seguido en la funcionalización superficial de MeNPs (AuNPs y Au@Ag) con un doble enlace

131 Para un recubrimiento diferente a 70 nm (diámetro final de partícula Au@Ag) hay que reajustar concentraciones de reactivos. Véase Capítulo 1, apartado 1.2.1.

En un matraz Erlenmeyer de 100 mL se colocan 50 mL de dispersión de MeNPs previamente preparadas según el procedimiento descrito en los apartados 3.2.1 para AuNP ó 3.2.2 para Au@Ag, y se calientan en un baño a 70 °C sin agitación. Sobre esta dispersión se añade ácido 3-butenoico (250 µL). Tras 1 h de reacción, la mezcla se deja alcanzar la temperatura ambiente y se centrifuga a 5500 rpm durante 30 min. El precipitado se resuspende en 30 mL de CTAB 1 mM y se centrifuga de nuevo a 5500 rpm durante 30 min. El sobrenadante se elimina redispersando el precipitado en 20 mL de agua con 250 µL de CTAB 5 mM.

La figura 3.3 representa el esquema sintético seguido.

La concentración final de las Au@3BA se determina por la absorbancia a 400 nm, y para el caso de Au@Ag@3BA, fue necesario la realización de TGA.

3.3. Síntesis de sistemas híbridos metalopoliméricos

3.3.1. Obtención de nanopartículas Au@pNIPAM

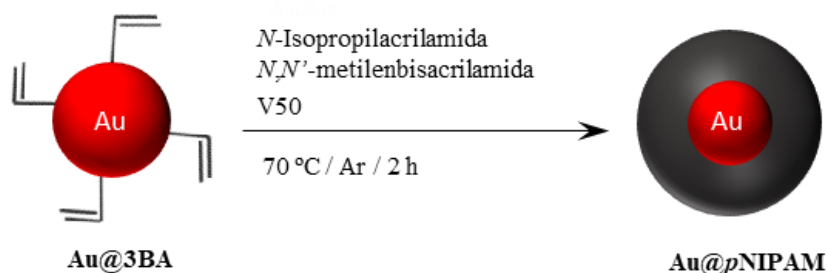


Figura 3.4. Esquema sintético seguido en la preparación del sistema Au@pNIPAM

En un vial de 20 mL se coloca la dispersión de Au@3BA (10 mL, 5 mM en Au) preparada en el apartado 3.2.3. La dispersión se calienta a 70 °C bajo flujo de Ar y agitación magnética (400 rpm). A continuación, se añade el monómero NIPAM (0.1698 g, 1.5 mmol) y el agente entrecruzante (BA, 23.2 mg, 0.15 mmol). Después de 5 min a 70 °C, se inicia la polimerización añadiendo una disolución acuosa de V50 (100 μ L, 0.1 M). Transcurridos 15 min, la disolución rojiza se vuelve turbia, empezando a ser visible la formación del microgel. En este punto se elimina el flujo de Ar y se deja que la reacción continúe durante 2 h a 70 °C. La figura 3.4 representa el esquema sintético seguido.

Pasado este tiempo, la mezcla resultante se deja enfriar a temperatura ambiente bajo agitación magnética. Finalmente, se eliminan los microgeles libres, así como los oligómeros y/o monómeros residuales producidos durante el proceso de polimerización. Para ello la dispersión resultante se diluye con agua hasta 50 mL y se centrifuga durante 30 min a 4500 rpm. A continuación, se elimina el sobrenadante y el precipitado se resuspende en 20 mL de agua, volviéndose a centrifugar de nuevo a 4500 rpm durante 30 min. Este último paso de lavado se repite 4 veces, y el sedimento resultante final se redispersa en 10 mL de agua, siendo esta la muestra de Au@pNIPAM.

La concentración de Au se determinó por medida de la absorbancia máxima, comparando con una muestra de AuNPs de concentración conocida.

3.3.2. Obtención de nanopartículas Au@pNIPAM-Alilamina

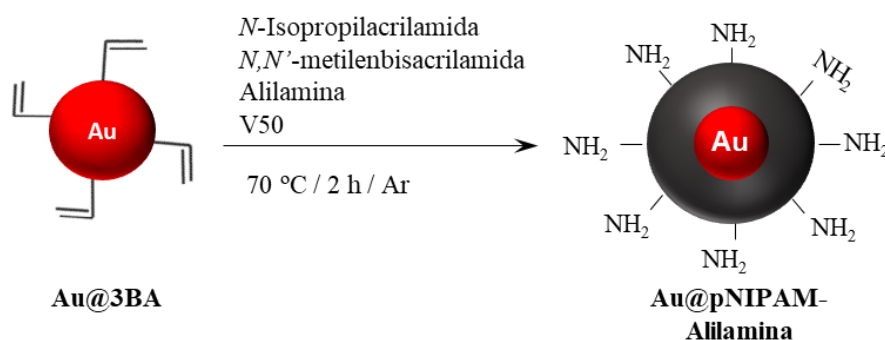


Figura 3.5. Esquema sintético seguido en la preparación del sistema Au@pNIPAM-Alilamina

El procedimiento inicial es idéntico al detallado en el apartado 3.3.1, pero una vez añadido el iniciador V50 y empezar a ser visible la formación del microgel por el cambio en la turbidez y coloración, se añade alilamina (5 μ L, 0.12 mmol). Después de 5 min más de reacción, se elimina el flujo de Ar, y se deja que la reacción continúe durante 2 h a 70 °C, bajo agitación magnética. La figura 3.5 representa el esquema sintético seguido en la preparación de este sistema.

Posteriormente, la mezcla resultante se deja enfriar a temperatura ambiente sin quitar la agitación. Finalmente, el crudo de reacción se diluye con agua hasta 50 mL y se centrifuga durante 30 min a 4500 rpm. A continuación, se elimina el sobrenadante y el precipitado se redispersa en 20 mL de agua, volviéndose a centrifugar a 4500 rpm durante 30 min. Este último paso de lavado se repite 4 veces y el sedimento resultante final se redispersa en 10 mL de agua, obteniéndose la muestra Au@pNIPAM-Alilamina. La concentración de oro se determinó por medida de la absorbancia máxima, comparando con una muestra de AuNPs de concentración conocida.

3.3.3. Sistemas híbridos Au@Ag@pNIPAM-Alilamina

Se han preparado nanopartículas híbridas Au@Ag@pNIPAM-Alilamina siguiendo dos métodos diferentes, el del tampón de glicina y el de inyección mediante bomba de jeringa.

A. Método del Tampón de Glicina:

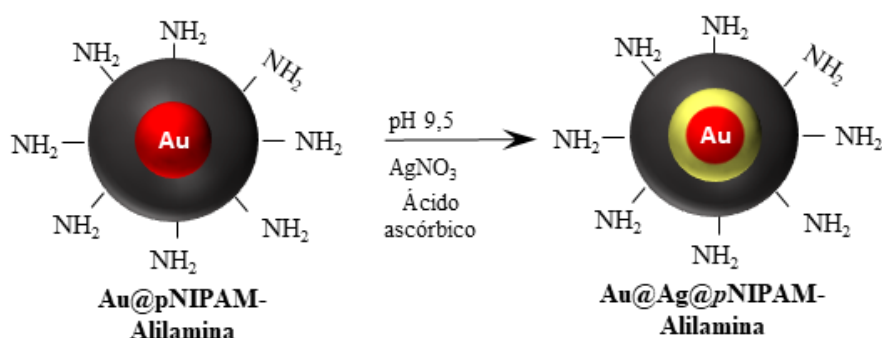


Figura 3.6. Esquema sintético seguido en el método del tampón de glicina para la preparación del sistema Au@Ag@pNIPAM-Alilamina

En primer lugar, en un vial de 20 mL, se prepara una mezcla (10 mL) compuesta por Au@pNIPAM-Alilamina obtenida en el apartado 3.3.2, de una concentración de 0.25 mM en NPs (1.25 mL¹³² de una dispersión acuosa 2 mM en términos de Au(0), de Au@pNIPAM-Alilamina), BDAC 50 mM (2.5 mL de una disolución acuosa 200 mM), y una disolución tampón de glicina de pH 9.5 (5 mL de una disolución obtenida a partir de otra 0.4 M de glicina en agua + gotas de NaOH 1M hasta ajustar pH). La mezcla se completa con agua hasta 10 mL de volumen final.

En segundo lugar, sobre esta mezcla se añade, bajo agitación magnética (400 rpm), AgNO₃ (148 µL de una disolución 29.4 mM), seguido de ácido ascórbico (87.2 µL de una disolución 100 mM).

Después de 30 min, la dispersión de partículas se centrifuga a 5000 rpm durante 30 min, se descarta el sobrenadante y el sedimento se redispersa

¹³² Para una dispersión de Au50@pNIPAM-Alilamina obtenida según apartado 3.3.2 de concentración 2 mM en términos de Au.

en 10 mL de agua, obteniéndose la muestra Au@Ag@pNIPAM-Alilamina. La figura 3.6 representa el esquema sintético seguido en el método del tampón glicina para la preparación del sistema Au@Ag@pNIPAM-Alilamina.

B. Método de inyección en bomba de jeringa y posterior recubrimiento con pNIPAM de los núcleos bimetálicos:

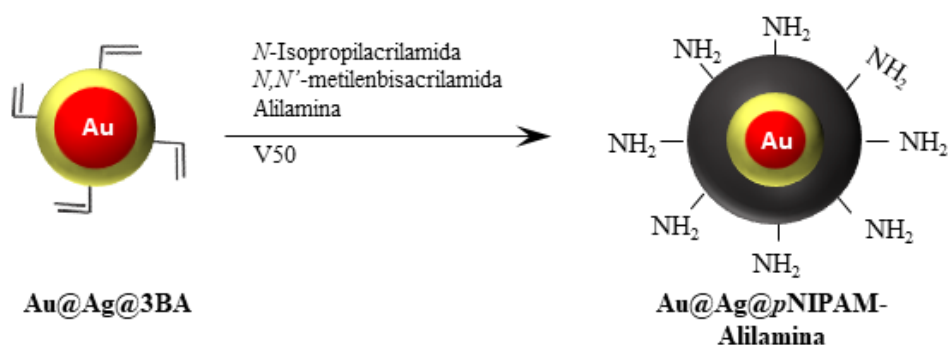


Figura 3.7. Esquema sintético seguido en el método B para la preparación del sistema Au@Ag@pNIPAM-Alilamina

De forma alternativa al proceso descrito en el apartado 3.3.3.A, se puede llegar al mismo sistema Au@Ag@pNIPAM-Alilamina, preparando en primer lugar los núcleos bimetálicos (procedimiento descrito en el apartado 3.2.2), funcionalizarlos con 3BA (proceso detallado en el apartado 3.2.3) y llevar a cabo el posterior recubrimiento con pNIPAM y Alilamina.

Para este último paso, que es el que se indica en la figura 3.7, en un vial de 20 mL, se pone la dispersión coloidal de Au@Ag@3BA (10 mL, con una concentración 5 mM en Au), preparada en el apartado 3.2.3, y se calienta a 70 °C bajo flujo de Ar y con agitación magnética (400 rpm). A continuación, se añade el monómero (NIPAM, 0.1698 g, 1.5 mmol) y el entrecruzante (BA, 23.2 mg, 0.15 mmol). Después de 5 min bajo agitación magnética y a 70 °C, se añade una disolución de V50 (100 µL, 0.1 M).

Tras 15 min de reacción se quita el flujo de Ar y se añade alilamina (5 µL, 0.12 mmol). Se deja que la reacción continúe durante 2 h más a 70 °C.

Pasado ese tiempo, la mezcla se deja enfriar a temperatura ambiente manteniendo la agitación magnética. La muestra coloidal final se diluye con agua hasta 50 mL y se centrifuga durante 30 min a 4500 rpm. A continuación, se elimina el sobrenadante y el precipitado se redispersa en 20 mL de agua, volviéndose a centrifugar de nuevo a 4500 rpm durante 30 min.

El último paso de lavado se repite 4 veces, y el sedimento resultante final se redispersa en 10 mL de agua, obteniéndose la muestra Au@Ag@pNIPAM-Alilamina.

La figura 3.7 representa el esquema sintético seguido en la preparación del sistema Au@Ag@pNIPAM-Alilamina por el método de inyección en bomba de jeringa.

3.3.4. Síntesis de nanopartículas Au@Ag@pNIPAM@AgST

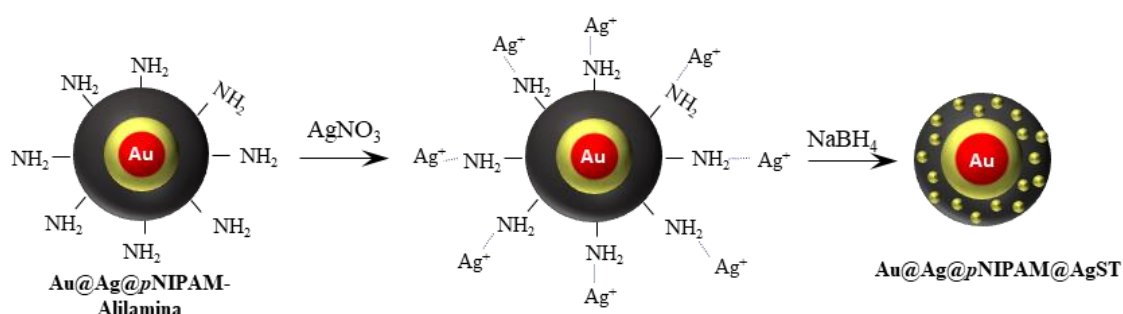


Figura 3.8. Esquema sintético seguido en la preparación del sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST

En un vial de 20 mL, sobre una dispersión de Au@Ag@pNIPAM-Alilamina (10 mL, preparada en el apartado 3.3.3), se añade bajo agitación magnética (400 rpm) y a temperatura ambiente, una disolución acuosa de AgNO_3 (25 μL , 29.4 mM). La mezcla de reacción se mantiene con agitación durante 30 min más y, a continuación, se le adiciona otra disolución de NaBH_4 (95 μL , 50 mM en agua) a temperatura ambiente y con agitación vigorosa (1200 rpm). Tras 5 min en esas condiciones, la mezcla se centrifuga a 5500 rpm durante 30 min. El sobrenadante se descarta y el precipitado se redispersa en 10 mL de agua.

El proceso de limpieza, resuspensión en agua y centrifugación, se repite dos veces más, aisándose finalmente el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST. La figura 3.8 representa el esquema sintético seguido en la preparación del sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST.

3.3.5. Síntesis de nanopartículas pNIPAM@AgST

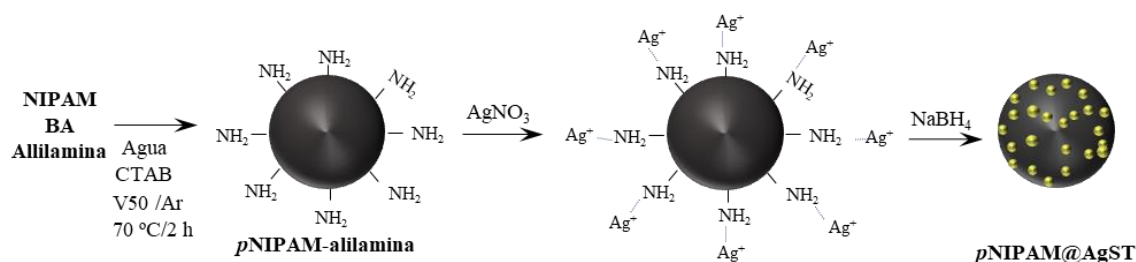


Figura 3.9. Esquema sintético seguido en la preparación del sistema pNIPAM@AgST

En un vial de 20 mL colocado en un baño a 70 °C, provisto de agitación magnética y bajo atmósfera de Ar, se añaden en este orden: 10 mL de agua, CTAB (125 μL , 5 mM en agua), NIPAM (170 mg, 1.5 mmol) y BA (23.16 mg, 0.15 mmol). Tras 5 min de agitación (a 400 rpm), se añade sobre la mezcla de reacción el iniciador V50 (200 μL , 100 mM en agua). Tras 15 min de reacción adicionales, se hace visible la formación de microgel y se añade alilamina (5 μL , 0.12 mmol). Se deja que la reacción continúe durante 2 h más a 70 °C. A continuación, la mezcla se deja enfriar hasta alcanzar la temperatura ambiente, manteniendo la agitación magnética. La dispersión resultante se diluye con agua hasta 50 mL. A continuación, la mezcla se centrifuga a 8000 rpm durante 30 min, se descarta el sobrenadante y el precipitado se redispersa en 20 mL de agua. Este último paso se repite 4 veces más y el sedimento resultante final, formado por nanopartículas pNIPAM@Alilamina, se redispersa en 10 mL de agua.

En una segunda etapa, 1 ml de la dispersión anterior se diluye hasta 10 ml con agua, y sobre esta dilución se añade AgNO_3 (25 μL , 29.4 mM en agua) a temperatura ambiente y con agitación magnética (400 rpm). La

disolución se mantiene en agitación durante 30 min. Tras ese periodo, se adiciona una disolución acuosa de NaBH_4 (95 μL , 50 mM) a temperatura ambiente y manteniendo la agitación magnética (1200 rpm). Trascurridos 5 min desde la adición, la dispersión se centrifuga a 7500 rpm durante 30 min. Después, se descarta el sobrenadante y se redispersa el sedimento en 10 mL de agua. La centrifugación y redispersión del sobrenadante se repite dos veces más. Todo este proceso sintético se representa en la figura 3.9.

3.4. Síntesis de microgeles puros con respuesta a pH o temperatura

3.4.1. Microgeles pH sensibles de p4VP

En un vial de 20 mL provisto de agitación magnética (400 rpm), a 70°C y bajo atmósfera de Ar, se añaden en este orden: 10 mL de agua, CTAB (125 μ L 5 mM en agua), 4VP (215 μ L, 2 mmol) y BA (31.2 mg, 0.2 mmol). Tras 5 min de agitación, sobre la mezcla de reacción se añade el iniciador V50 (200 μ L, 100 mM en agua). Pasados 15 min desde la adición, se aprecia la formación del microgel y, en ese momento, se quita la atmósfera de Ar y se deja en agitación a 70 °C durante 2 h más. A continuación, el crudo de reacción se diluye hasta 50 mL con agua y se centrifuga a 8000 rpm durante 30 min. Se descarta el sobrenadante y el precipitado se redispersa en 20 mL de agua.

El último paso de lavado se repite 2 veces. Después de la última centrifugación, el precipitado que contiene los microgeles de p4VP se dispersa en 10 mL de agua.

3.4.2. Microgeles termosensibles de pNIPAM

En un vial de 20 mL colocado en un baño a 70 °C, provisto de agitación magnética (400 rpm), a una temperatura de 70°C y bajo atmósfera de Ar, se añaden en este orden: 10 mL de agua, CTAB (125 μ L 5 mM en agua), NIPAM (170 mg, 1.5 mmol) y BA (23.2 mg, 0.15 mmol).

Tras 5 min de agitación, sobre la mezcla de reacción se añade el iniciador V50 (200 μ L, 100 mM en agua). A continuación, se siguen los mismos pasos detallados en el apartado 3.4.1.

3.4.3. Microgeles pH sensibles de p4VP huecos. Sistemas Janus

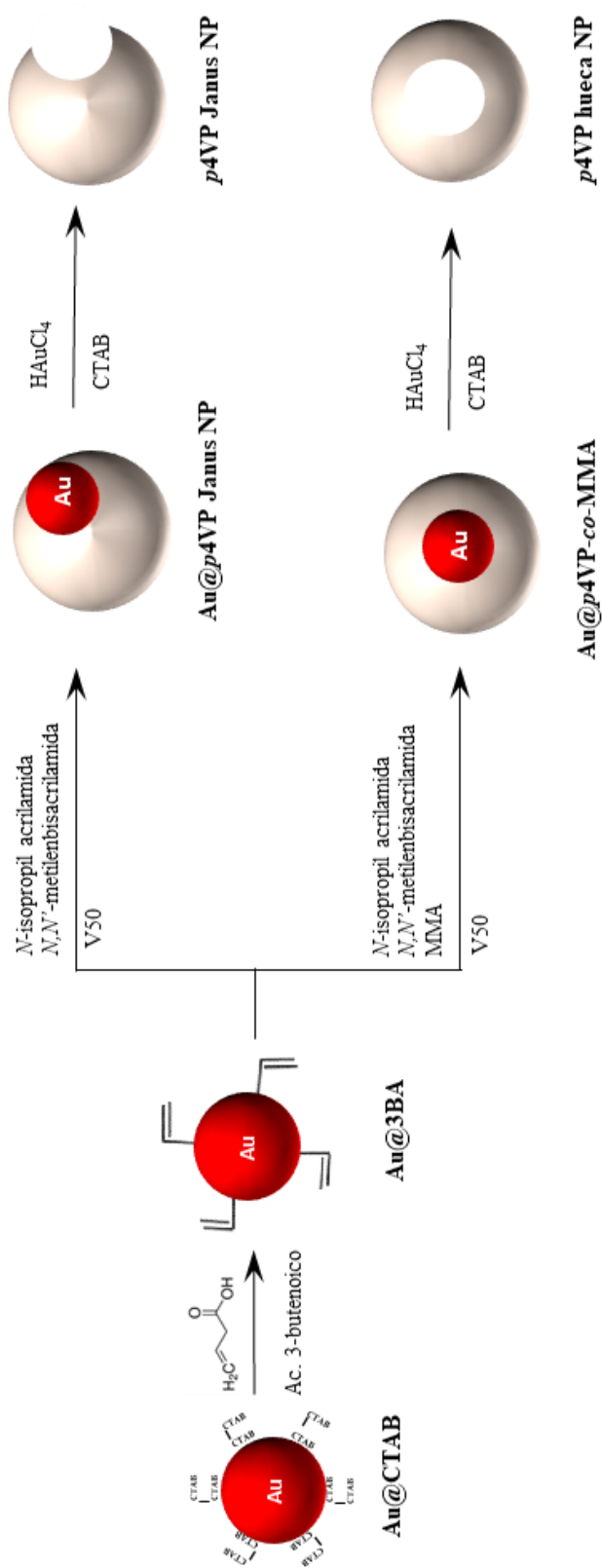


Figura 3.10. Esquema sintético seguido en la preparación del sistema p4VP hueco

En una primera etapa, en un vial de 20 mL provisto de agitador magnético, se pone la dispersión de Au@3BA (10 mL de concentración 5 mM en Au(0)) preparada en el apartado 3.2.3. A continuación, el vial se coloca en un baño de agua a 70 °C, con agitación magnética (400 rpm) y atmósfera de Ar, y se añaden en este orden: el monómero 4VP (215 μ L, 2 mmol) y el agente entrecruzante BA (31.2 mg, 0.2 mmol). Tras 5 min de agitación, sobre la mezcla de reacción se añade el iniciador V50 (200 μ L, 100 mM en agua). Pasados 15 min desde la adición, se aprecia la formación del microgel y, en ese momento, se quita la atmósfera de Ar y se deja en agitación a 70 °C durante 2 h más. A continuación, el crudo de reacción se diluye hasta 50 mL con agua y se centrifuga a 5500 rpm durante 30 min. Se descarta el sobrenadante y el precipitado se redispersa en 10 mL de agua. Este último paso se repite 2 veces. Después de la última centrifugación, el precipitado de microgeles híbridos se dispersa en agua (10 mL) obteniéndose la muestra de Au@p4VP. Finalmente, se determina la concentración de Au(0) por medida de la absorbancia máxima del plasmón de oro, obteniéndose un valor de 0.5 mM.

En una segunda etapa, sobre la dispersión de Au@p4VP previamente obtenida (10 mL 0.5 mM, en Au) se añaden otros 10 mL de una disolución acuosa 50 mM en CTAB y 0.25 mM en HAuCl₄. La mezcla de reacción se deja con agitación magnética a 28 °C durante 12 h. Pasado este tiempo, la dispersión resultante se centrifuga a 8000 rpm durante 30 min. El sobrenadante se descarta y el precipitado se redispersa en 10 mL de agua. Se centrifuga de nuevo a 8000 rpm durante 30 min y, por último, el precipitado de NPs de p4VP huecas se resuspende en la mínima cantidad de agua y finalmente se liofiliza.

El control de la posición del núcleo de oro en las nanopartículas Au@p4VP fue estudiado modificando las cantidades de monómero y entrecruzante y añadiendo un co-monómero durante la polimerización. Para ello, se siguió el procedimiento general detallado en este apartado, pero en lugar de las cantidades mencionadas en la polimerización, se añadieron las siguientes: 4VP (193.5 μ L, 1.6 mmol), MMA (42.6 μ L, 1.78 mmol) y BA (24.6 mg, 0.16 mmol).

En la segunda etapa, el procedimiento para oxidar el núcleo de Au(0) en los sistemas Au@p4VP-co-MMA, es idéntico al detallado para Au@p4VP.

Los esquemas sintéticos seguidos tanto para las nanopartículas Janus como para los sistemas con el hueco en el centro, se representan en la figura 3.10.

3.4.4. Microgeles termosensibles de pNIPAM huecos

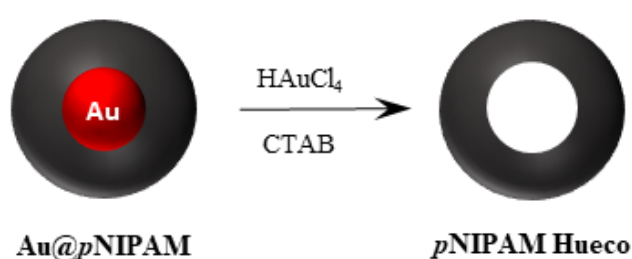


Figura 3.11. Esquema sintético seguido en la preparación del sistema pNIPAM hueco

En un matraz de fondo redondo, sobre una dispersión de Au@pNIPAM (10 mL, 0.5 mM en Au(0)), preparada en el apartado 3.3.1, se añaden 10 mL de una disolución acuosa 50 mM en CTAB y 0.25 mM en H_{AuCl₄}. La mezcla de reacción se deja 12 h en agitación a 28 °C. Pasado este periodo, la dispersión resultante se centrifuga a 8000 rpm durante 30 min. El sobrenadante se descarta y el precipitado se redispersa en 10 mL de agua. A continuación, se centrifuga de nuevo a 8000 rpm durante 30 min. Este proceso de lavado se repite dos veces más y el precipitado de nanopartículas final de pNIPAM se suspende en la mínima cantidad de agua y finalmente se liofiliza.

La figura 3.11 representa el esquema sintético seguido en la preparación del sistema pNIPAM hueco.

3.5. Reacción de reducción empleando sistemas híbridos metalopoliméricos como catalizador

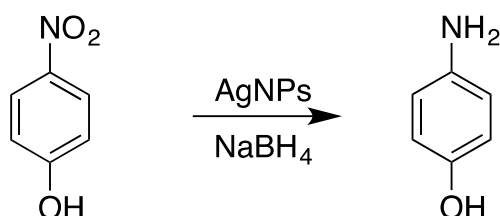


Figura 3.12. Reacción de reducción catalizada por AgNPs

En una cubeta de cuarzo (de 1 cm de paso de luz), se mezcla una solución recién preparada de NaBH_4 en agua (0.5 mL, 60 mM) con otra de 4-nitrofenol en agua (2.0 mL, 0.1 mM). Sobre la mezcla se añade el sistema catalítico (Au@Ag@pNIPAM , Au@Ag@pNIPMA@AgST o pNIPAM@AgST) dispersado en agua (50 μL) con concentraciones (en términos de residuo seco): 0.05 mg/mL para Au@Ag@pNIPAM , 0.025 mg/mL para Au@Ag@pNIPAM@AgST y 0.05 mg/mL para pNIPAM@AgST . La figura 3.12 representa la reacción de reducción de 4-Nip a 4-Amp, que tiene lugar cuando se emplean los sistemas híbridos como catalizadores.

La reacción se lleva a cabo a varias temperaturas (25, 28, 32, 36, 40 y 44 $^{\circ}\text{C}$) y se sigue mediante UV-Vis termostatizado, tomando espectros cada 60 s en el rango de 280-500 nm.

3.6. Instrumentación

Para la caracterización morfológica y análisis composicional de los sistemas híbridos preparados y los posteriores estudios cinéticos y catalíticos, se han utilizado las siguientes técnicas y equipos:

- Los espectros de UV-vis, para la determinación de las concentraciones de AuNPs mediante la medida de la concentración de Au(0), se realizaron en un espectrofotómetro Libra S21 dentro rango espectral 190-1000 nm y una resolución de 2 nm. Las medidas se han adquirido utilizando una cubeta de cuarzo de 1 cm de paso de luz.
- El seguimiento de las reacciones de catálisis a diferentes temperaturas se llevó a cabo por medidas de absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis-NIR Cary 50 de rango espectral total 175-3300 nm, con una lámpara de flash de xenón incorporada y el uso de una cubeta de cuarzo estándar (de 1 cm de paso de luz). Todas las muestras se midieron usando un criostato óptico Optistat DN de Oxford Instruments, a las diferentes temperaturas de ensayo entre 200 nm y 800 nm.
- Para la determinación del tamaño de partícula de los microgeles híbridos sintetizados, se usó la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS), usando un equipo Malvern Zetasizer Nano S (Malvern Instruments, Malvern UK), empleando un ángulo de detección de 173 °. El diámetro de partícula promedio y los valores del índice de polidispersidad se calcularon a partir de un análisis de tipo acumulativo. Los datos se obtuvieron después de 5 min de dispersión y una vez estabilizada la muestra a cada temperatura (de 25 a 44 °C). Todas las mediciones se repitieron 3 veces.
- Los espectros de FTIR se han registrado usando un Espectrofotómetro FT-IR modelo Vertex70 de Bruker, que permite el

registro de espectros FT-IR de muestras sólidas, líquidas y gaseosas en el rango de infrarrojo medio y cercano. Las medidas se llevaron a cabo por Reflectancia Total Atenuada (ATR) y para ello se utilizó un accesorio *Golden Gate Single Reflection Diamond ATR System* de la casa Specac. Las muestras se registraron en estado sólido (liofilizadas, 1 mg aproximadamente de Au@Ag@pNIPAM o Au@Ag@pNIPAM@AgST, o 100 μ L de alilamina pura, que se mezcló con 100 mg de KBr cristalino para formar una pastilla) y haciendo blanco al aire. Para la adquisición de espectros se usó una resolución espectral estándar de 4 cm^{-1} en el rango espectral de 4000-500 cm^{-1} , así como 64 acumulaciones por muestra.

- Las imágenes de microscopía electrónica de transmisión (TEM) se realizaron utilizando un JEOL JEM 1400 a un voltaje de aceleración de 80 kV. Para la preparación de las muestras se puso 8 μ L de cada suspensión en una rejilla de cobre con una membrana de soporte Formvar® de 200 mesh y se dejó secar al aire antes de realizar la medida.
- La microscopía electrónica de alta resolución (HRTEM), microscopía analítica (HAADF-STEM), imágenes de tomografía y los mapeos de energía de rayos X dispersivos (EDX) se realizaron utilizando un FEI Talos F200X operando a un voltaje de 200 kV. El análisis elemental de las muestras se llevó a cabo por un sistema de microanálisis Super-X de cuatro detectores de EDX. En el ensayo, se utilizó la misma rejilla, cargada con la muestra a analizar, que había sido preparada para TEM.
- El análisis termogravimétrico (TGA) se realizó utilizando un sistema Mettler Toledo STAR. Tras liofilización la muestra de nanopartículas híbridas y dejar secar la muestra a vacío durante toda la noche a temperatura ambiente, el ensayo se realizó en crisol de alúmina de 70 μ L en el intervalo de temperaturas 30-900 $^{\circ}\text{C}$, con un flujo de 50 mL/min de aire y una velocidad de calentamiento de 10 $^{\circ}\text{C}/\text{min}$ en atmósfera de Ar.

3.7. Tratamiento informático de los resultados

Para su interpretación y análisis, los espectros obtenidos en las técnicas de UV-Vis, DLS, TGA, etc., además de otros conjuntos de resultados experimentales, han sido representados y tratados usando Origin(Pro), Version 8. OriginLab Corporation, Northampton, MA, USA.

Para el tratamiento de espectros FTIR se ha usado adicionalmente MestReNova, Versión 6.0.2-5475 (2009), MestreLab Research SL.

El tratamiento de imágenes obtenidas de TEM o HRTEM se ha realizado con el software ImageJ 1.52a, National Institutes of Health, USA.

La representación de moléculas orgánicas se ha realizado con ACD/ChemSketch Versión 14.01 (2012), Advanced Chemistry Development, Inc.

Por último, las imágenes de tomografía fueron adquiridas con el microscopio Talos F200X, girando la rejilla con la muestra cada 2 ° hasta 160 °, y fueron reconstruidas para componer una imagen 3D, usando el software del propio fabricante del equipo.

Capítulo 1.

*Estudio cinético de la
oxidación del núcleo de oro en
sistemas Au@pNIPAM y
Au@p4VP*



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Capítulo 1. Estudio cinético de la oxidación del núcleo de oro en sistemas Au@pNIPAM y Au@p4VP.

C.1.1. Antecedentes.....	97
C.1.2. Resultados y discusión	110
C.1.2.1. Preparación y caracterización morfológica de los sistemas híbridos Au@pNIPAM y pNIPAM huecos	110
C.1.2.2. Cinética de la difusión de los reactivos y oxidación del núcleo en sistemas Au@pNIPAM.....	118
C.1.2.3. Caracterización y morfología de los sistemas híbridos pH-sensibles Au@p4VP y p4VP huecos.....	128
C.1.2.4. Cinética de la difusión de los reactivos y oxidación del núcleo en sistemas Au@p4VP.....	133



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

C.1.1. Antecedentes

Durante los últimos años, las nanopartículas híbridas definidas como estructuras en las que un núcleo metálico, polimérico o inorgánico se encuentra recubierto por una matriz polimérica, y clasificadas como tipo núcleo@corteza, presentan numerosas aplicaciones en muy diversos campos. De relevada importancia son las derivadas de pNIPAM y p4VP, al ser estos polímeros sensibles a la temperatura y el pH, respectivamente. Estos microgeles se preparan por polimerización radicalaria en presencia de una molécula que hace de agente entrecruzante, que suele ser un compuesto con dos enlaces dobles terminales, como *N,N'*-metilenbisacrilamida, divinilbenceno o dimetilacrilato de etilenglicol.^{133,134}

La síntesis de estructuras núcleo@corteza conduce a la obtención de estructuras poliméricas macizas, las cuales ya han sido utilizadas en la encapsulación de fármacos.

La nanoencapsulación mejora las propiedades generales de los activos, en particular su solubilidad, protege al fármaco en medios biológicos, facilita el transporte y permite una liberación controlada del mismo. Sin embargo, para estos propósitos, en comparación con los microgeles macizos, las estructuras huecas son más interesantes en términos de carga y liberación de diversas moléculas como polisacáridos, enzimas, ácidos nucleicos o células, ya que pueden usarse como microcontenedores estables, pudiendo ser activados por el pH y la temperatura.^{135,136}

-
- 133 Akamatsu, K., Shimada, M., Tsuruoka, T., Nawafune, H., Fujii, S., Nakamura, Y. (2010). Synthesis of pH-responsive nanocomposite microgels with size-controlled gold nanoparticles from ion-doped, lightly cross-linked poly(vinylpyridine). *Langmuir*, 26(2), 1254–1259.
 - 134 Kim, K. S., Vincent, B. (2005). pH temperature-sensitive behaviors of poly(4-vinyl pyridine-co-N-isopropyl acrylamide) microgels. *Polym. J.*, 37(8), 565–570.
 - 135 Liu, G., Zhu, C., Xu, J., Xin, Y., Yang, T., Li, J., Liu, W. (2013). Thermo-responsive hollow silica microgels with controlled drug release properties. *Colloids Surf. B: Biointerf.*, 111, 7–14.
 - 136 Chen, Y., Chen, Y., Nan, J., Wang, C., Chu, F. (2012). Hollow poly(*N*-isopropylacrylamide)-co-poly(acrylic acid) microgels with high loading capacity for drugs. *J. Appl. Polym. Sci.*, 124, 4678–4685.

Durante los últimos años, la fabricación de nanoestructuras coloidales huecas se ha logrado siguiendo varias estrategias.¹³⁷ El enfoque más general consiste en el uso de nanopartículas que actúan como núcleo (por ejemplo, de oro, poliestireno, sílice, etc.), las cuales se recubren con una cubierta polimérica o microgel, creando así un sistema híbrido tipo núcleo@corteza.^{138,139,140,141,142,143}

Este procedimiento se ilustra con la Figura C.1.1 para el caso de nanopartículas híbridas SiO₂@pNIPAM. Estas partículas núcleo@corteza han sido sintetizadas a partir de núcleos de SiO₂ de 140 nm de diámetro, los cuales fueron previamente funcionalizados con ácido metacrílico, siguiendo el método descrito por Zha y col.¹⁴⁴ Como puede observarse en la Figura C.1.1 (arriba), se empleó BA como agente entrecruzante y la formación de la corteza polimérica se llevó a cabo usando persulfato de potasio como iniciador de la polimerización, a 70 °C durante 6 h, siendo estudiado el proceso para diferentes concentraciones de monómero (NIPAM).

En la misma figura (abajo), se representan las imágenes TEM para los sistemas híbridos formados a partir de una concentración de NIPAM de

-
- 137 Liu, X., Yang, J., Zha, L., Jiang, Z. (2014). Self-assembly of hollow pNIPAM microgels to form discontinuously hollow fibers. *Chin. J. Polym. Sci.*, 32(11), 1544–1549.
- 138 Zha, L. S., Zhang, Y., Yang, W. L., Fu, S. K. (2002). Monodisperse temperature-sensitive microcontainers. *Adv. Mater.*, 14(15), 1090.
- 139 Xing, Z., Wang, C., Yan, J., Zhang, L., Li, L., Zha, L. (2010). pH/temperature dual stimuli-responsive microcapsules with interpenetrating polymer network structure. *Colloid Polym. Sci.*, 288(18), 1723–1729.
- 140 Singh, N., Lyon, L. A. (2007). Au nanoparticle templated synthesis of pNIPAm nanogels. *Chem. Mater.*, 19(4), 719–726.
- 141 Zhang, Y., Jiang, M., Zhao, J., Ren, X., Chen, D., Zhang, G. (2005). A novel route to thermosensitive polymeric core-shell aggregates hollow spheres in aqueous media. *Adv. Funct. Mater.*, 15(4), 695–699.
- 142 Wu, S., Kaiser, J., Drechsler, M., Ballauff, M., Lu, Y. (2012). Thermosensitive Au-pNIPAM yolk-shell particles as “nanoreactors” with tunable optical properties. *Colloid Polym. Sci.*, 291(1), 231–237.
- 143 Wu, S., Dzubiella, J., Kaiser, J., Drechsler, M., Guo, X., Ballauff, M., Lu, Y. (2012). Thermosensitive Au-pNIPAM Yolk-Shell nanoparticles with tunable selectivity for catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 51(9), 2229–2233.
- 144 Lapeyre, V., Renaudie, N., Dechezelles, J.-F., Saadaoui, H., Ravaine, S., Ravaine, V. (2009). Multiresponsive hybrid microgels hollow capsules with a layered structure. *Langmuir*, 25(8), 4659–4667.

35 y 70 mM, respectivamente. Como se puede comprobar, el aumento de la concentración de NIPAM guarda una relación lineal con el espesor de capa conseguido, por lo que el espesor de la corteza de estos sistemas es modulable alterando la concentración del monómero durante la síntesis.

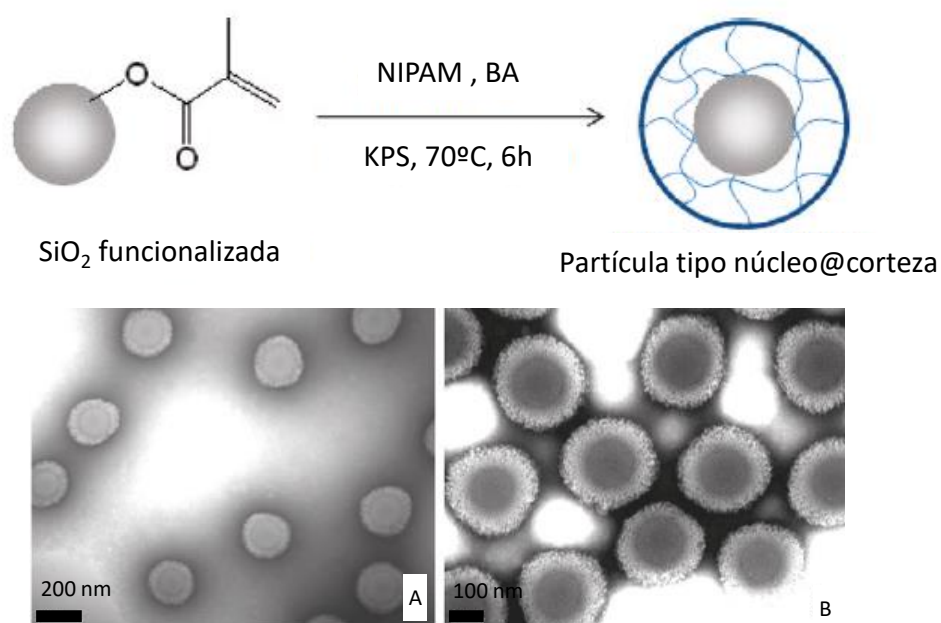


Figura C.1.1. (Arriba) Ejemplo de fabricación de NPs tipo núcleo@corteza de SiO_2 @pNIPAM y pNIPAM huecas, (Abajo) Imágenes TEM representativas de estas partículas sintetizadas bajo diferentes condiciones: A) $d\text{SiO}_2 = 140 \text{ nm}$, $[\text{NIPAM}] = 35 \text{ mM}$, escala 200 nm; B) $d\text{SiO}_2 = 140 \text{ nm}$, $[\text{NIPAM}] = 70 \text{ mM}$, escala 150 nm.

De forma más reciente, se ha llevado a cabo la síntesis de nanopartículas híbridas núcleo@corteza compuestas por un núcleo de nanopartículas de sílice mesoporosa hueco (HMS) y una cubierta sensible a la temperatura preparada con un copolímero derivado de N-(3,4-dihidroxifenil)metacrilamida (pDMA) y N-isopropilacrilamida.¹⁴⁵ Además, en presencia de Fe^{3+} , se formaron complejos catecol- Fe^{3+} para lograr una cubierta de polímero sensible al pH, que se combina con la sensibilidad

145 Peng, W., Zhang, Z., Rong, M., Zhang, M. (2019). Core-shell structure design of hollow mesoporous silica nanospheres based on thermo-sensitive pNIPAM pH-responsive catechol- Fe^{3+} complex. *Polymers*, 11(11), 1832-1847.

térmica del pNIPAM (Figura C.1.2). En este sistema se utilizó doxorubicina como fármaco modelo y se investigaron las características de carga y liberación del activo en dichas nanopartículas.

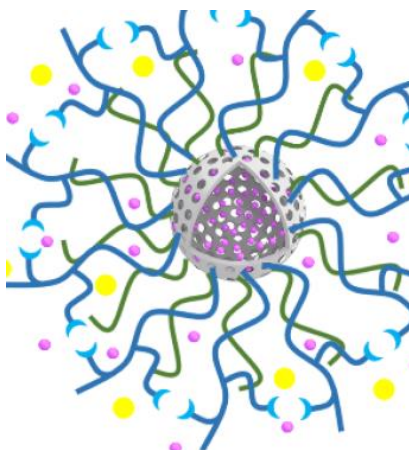


Figura C.1.2. Sistemas núcleo@corteza de sílice mesoporoso hueco. Doxorubicina (círculo rosa), pNIPAM (cadena verde), catecol (semicírculo azul), Fe^{3+} (círculo amarillo) y PDMA (cadena azul).

Siguiendo esta estrategia, una vez conseguida la estructura núcleo@corteza, una posterior eliminación del núcleo da como resultado la obtención de una estructura coloidal hueca. En el caso del polímero pNIPAM, se han publicado varias síntesis de estructuras termosensibles huecas derivadas del mismo. Los autores mencionados, Zha y col., sintetizaron partículas huecas de pNIPAM mediante tratamiento con HF de partículas de $SiO_2@pNIPAM$.¹⁴⁶

Este mismo proceso fue seguido por Lapeyre y col. (trabajo del cual se ha extraído la Figura C.1.1), que sintetizaron sistemas complejos $SiO_2@pNIPAM@pNIPAM$, los cuales presentan corteza multicapa, y de los que el núcleo de sílice fue eliminado también por tratamiento con HF.¹⁴⁷

146 Zha, L. S., Zhang, Y., Yang, W. L., Fu, S. K. (2002). Monodisperse temperature-sensitive microcontainers. *Adv. Mater.*, 14(15), 1090-1092.

147 Lapeyre, V., Renaudie, N., Dechezelles, J.-F., Saadaoui, H., Ravaine, S., Ravaine, V. (2009). Multiresponsive hybrid microgels hollow capsules with a layered structure. *Langmuir*, 25(8), 4659–4667.

También se han empleado compuestos poliméricos como núcleos sobre los que se crece un microgel polimérico. Por ejemplo, Chen y col. emplearon hidropropilcelulosa (HPC) como núcleo y un recubrimiento de pNIPAM y poli-(ácido acrílico), pAA.¹⁴⁸ La fabricación de la estructura hueca se consiguió por eliminación del núcleo mediante tratamiento con hidróxido sódico. La Figura C.1.3 muestra las imágenes TEM de los sistemas híbridos de HPC@pAA-co-pNIPAM (Figura C.1.3.A) y pAA-co-pNIPAM hueco (Figura C.1.3.B). Las partículas, tanto macizas como huecas, presentan una distribución de tamaños media de entre 300 y 400 nm.

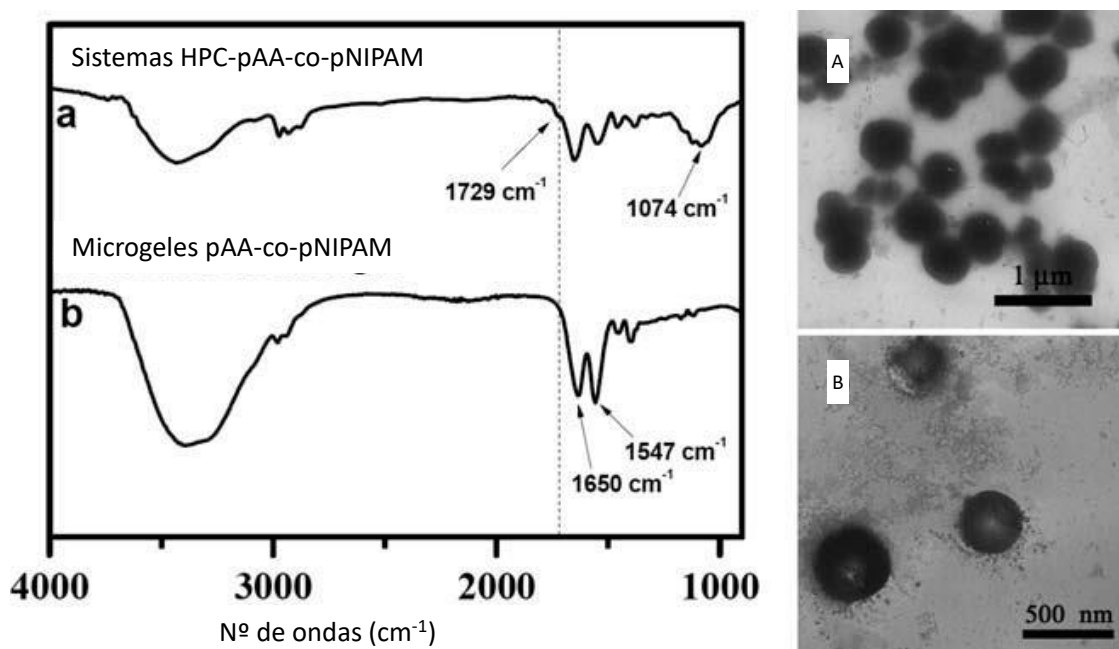


Figura C.1.3. Espectro FTIR e imágenes TEM de microgeles A) antes y B) después del tratamiento con disolución de NaOH.

En la Figura C.1.3 se muestra en la parte izquierda el espectro de FTIR de los sistemas huecos y macizos. Mediante esta técnica es posible determinar la presencia o ausencia del núcleo en los sistemas núcleo@corteza. Dichos espectros corresponden a los sistemas antes (A) y después (B) de eliminar el núcleo de HPC. Las bandas características de

148 Chen, Y., Chen, Y., Nan, J., Wang, C., Chu, F. (2012). Hollow poly(*N*-isopropylacrylamide)-co-poly(acrylic acid) microgels with high loading capacity for drugs. *J. Appl. Polym. Sci.*, 124, 4678–4685.

absorción asociadas a HPC (1074 cm^{-1}), pNIPAM (1650 cm^{-1} , 1547 cm^{-1}) y pAA (1729 cm^{-1}) aparecen claramente en el espectro del sistema con núcleo. En el espectro (B) la banda de 1074 cm^{-1} asociada a la HPC desaparece, confirmándose la eliminación de este y la formación del sistema hueco.

En cuanto a las partículas con núcleo metálico, también se ha empleado óxido de cobre como núcleo para la preparación de nanopartículas núcleo@corteza. En concreto, Jia y Col. utilizaron nanocubos de Cu_2O para crear estructuras de $\text{Cu}_2\text{O}@p\text{NIPAM}$.¹⁴⁹ Este tipo de estructuras se han empleado en la construcción de sistemas de detección de NO_2 .

El oro es uno de los metales más empleados en la preparación de este tipo de estructuras núcleo@corteza y sistemas huecos. Lyon y col. publicaron la fabricación de nanopartículas huecas de pNIPAM termosensibles, a partir de sistemas híbridos de oro recubierto de pNIPAM ($\text{Au}@p\text{NIPAM}$). En ellos, la eliminación del núcleo de oro se consiguió acomplejando el núcleo de $\text{Au}(0)$ con KCN.¹⁵⁰ Estos autores, además de la síntesis y caracterización de las estructuras huecas, investigaron la velocidad de desaparición del núcleo de $\text{Au}(0)$ por encima y por debajo de $32\text{ }^\circ\text{C}$, en función del grosor del recubrimiento de microgel.

Carregal-Romero y col. han publicado acerca de la influencia del grado de entrecruzamiento del microgel (densidad de reticulación) en el comportamiento de la respuesta térmica en sistemas $\text{Au}@p\text{NIPAM}$.¹⁵¹ Estos autores modularon el grado de entrecruzamiento mediante la adición de cantidades controladas de un agente entrecruzante y usaron estos sistemas como catalizadores de la reacción de reducción de hexacianoferrato (III), $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}$, con borohidruro sódico.

149 Jia, H., Gao, H., Mei, S., Kneer, J., Lin, X., Ran, Q. Lu, Y. (2018). $\text{Cu}_2\text{O}@p\text{NIPAM}$ core-shell microgels as novel inkjet materials for the preparation of CuO hollow porous nanocubes gas sensing layers. *J. Mater. Chem. C*, 6(27), 7249–7256.

150 Singh, N., Lyon, L. A. (2007). Au nanoparticle templated synthesis of pNIPAM nanogels. *Chem. Mater.*, 19(4), 719–726.

151 Carregal-Romero, S., Buurma, N. J., P. rez-Juste, J., Liz-Marzán, L. M., Hervés, P. (2010). Catalysis by $\text{Au}@p\text{NIPAM}$ nanocomposites: effect of the cross-linking density. *Chem. Mater.*, 22(10), 3051–3059.

Por otra parte, Contreras-Cáceres y col. han llevado a cabo la oxidación selectiva del núcleo de oro de estos mismos sistemas (Au@pNIPAM) mediante la adición de iones AuCl_4^- a una dispersión acuosa de partículas Au@pNIPAM , en presencia de CTAB y HAuCl_4 .¹⁵² Estos autores demostraron que la estructura hueca también es dependiente de la relación entre la cantidad de agente entrecruzante y la elasticidad del microgel.

Sin embargo, era necesaria una investigación más detallada además de un estudio de la velocidad de oxidación de oro en función de la densidad de reticulación.

Continuando con los sistemas pH-sensibles, se ha conseguido preparar mediante ensamblaje capa a capa (layer by layer, LBL) de polielectrolitos débiles como *poli*(4-vinilpiridina) (*p4VP*) y *poli*(ácido metacrílico) (*pMA*) sobre partículas de SiO_2 . Liu y col. utilizaron copolímeros anfifílicos con núcleo de poliestireno para la síntesis de vesículas sensibles al pH.¹⁵³

Más recientemente, se han fabricado sistemas híbridos Au@p4VP tipo núcleo@corteza que se han modificado con satélites metálicos en la superficie, Au@p4VP@MeST . Estos están formados por un núcleo de Au en el centro, una corteza de *p4VP* y nanopartículas metálicas de Pt o Pd, insertadas en el microgel a modo de satélites.¹⁵⁴ Lee y col. usaron citrato como agente estabilizante y un disulfuro de cadena alifática para funcionalizar la superficie de la nanopartícula de oro. La formación del microgel de *p4VP* se lleva a cabo utilizando como iniciador PMDETA (*N,N,N',N'',N'''*-pentametildietilentriamina) y CuBr. La Figura C.1.4 muestra el esquema sintético seguido por estos autores y las imágenes TEM del sistema Au@p4VP resultado de dicha síntesis. Como se puede observar en este sistema el Au(0) queda en el centro del microgel.

152 Contreras-Cáceres, R., Schellkopf, L., Fernández-López, C., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J., Stamm, M. (2015). Effect of the cross-linking density on the thermoresponsive behavior of hollow pNIPAM microgels. *Langmuir*, 31, 1142–1149.

153 Liu, F., Eisenberg, A. (2003). Preparation pH triggered inversion of vesicles from *poly*(acrylic Acid)-block-*polystyrene*-block-*poly*(4-vinyl Pyridine). *J. Am. Chem. Soc.*, 125(49), 15059–15064.

154 Lee, J.-E., Chung, K., Jang, Y. H., Jang, Y. J., Kochuveedu, S. T., Li, D., Kim, D. H. (2012). Bimetallic multifunctional core@shell plasmonic nanoparticles for Localized Surface Plasmon Resonance based sensing electrocatalysis. *Anal. Chem.*, 84(15), 6494–6500.

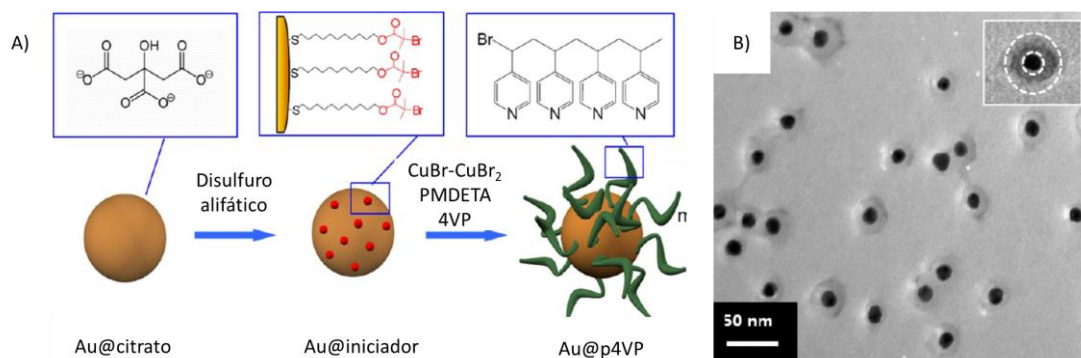


Figura C.1.4. A) Esquema sintético seguido en la síntesis alternativa de sistemas Au@p4VP tipo núcleo@corteza y B) imagen representativa TEM de dicho sistema.

Las partículas núcleo@corteza de p4VP se han utilizado también para el transporte y liberación controlada de fármacos. Recientemente se ha publicado un trabajo enfocado en la síntesis de partículas coloidales Au@p4VP para el atrapamiento de doxorrubicina y su detección mediante espectroscopia SERS (Figura C.1.5).¹⁵⁵ En esta publicación, la capacidad de respuesta al pH se aprovecha para el atrapamiento químico del clorhidrato de doxorrubicina en la red polimérica de p4VP y el control de su liberación. La presencia del antitumoral se evidencia mediante mediciones de espectroscopia SERS, y la cuantificación de eficiencia de atrapamiento de Dox en el sistema Au@p4VP se determina mediante espectroscopía UV-Vis de los sobrenadantes.

155 Clara-Rahola, J., Moscoso, A., Belén Ruiz-Muelle, A., Laurenti, M., Formanek, P., López-Romero, J. M., Contreras-Cáceres, R. (2018). Au@p4VP core@shell pH-sensitive nanocomposites suitable for drug entrapment. *J. Colloid Interf. Sci.*, 514, 704–714.

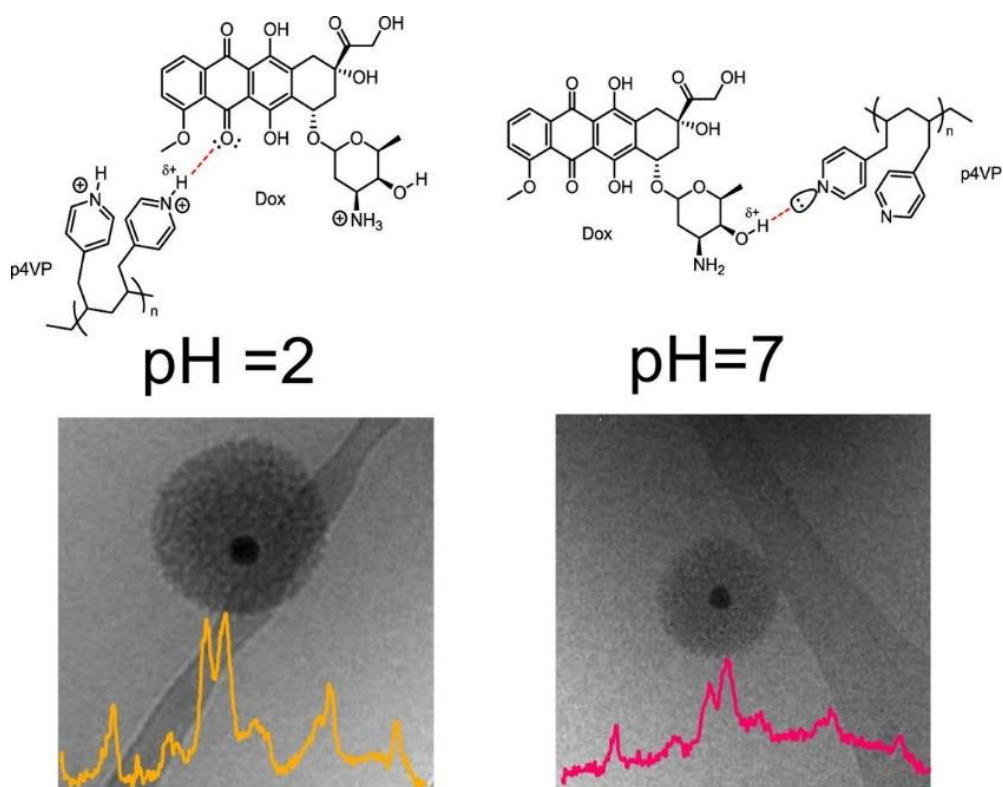


Figura C.1.5.(Arriba) Esquema ilustrativo de las interacciones entre Dox-p4VP a diferentes pH (estado hinchado y colapsado del microgel). (Abajo) Imágenes TEM representativas del sistema Au@p4VP con Dox atrapada en la red. Sobre estas imágenes se proyecta el correspondiente espectro SERS con las bandas características de la molécula Dox, que indican su presencia en la nanopartícula.

Con respecto a las nanoestructuras huecas sensibles al pH, estas han sido menos estudiadas que las sensibles a la temperatura. Nuestro grupo de investigación ha publicado un trabajo acerca de la síntesis de partículas coloidales Au@p4VP y los sistemas de microgeles huecos de p4VP, que se utilizaron en la encapsulación de una molécula anticancerígena (paclitaxel) con el objetivo de mejorar la eficacia quimioterapéutica del fármaco en líneas celulares de cáncer de pulmón y mama.¹⁵⁶ Este sistema hueco se obtuvo oxidando el núcleo de Au(0) en un sistema Au@p4VP previamente preparado por tratamiento con una mezcla Au³⁺-CTAB.

156 Contreras-Cáceres, R., Leiva, M. C., Ortiz, R., Díaz, A., Perazzoli, G., Casado-Rodríguez, M. A., Melguizo, M.A., Baeyens, J.M., López-Romero, J.M., Prados, J. (2017). Paclitaxel-loaded hollow-poly(4-vinylpyridine) nanoparticles enhance drug chemotherapeutic efficacy in lung breast cancer cell lines. *Nano Research*, 10(3), 856–875.

En la Figura C.1.6 se muestran imágenes de microscopía TEM de sistemas núcleo@corteza de Au@p4VP y los correspondientes sistemas huecos, después de la eliminación del núcleo de oro por oxidación de este.

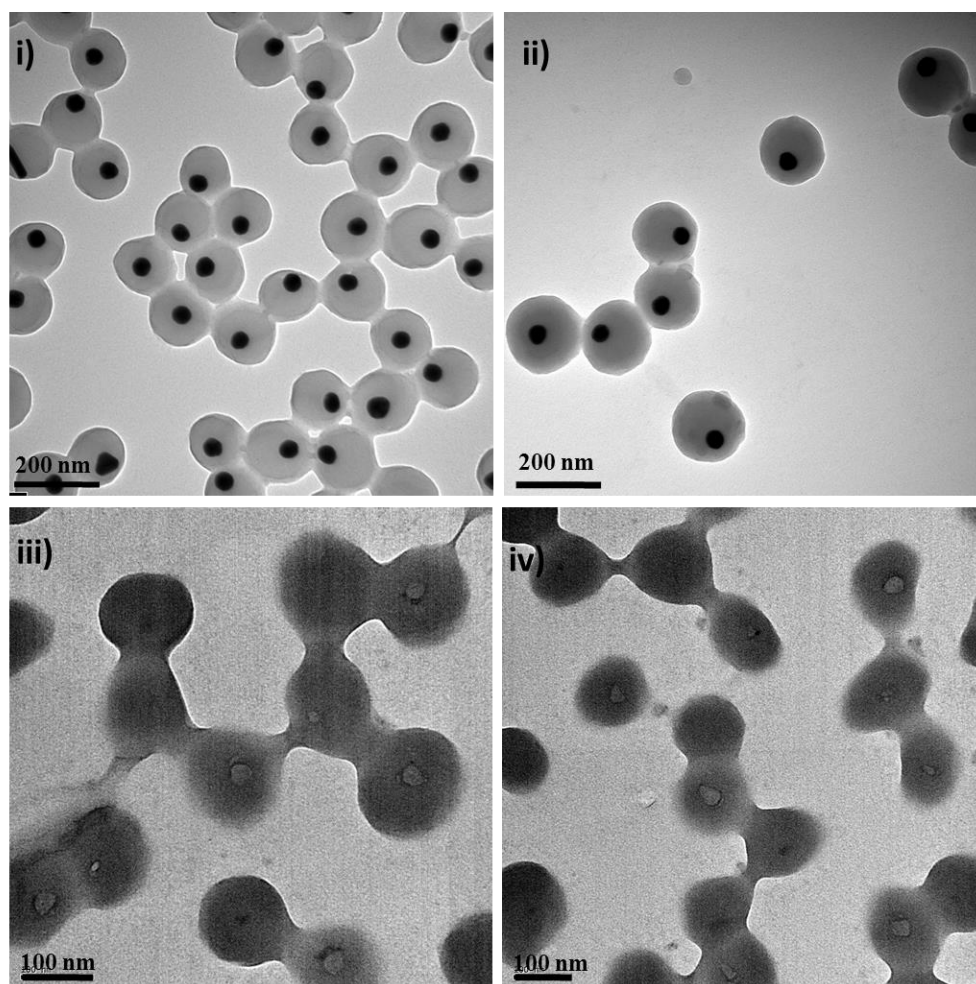


Figura C.1.6. Imágenes TEM de microgeles núcleo@corteza de p4VP i) y ii) antes, y iii) y iv) después del tratamiento con Au^{3+} -CTAB

Asimismo, se ha publicado recientemente la preparación de nanoestructuras huecas sensibles al pH compuestas de un copolímero derivado de 4VP y estireno (p4VP-co-PS)^{157,158} y de otro derivado de 4VP

157 Wang, Y., Hu, L., Yin, Q., Du, K., Zhang, T., Yin, Q. (2019). Multi-responsive hollow nanospheres self-assembly by amphiphilic rom copolymer azobenzene. *Polymer*, 175, 235-242.

158 Hong, J., Cho, J., Char, K. (2011). Hollow capsules prepared from all block copolymer micelle multilayers. *J. Colloid Interf. Sci.*, 364(1), 112-117.

y acrilonitrilo (p4VP-co-PAN).¹⁵⁹ Este tipo de sistemas tiene como característica de interés que se auto ensamblan en forma de nanoesferas huecas, por lo que no es necesario tomar como plantilla un núcleo de otro material para después eliminarlo.

En referencia a los sistemas Janus, definidas como partículas que presentan dos caras de distinta naturaleza química o morfológica, se han llevado a cabo estudios de preparación de sistemas sensibles al pH.^{160,161,162} En concreto, se han preparado partículas de p4VP mediante el ensamblaje de dos subunidades poliméricas para obtener nanopartículas del tipo *PS-b-p4VP*. Para ello, a partir de una subunidad de homopoliestireno (*hPS*) que hace de molde, seguido de la polimerización de p4VP y desmontaje posterior de la subunidad de *PS*, se llega a la formación de las partículas Janus de p4VP.

En este Capítulo 1 de la Tesis Doctoral, se exponen con detalle los resultados obtenidos en el estudio cinético de la oxidación de nanopartículas de oro esféricas (AuNPs) encapsuladas dentro de microgeles que responden al pH y a la temperatura. Para ello, en primer lugar, se fabrican dos tipos de sistemas híbridos a partir de nanopartículas esféricas de oro, uno recubierto con un microgel termosensible (pNIPAM) para dar lugar a sistemas Au@pNIPAM, y otro con un recubrimiento polimérico sensible a pH (p4VP) obteniéndose sistemas Au@p4VP.

En segundo lugar, se estudia la eliminación gradual del oro por tratamiento de cada sistema híbrido con una mezcla de CTAB y una sal de Au³⁺ (HAuCl₄), obteniendo así estructuras coloidales huecas.

159 Zhang, T., Jin, C., Wang, L., Yin, Q. (2014). One-step synthesis of hollow polymeric nanospheres: self-assembly of amphiphilic azo polymers via hydrogen bond formation. *RSC Adv.*, 4(69), 36882–36889.

160 Tang, L., Liang, F., Wang, Q., Qu, X., Jiang, B., Yang, Z. (2017). Polymer/metal segmental Janus nanoparticles. *Chin. J. Polym. Sci.*, 35(7), 799–808.

161 Xu, J., Wu, Y., Wang, K., Shen, L., Xie, X., Zhu, J. (2016). The generation of polymeric nanobowls through 3D confined assembly disassembly. *Soft Matter*, 12(16), 3683–3687.

162 Deng, R., Liang, F., Qu, X., Wang, Q., Zhu, J., Yang, Z. (2015). Diblock copolymer based Janus nanoparticles. *Macromol.*, 48(3), 750–755.

Además, la síntesis de los sistemas Au@pNIPAM y Au@p4VP se realizó a diferentes densidades de reticulación (5, 10 y 15 % de agente entrecruzante, BA, Figura C.1.7) y el estudio de la oxidación de oro se llevó a cabo para los dos estados posibles del microgel, hinchado y colapsado. La eliminación del núcleo de oro puede seguirse por observación espectroscópica de la disminución de la banda de absorción del plasmón de oro con el tiempo.^{163,164}

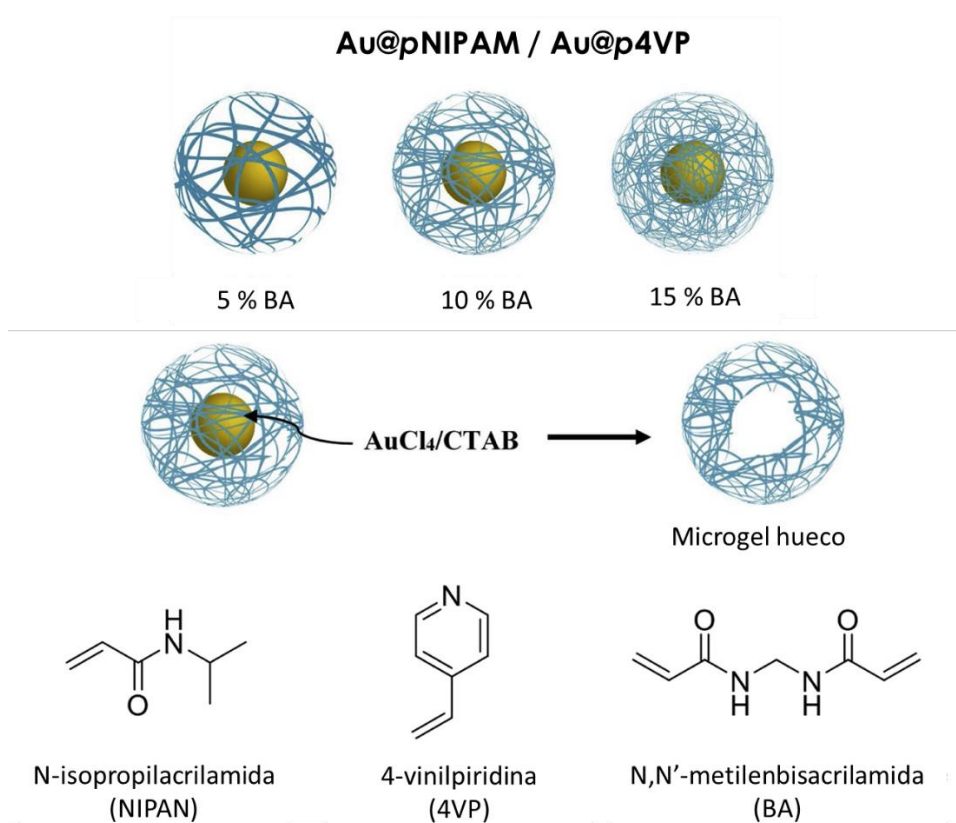


Figura C.1.7. (arriba) Representación esquemática de microgeles Au@pNIPAM and Au@p4VP usando 5, 10 and 15 % BA. Oxidación del núcleo de Au y obtención de los microgeles huecos en presencia de mezcla AuCl₄/CTAB (en medio). (abajo) Estructura química de NIPAM, 4VP y BA.

163 Singh, N., Lyon, L. A. (2007). Au nanoparticle templated synthesis of pNIPAm nanogels. *Chem. Mater.*, 19(4), 719–726.

164 Marinakos, S. M., Novak, J. P., Brousseau, L. C., House, A. B., Edeki, E. M., Feldhaus, J. C., Feldheim, D. L. (1999). Gold particles as templates for the synthesis of hollow polymer capsules. Control of capsule dimensions guest encapsulation. *J. Am. Chem. Soc.*, 121(37), 8518–8522.

Finalmente, a partir de los resultados del estudio UV-Vis en función del tiempo se han determinado dos parámetros, la constante de velocidad de oxidación del núcleo de Au(0) y el coeficiente de difusión de la molécula (complejo $\text{AuCl}_4^-/\text{CTAB}$) en el proceso de eliminación del núcleo de oro.

Esta investigación ofrece la posibilidad de mejorar la fabricación de microgeles huecos sensibles al pH y a la temperatura, y por ello a ampliar y mejorar sus aplicaciones biomédicas en la encapsulación y liberación controlada de fármacos al cambiar la temperatura o el pH.

C.1.2. Resultados y discusión

C.1.2.1. Preparación y caracterización morfológica de los sistemas híbridos termosensibles Au@pNIPAM y pNIPAM huecos

La preparación de los microgeles huecos requiere una síntesis en varias etapas, cuyo detalle se ha descrito en la Parte Experimental de esta memoria, y se representa de forma esquemática en la Figura C.1.8. El procedimiento que se describe aquí es el mismo para partículas en las que el polímero es pNIPAM o p4VP.

La primera de esas etapas es la preparación de AuNP estables con un diámetro medio de ~50 nm (Au50@CTAB). Para ello se ha seguido una modificación del método de crecimiento mediado por semilla.¹⁶⁵ Este método se basa en la reducción de HAuCl₄ con ácido ascórbico, usando como semillas nanopartículas de Au(0) de aproximadamente 15 nm de diámetro estabilizadas con CTAB. Estas semillas (Au15@CTAB) se preparan previamente mediante reducción de una disolución de HAuCl₄ con citrato sódico (síntesis de Turkevich).¹⁶⁶

¹⁶⁵ Contreras-Cáceres, R., Pastoriza-Santos, I., Alvarez-Puebla, R. A., Pérez-Juste, J., Fernández-Barbero, A., Liz-Marzán, L. M. (2010). Growing Au/Ag nanoparticles within microgel colloids for improved surface-enhanced Raman scattering detection. *Chem. A Eur. J.*, 16, 9462-9467.

¹⁶⁶ Turkevich, J., Stevenson, P. C., Hillier, J. (1951). A study of the nucleation growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Soc.*, 11, 55.

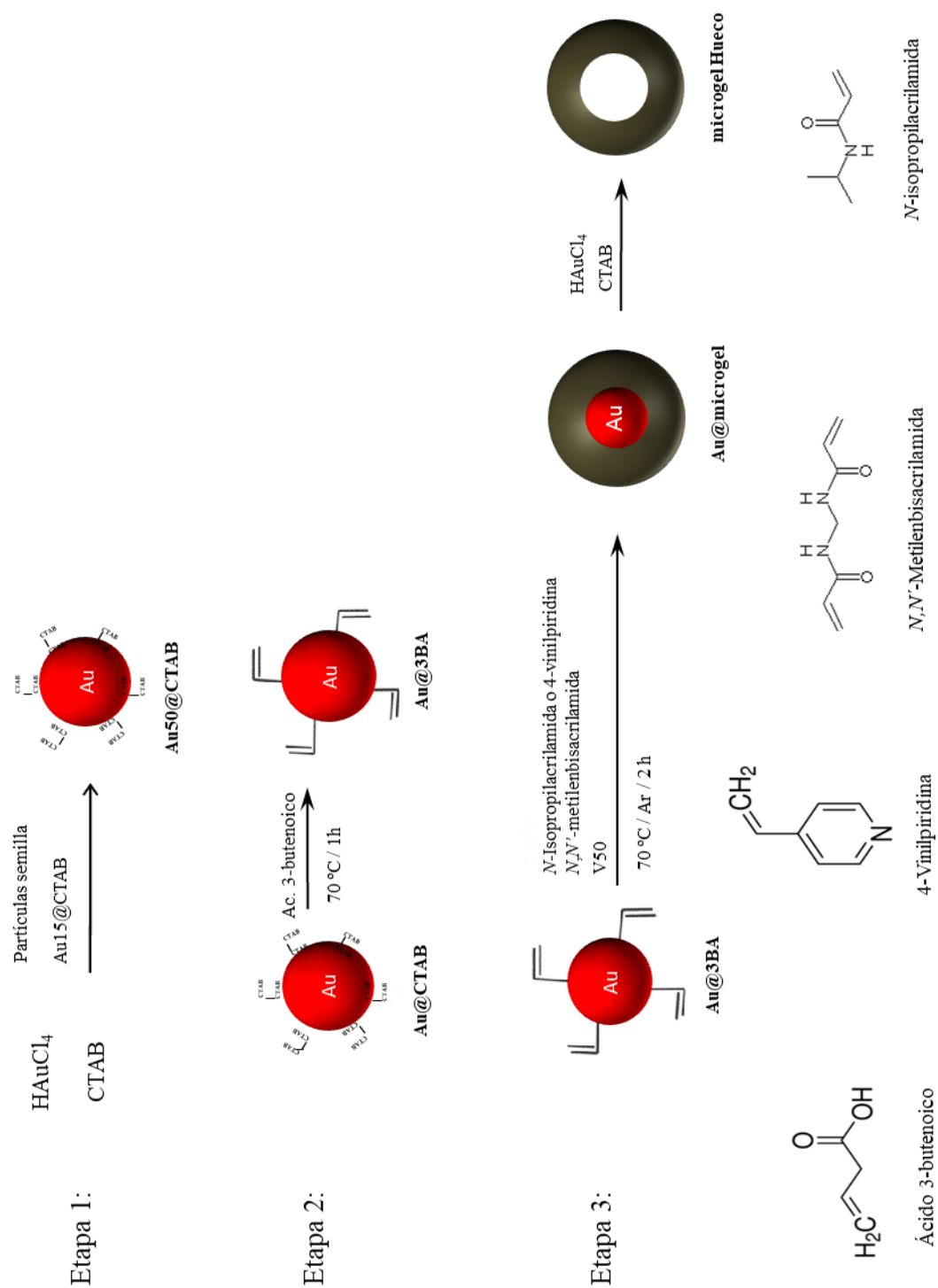


Figura C.1.8. Esquema de obtención de microgeles huecos de pNIPAM y p4VP.

Para llevar a cabo esta síntesis, fue necesario conocer la concentración de Au(0) inicial, la cual se calculó mediante espectroscopía UV-Vis, a partir del valor de la absorbancia obtenido a 400 nm. Con ese dato de concentración de nanopartículas, y empleando la ecuación [1], se calcularon las concentraciones de las disoluciones de ácido ascórbico y H_{AuCl}₄ necesarias para el crecimiento de las AuNPs hasta 50 nm.

$$R_f = R_o \sqrt[3]{\frac{[Au(0)] + [HAuCl_4]}{[Au(0)]}} \quad [1]$$

Donde, R_f = radio de nanopartícula final (nm);

R_o = radio d nanopartícula inicial (nm)

$[Au(0)]$ = concentración de semilla (M);

$[HAuCl_4]$ = concentración de la disolución de crecimiento (M)

En nuestro caso, para realizar el crecimiento hasta $R_f = 25$ nm, se precisó de una concentración de Au(0) 0.049 mM, y una disolución de H_{AuCl}₄ de concentración 1 mM. Además, para que la reducción tuviera lugar, se añadió ácido ascórbico, como agente reductor, y CTAB, como estabilizante.

En una segunda etapa, antes de proceder al recubrimiento polimérico de los núcleos metálicos, fue necesaria la funcionalización de la superficie de éstos con una molécula que aportara un doble enlace terminal, que sirve para enlazar con la molécula de monómero de interés mediante una posterior polimerización que transcurre por mecanismo radicalario. Para ello se utilizó 3BA (Figura C.1.8).

En una tercera etapa, se llevó a cabo el recubrimiento de la partícula modificada con 3BA (Au@3BA) con el polímero, empleando 4-vinilpiridina (4VP) o N-isopropilacrilamida (NIPAM), obteniéndose partículas Au@microgel (Figura C.1.8.). Este recubrimiento se realizó mediante polimerización radicalaria iniciada por el compuesto V50, y añadiendo un agente entrecruzante, N,N'-metilenbisacrilamida (BA).

Con objeto de analizar el efecto del grado de entrecruzamiento en la red polimérica durante la posterior eliminación del núcleo de Au(0), se realizaron varias síntesis variando la cantidad de BA. En concreto, 5, 10 y 15 % en mol con respecto al monómero (4VP o NIPAM).

La concentración de Au(0) en las dispersiones coloidales de los sistemas híbridos obtenidos, Au@microgel, también se determinó mediante UV-Vis, usando como valor de longitud de onda el máximo del plasmón, 520 nm, en lugar de 400 nm, para que no afectara la dispersión (scattering) de la luz incidente producido por el microgel. Conocido este valor de concentración, se prepararon disoluciones de concentración 0.5 mM.

Finalmente, en la cuarta etapa, el núcleo de oro de estos sistemas híbridos se oxidó por tratamiento con una disolución de HAuCl₄ (sal de Au³⁺) en presencia del estabilizante CTAB, siendo la cantidad añadida de ion Au³⁺ la mitad de la concentración de Au(0) en nuestra dispersión de nanopartículas.

La morfología híbrida inicial tipo núcleo@corteza de las partículas preparadas, así como su estructura hueca final, se ha confirmado mediante análisis por microscopía electrónica de transmisión (TEM). La dimensión de las partículas y su variación en función de la temperatura y el pH, se controlaron mediante mediciones de dispersión dinámica de luz (DLS). La velocidad de oxidación del núcleo de Au, así como la difusión de la mezcla Au³⁺/CTAB a través de la red de microgel, se obtuvo analizando la disminución en la banda de absorción de plasmón de Au(0) durante el proceso de oxidación.¹⁶⁷

Las imágenes TEM representativas de los resultados obtenidos para pNIPAM se incluyen en la Figura C.1.9, donde se muestran tanto sistemas núcleo@corteza (Figura C.1.9.A) como huecos (Figura C.1.9.B). También se muestran imágenes de los sistemas Au@pNIPAM en la Figura C.1.10. Los resultados obtenidos para p4VP se detallan en el apartado C.1.2.3.

167 Singh, N., Lyon, L. A. (2007). Au nanoparticle templated synthesis of pNIPAM nanogels. *Chem. Mater.*, 19(4), 719–726.

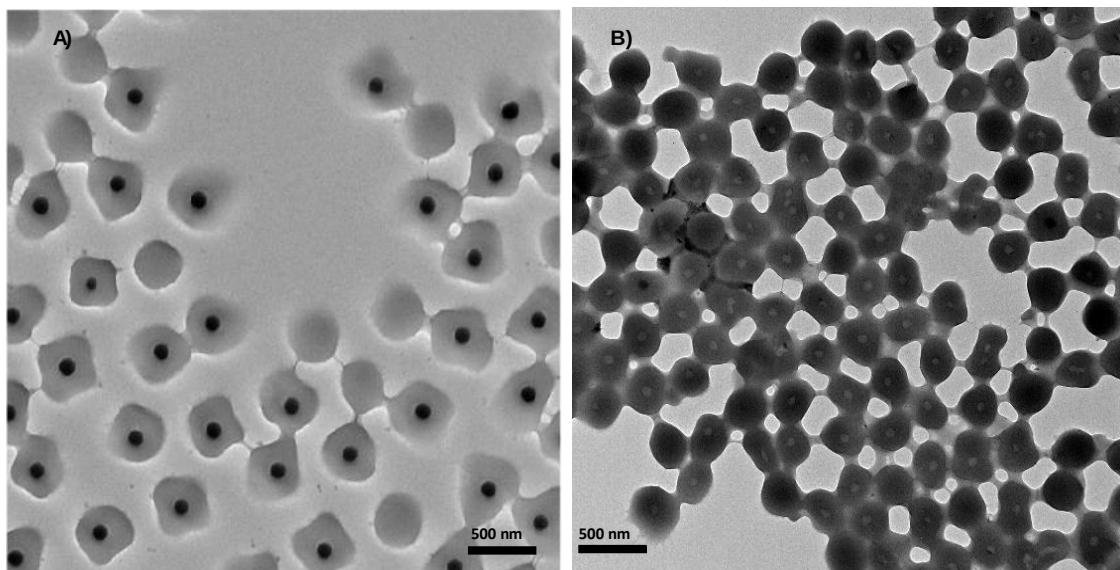


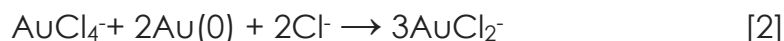
Figura C.1.9. Imágenes TEM representativas A) del sistema Au@pNIPAM y B) de microgeles de pNIPAM huecos al 10 % de BA.

Como puede observarse en la Figura C.1.9, mediante este procedimiento se obtuvieron microgeles huecos en los que el núcleo de Au se eliminó por oxidación realizada sobre sistemas híbridos núcleo@corteza de Au@pNIPAM.

El sistema inicial Au@pNIPAM estaba constituido por un núcleo de oro esférico de 50 nm recubierto por una capa de pNIPAM (Figura C.1.9.A). El análisis de las dimensiones de las partículas de oro se ha realizado midiendo un total de 100 AuNPs, y este estudio reveló un diámetro promedio del núcleo de 48.6 ± 3.4 nm.

En este sistema, la porosidad de microgel permite que difunda el complejo $\text{AuCl}_4^-/\text{CTAB}$ a través de la red polimérica hacia la superficie del núcleo de oro. Como se ha comentado, para estudiar este aspecto, se han preparado microgeles empleando diferentes cantidades de agente entrecruzante (BA). Las variaciones de concentración de BA influyen en la forma de difundir los iones $\text{AuCl}_4^-/\text{CTAB}$ a través del gel, y con ello influirá en la velocidad de oxidación.

Como se ha publicado anteriormente,¹⁶⁸ la constante de equilibrio para oxidar Au(0) con AuCl₄⁻ a AuCl₂⁻ es muy baja (Ecuación [2]), lo que indica que es un proceso desfavorecido. Sin embargo, la presencia de iones bromuro (Br⁻) altera los potenciales redox y permite la oxidación de Au(0) a AuCl₂⁻.



La naturaleza núcleo@corteza de todos los sistemas híbridos termosensibles fabricados a distintos grados de entrecruzamiento se verificó mediante análisis TEM. La Figura C.1.10 incluye imágenes TEM para sistemas Au@pNIPAM a 5, 10 y 15 % de BA, respectivamente. Como se observa, el sistema híbrido está formado por un núcleo de Au(0) que se encuentra rodeado por una cubierta de polímero. En todos los casos se aprecian esferas de oro (alto contraste) recubiertas por una cubierta de microgel monodisperso (bajo contraste). Esta muestra también fue comentada en la Figura C.1.9.

168 Rodríguez-Fernández, J., Pérez-Juste, J., Mulvaney, P., Liz-Marzán, L. M. (2005). Spatially-directed oxidation of gold nanoparticles by Au(III)–CTAB complexes. *J. Phys. Chem. B*, 109(30), 14257–14261.

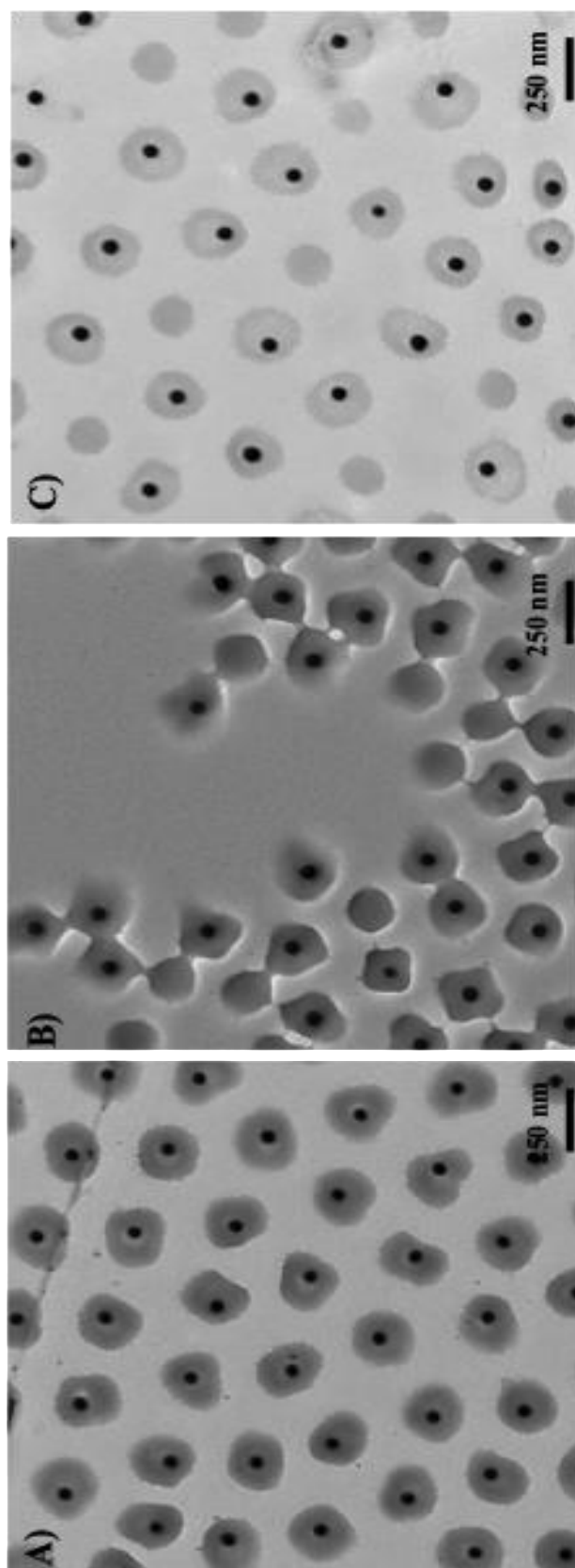


Figura C.1.10. Imágenes TEM de microgeles híbridos Au@pNIPAM a A) 5 %, B) 10 % y C) 15 % de BA.

El tamaño de estas partículas Au@pNIPAM fue medido a diferentes temperaturas mediante DLS. A 27 °C, donde el polímero se encuentra expandido, y a 50 °C, temperatura a la que se encuentra colapsado. En la Tabla C.1.1. se incluye el diámetro hidrodinámico (D_h) medido mediante DLS en ambos estados del microgel (hinchado y colapsado) para las tres diferentes densidades de entrecruzamiento sintetizadas.

Tabla C.1.1. Diámetro hidrodinámico (D_h) para el sistema Au@pNIPAM sintetizado con diferentes porcentajes de agente entrecruzante (BA), 5, 10 y 15 %, tanto en el estado hinchado como colapsado del microgel.

Sistema híbrido	5 % BA	10 % BA	15 % BA
	D_h (nm)	D_h (nm)	D_h (nm)
Au@pNIPAM (27 °C)	460	435	412
Au@pNIPAM (50 °C)	214	201	210

Como se puede comprobar, a 27 °C el tamaño final del sistema Au@pNIPAM depende del grado de entrecruzamiento en la red de microgel. El diámetro hidrodinámico disminuye de 460 nm para el 5 % de BA hasta 435 y 412 nm para el 10 y 15 % de BA, respectivamente. Sin embargo, a 50 °C casi no hay variación en los diámetros medidos.

Esta dependencia puede explicarse con la teoría de Flory,¹⁶⁹ la cual establece que el comportamiento macroscópico de un microgel está determinado por tres contribuciones, una componente osmótica de mezcla, otra componente osmótica iónica y, la debida a la componente osmótica elástica. Un polímero con una baja densidad de reticulación tiene una transición de fase más intensa debido a que la componente elástica es más baja en este caso.

Esto quiere decir que, a 27 °C, por debajo de la transición de fase del pNIPAM, el microgel puede expandirse en mayor medida al bajar el porcentaje de entrecruzante. Sin embargo, a 50 °C, el pNIPAM se encuentra completamente colapsado debido a que las moléculas de

169 P.J. Flory. *Principles of Polymer Chemicals*. Cornell Univ. Press, Ithaca, NY. 1953.

agua son expulsadas del interior de la red polimérica. Esto explica que el diámetro hidrodinámico medido en las tres densidades de reticulación estudiadas fue similar (~ 210 nm) en el estado colapsado.

Como ya se ha mencionado, la difusión de $\text{AuCl}_4^-/\text{CTAB}$ dependerá de la porosidad del microgel a través de la red polimérica, hasta llegar a la superficie de oro (núcleo). La Figura C.1.11 incluye imágenes TEM representativas del sistema Au@pNIPAM al 10 % de BA después de la oxidación total del núcleo. Es importante resaltar que no se observa oro residual dentro de los microgeles, lo que demuestra una total difusión de $\text{AuCl}_4^-/\text{CTAB}$ a través de la red de microgel.

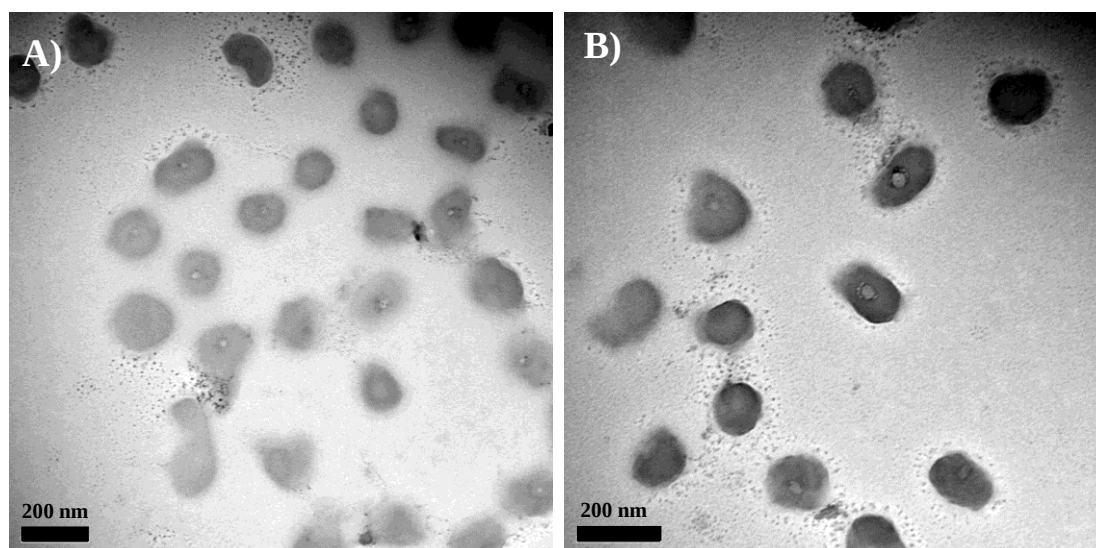


Figura C.1.11. A) y B) Imágenes TEM representativas de distintas muestras de nanopartículas huecas de pNIPAM con 10 % de BA.

C.1.2.2. Cinética de la difusión de los reactivos y oxidación del núcleo en sistemas Au@pNIPAM

Como es bien sabido, las nanopartículas de metales nobles producen una banda de absorción en la región visible del espectro debida al plasmón superficial. En consecuencia, la oxidación del oro puede controlarse mediante espectroscopía UV-vis en todos estos sistemas.

La Figura C.1.12 muestra la evolución temporal del espectro de absorción UV-vis durante la oxidación de $\text{Au}(0)$ para los sistemas Au@pNIPAM con

5, 10 y 15 % de BA a 27 °C (estado hinchado) y a 50 °C (estado colapsado).

En el momento inicial de los ensayos ($t=0$ s), los espectros UV-vis muestran dos picos principales, que corresponden a la banda de plasmón superficial para Au@pNIPAM, ubicada a aproximadamente 535 nm, y la banda de absorción correspondiente al complejo Au³⁺/CTAB, centrada a 400 nm. Una disminución con el tiempo en la intensidad de la banda a 535 nm confirma la oxidación del núcleo metálico, lo que se traduce en una reducción del tamaño de partícula de Au(0) hasta la eliminación total del núcleo (Figuras C.1.9 y C.1.11). La reacción de oxidación fue monitoreada tomando espectros cada 10 minutos en el rango espectral de 300 a 1000 nm.

Como se observa en la Figura C.1.12, su desaparición y con ello la oxidación total, se produce a aproximadamente a 300 min de reacción, en todas las muestras estudiadas a 27 °C. Sin embargo, en comparación con la oxidación a baja temperatura, el tiempo necesario para oxidar completamente el núcleo de oro se reduce a ~ 70 min cuando la reacción se lleva a cabo a 50 °C.

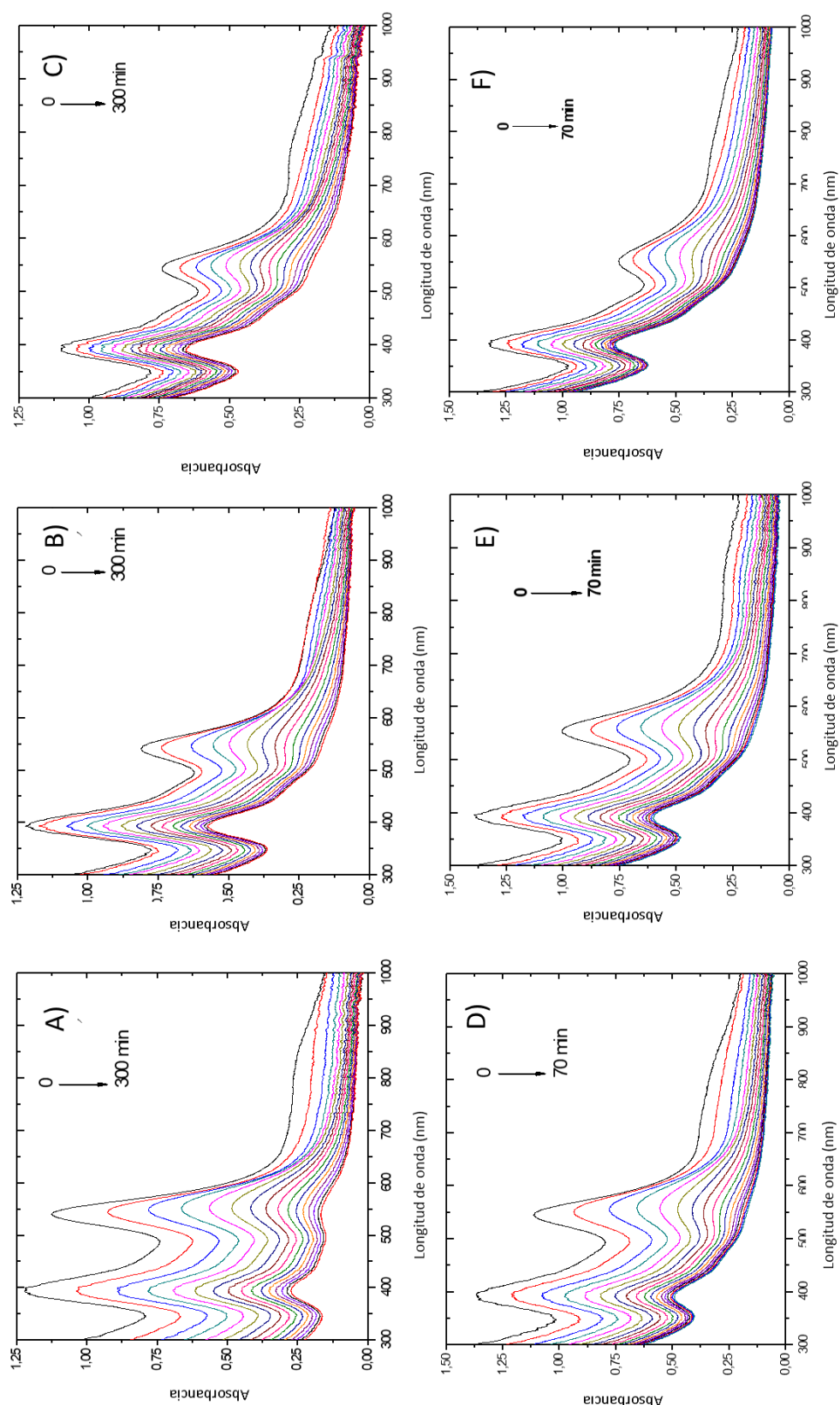


Figura C.1.12. A), B) y C) Evolución temporal del espectro de absorción UV-vis durante la oxidación del núcleo de Au a 27 °C y C), D) y E) a 50 °C para los sistemas Au@pNIPAM con 5 %, 10 % y 15 % de agente entrecruzante (BA), respectivamente.

En la Figura C.1.13 (A, a 27 °C; y B, a 50 °C) se incluyen las gráficas en la que se representa la disminución del valor de la absorbancia de la banda plasmónica normalizada con respecto al tiempo de oxidación para cada uno de los tres porcentajes de entrecruzante, 5 % (cuadrado negro), 10 % (círculos rojos) y 15 % (triángulos azules), para ambas temperaturas. En estas gráficas, cada punto representa el promedio de tres mediciones UV-Vis.

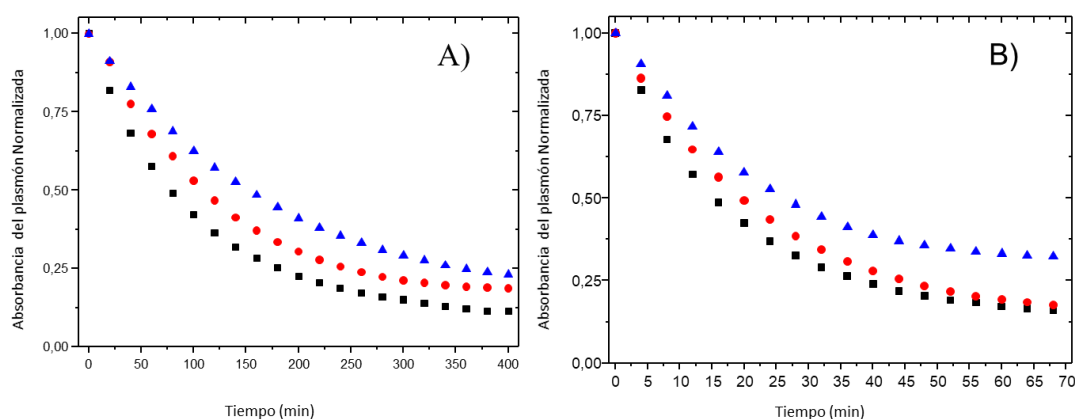


Figura C.1.13. Absorción normalizada de la banda del plasmón superficial del Au(0) con respecto al tiempo de oxidación para sistemas de Au@pNIPAM con el 5 % (cuadrados negros), 10 % (círculos rojos) y 15 % (triángulos azules) de agente entrecruzante (BA) a A) 27 °C y B) 50 °C.

Del análisis de esta gráfica se puede concluir:

- en primer lugar, que la velocidad de oxidación de Au(0) a Au⁺ depende del porcentaje de agente entrecruzante dentro de la red de microgel,
- que este efecto se observa a ambas temperaturas,
- y que una disminución en el contenido de BA da como resultado una mejor o menos impedida difusión del complejo AuCl₄⁻/CTAB a la superficie del núcleo de oro y, en consecuencia, una disminución más rápida en la banda de plasmón de absorción.

A partir de los datos de la Figura C.1.13, se ha determinado la constante de velocidad de oxidación y el parámetro de difusión del complejo AuCl₄⁻/CTAB, para las tres densidades de reticulación (5, 10 y 15 % de BA)

y en los dos posibles estados de microgel (hinchado y colapsado). Estos parámetros sólo han sido investigados previamente para nanopartículas de oro recubiertas con polímeros conductores y un copolímero de NIPAM. En todos estos casos la disolución del núcleo de oro se llevó a cabo utilizando KCN.^{170,171}

En esta memoria, la constante de velocidad de oxidación de Au se ha obtenido siguiendo el mismo procedimiento utilizado previamente por Lyon y col.¹⁷² Este parámetro se obtuvo mediante el ajuste a una función exponencial de la disminución de la absorción de la banda del plasmón normalizado en función del tiempo.

En la Tabla C.1.2 se muestran los valores calculados de la constante de velocidad para los ensayos realizados a 27 °C y 50 °C.

Tabla C.1.2. Constantes de velocidad de oxidación de Au(0) a 27 y 50 °C para el sistema híbrido Au@pNIPAM con 5, 10 y 15 % de BA.

Temperatura/°C	k (s ⁻¹) 5 % BA	k (s ⁻¹) 10 % BA	k (s ⁻¹) 15 % BA
27	1.01×10^{-2}	8.90×10^{-3}	6.40×10^{-3}
50	5.40×10^{-2}	4.90×10^{-2}	4.40×10^{-2}

Como se observa, los valores de la constante de velocidad de oxidación del núcleo de oro disminuyen a medida que aumenta la cantidad de entrecruzante en la red de microgel, con valores para 27 °C de 1.01×10^{-2} , 8.90×10^{-3} y $6.40 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para 5, 10 y 15 % de BA, respectivamente. Esto supone una disminución del 37 % cuando se pasa del 5 al 15 % de BA para el sistema en estado hinchado (temperatura de 27 °C).

170 Singh, N., Lyon, L. A. (2007). Au nanoparticle templated synthesis of pNIPAM nanogels. *Chem. Mater.*, 19(4), 719–726.

171 Marinakos, S. M., Novak, J. P., Brousseau, L. C., House, A. B., Edeki, E. M., Feldhaus, J. C., Feldheim, D. L. (1999). Gold particles as templates for the synthesis of hollow polymer capsules. Control of capsule dimensions guest encapsulation. *J. Am. Chem. Soc.*, 121(37), 8518–8522.

172 Singh, N., Lyon, L. A. (2007). Au nanoparticle templated synthesis of pNIPAM nanogels. *Chem. Mater.*, 19(4), 719–726.

También se han determinado las constantes de velocidad de oxidación para los tres microgeles de Au@pNIPAM a 50 °C (Tabla C.1.2). Como se observa, las constantes de velocidad disminuyen a medida que aumenta la cantidad de entrecruzante, con valores de 5.40×10^{-2} , 4.90×10^{-2} y $4.40 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$ para 5, 10 y 15 % de BA, respectivamente. Sin embargo, la variación (en %) en los valores de dichas constantes cinéticas a 50 °C es del 18 %. Una disminución menor en comparación con la obtenida a 27 °C. Este hecho se puede explicar en base a que a 50 °C, cuando el pNIPAM se encuentra en estado colapsado y el polímero posee una baja cantidad de moléculas de agua en su interior, la distancia a recorrer por el complejo oxidativo hasta la superficie de Au(0) es menor que en el caso hinchado. En consecuencia, los valores a 50 °C son más altos en comparación con los de 27 °C.

Los valores de constante de velocidad de oxidación obtenidos se encuentran en el mismo orden de magnitud que los obtenidos por Lyon y col. para la oxidación de Au(0) en partículas de Au@pNIPAM-co-AAc con diferentes espesores de microgel y utilizando, como se ha mencionado, KCN como agente oxidante. Asimismo, estos autores estudiaron el proceso a temperaturas de 25 y 45 °C. En ese caso las constantes de velocidad medidas fueron del orden de $2.30 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ a 25 °C y de $2.40 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ a 45 °C.

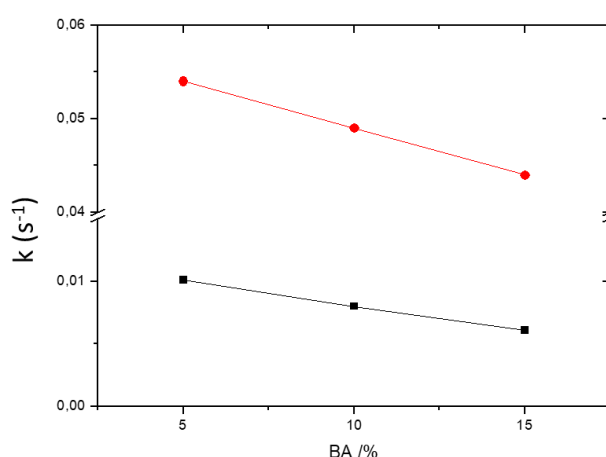


Figura C.1.14. Constante cinética de la oxidación del núcleo de Au a 27 °C (cuadrados negros) y a 50 °C (círculos rojos) para nanopartículas de Au@pNIPAM a 5, 10 y 15 % de BA.

En la Figura C.1.14 se representan los valores de las constantes de velocidad para la reacción de oxidación del núcleo de Au(0) en sistemas Au@pNIPAM a 5, 10 y 15 % de BA a 27 °C (cuadrados negros) y a 50 °C (círculos rojos).

Es importante mencionar que el aumento en los valores de la constante cinética de oxidación con la temperatura está en concordancia con la Ley de Arrhenius.¹⁷³

- **Coeficiente de difusión del oxidante**

Como segundo parámetro de este proceso oxidativo, además de los valores de las constantes cinéticas de oxidación, también se ha calculado el coeficiente de difusión del oxidante, el complejo AuCl₄⁻/CTAB.

Este parámetro ha sido determinado siguiendo el procedimiento publicado por Marinakos y col. Estos autores investigaron el coeficiente de difusión para KCN durante la oxidación del núcleo de nanopartícula de oro dentro de un recubrimiento polimérico conductor derivado de polipirrol.¹⁷⁴

Para ello, siguieron el modelo de difusión dentro de una esfera (Ley de Fick), que se puede expresar de la siguiente forma,

$$1 - \frac{(C_t - C_0)}{(C_s - C_0)} = be^{-At}; \text{ con } A = D\pi^2/L^2 \quad [3]$$

donde π es el número pi, A y b son parámetros constantes, D es el coeficiente de difusión, L es la longitud que tiene que recorrer la especie

173 Carregal-Romero, S., Pérez-Juste, J., Hervés, P., Liz-Marzán, L. M., Mulvaney, P. (2010). Colloidal gold-catalyzed reduction of ferrocyanate (III) by borohydride ions: a model system for redox catalysis. *Langmuir*, 26(2), 1271–1277.

174 Marinakos, S. M., Novak, J. P., Brousseau, L. C., House, A. B., Edeki, E. M., Feldhaus, J. C., Feldheim, D. L. (1999). Gold particles as templates for the synthesis of hollow polymer capsules. Control of capsule dimensions guest encapsulation. *J. Am. Chem. Soc.*, 121(37), 8518–8522.

difusora hasta llegar al núcleo de la nanopartícula (espesor de microgel), y C_t , C_0 y C_s , son las concentraciones de la especie que difunde a tiempo t , a tiempo 0 y en la superficie del microgel, respectivamente.

La solución de esta ecuación depende de las condiciones iniciales empleadas. En nuestras experiencias C_0 puede establecerse en 0, y debido a que la concentración y la absorbancia son proporcionales (ley de Lambert-Beer), la ecuación [3] puede expresarse en términos de la intensidad de la banda del plasmón de oro normalizada, de la siguiente forma:

$$\frac{Abs_t}{Abs_0} = be^{-At} \quad [4]$$

donde Abs_0 y Abs_t son las intensidades de absorción UV-Vis de plasmón de oro antes de la oxidación del núcleo de Au(0) y a un tiempo “t” durante la reacción de oxidación, respectivamente.

Al tomar $\ln(Abs_t/Abs_0)$ y representar gráficamente los valores obtenidos frente al tiempo (Figura C.1.15), se puede ajustar a la ecuación de una recta, donde el coeficiente A se obtiene de la pendiente de dicha recta. En la Figura C.1.15 se muestra la representación del ajuste de las intensidades de la banda de plasmón de absorción durante la oxidación de oro correspondiente a las tres densidades de entrecruzamiento diferentes estudiadas, por debajo y por encima de la temperatura de transición de fase.

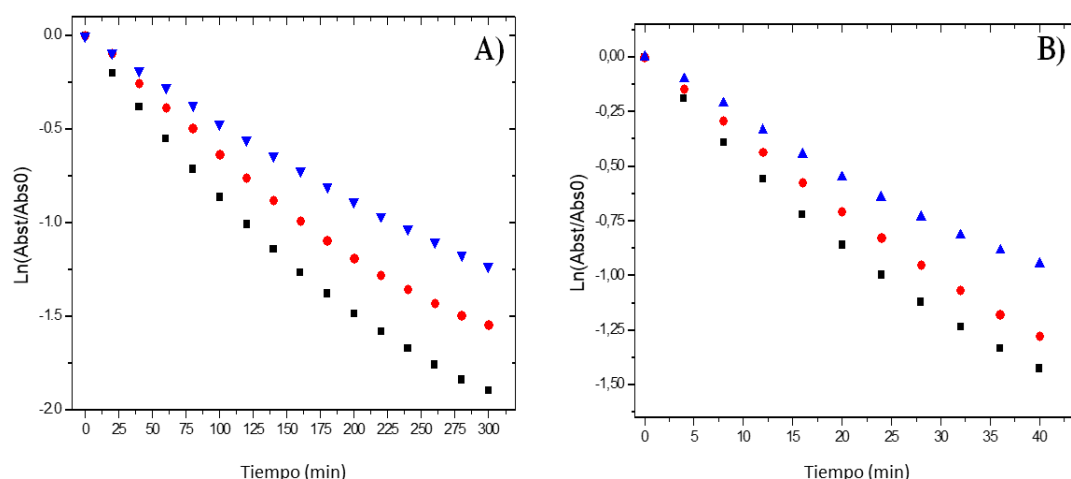


Figura C.1.15. Ajuste de los valores de intensidad de la banda de absorción UV-Vis del plasmón de Au(0) en función del tiempo de difusión para nanopartículas esféricas poliméricas Au@pNIPAM con 5 % (cuadros negros), 10 % (círculos rojos) y 15 % (triángulos azules) a A) 27 °C y B) 50 °C.

En la Tabla C.1.3 se incluyen los valores del coeficiente de difusión obtenidos a 27 y 50 °C. En ella, el valor D_h es el diámetro hidrodinámico, calculado mediante análisis DLS, y L representa el espesor de la envoltura polimérica, calculado como $D_h/2$.

Tabla C.1.3. D_h (Diámetro hidrodinámico), L (espesor de microgel) y D (coeficiente de difusión molecular), para los sistemas Au@pNIPAM con 5, 10 y 15 % de BA

Dimensiones L y D_h (nm)	5 % BA	10 % BA	15 % BA
D_h (27 °C)	460	435	412
L (27 °C)	205	192.5	181
D (27 °C) (cm^2/s)	7.1×10^{-12}	2.6×10^{-12}	1.1×10^{-12}
D_h (50 °C)	214	212	210
L (50 °C)	82	81	80
D (50 °C) (cm^2/s)	6×10^{-13}	2.3×10^{-13}	1.9×10^{-14}

Estos valores de coeficiente de difusión para el sistema Au@pNIPAM a 5, 10 y 15 % de BA se representan de forma gráfica en la Figura C.1.16 (cuadros negros para 27 °C, y círculos rojos para 50 °C).

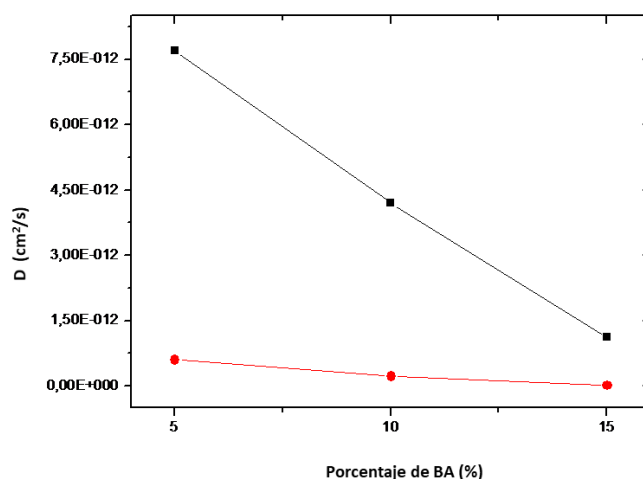


Figura C.1.16. Coeficiente de difusión para el sistema Au@pNIPAM a 5, 10 y 15 % BA a 27 °C (cuadros negros) y 50 °C (círculos rojos).

Como se puede observar, a 25 °C el coeficiente de difusión del complejo AuCl₄⁻/CTAB a través de la red de microgel disminuye a medida que aumenta el porcentaje de agente entrecruzante, tomando valores de 7.1 x 10⁻¹², 2.57 x 10⁻¹² y 1.12 x 10⁻¹² cm²/s para 5, 10 y 15 % de BA, respectivamente.

Estos valores son del mismo orden de magnitud que los obtenidos por Marinakos y col. para las nanopartículas recubiertas con polipirrol (1.5 - 5.0 x 10⁻¹² cm²/s).¹⁷⁵

Los coeficientes de difusión para la oxidación del núcleo a 50 °C (Figura C.1.16 y Tabla C.1.3) se han calculado siguiendo el mismo procedimiento. En este caso, como el microgel está en el estado colapsado, los valores de L son más bajos en comparación con aquellos a 27 °C (véase tabla C.1.3). Como se esperaba, a 50 °C, los coeficientes de difusión disminuyen

175 Marinakos, S. M., Novak, J. P., Brousseau, L. C., House, A. B., Edeki, E. M., Feldhaus, J. C., Feldheim, D. L. (1999). Gold particles as templates for the synthesis of hollow polymer capsules. Control of capsule dimensions guest encapsulation. *J. Am. Chem. Soc.*, 121(37), 8518–8522.

a medida que aumenta el porcentaje de entrecruzante, siendo 6.0×10^{-13} , 2.3×10^{-13} y 1.9×10^{-13} cm²/s para 5, 10 y 15 % de BA, respectivamente.

Al contrario de lo que ocurre con las constantes de velocidad de oxidación, cuyos valores eran muy similares a ambas temperaturas, los coeficientes de difusión son un orden de magnitud menor a 50 °C, en comparación con los de 27 °C. Al representar los valores de D frente a los porcentajes de BA, incluidos en la tabla C.1.3, tal como se ha mostrado en la Figura C.1.16, se revela una menor dependencia de la difusión de agente oxidante con el porcentaje de entrecruzante, cuando el sistema se encuentra en estado colapsado.

C.1.2.3. Preparación, caracterización y morfología de los sistemas híbridos pH-sensibles Au@p4VP y p4VP huecos

La preparación de los microgeles compuestos de p4VP se ha realizado siguiendo la síntesis descrita en el apartado C.1.2.1, y cuyo detalle se ha incluido en la Parte Experimental de esta memoria. La síntesis se representa de forma esquemática en la Figura C.1.8.

En la Figura C.1.17 se incluyen imágenes TEM representativas de los sistemas híbridos Au@p4VP preparados. La síntesis, al igual que con los microgeles de pNIPAM ha sido realizada con tres densidades distintas de entrecruzante, BA. Sin embargo, se puede observar que, a diferencia del sistema Au@pNIPAM descrito en el apartado anterior, el núcleo de oro no se encuentra en el centro de la estructura híbrida Au@p4VP. Esta circunstancia ya se había observado con anterioridad.¹⁷⁶ Esta situación indica que, para este monómero, la polimerización no se produce alrededor de la superficie de la nanopartícula de Au(0) de manera homogénea.

Este hecho se puede explicar en base a la naturaleza hidrofóbica de 4VP, ya que a pH~6, que es el pH del medio en el que transcurre el proceso de polimerización, el nitrógeno de 4VP no se encuentra protonado, teniendo

176 Clara-Rahola, J., Moscoso, A., Belén Ruiz-Muelle, A., Laurenti, M., Formanek, P., López-Romero, J. M., Contreras-Cáceres, R. (2018). Au@p4VP core@shell pH-sensitive nanocomposites suitable for drug entrapment. *J. Colloid Interf. Sci.*, 514, 704–714.

un alto carácter hidrófobo. Por otra parte, las moléculas de CTAB unidas en la superficie de Au(0) en forma de bicapas, están cargadas positivamente,¹⁷⁷ por lo que son de naturaleza hidrófila. Por esta razón, creemos que la tendencia en el crecimiento de un polímero hidrófobo que rodea la superficie de oro hidrofílica no es favorable debido a la diferente naturaleza entre el polímero y la superficie de oro. En consecuencia, una vez que la película de p4VP comienza a formarse en la superficie del metal, el monómero tiene más afinidad por crecer sobre sí mismo, que a rodear la superficie de la partícula de Au(0). Este hecho da lugar a la formación de partículas tipo Janus, en lugar de las esperadas estructuras tipo núcleo@corteza, similares a las obtenidas con el pNIPAM.

177 Contreras-Cáceres, R., Pacífico, J., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J., Fernández-Barbero, A., Liz-Marzán, L. M. (2009). Au@pNIPAM thermosensitive nanostructures: control over shell cross-linking, overall dimensions, core growth. *Adv. Funct. Mater.*, 19(19), 3070–3076.

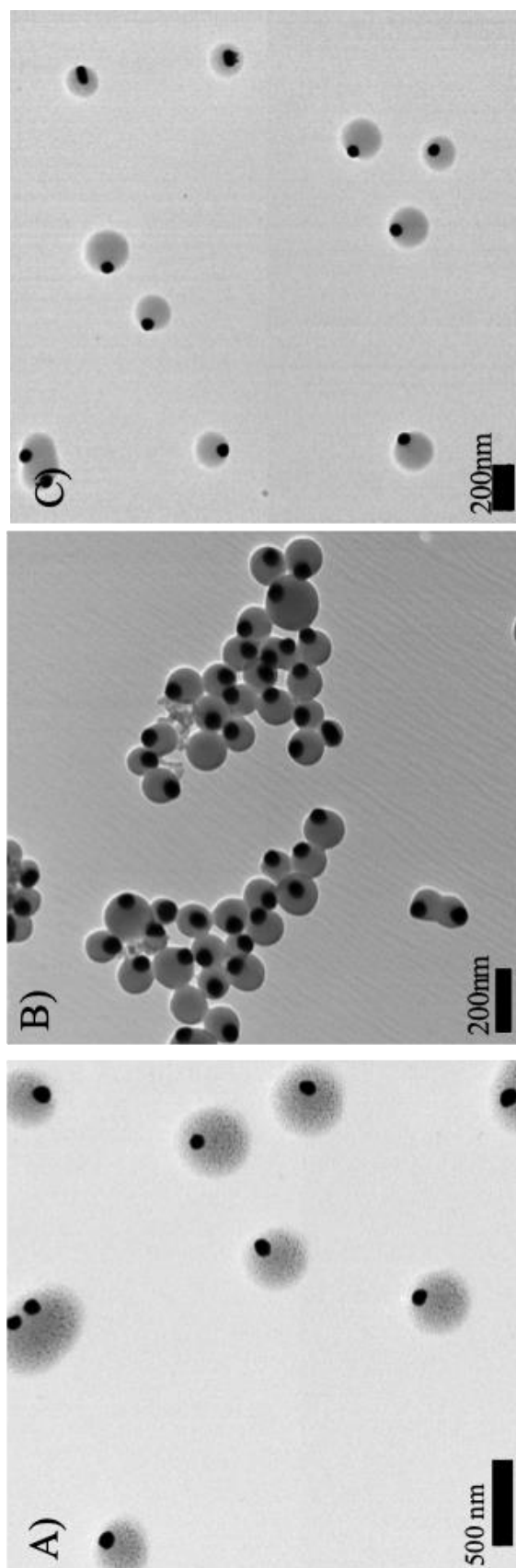


Figura C.1.17. Imágenes TEM representativas de partículas Au@p4VP con A) 5 %, B) 10 % y C) 15 % de BA.

El tamaño de estas nanopartículas ha sido medido mediante DLS. En la Tabla C.1.4 se incluyen los valores obtenidos, tanto para el estado hinchado como para el colapsado, y para las tres densidades de entrecruzante utilizadas.

Como se puede comprobar, el tamaño de partícula final depende del grado de entrecruzamiento en la red de microgel. El diámetro hidrodinámico en el estado hinchado disminuye a medida que aumenta el porcentaje de BA, pasando de 293 nm con un 5 % de BA a 274 nm con un 15 % de BA. Esta disminución volumétrica es menor que la observada para los sistemas Au@pNIPAM con estos mismos grados de entrecruzamiento. Esto se puede explicar por la naturaleza hidrófoba del microgel, ya que este tiene una tendencia menor a llenarse de moléculas de agua.

Por otra parte, se puede observar, a partir de los datos de la Tabla C.1.4, que la variación del diámetro hidrodinámico asociada al porcentaje de entrecruzante es muy baja para sistemas en estado colapsado (pH= 7).

Tabla C.1.4. Diámetro hidrodinámico para el sistema Au@p4VP sintetizado con tres grados de agente entrecruzante, 5, 10 y 15 % de BA para los estados hinchado y colapsado del microgel

Sistema híbrido	5 % BA	10 % BA	15 % BA
	D _h /nm	D _h /nm	D _h /nm
Au@p4VP (pH 2)	293	281	274
Au@p4VP (pH 7)	120	118	116

El núcleo de Au(0) de estos sistemas tipo Janus de Au@p4VP también fue eliminado por tratamiento con una mezcla de AuCl₄⁻/CTAB, la cual, como se ha mencionado anteriormente, induce la oxidación del núcleo de oro (a Au⁺).

En la Figura C.1.18 se muestran imágenes de microscopía TEM representativas de los sistemas Au@p4VP preparados con un 10 % de BA antes y después de la oxidación completa del núcleo de Au. Como se esperaba, se puede observar que el hueco(señalado con flechas rojas)

se encuentra en la misma posición donde se encontraba el núcleo de oro antes de la oxidación. Esto sugiere que el procedimiento de oxidación es diferente si se compara con el sistema Au@pNIPAM.

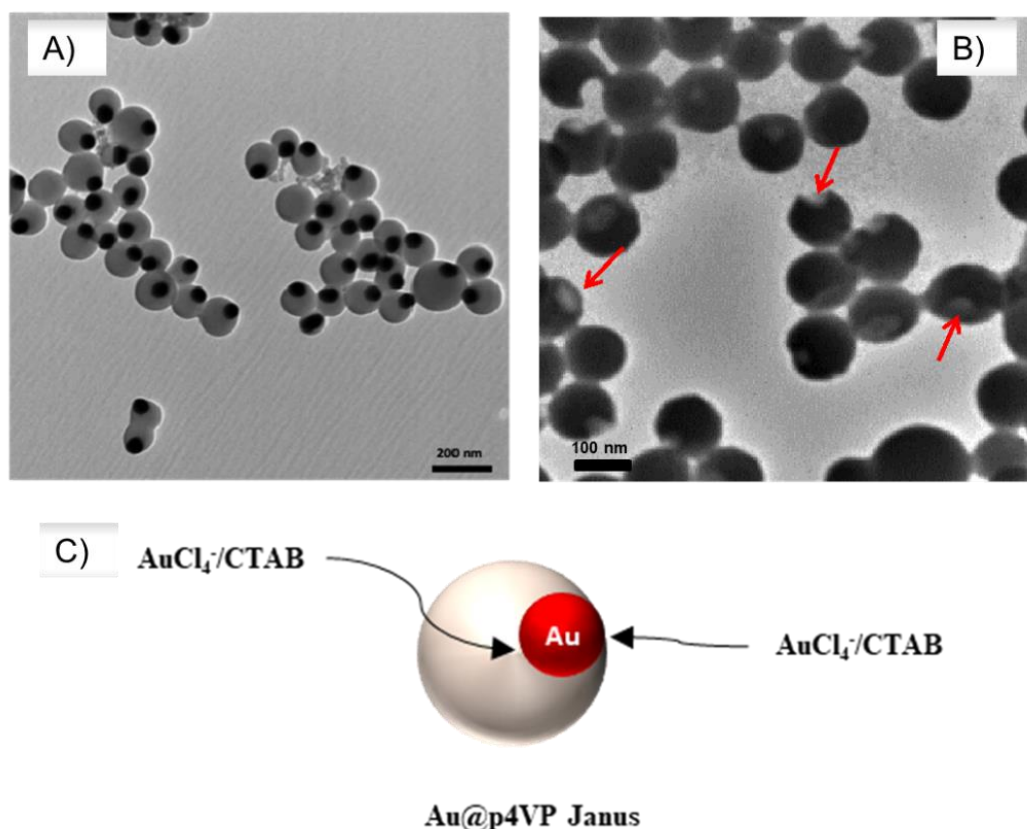


Figura C.1.18. Imágenes representativas TEM de nanopartículas: A) Au@p4VP, B) p4VP al 10 % de BA tipo Janus (el hueco se muestra con una flecha roja). C) Representación esquemática para las dos posibles rutas de oxidación en partículas Au@p4VP.

En el caso anterior, Au@pNIPAM, la oxidación se producía por difusión homogénea del complejo AuCl₄⁻/CTAB a través de toda la red de microgel, ya que el núcleo estaba ubicado en el centro. Sin embargo, para el sistema Au@p4VP, encontramos que el complejo AuCl₄⁻/CTAB puede alcanzar la superficie del núcleo de oro por dos caminos distintos; por la parte recubierta, a través del microgel p4VP (como en el caso anterior), o a través de la parte no recubierta.

La Figura C.1.18.C incluye una representación gráfica de las dos posibles rutas del complejo AuCl₄⁻/CTAB durante la oxidación del núcleo de Au, una ruta de oxidación directa y otra ruta de oxidación no directa (por

difusión del reactivo a través del microgel). El mecanismo más plausible sería la oxidación directa, ya que es más rápida debido a una ausencia total o parcial de impedimento estérico o de difusión asociado a la presencia del polímero, pero para demostrar y explicar este enfoque, en el siguiente apartado (C.1.2.4) se calcula la constante de velocidad de oxidación de oro para los tres sistemas sintetizados, cada uno con distinto porcentaje de agente entrecruzante.

C.1.2.4. Cinética de la difusión de los reactivos y oxidación del núcleo en sistemas Au@p4VP

Como se ha mencionado anteriormente, el polímero p4VP es sensible al pH y presenta dos estados diferentes, uno por debajo de pH~4.8 (hinchado) y otro por encima (colapsado). Por debajo de este valor de pH, los átomos de nitrógeno se encuentran protonados, las fuerzas repulsivas provocan que el microgel se hinche y las moléculas de agua puedan difundir y alojarse dentro de la red del microgel. Por encima de este valor de pH, los grupos nitrógeno se desprotonan, y las fuerzas hidrófobas se vuelven dominantes, promoviendo así un colapso del microgel. Por esta razón, hemos investigado la oxidación del núcleo de oro para las tres densidades de entrecruzante, a pH 2 y pH 7.

Al igual que en el caso del Au@pNIPAM, el proceso de oxidación de oro fue monitoreado por espectroscopía UV-vis, tomando espectros cada 10 minutos en el rango espectral de 300 a 1000 nm.

En la Figura C.1.19 se muestra la evolución temporal del espectro de absorción UV-vis de la reacción de oxidación del núcleo de oro para los sistemas Au@p4VP con 5, 10 y 15 % de BA a pH 2 (estado hinchado) y a pH 7 (estado colapsado), respectivamente.

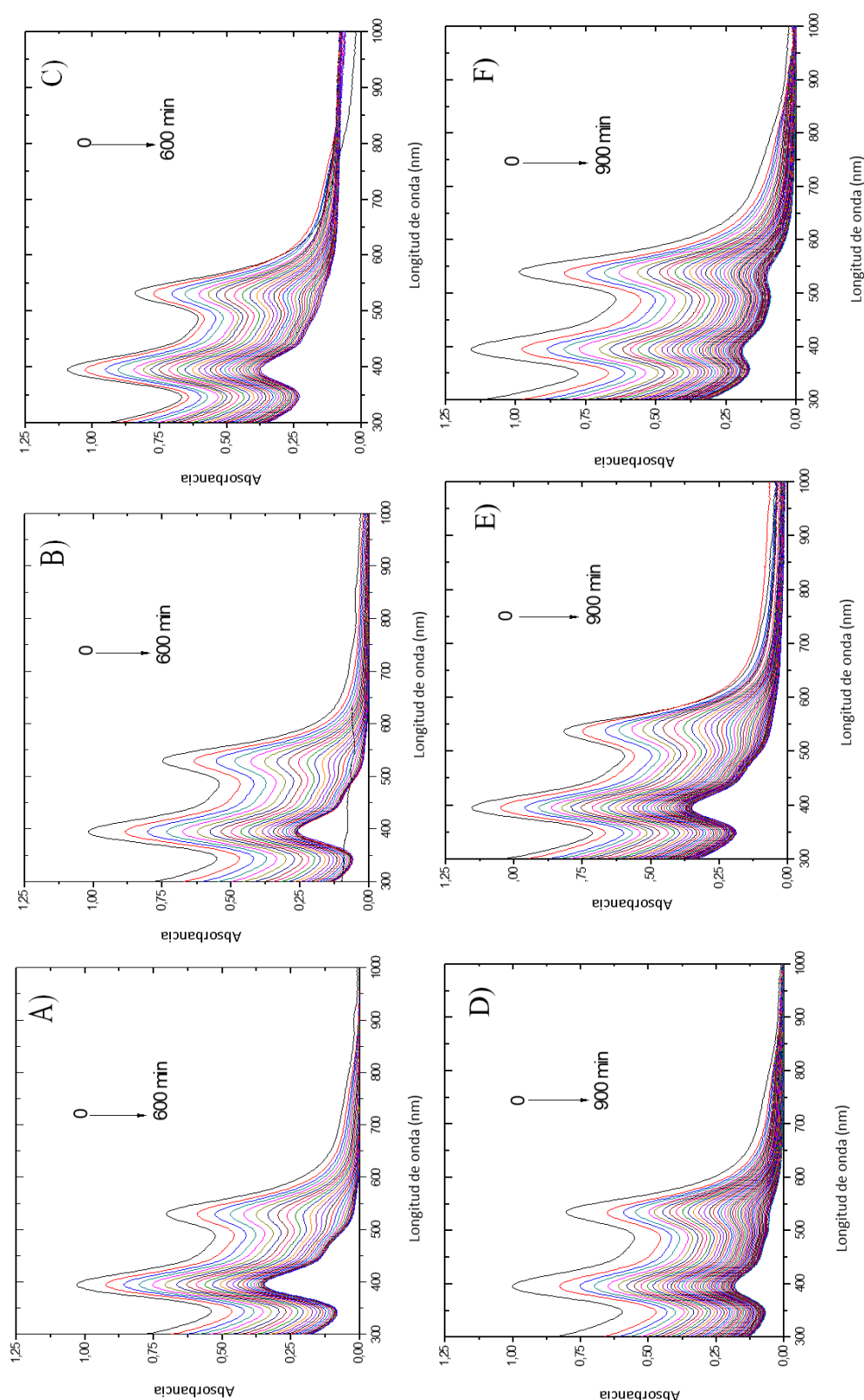


Figura C.1.19. A), B) y C) Evolución temporal del espectro de absorción UV-Vis durante la reacción de oxidación del núcleo de Au(0) a pH 2 y D), E) y F) a pH 7 para Au@p4VP al 5, 10 y 15 % de entrecruzamiento, respectivamente

La oxidación del núcleo de Au(0) se realiza empleando el complejo $\text{Au}^{3+}/\text{CTAB}$ y siguiendo el mismo procedimiento que en el caso de las partículas de Au@pNIPAM. Al igual que en el caso anterior, se observan dos máximos de absorción en los espectros UV-vis para todas las densidades de entrecruzante ensayadas y ambos valores de pH. La disminución de la intensidad de la banda del plasmón a 535 nm, atribuida al núcleo de Au(0), confirma la oxidación progresiva del núcleo metálico.

En estas figuras se puede observar que la eliminación completa del núcleo de Au(0) en las partículas a pH 2, es decir, la desaparición de la banda a 535 nm se produjo después de 600 min de reacción (Figura C.1.19.A-C), mientras que el tiempo necesario para oxidar completamente el núcleo de oro a pH 7 es mayor, llegando a 900 min (Figura C.1.19.D-F).

La evolución temporal de la absorción normalizada de esta banda de UV-Vis se muestra en la Figura C.1.20 para los 3 porcentajes de entrecruzante diferentes, 5 % (cuadrados negros), 10 % (círculos rojos) y 15 % (triángulos azules) a pH 2 y a pH 7.

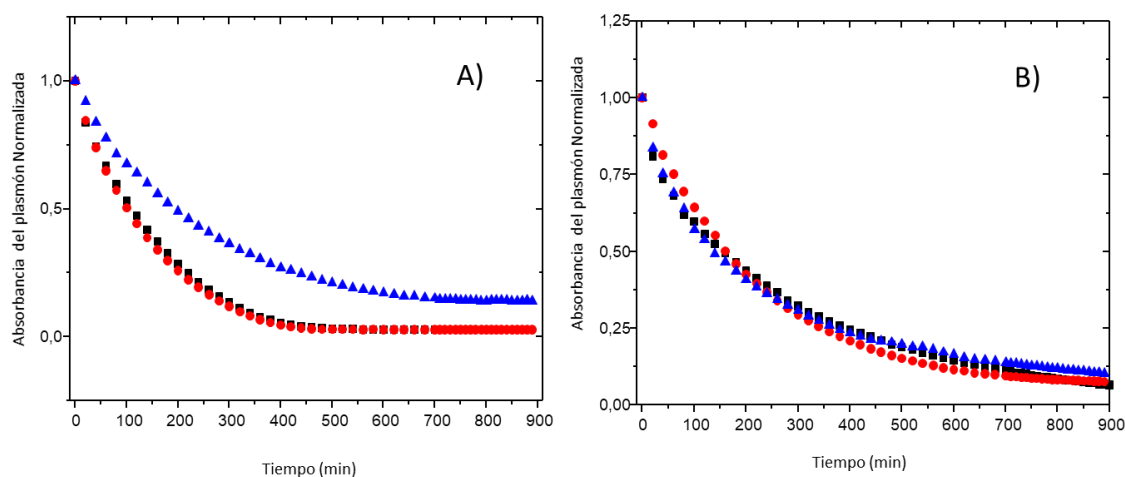


Figura C.1.20. Absorción normalizada de la banda de plasmón de Au(0) con respecto al tiempo de oxidación para el sistema Au@p4VP con 5 % (cuadrados negros), 10 % (círculos rojos) y 15 % (triángulos azules) a A) pH 2 y B) pH 7.

De estos resultados se puede concluir que la velocidad de oxidación de Au(0) es menos dependiente de la densidad de entrecruzante en la red de microgel que en el caso de Au@pNIPAM (Figura C.1.13). A pH 7 las líneas obtenidas son coincidentes (Figura C.1.20.B). Y como se observa, para estas partículas de Au@p4VP, una disminución en el contenido de BA no afecta de forma sensible a la velocidad de la reacción de oxidación, observándose una disminución de la absorbancia similar para los tres grados de agente entrecruzante ensayados.

Esta tendencia se confirmó obteniendo las constantes de velocidad de oxidación para cada densidad de entrecruzante de los microgeles de Au@p4VP, tanto a pH 7, como a pH 2. Estos valores se obtuvieron ajustando la gráfica de la intensidad del plasmón normalizada en función del tiempo, procedimiento similar al seguido para el cálculo de esta constante en los sistemas de Au@pNIPAM. Los valores obtenidos se muestran en la Tabla C.1.5, y se representan en la Figura C.1.21.

Como se observa, los valores de la constante de velocidad no cambiaron de forma considerable con la cantidad de entrecruzante a pH 7. Si varían de forma sensible a pH 2, con valores de 6.8×10^{-3} , 6.3×10^{-3} y $5.4 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, para los microgeles con 5, 10 y 15 % de BA, respectivamente.

Estas mínimas variaciones en las constantes de velocidad de oxidación a pH 7 y a pH 2 se pueden interpretar en base a que la difusión del oxidante (el complejo $\text{AuCl}_4^-/\text{CTAB}$) se produce por la parte no recubierta de la partícula de Au(0), sin que exista prácticamente oxidación debida a la difusión del complejo a través del polímero. Asimismo, en el estado colapsado, el microgel deja menos huecos para la difusión del agente oxidante, por lo que en este estado tiene todavía menos influencia en la velocidad observada esta vía de oxidación (no directa).

Tabla C.1.5. Constantes de velocidad de oxidación de Au a pH 2 y pH 7 para el sistema híbrido Au@p4VP con 5, 10 y 15 % de BA.

pH	k (s ⁻¹) 5 % BA	k (s ⁻¹) 10 % BA	k (s ⁻¹) 15 % BA
2	$6,8 \times 10^{-3}$	$6,3 \times 10^{-3}$	$5,4 \times 10^{-3}$
7	$4,1 \times 10^{-3}$	$4,6 \times 10^{-3}$	$4,4 \times 10^{-3}$

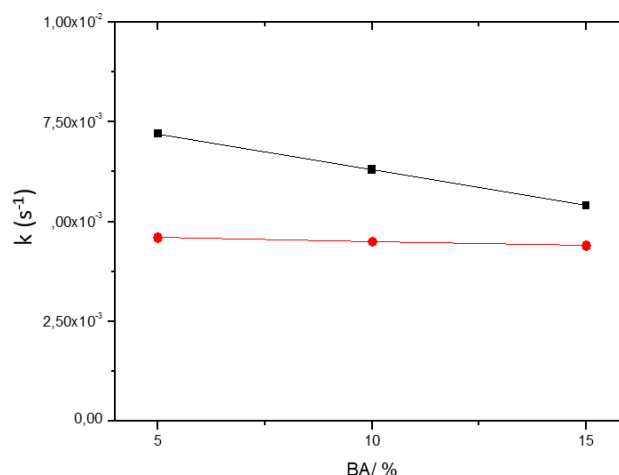


Figura C.1.21. Constantes de velocidad de la reacción de oxidación a pH 2 (cuadrados negros) y pH 7 (círculos rojos) para las nanopartículas Au@p4VP con 5, 10 y 15 % de BA.

- **Coefficiente de difusión del oxidante**

En el apartado anterior, para el sistema Au@pNIPAM, se calculó el coeficiente de difusión mediante la metodología utilizada previamente por Feldheim y col.¹⁷⁸ Este parámetro se obtuvo siguiendo el modelo de difusión dentro de una esfera (ley de Fick), tal como se describió en la ecuación [3].

En el caso de las partículas de Au@pNIPAM, el valor de L pudo estimarse porque el núcleo de Au(0) está situado en el centro del sistema núcleo@corteza. Sin embargo, como ha quedado demostrado en las imágenes TEM de las partículas Au@p4VP (Figura C.1.18), estas tienen una estructura tipo Janus. Por ello, el grosor de la capa de polímero que envuelve el núcleo de oro no es homogéneo, y en muchos casos, parte de la partícula de Au(0) se encuentra descubierta. En este caso no se puede calcular un valor de L promedio.

178 Marinakos, S. M., Novak, J. P., Brousseau, L. C., House, A. B., Edeki, E. M., Feldhaus, J. C., Feldheim, D. L. (1999). Gold particles as templates for the synthesis of hollow polymer capsules. Control of capsule dimensions guest encapsulation. *J. Am. Chem. Soc.*, 121(37), 8518–8522.

Esto último, unido a que los valores obtenidos para la constante de velocidad de la reacción indican que la oxidación se lleva a cabo por la parte no recubierta, o menos recubierta del núcleo de Au(0), nos lleva a la conclusión de que no tiene sentido realizar el cálculo del coeficiente de difusión del oxidante $\text{AuCl}_4^-/\text{CTAB}$ para las partículas Au@p4VP.

En el capítulo siguiente de esta Tesis, Capítulo 2, se hace un estudio de las diferentes variables que influyen en la obtención de nanopartícula Janus y la posibilidad de obtención de sistemas Au@p4VP con estructura tipo núcleo@corteza.

Capítulo 2.

*Control de la posición del
núcleo en nanopartículas
híbridas pH-sensibles de
Au@p4VP y en microgeles de
p4VP huecos*



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Capítulo 2. Control de la posición del núcleo en nanopartículas híbridas pH-sensibles de Au@p4VP y en microgeles de p4VP huecos.

C.2.1. Antecedentes.....	143
C.2.2. Resultados y discusión	146
C.2.2.1. Influencia del pH.....	146
C.2.2.2. Influencia del estabilizante y del entrecruzante	146
C.2.2.3. Influencia del iniciador de polimerización	148
C.2.2.4. Influencia del disolvente	149
C.2.2.5. Influencia del tamaño de la nanopartícula de Au(0)	151
C.2.2.6. Influencia de la funcionalización de la nanopartícula de Au(0)	151
C.2.2.7. Influencia de la presencia de un comonómero en la polimerización	153
C.2.2.8. Oxidación del núcleo de Au(0) en el sistema Au@p4VP-co-MMA	155



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

C.2.1. Antecedentes

Como se ha comentado en el Capítulo 1, la síntesis de nanopartículas híbridas Au@p4VP bajo las mismas condiciones que las seguidas para la obtención de Au@pNIPAM, conduce a partículas Au@p4VP tipo Janus.

Anteriormente, ya se conocía y se había llegado a resultados similares en síntesis de sistemas híbridos Au@p4VP. En nuestro grupo de investigación se había publicado acerca de la influencia de la concentración de monómero y el porcentaje de agente entrecruzante en el diámetro y la capacidad de hinchamiento de los sistemas Au@p4VP, respectivamente, que posteriormente fueron empleados en la encapsulación, transporte y liberación de fármacos de interés.¹⁷⁹ En estos estudios, se determinó que el diámetro hidrodinámico aumentaba con una disminución del agente entrecruzante (BA), y dicho diámetro aumentaba a mayor concentración de monómero (4VP) en la síntesis, como se representa en la Figura C.2.1. Se observa, que para una misma concentración de BA (6 %), el tamaño de la partícula Janus aumenta proporcionalmente con la concentración de monómero, pasando de un tamaño de 70 a 153 nm de diámetro con concentraciones de p4VP de 75 a 150 mM, respectivamente (Figura C.2.1, izquierda). Sin embargo, no se observó cambio en el tamaño cuando se aumentó la concentración de entrecruzante (de 1 a 3 %) pero se mantuvo constante la de monómero (Figura C.2.1, derecha).

179 Clara-Rahola, J., Moscoso, A., Belén Ruiz-Muelle, A., Laurenti, M., Formanek, P., López-Romero, J. M., Contreras-Cáceres, R. (2018). Au@p4VP core@shell pH-sensitive nanocomposites suitable for drug entrapment. *J. Colloid Interf. Sci.*, 514, 704–714.

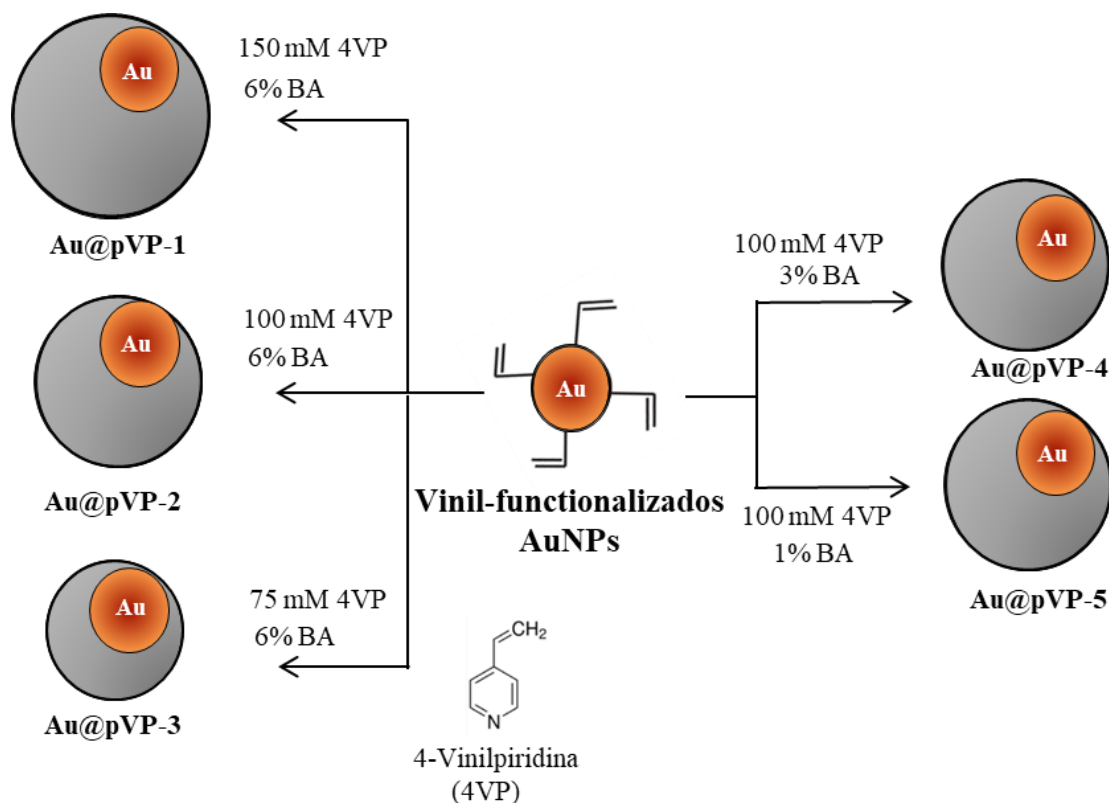


Figura C.2.1. Esquema sintético seguido en el estudio de la influencia del contenido de monómero y agente entrecruzante en la síntesis de microgeles híbridos Au@p4VP.

Aparte de este análisis, como se ha comentado en el Capítulo 1, en la bibliografía solo se ha descrito la síntesis de nanoestructuras huecas sensibles al pH compuestas de copolímeros derivados de 4VP y estireno (p4VP-co-PS)^{180,181} y de 4VP y acrilonitrilo (p4VP-co-PAN). Estas estructuras tienen la particularidad de que cuando se auto ensamblan lo hacen en forma de nanoesferas huecas.¹⁸²

Sin embargo, no se han encontrado en la bibliografía publicaciones acerca de estructuras de p4VP con hueco en el centro, obtenidas a partir de sistemas núcleo@corteza en las que el núcleo es un metal.

180 Wang, Y., Hu, L., Yin, Q., Du, K., Zhang, T., Yin, Q. (2019). Multi-responsive hollow nanospheres self-assembly by amphiphilic random copolymer and azobenzene. *Polym.*, 175, 235-242.

181 Hong, J., Cho, J., Char, K. (2011). Hollow capsules prepared from all block copolymer micelle multilayers. *J. Colloid Interf. Sci.*, 364(1), 112-117.

182 Zhang, T., Jin, C., Wang, L., Yin, Q. (2014). One-step synthesis of hollow polymeric nanospheres: self-assembly of amphiphilic azo polymers via hydrogen bond formation. *RSC Adv.*, 4(69), 36882-36889.

Para controlar la morfología de estas partículas de Au@p4VP se ha seguido una metodología similar a la descrita en el capítulo anterior, estabilizando la dispersión de nanopartículas de oro con CTAB y funcionalizando este núcleo central con 3BA. Posteriormente, se incluye la cubierta polimérica sensible al pH con 4VP (monómero) y BA (agente entrecruzante). En el apartado 3 de esta tesis, Parte Experimental, se describen los procedimientos seguidos.

Del análisis de las variables que influyen en este procedimiento experimental, se han extraído una serie de resultados que se detallan a continuación en este Capítulo 2. En concreto, se analiza la influencia del pH del medio, disolvente, tamaño del núcleo de Au(0), porcentaje de agente entrecruzante, estabilizador, funcionalización de la superficie del núcleo de Au(0), empleo de otros iniciadores radicalarios, y por último, la inclusión de otros agentes de copolimerización.

C.2.2. Resultados y discusión

C.2.2.1. Influencia del pH

Inicialmente se estudió la polimerización en medio ligeramente ácido, por debajo del pKa de 4VP, en concreto a pH 4. Se pensó que realizar la polimerización sobre la AuNP en estas condiciones podría conducir a la obtención del microgel en estado expandido, con el nitrógeno del resto de piridina en estado protonado, pudiendo dejar el núcleo de Au(0) en el centro de un sistema Au@p4VP.

Para ello, se prepararon núcleos de Au(0) de 50 nm de diámetro, los cuales fueron funcionalizados con ácido 3-butenico. A continuación, después de ajustar el pH a 4, por adición de HCl, se procedió al crecimiento del polímero bajo idénticas condiciones de reacción y cantidades de monómero y agente entrecruzante, que las seguidas en la síntesis de los sistemas tipo Janus, tal como se describe en la Parte Experimental.

Tras unos minutos de reacción, se observó decoloración en la disolución y la aparición de un precipitado de color negro.

Se tomó una alícuota del crudo de reacción para su estudio por microscopía TEM (Figura C.2.2.A). Del análisis de las imágenes obtenidas se confirma que solo se produce la agregación de las partículas de oro y no se observan nanopartículas recubiertas de microgel, ni tampoco la formación de microgeles libres.

C.2.2.2. Influencia del estabilizante y del entrecruzante

Como se ha indicado en la sección de Antecedentes de este capítulo, cuando se realizó el estudio de oxidación del núcleo de Au(0) en los sistemas Au@p4VP, se observó en las imágenes de TEM, que el grado de entrecruzante afectaba en pequeña medida al recubrimiento de las nanopartículas de Au(0). No obstante, se observa que a medida que el porcentaje de entrecruzante disminuye, la nanopartícula de Au(0) se sitúa ligeramente más centrada.

Esto concuerda con los resultados obtenidos por Clara-Raola y col.¹⁸³

Para estudiar el efecto del estabilizante, se han preparado muestras de Au@p4VP con concentraciones pequeñas de BA, del orden del 1 a 2.5 % mol con respecto a la cantidad de monómero 4VP. En estas condiciones se analizó el efecto del tipo de tensioactivo. Para ello, en lugar de utilizar CTAB, se empleó CTAC en las mismas concentraciones que el primero, y en todas las etapas del proceso de síntesis, a partir de la preparación de las nanopartículas de Au(0) de 50 nm.

El tensioactivo (CTAC), al tener un contraión de menor tamaño, cloruro (Cl⁻) en lugar de bromuro (Br⁻) como es el caso de CTAB, se puede llegar a pensar que se forma una capa más compacta alrededor de la superficie y estabilizar la nanopartícula de Au(0). Con ello, se formaría una capa más hidrófoba que permitiría un recubrimiento más uniforme de microgel de p4VP.

Como resultado del análisis por microscopía TEM de la dispersión de Au@p4VP obtenida, se observa que el recubrimiento sobre el núcleo de oro es desigual, tal como se puede comprobar en la imagen incluida en la Figura C.2.2.B. En ella se observa la formación de nanopartículas de p4VP puras, y algunas partículas de Au(0) parcialmente recubiertas.

La nanopartícula de Au(0), en los casos en los que se observa formación de polímero sobre ella, se queda al borde del sistema núcleo@corteza. Por ello, se descartó el cambio de CTAB por CTAC, al no producir el efecto esperado de centrar el núcleo metálico en la partícula polimérica.

183 Clara-Rahola, J., Moscoso, A., Belén Ruiz-Muelle, A., Laurenti, M., Formanek, P., López-Romero, J. M., Contreras-Cáceres, R. (2018). Au@p4VP core@shell pH-sensitive nanocomposites suitable for drug entrapment. *J. Colloid Interf. Sci.*, 514, 704–714.

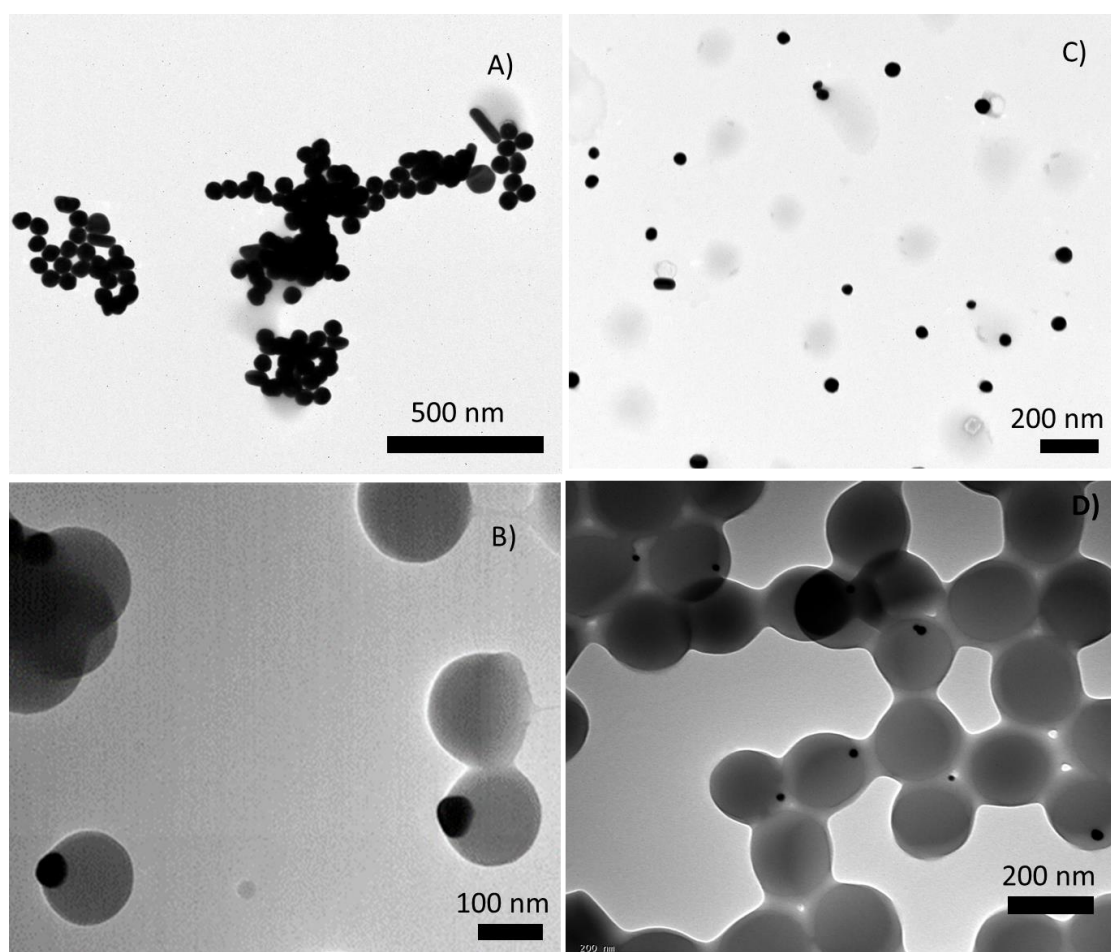


Figura C.2.2. Imágenes TEM de sistemas Au@p4VP obtenidos A) en medio ácido, agua $\text{pH} < 4.5$, B) utilizando CTAC en lugar de CTAB, C) empleando como disolvente en la reacción de polimerización una mezcla de agua/tolueno 200:1 y D) usando núcleos de Au de 18 nm de diámetro.

C.2.2.3. Influencia del iniciador de polimerización

Otras de las variables que pensamos que podría influir es el tiempo de polimerización, y en ese sentido, el iniciador de polimerización juega un papel fundamental, por su efecto en el tiempo que transcurre en la formación de un recubrimiento uniforme de p4VP sobre el núcleo de oro. Para analizar este punto se utilizó persulfato de potasio (KPS) como iniciador, en lugar de V50. Es conocido que con este iniciador la reacción de polimerización transcurre de forma más rápida que con V50.

Para ello, se siguió el mismo procedimiento de preparación de AuNPs de

50 nm de diámetro, de funcionalización con ácido 3-butenóico y de recubrimiento con p4VP ya descrito. Como iniciador de polimerización se emplearon 200 μ L de una disolución de KPS 100 mM, preparada unos instantes antes de ser empleada.

Tras la adición del iniciador, se observa decoloración en la disolución y aparición de un sobrenadante negro. Este hecho, como ya ocurrió en el apartado C.2.2.1, está asociado a la aparición de nanopartículas de Au(0) agregadas. Además se observó también la formación de una pasta blanca y rojiza en el fondo del vial de reacción, lo que es indicativo de la formación de microgeles agregados o polímeros sin forma de microgel. Debido a estos resultados, se descartó el uso de KPS como iniciador. Estos resultados negativos pueden ser explicados en base a la mayor fuerza iónica del iniciador, ya que su aumento está asociado a la aparición de agregados de nanopartículas metálicas de Au(0).

C.2.2.4. Influencia del disolvente

Para comprobar la influencia del disolvente en la formación de un recubrimiento homogéneo de p4VP sobre las AuNPs, se planteó realizar la polimerización empleando como disolvente una mezcla menos polar que el agua y, por tanto, más afín al monómero.

Inicialmente, se ensayó con una mezcla de agua/tolueno (200/1). Las cantidades de reactivos y condiciones de reacción fueron iguales a las descritas en el procedimiento que se detalla en el apartado 3.4.3 de la Parte Experimental.

Del análisis por microscopía TEM de estas muestras, se concluye que se produce la formación de microgeles libres, como se puede apreciar en la Figura C.2.2.C, y no se obtienen nanopartículas Au@p4VP. La causa de este fenómeno puede ser debida a la propia hidrofobicidad del monómero de 4VP. En las condiciones de reacción, el tolueno, también hidrófobo, se encuentra formando pequeñas vesículas en agua a causa de la temperatura y la agitación. Estas pequeñas vesículas de tolueno pueden servir de núcleos para el inicio y crecimiento del microgel p4VP,

por lo que la polimerización da lugar a microgeles que no se forman alrededor del núcleo de Au(0).

En un segundo ensayo, se empleó 2-propanol, disolvente de menor polaridad que el agua. Sin embargo, al poner en contacto el disolvente con la suspensión de nanopartículas de Au@3BA la disolución se tornó incolora y se formó un precipitado de color negro, indicando la agregación de las nanopartículas de oro. Postulamos que esto sea debido a que el alcohol disuelve la película estabilizadora de CTAB de las nanopartículas de Au(0), produciendo su desestabilización y por tanto la agregación.

En la Figura C.2.3 se representan de manera esquemática los diferentes experimentos realizados con el objeto de obtener sistemas Au@p4VP tipo núcleo@corteza, a partir de núcleos de oro de oro funcionalizados con 3BA.

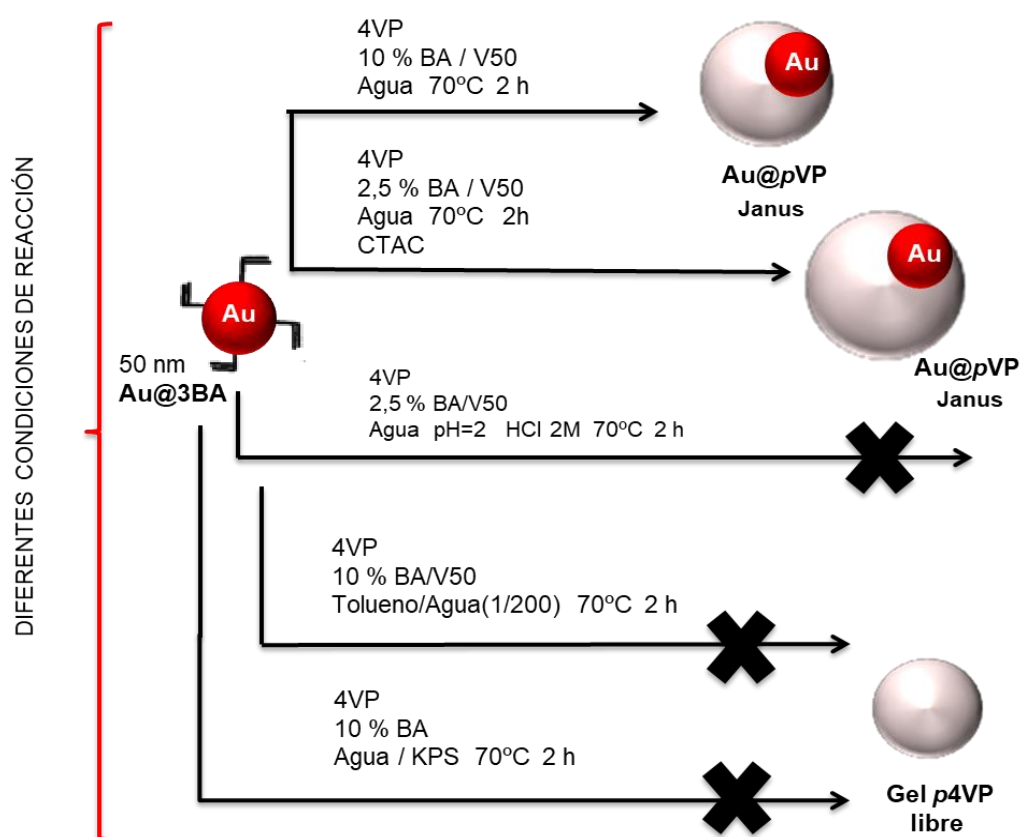


Figura C.2.3. Esquema sintético seguido y resultados obtenidos en la búsqueda del sistema híbrido Au@p4VP tipo núcleo@corteza a partir de Au50@3BA.

C.2.2.5. Influencia del tamaño de la nanopartícula de Au(0)

A continuación, se estudió el efecto del tamaño de la partícula de Au(0) en su recubrimiento. Para ello, se llevó a cabo una síntesis de Au@p4VP a partir de una dispersión de AuNPs de 18 nm de diámetro, previamente preparadas según el método descrito en el apartado 3.2.1 de la Parte Experimental. El procedimiento de polimerización fue idéntico al método general de preparación de Au@NPs.

Los resultados obtenidos, según se observa en las imágenes TEM incluidas en la figura C.2.2.D, indican que no se consigue la obtención de sistemas tipo núcleo@corteza por este método. Las nanopartículas formadas no presentan núcleo metálico en la mayoría de los casos, y en los sistemas híbridos formados, el núcleo de Au (0) sigue estando en el borde del microgel. Esto confirma que la diferencia de solubilidad o de polaridad que existe entre el núcleo de Au(0) (hidrófilo) y el monómero de 4VP (hidrófobo) es la principal causa que impide el recubrimiento uniforme de la nanopartícula metálica por el microgel y, en consecuencia, la polimerización y el crecimiento del microgel se produce, de forma preferente, por el lugar donde se ha creado la primera capa de p4VP.

C.2.2.6. Influencia de la funcionalización de la nanopartícula de Au(0)

Los resultados obtenidos en los ensayos para estudiar la influencia de pH, disolvente, estabilizante, y tamaño de núcleo de Au(0) parecen indicar que la carga superficial que se acumula en la partícula de oro provoca que la molécula de 4VP sea repelida y, tras polimerizar sobre una parte del núcleo, continúe polimerizando sobre el microgel formado, dejando la nanopartícula metálica descubierta por una cara.

Una forma de evitar este efecto podría ser el empleo de un ácido de cadena más larga que 3BA durante la funcionalización de las AuNPs con un doble enlace terminal. Esto aumentaría la hidrofobicidad de la superficie de la partícula oro. Por este motivo, se ensayó el recubrimiento del núcleo de Au(0) de 50 nm de diámetro con ácido 10-undecenoico.

El método seguido es similar al procedimiento para la funcionalización con ácido 3-butenico, incluido en el apartado 3.2.2 de la Parte

Experimental, pero cambiando el ácido. Para ello, la dispersión de nanopartículas de Au(0) de 50 nm estabilizadas en CTAB (50 mL) se trató con 607 μ L de ácido 10-undecenoico, misma concentración molar que la usada en el caso del 3BA, a 70 °C con agitación magnética de 400 rpm durante 1 h. La muestra se aisló siguiendo el procedimiento general establecido.

A continuación, se llevó a cabo la reacción de polimerización, con las mismas condiciones de reacción y cantidades de reactivos del sistema Au@p4VP con un 10 % de BA, tal como se detalla en el apartado 3.4.3 de la Parte Experimental. Sin embargo, cuando se añadió el monómero 4VP se observó la agregación de las partículas de Au(0), ya que apareció un precipitado de color negro y la consecuente decoloración de la disolución. Estos resultados coinciden con los obtenidos anteriormente con el ensayo llevado a cabo a pH ligeramente ácido (apartado C.2.2.1).

Los resultados negativos se pueden atribuir a que el ácido 10-undecenoico, al presentar una cadena hidrocarbonada larga, forme una película de naturaleza hidrófoba alrededor de la nanopartícula de Au(0), desestabilizando al sistema coloidal de Au@CTAB y con ello se formen agregados de Au(0).

En otro ensayo, también se probó la funcionalización de AuNPs de 50 nm con divinilbenceno (DVB). Para ello, se siguió el mismo método que para la funcionalización con ácido 3-butenoico (apartado 3.2.3, Parte Experimental) añadiendo en su lugar 250 μ L de DVB, llevando a cabo la reacción de polimerización según el método general establecido para el sistema Au@p4VP con un 10 % de BA (apartado 3.4.3, Parte Experimental). La elaboración de la reacción, seguido del análisis de la muestra obtenida por microscopía TEM, demostró la formación de microgeles libres y la no formación del sistema del sistema híbrido Au@p4VP. Estos resultados sugieren que no se ha llegado a funcionalizar el núcleo de Au(0) con el doble enlace terminal, en este caso proporcionado por DVB, y por tanto no se produce el recubrimiento posterior del núcleo de oro con el microgel.

En la Figura C.2.4 se representan de manera esquemática los diferentes experimentos realizados con el objeto de obtener sistemas Au@p4VP tipo núcleo@corteza, es decir, con el núcleo de Au(0) centrado.

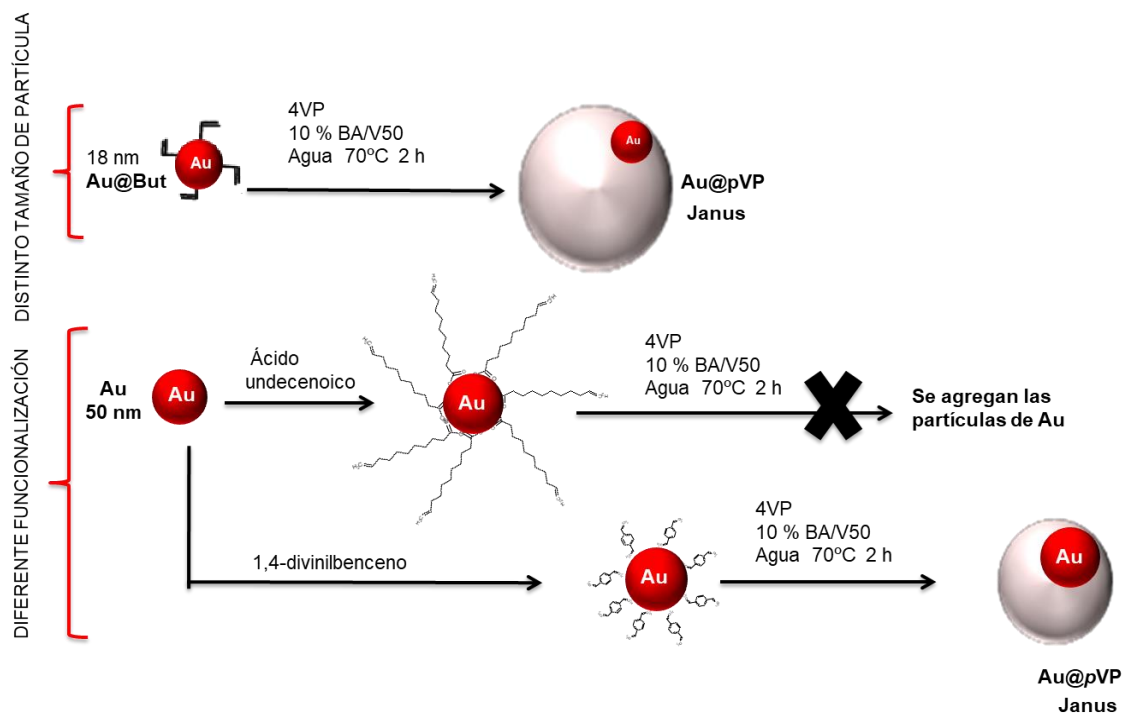


Figura C.2.4. Esquema sintético seguido y resultados obtenidos en la búsqueda del sistema híbrido Au@p4VP tipo núcleo@corteza a partir de núcleos de oro de 18 nm de diámetro y núcleos de oro de 50 nm de diámetro con distinta funcionalización a 3BA.

C.2.2.7. Influencia de la presencia de un comonómero en la polimerización.

Para respaldar la hipótesis de que la estructura de tipo Janus en el sistema Au@p4VP se produce debido a la diferencia de hidrofilia entre el monómero y la superficie de Au(0), se ha llevado a cabo la polimerización en presencia de un comonómero hidrofílico, en concreto, metacrilato de metilo (MMA).

Se ha utilizado MMA porque es un monómero hidrófilo que no proporciona un comportamiento de respuesta a estímulos, como si

presentan otros comonómeros hidrófilos de uso común, como ácido acrílico, alilamina o ácido 3-butenico.

En la preparación de estos sistemas híbridos copoliméricos de Au@p4VP-co-MMA, en los que se empleó el entrecruzante BA al 10 %, se siguió el método descrito en el apartado 3.4.3 de la Parte Experimental. En la reacción de polimerización para el recubrimiento del núcleo de AuNPs con microgel, se empleó una mezcla de monómeros de 4VP y MMA. Después del aislamiento de la muestra y su análisis TEM, se observó que muchos de los sistemas formados presentaban el núcleo de Au(0) centrado en la partícula, no observándose tantas estructuras de tipo Janus en las mismas. Este hecho queda recogido en las imágenes representativas TEM incluidas en la Figura C.2.5.

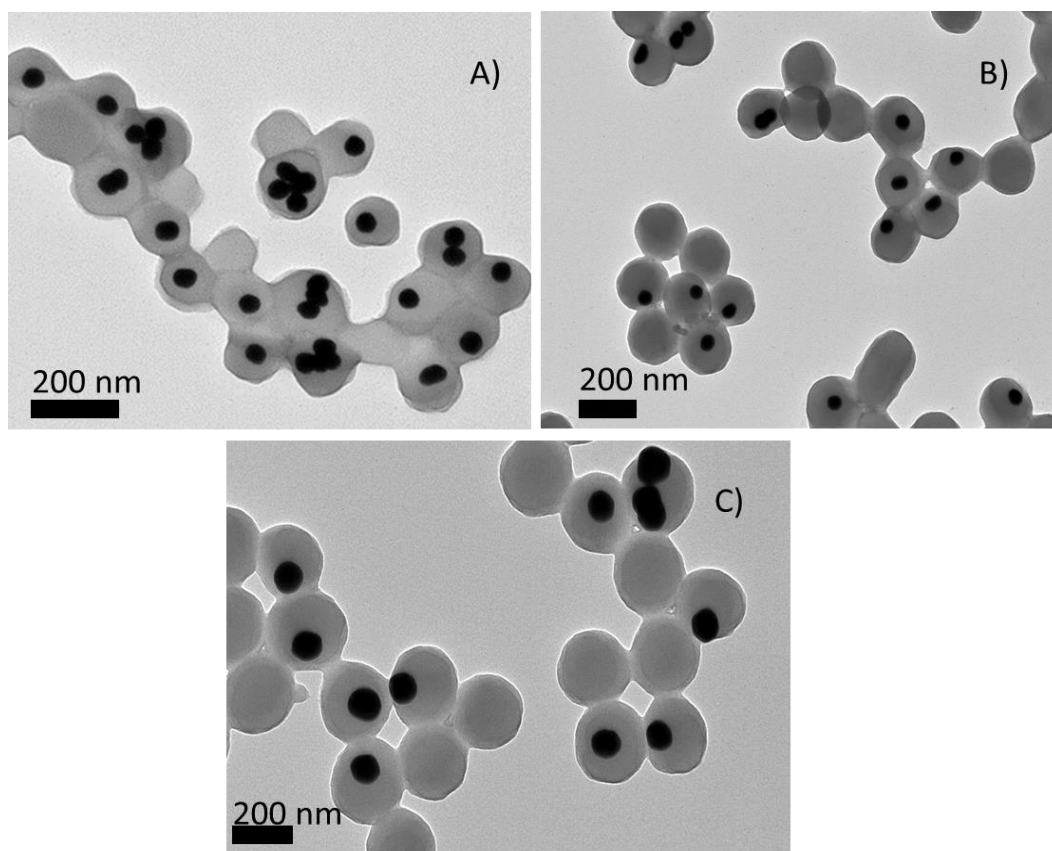


Figura C.2.5. Imágenes TEM representativas de los sistemas híbridos copoliméricos Au@p4VP-co-MMA con proporción molar p4VP/MMA (%): A) 95:5 B) 80:20 C) 90:10.

Para tener un estudio más profundo, se ensayaron tres proporciones diferentes de 4VP y MMA para encontrar la mejor relación molar entre monómeros y obtener los mejores sistemas tipo núcleo@corteza: 5 % MMA y 95 % 4VP; 10 % MMA y 90 % 4VP; y 20 % MMA y 80 % 4VP. En todos ellos empleando un 10 % mol de agente entrecruzante (BA) respecto a la cantidad de 4VP (Figura C.2.5).

Como se observa en las imágenes TEM de la figura C.2.5, la morfología Janus prácticamente desapareció en todos los ensayos, incluso en la muestra con la menor cantidad de MMA. De igual forma, se puede concluir que el núcleo de Au(0) se encuentra más centrado a medida que aumenta la cantidad de MMA.

C.2.2.8. Oxidación del núcleo de Au(0) en el sistema Au@p4VP-co-MMA

Por último, se llevó a cabo la eliminación del núcleo de Au(0) por oxidación mediada por sales de Au³⁺. Este proceso se estudió para las muestras que presentan una relación 90 % / 10 % de monómero 4VP y MMA, respectivamente.

El procedimiento seguido fue el mismo que para la obtención de los microgeles huecos de p4VP tipo Janus, descrito en el apartado 3.4.3 de la Parte Experimental. Una dispersión de Au@p4VP-co-MMA 90-10 % preparada con un 10 % de BA como agente entrecruzante, se trató con una mezcla de HAuCl₄ y CTAB. La muestra preparada se analizó por microscopía TEM (Figura C.2.6).

En las imágenes incluidas en la Figura C.2.6.A se observan las partículas de Au@p4VP-co-MMA con el núcleo de Au(0) centrado, previamente al tratamiento con la sal de Au³⁺. La imagen de la derecha (Figura C.2.6.B) muestra los sistemas huecos obtenidos después de la eliminación del núcleo (hueco@corteza), en los que el hueco formado se encuentra centrado.

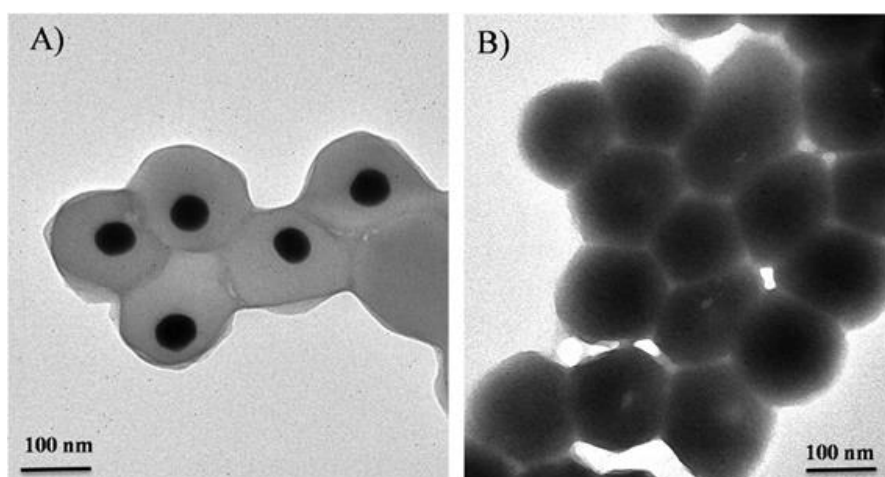


Figura. C.2.6. Imágenes TEM representativas de la muestra de sistema híbrido Au@p4VP-co-MMA 90-10 %, A) antes de la oxidación del núcleo, B) tras la oxidación del núcleo (sistema hueco tipo hueco@corteza).

Capítulo 3.

Síntesis y caracterización de nanopartículas híbridas termosensibles con propiedades catalíticas



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

Capítulo 3. Síntesis y caracterización de nanopartículas híbridas termosensibles con propiedades catalíticas

C.3.1. Antecedentes.....	161
C.3.2. Resultados y Discusión	176
C.3.2.1. Preparación y morfología de las nanopartículas híbridas	176
C.3.2.2. Análisis de la termosensibilidad en microgeles híbridos	185
C.3.2.3. Propiedades espectroscópicas (UV-vis y FTIR) de los microgeles híbridos	187
C.3.2.4. Análisis de concentración y área superficial de metal	192
C.3.2.5. Efecto catalítico en función de la temperatura	199



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

C.3.1. Antecedentes

En el Capítulo 1 de esta Tesis se han descrito los aspectos más relevantes acerca de la síntesis, estructura y propiedades de nanopartículas metálicas (MeNPs) y su recubrimiento polimérico para obtener sistemas híbridos.

Como se ha mencionado, entre las ventajas más importantes de estos sistemas metalopoliméricos se encuentran, por una parte, la capacidad de estabilizar las nanopartículas metálicas y por otra, la capacidad de modular la actividad del metal (plasmónica, catalítica, etc.). Esta propiedad se debe a la difusión de los reactivos a través del microgel, y depende de las características químicas del polímero y su grado de entrecruzamiento, y puede ser además controlada variando la temperatura o el pH.

En los últimos años, se han empleado diversos materiales como dendrímeros,¹⁸⁴ poliestireno,¹⁸⁵ polímeros en superficies,¹⁸⁶ peines poliméricos,¹⁸⁷ o microgeles,¹⁸⁸ como soportes de MeNPs, que han permitido aumentar su estabilidad coloidal para diferentes aplicaciones.¹⁸⁹ A modo de ejemplo, en la Figura C.3.1 se incluye el esquema sintético para la estabilización de nanocilindros de oro sobre peines poliméricos de 2-vinilpiridina soportados sobre una superficie de silicio.

-
- 184 Liu, Z., Wang, X., Wu, H., Li, C. (2005). Silver nanocomposite layer-by-layer films based on assembled polyelectrolyte/dendrimer. *J. Colloid Interface Sci.*, 287, 604-611.
 - 185 Chen, C.-W., Serizawa, T., Akashi, M. (1999). Synthesis and characterization of poly(N-isopropylacrylamide)-coated polystyrene microspheres with silver nanoparticles on their surfaces. *Langmuir*, 15, 7998-8006.
 - 186 Gupta, S., Agrawal, M., Conrad, M., Hutter, N. A., Olk, P., Simon, F., Eng, L. M., Stamm, M., Jordan, R. (2010). Poly(2-(dimethylamino)ethyl methacrylate) brushes with incorporated nanoparticles as a SERS active sensing layer. *Adv. Funct. Mater.*, 20, 1756-1761.
 - 187 Contreras-Caceres, R., Dawson, C., Formanek, P., Fischer, D., Simon, F., Janke, A., Uhlmann, P., Stamm, M. (2012). Polymers as templates for Au and Au@Ag bimetallic nanorods: UV-Vis and Surface Enhanced Raman Spectroscopy. *Chem. Mater.*, 25, 158-169.
 - 188 Lu, Y., Mei, Y., Drechsler, M., Ballauff, M. (2006). Thermosensitive core-shell particles as carriers for Ag nanoparticles: modulating the catalytic activity by a phase transition in networks. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 813-816.
 - 189 Gupta, S., Uhlmann, P., Agrawal, M., Chapuis, S., Oertel, U., Stamm, M. (2008). Immobilization of silver nanoparticles on responsive polymer brushes. *Macromol.*, 41, 2874-2879.

Como se observa en la imagen SEM de la Figura, los nanocilindros de oro quedan soportados homogéneamente sobre el polímero, aportándoles estabilidad y dispersibilidad.

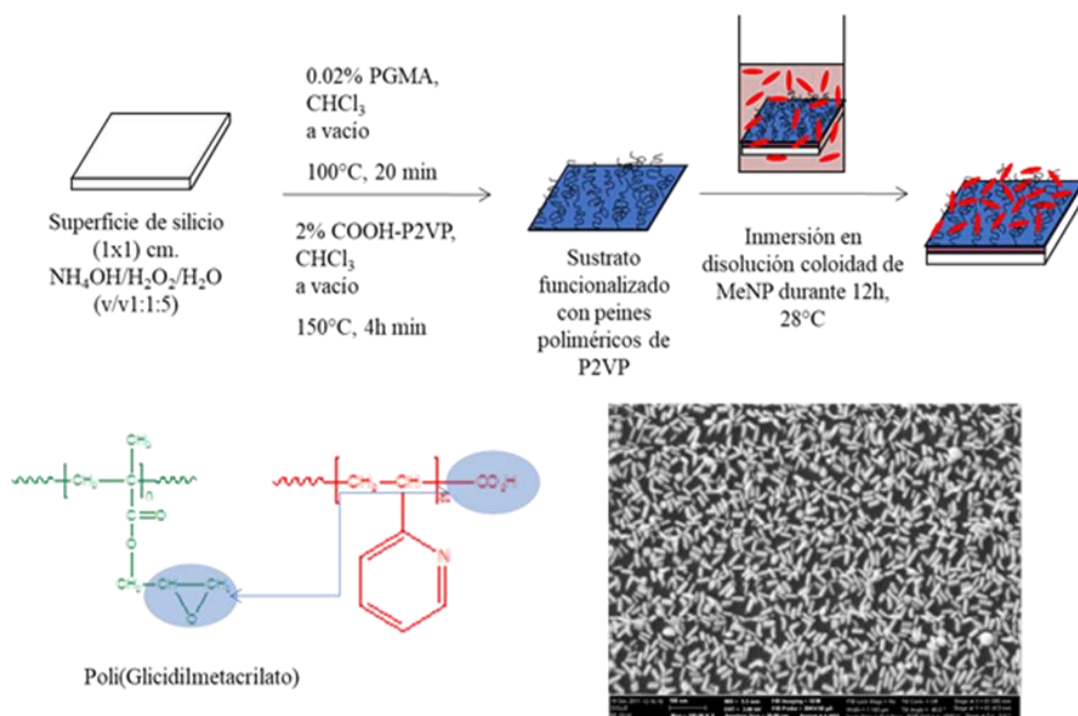


Figura C.3.1. Esquema sintético e imagen SEM de la incorporación sobre peines poliméricos (poli(2-vinilpiridina)) de nanocilindros de oro,

También se han utilizado otro tipo de materiales bidimensionales (2D) para la inmovilización de MeNPs, entre otros, grafeno,¹⁹⁰ arcillas,¹⁹¹ e incluso nanopartículas inorgánicas esféricas, como el SiO_2 .¹⁹²

Entre materiales de soporte 3D y 2D, los microgeles se presentan como uno de los sistemas coloidales más interesantes. Esto se debe a su capacidad de respuesta a estímulos externos, como la luz, el pH, la

190 Li, J., Liu, C., Liu, Y. (2012). Au/graphene hydrogel: synthesis, characterization and its use for catalytic reduction of 4-nitrophenol. *J. Mater. Chem.*, 22, 8426-8430.

191 Praus, P., Turicová, M., Karlíková, M., Kvítek, L., Dvorský, R. (2013). Nanocomposite of montmorillonite and silver nanoparticles: characterization and application in catalytic reduction of 4-nitrophenol. *Mater. Chem. Physics*, 140, 493-498.

192 Shimizu, K. i., Miyamoto, Y., Satsuma, A. (2010). Silica supported silver nanoparticles with surface oxygen species as a reusable catalyst for alkylation of arenes. *Chem.Cat.Chem.*, 2, 84-91.

temperatura, etc.¹⁹³ A esta propiedad, se le añade, la de poder acumular, absorber y almacenar moléculas debido a la porosidad de la red polimérica.

De forma paralela, una característica positiva que presentan los microgeles cuando se utilizan en la fabricación de sistemas híbridos tipo núcleo@corteza, es la posibilidad de realizar un crecimiento *in situ* sobre el núcleo metálico o en la red polimérica.¹⁹⁴ En estos sistemas la superficie cargada del polímero previene la agregación de las partículas preparadas, preservando y garantizando la estabilidad de estas.¹⁹⁵ Un ejemplo de esta nucleación *in situ* se ilustra con la Figura C.3.2.

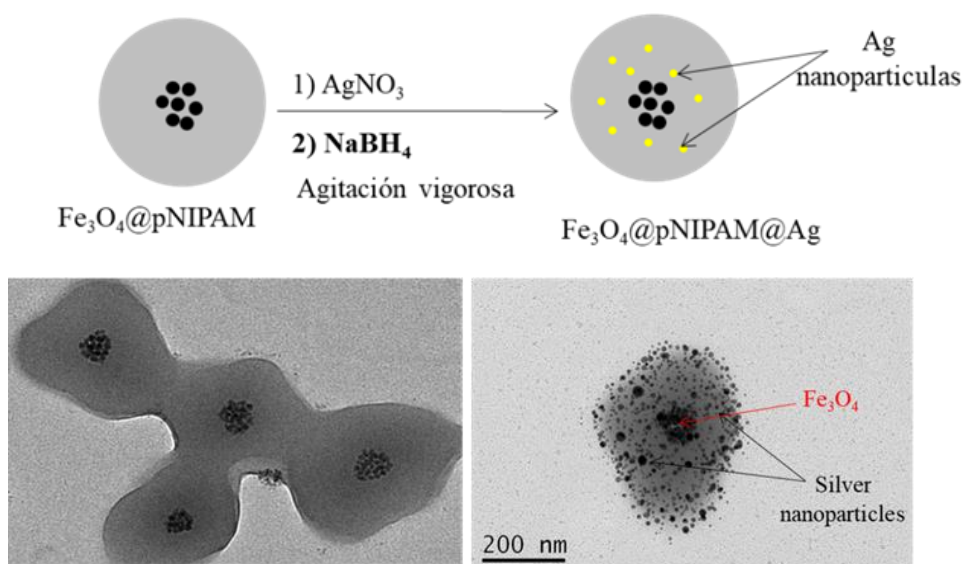


Figura C.3.2. Representación esquemática e imágenes TEM de la incorporación de AgSTs en microgeles híbridos $\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{pNIPAM}$ por un proceso de nucleación *in situ*.

La nucleación se lleva a cabo en un sistema formado por un microgel de pNIPAM que recubre partículas de magnetita ($\text{Fe}_3\text{O}_4@\text{pNIPAM}$).

- 193 Li, S., Lin, D., Zhou, J., Zha, L. (2016). Preparation of silver nanoparticles loaded photoresponsive composite microgels and their light-controllable catalytic activity. *J. Phys. Chem. C*, 120, 4902-4908.
- 194 Mohan, Y. M., Premkumar, T., Lee, K., Geckeler, K. E. (2006). Fabrication of silver nanoparticles in hydrogel networks. *Macromol. Rapid Commun.*, 27, 1346-1354.
- 195 Zhang, X., Zhang, X., Feng, R.-p., Liu, L.-h., Meng, H. (2012). Synthesis, characterization and catalytic activity of Au nanoparticles supported on PANI/ α - Fe_2O_3 composite carriers. *Mater. Chem. Physics*, 136, 555-560.

Sobre estos sistemas híbridos se llevó a cabo la incorporación de nanopartículas de plata a modo de satélites (AgSTs) obtenidas por reducción de nitrato de plata con borohidruro sódico.¹⁹⁶

Es importante destacar que el tamaño del microgel y su capacidad de hinchamiento, pueden controlarse variando la cantidad de monómero y de agente entrecruzante durante la síntesis. Además, se pueden incorporar otros monómeros durante la polimerización (co-monómeros), los cuales, además, ofrecen la posibilidad de incluir grupos funcionales en la red polimérica del microgel.^{197,198}

Como se ha comentado, la estructura de los microgeles es porosa, y por tanto facilitan la rápida difusión de pequeñas moléculas desde el exterior al interior del microgel, y viceversa. Por ello, estos sistemas se convierten en un material de interés por su posible aplicación en reacciones catalíticas heterogéneas, ya que además de estabilizar las nanopartículas metálicas, las mantienen accesibles a diversos reactivos al permitir la difusión de estos a través de su red porosa. Esta difusión se convierte en un parámetro crítico a ser estudiado en sistemas híbridos núcleo@corteza.

En consecuencia, la conexión del comportamiento sensible a estímulos externos de los microgeles con la respuesta catalítica de las MeNPs integradas en ellos, conduce a la generación de nanomateriales estables que pueden ser utilizados como micro o nanoreactores catalíticos.¹⁹⁹

Con diferencia, el microgel termosensible más estudiado para desarrollo de nanopartículas híbridas con aplicaciones catalíticas es la *poli-N*-isopropilacrilamida (pNIPAM).

196 Contreras-C. Ceres, R., Abalde-Cela, S., Guardia-Girós, P., Fernández-Barbero, A., Pérez-Juste, J., Álvarez-Puebla, R. A., Liz-Marzán, L. M. (2011). Multifunctional microgel magnetic/optical traps for SERS ultradetection. *Langmuir*, 27(8), 4520–4525.

197 Liu, Z., Wang, X., Wu, H., Li, C. (2005). Silver nanocomposite layer-by-layer films based on assembled polyelectrolyte/dendrimer. *J. Colloid Interface Sci.*, 287, 604-611.

198 Yin, P., Chen, Y., Jiang, L., You, T., Lu, X., Guo, L., Yang, S. (2011). Controlled dispersion of silver nanoparticles into the bulk of thermosensitive polymer microspheres: tunable plasmonic coupling by temperature detected by surface enhanced Raman scattering. *Macromol. Rapid Commun.*, 32(13), 1000–1006.

199 Safo, I. A., Dosche, C., Oezaslan, M. (2018). TEM, FTIR and electrochemical study: desorption of PVP from Pt nanocubes. *Z. Phys. Chem.*, 232, 1319–1333.

Como ya se ha comentado en el Capítulo 1, este microgel experimenta una transición de fase volumétrica reversible (VPT) en respuesta a la temperatura, con una LCST de aproximadamente 32 °C en agua. El microgel se hincha por la incorporación en su estructura de moléculas de disolvente a temperaturas por debajo de la LCST, debido a la formación de puentes de hidrógeno entre las moléculas de agua y los grupos amida de la acrilamida. De manera opuesta, por encima de la LCST, el disolvente es expulsado debido a la ruptura de los enlaces de hidrógeno, provocando un colapso del microgel debido a la alta hidrofobicidad de los grupos metileno. Por tanto, los microgeles híbridos compuestos por pNIPAM y nanopartículas metálicas pueden exhibir, en respuesta a temperatura externa, actividad catalítica modulable.

Además, los microgeles de pNIPAM exhiben un comportamiento anfifílico. Por un lado, poseen una naturaleza hidrófila y una buena capacidad de dispersión en agua por debajo de LCST, y, por el contrario, muestran un comportamiento hidrófobo por encima de LCST, lo que permite dispersarlos en un disolvente orgánico.

En cuanto al diseño de sistemas híbridos metal-microgel, se pueden obtener diferentes estructuras. Por ejemplo, un núcleo de nanopartícula metálica encapsulado por un recubrimiento de pNIPAM, normalmente es denotado, como ya se ha indicado en esta Tesis, como una estructura núcleo@corteza. También pueden fabricarse sistemas híbridos que incorporan partículas metálicas dentro y/o en la superficie de la red de microgel, denominadas núcleo@satélites.²⁰⁰

Con respecto al tipo de MeNPs incluidas en los sistemas coloidales híbridos de pNIPAM, las nanopartículas de plata han sido ampliamente estudiadas por ser más interesantes en términos plasmónicos (tienen una banda de absorción más intensa) y catalíticos que otros metales (por ejemplo, oro o cobre). Esto se atribuye a la mayor diferencia de energía entre la banda de conducción y de valencia en el caso de las AgNPs, lo

200 Fernández-López, C., Polavarapu, L., Solís, D. M., Taboada, J. M., Obelleiro, F., Contreras-Cáceres, R., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J. (2015). Gold nanorod-pNIPAM hybrids with reversible plasmon coupling: synthesis, modeling, and SERS properties. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 7, 12530-12538.

que lleva a una mínima amortiguación del plasmón, mejorando así las reacciones químicas de transferencia de electrones.^{201,202}

En estas estructuras se han empleado como núcleo combinaciones de dos metales. Por ejemplo, Liz-Marzán y col. desarrollaron un método para encapsular núcleos bimetalicos Au@Ag de diferentes tamaños y formas dentro de microgeles de pNIPAM, resultando estructuras híbridas tipo núcleo@corteza.^{203,204,205}

La Figura C.3.3 muestra ejemplos de nanopartículas bimetalicas encapsuladas en pNIPAM. Como puede observarse en las imágenes de dicha figura, se emplean núcleos con distintas geometrías y composición, que se obtienen variando el agente reductor en la etapa de formación de la semilla de oro y también en la posterior etapa de crecimiento mediado por semilla. En la Figura C.3.3.A se muestra una imagen TEM de una nanopartícula de oro con forma de flor recubierta de pNIPAM y en la Figura C.3.3.B se incluye una imagen TEM de un nanocilindro bimetalico de Au@Ag recubierto de pNIPAM.

Para la caracterización de la composición y la homogeneidad del recubrimiento en el núcleo bimetalico, se emplean técnicas como la microscopía electrónica de barrido de campo oscuro (dark-field STEM) a la que se le acoplan otras técnicas de análisis elemental como la espectroscopía de dispersión de energía de rayos X (EDX). En las Figuras C.3.3.C y C.3.3.D se incluyen imágenes dark-field STEM de un núcleo metalico de Au/Pt@Ni que muestra una estructura típica núcleo@corteza, además del análisis STEM-EDX de ese mismo núcleo,

-
- 201 Cruz, D. A., Rodríguez, M. C., López, J. M., Herrera, V. M., Orive, A. G., Creus, A. H. (2012). Metallic nanoparticles and surface plasmons: A deep relationship. *Av. cienc. ing.*, 3 (2), 67-78.
- 202 Wang, H., Tam, F., Grady, N. K., Halas, N. J. (2005). Cu nanoshells: effects of interband transitions on the nanoparticle plasmon resonance. *J. Phy. Chem. B*, 109(39), 18218–18222.
- 203 Contreras-Cáceres, R., Sánchez-Iglesias, A., Karg, M., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J., Pacifico, J., Hellweg, T., Fernández-Barbero, A., Liz-Marzán, L. M. (2008). Encapsulation and growth of gold nanoparticles in thermoresponsive microgels. *Adv. Mater.*, 20, 1666-1670.
- 204 Fernández-López, C., Pérez-Balado, C., Pérez-Juste, J., Pastoriza-Santos, I., de Lera, A. R., Liz-Marzán, L. M. (2012). A general LbL strategy for the growth of pNIPAM microgels on Au nanoparticles with arbitrary shapes. *Soft Matter*, 8, 4165-4170.
- 205 Pérez-Juste, J., Pastoriza-Santos, I., Liz-Marzán, L. M. (2013), Multifunctionality in metal@microgel colloidal nanocomposites. *J. Mater. Chem. A*, 1, 20-26.

donde se aprecia el núcleo de Au(0) en el centro de la nanopartícula, en rojo, y una corteza de Ni(0), en verde.

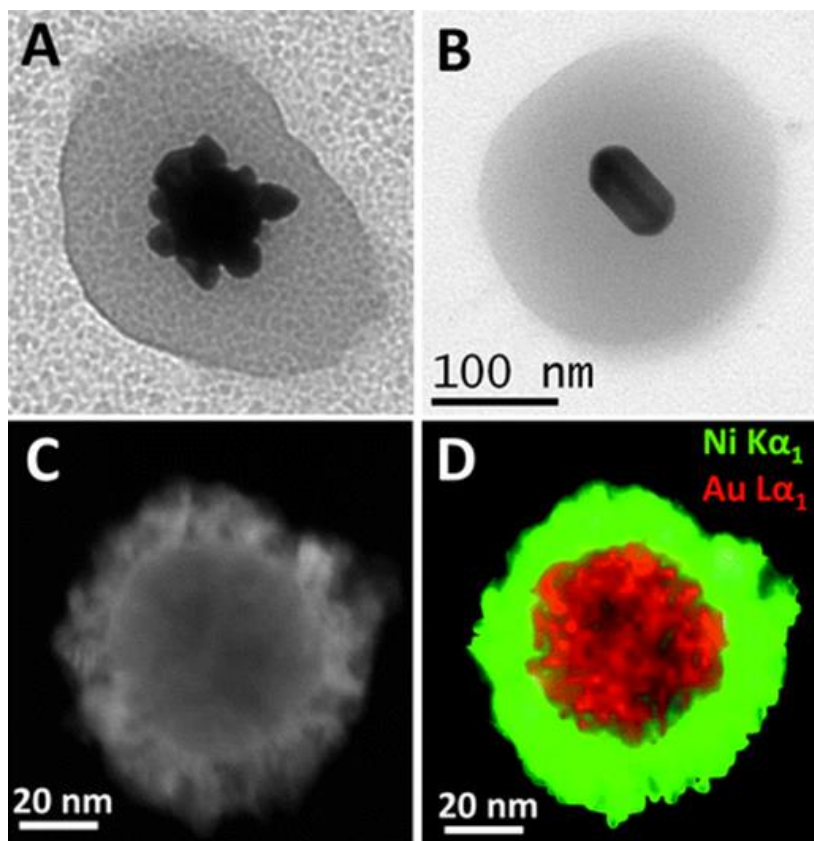


Figura C.3.3. Imágenes TEM de varias estructuras que han sido obtenidas mediante crecimiento selectivo de núcleos de oro en sistemas híbridos Au@pNIPAM: (A) AuNP con forma de flor; (B) Au@Ag nanocilindros; (C) Microscopía electrónica de barrido de campo oscuro (STEM) de un núcleo de partícula de Au/Pt@Ni que muestra una estructura típica núcleo@corteza; y (D) imagen STEM-EDX de la estructura anterior (Au en rojo y Ni en verde).

En general, para sistemas coloidales que contienen MeNPs, la actividad catalítica de las mismas se expresa normalmente mediante la constante aparente de velocidad (K_{app}), cuyo valor está relacionado con la disminución de la concentración de reactivos durante la reacción catalítica. Sin embargo, para una comparación cualitativa de la actividad catalítica, un parámetro más apropiado es K_1 , que se establece como la K_{app} normalizada al área superficial específica (S) de las nanopartículas metálicas.

Cabe mencionar también, que la dependencia de la constante de velocidad con la temperatura viene descrita por la ecuación de Arrhenius:

$$k = Ae^{-\frac{E_{act}}{RT}}$$

Donde A es un parámetro constante de la reacción, R es también una constante, 8.31 J/mol K, E_{act} es la energía de activación de la reacción y T, la temperatura expresada en grados Kelvin.

La catálisis heterogénea por parte de las AgNPs afecta al valor de E_{act} disminuyendo el valor de este parámetro. Además, un aumento de la temperatura implica un aumento del valor de K. Por tanto, un comportamiento típico de Arrhenius (como se menciona en diferentes puntos de nuestro análisis de resultados) consiste en la observación del incremento de la velocidad de la reacción al aumentar la temperatura.

En este contexto, Ballauff y col. han publicado la síntesis de estructuras tipo núcleo@satélites compuestas de poliestireno y pNIPAM como núcleo donde se inmovilizaron satélites de plata (PS@pNIPAM@AgST). Estos autores utilizaron estos sistemas como nanoreactores para la reducción de 4-nitrofenol a 4-aminofenol. En la Figura C.3.4 se muestran imágenes TEM de dichos sistemas híbridos. Los resultados de estos experimentos revelaron que los valores de K_1 dependían de la temperatura, siendo el valor de K_1 más alto de $5.2 \times 10^{-2} \text{ L/m}^2\text{s}$.^{206,207}

206 Lu, Y., Mei, Y., Drechsler, M., Ballauff, M. (2006). Thermosensitive core-shell particles as carriers for Ag nanoparticles: modulating the catalytic activity by a phase transition in networks. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 45, 813-816.

207 Lu, Y., Mei, Y., Ballauff, M., Drechsler, M. (2006). Thermosensitive core-shell particles as carrier systems for metallic nanoparticles. *J. Phys. Chem. B*, 110, 3930-3937.

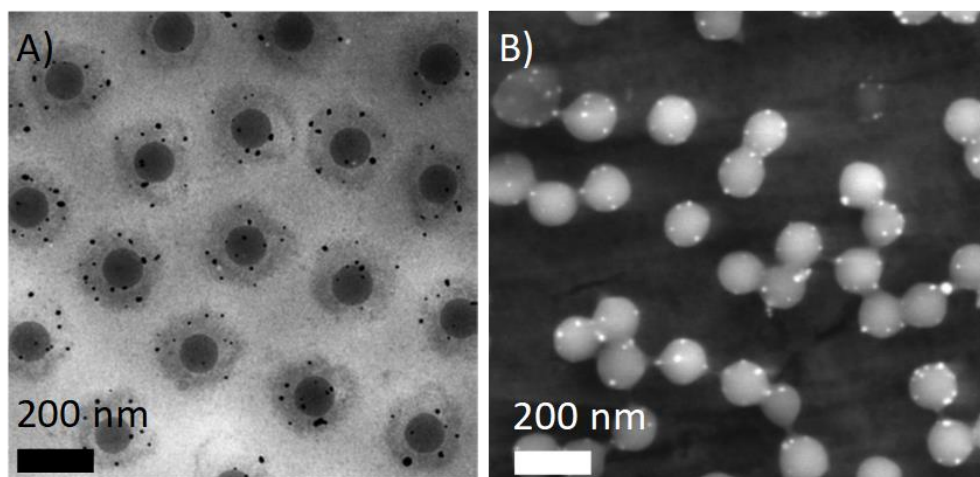


Figura C.3.4. Imágenes de microscopía electrónica A) TEM) y B) FESEM del sistema híbrido PS@pNIPAM@AgST.

Más recientemente, Liu y col. llevaron a cabo la síntesis de sistemas tipo núcleo@satélites a base de microgeles de pNIPAM empleando nanopartículas de plata como satélites.²⁰⁸ A diferencia del caso anterior, estos investigadores encontraron que la actividad catalítica en función de la temperatura podía ajustarse en cuatro etapas distintas, con valores de K_{app} que iban de 7.0×10^{-4} a $2.5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

Wu y col. han llevado a cabo la síntesis de nanoesferas huecas de pNIPAM con estructura pNIPAM@AgST.²⁰⁹ En la Figura C.3.5 se muestran imágenes TEM de estos sistemas. Estos investigadores estudiaron también las propiedades catalíticas de estos microgeles híbridos para la reacción de reducción de referencia de 4-nitrofenol a 4-aminofenol a distintas temperaturas. Como conclusiones de ese estudio se desprende que las nanopartículas huecas de pNIPAM siguen siendo sensibles a la temperatura con un comportamiento catalítico controlable, y que las pNIPAM@AgST tienen un comportamiento termosensible típico con LCST en torno a 32 °C, con valores de K_{app} comprendidos entre 4.23×10^{-4} a $5.02 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

208 Liu, Y., Liu, X., Yang, J., Lin, D., Chen, X., Zha, L.. (2012). Investigation of Ag nanoparticles loading temperature responsive hybrid microgels and their temperature controlled catalytic activity. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, 393, 105-110.

209 Xie, L., Chen, M., Wu, L. (2009). Fabrication and properties of hollow poly(N-isopropylacrylamide)-Ag nanocomposite spheres. *J. Polym. Sci. A: Polym. Chem.*, 47(19), 4919–4926.

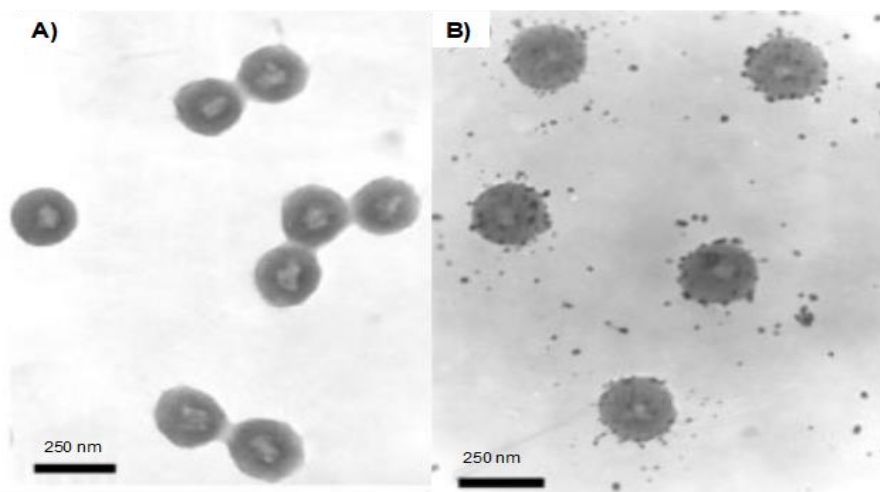


Figura C.3.5. Imágenes de microscopía electrónica A) nanopartículas huecas de pNIPAM y B) nanopartículas huecas de pNIPAM@AgST.

Por otro lado, Lu y col. prepararon nanoclusters de plata usando un ligando copolimérico termosensible que consistió en unidades de 5-(2-metacriloiletiloximetil)-8-quinolinol y *N*-isopropilacrilamida. Estos sistemas mostraron una actividad catalítica en la reducción de 4-nitrofenol dependiente del tamaño y de la temperatura. De manera sorprendente, estos autores mostraron que por encima de 32 °C la actividad catalítica de los nanoclusters de Ag(0) recubiertos de ligando polimérico se reduce, debido al colapso del pNIPAM, con valores de K_{app} que variaron de 5.0×10^{-3} a $2.0 \times 10^{-2} \text{ s}^{-1}$.²¹⁰

Zhu y col. también usaron hidrogeles nanocompuestos de tipo núcleo@satélites (pNIPAM@AuST) para la reducción de *o*-nitroanilina, obteniendo un valor de K_{app} de alrededor de $2.8 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.²¹¹

En otro trabajo, Lu, Y. y col. prepararon estructuras núcleo@satélites formadas por nanocilindros bimetalicos de Au-Pt con actividad catalítica, incorporados dentro de microgeles termosensibles de PS-

210 Lu, J., Fu, Y., Song, Y. (2016). Wang, D., Lu, C., Temperature-dependent catalytic reduction of 4-nitrophenol based on silver nanoclusters protected by a thermo-responsive copolymer ligand. *RSC Adv.*, 6, 14247-14252.

211 Zhu, C. H., Hai, Z. B., Cui, C. H., Li, H. H., Chen, J. F., Yu, S. H. (2012). In situ controlled synthesis of thermosensitive *poly(N-isopropylacrylamide)/Au* nanocomposite hydrogels by gamma radiation for catalytic application. *Small*, 8, 930-936.

NIPAM.²¹² En la Figura C.3.6 se muestra el esquema sintético seguido en la fabricación de estos sistemas híbridos $PS@pNIPAM@AuST$, además de imágenes TEM con detalle de la estructura de los nanocilindros de oro con nanoesferas de platino. El sistema híbrido mostró una gran actividad catalítica debido al efecto sinérgico de las NPs bimetálicas, obteniendo valores de K_1 entre 8.2×10^{-2} y $0.21 \text{ L/m}^2\text{s}$. Sin embargo, en su sistema coloidal, la reacción catalítica se produce principal o totalmente en la superficie del polímero, donde se acumulan las partículas de Au-Pt, y los reactivos no difunden a través del microgel hacia un núcleo metálico.

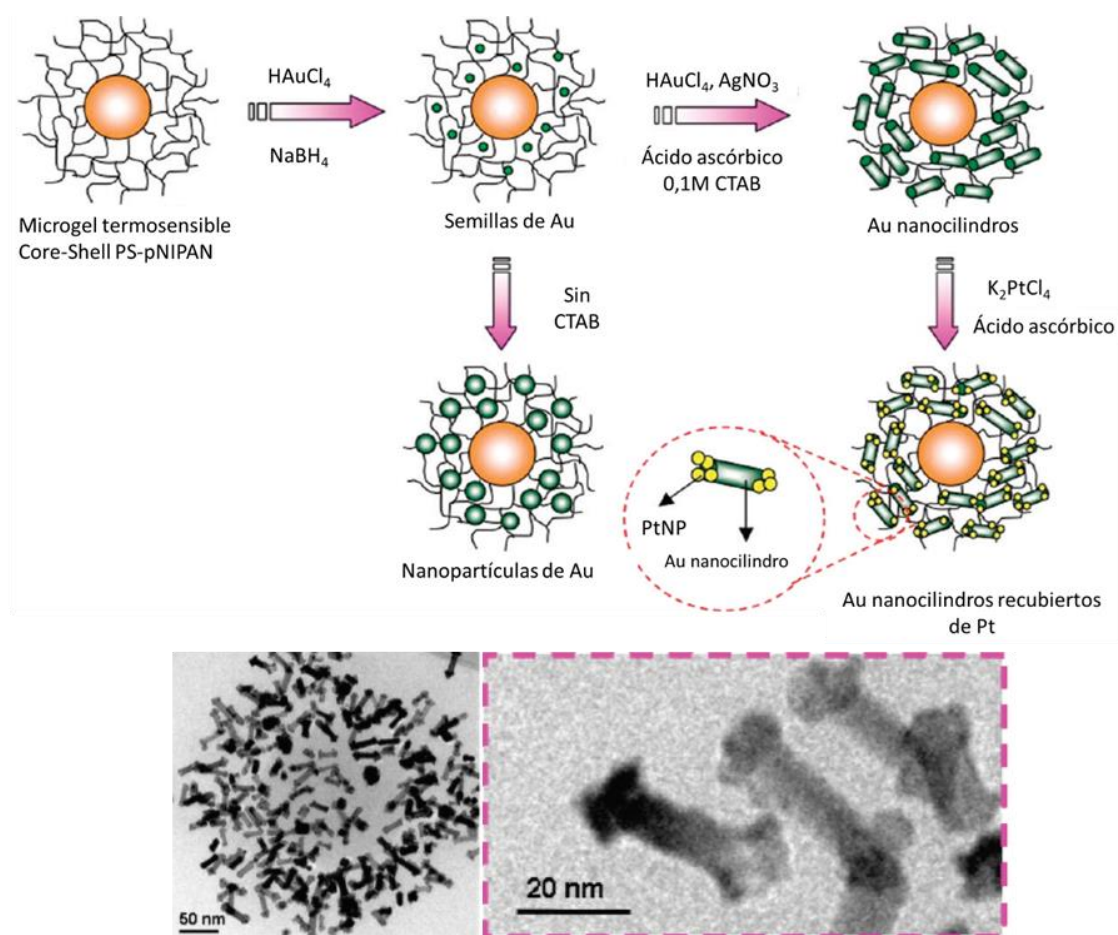


Figura C.3.6. Ilustración esquemática de la generación in situ de núcleos bimetálicos Au/Pt dentro de microgeles termosensibles con estructura núcleo@corteza mediante el método de crecimiento mediado por semilla, e imágenes de microscopía TEM del sistema híbrido $PS@NIPAM@AuNR-PtNP$.

212 Lu, Y., Yuan, J., Polzer, F., Drechsler, M., Preussner, J. (2010). In situ growth of catalytic active Au-Pt bimetallic nanorods in thermoresponsive core-shell microgels. *ACS Nano*, 4, 7078-7086.

Xu y col. han llevado también a cabo la reducción catalítica de 4-nitrofenol a 4-aminofenol, entre otros nitrobenzenos, empleando NaBH_4 y usando catalizadores híbridos nanoestructurados del tipo $\text{SiO}_2@\text{pNIPAM}@\text{AgST}$.²¹³ Estos autores obtuvieron rendimientos y conversiones excelentes, con valores de K_{app} de $3,8 \times 10^{-4}$ a $8,4 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$.

Por otra parte, Carregal-Romero y col. fabricaron nanopartículas de oro esféricas de 60 nm recubiertas con pNIPAM ($\text{Au}@\text{pNIPAM}$).²¹⁴ Estos autores investigaron la reacción de transferencia de electrones del complejo hexacianoferrato(III) por borohidruro de sodio, y encontraron un comportamiento catalítico similar al de nuestras investigaciones (véase el apartado Resultados y Discusión, C.3.2).

De igual forma, Wu y col. investigaron la reducción de 4-nitrofenol con NaBH_4 usando sistemas $\text{Au}@\text{pNIPAM}$.²¹⁵ Sin embargo, estos autores fabricaron un sistema híbrido en el que hay una distancia (un espacio hueco) entre el núcleo de $\text{Au}(0)$ y el microgel de pNIPAM, como puede apreciarse en la ilustración de la Figura C.3.7 y en las imágenes TEM incluidas. Estos autores incluyen un modelo teórico para el análisis del comportamiento cinético, en el cual influye en gran medida la distancia existente entre el microgel y la superficie de la AuNP. Los valores de K_{app} obtenidos para estos sistemas oscilan entre $7,1 \times 10^{-4}$ y $7,4 \times 10^{-4} \text{ s}^{-1}$.

213 Xu, J., Zhou, T., Jia, L., Shen, X., Li, X., Li, H., Cao, J. (2017). Generation and thermally adjustable catalysis of silver nanoparticle immobilized temperature-sensitive nanocomposite. *J. Nanopart. Res.*, 19(3).

214 Carregal-Romero, S., Buurma, N. J., Pérez-Juste, J., Liz-Marzán, L. M., Hervés, P. (2010). Catalysis by $\text{Au}@\text{pNIPAM}$ nanocomposites: effect of the cross-linking density. *Chem. Mater.*, 22(10), 3051–3059.

215 Wu, S., Dzubiella, J., Kaiser, J., Drechsler, M., Guo, X., Ballauff, M., Lu, Y. (2012). Thermosensitive Au-pNIPAM yolk-shell nanoparticles with tunable selectivity for catalysis. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 51(9), 2229–2233.

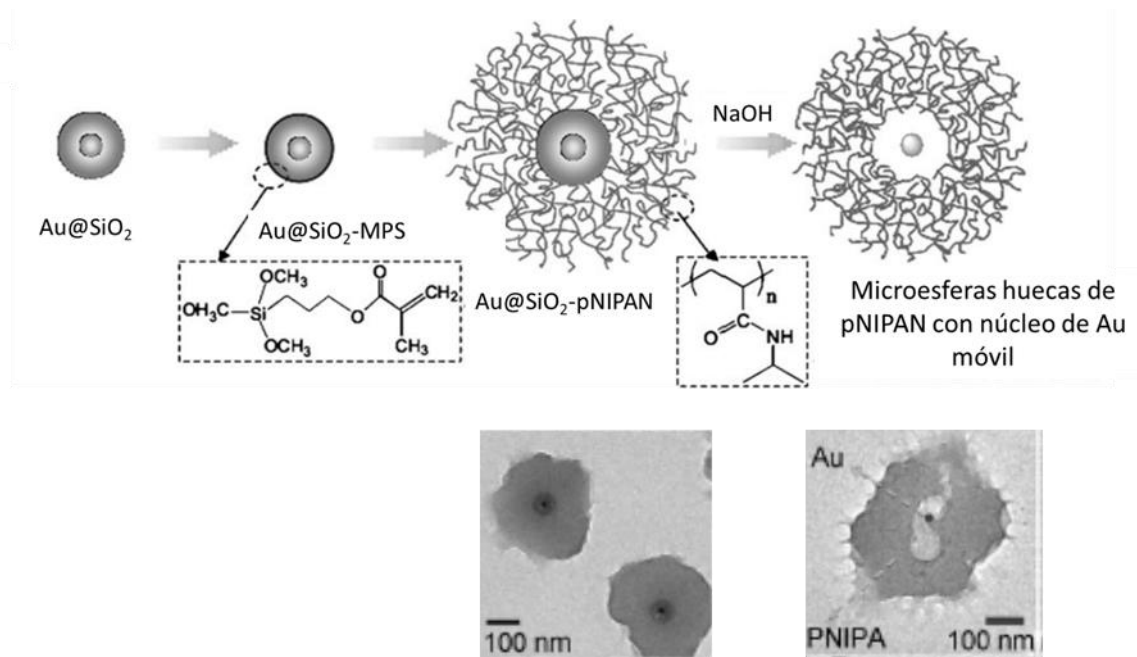


Figura C.3.7. Ilustración que representa la obtención de las microesferas huecas de Au-pNIPAM con núcleo móvil e imágenes TEM de los sistemas híbridos de Au-SiO₂-pNIPAM y del sistema Au-pNIPAM hueco tras eliminar la envoltura de sílice.

Li y col. desarrollaron un núcleo Au@Ag bimetalítico recubierto de pNIPAM.²¹⁶ El núcleo bimetalítico se preparó mediante una reacción de reemplazamiento galvánico (galvanic replacement, GR) entre AgNPs y HAuCl₄. Estos autores encontraron un doble comportamiento tipo Arrhenius. Sin embargo, después de una observación detallada de las imágenes TEM, se puede comprobar que las nanopartículas bimetalíticas no están rodeadas de manera homogénea por una cubierta de pNIPAM. En consecuencia, por las zonas más expuestas del núcleo (áreas no recubiertas) los reactivos no difunden a través de la red del microgel, y probablemente esta circunstancia afecta al comportamiento catalítico.

Li y col. investigaron el efecto de la temperatura en la velocidad de reducción de 4-nitrofenol empleando sistemas catalíticos de pNIPAM copolimerizado con ácido acrílico (AA) y satélites de plata incorporados

²¹⁶ Li, L., Niu, R., Zhang, Y. (2018). Ag-Au bimetallic nanocomposites stabilized with organic-inorganic hybrid microgels: synthesis and their regulated optical and catalytic properties. *RSC Advances*, 8(22), 12428–12438.

(pNIPAM-co-AA@AgST).²¹⁷ El efecto catalítico de este sistema híbrido núcleo@satélites tuvo un doble comportamiento tipo Arrhenius, con el mayor valor de K_{app} de $7.5 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ a 32 °C.

Trabajos más recientes, como el de Hellweg y col. describen sistemas híbridos más complejos, con la incorporación de satélites de plata en núcleos de microgeles en nanopartículas de tipo núcleo@corteza.²¹⁸ Estas estructuras están formadas por un núcleo fabricado con *N*-isopropilacrilamida (NIPAM), *N*-isopropilmetacrilamida (NIPMAM) o *N*-(*n*-propil)acrilamida (NNPAM) copolimerizados con ácido acrílico (AA) y recubierta por una envoltura formada por *poli-N*-(*n*-propil)acrilamida (pNNPAM). En estos sistemas, como se aprecia en la Figura C.3.8, donde se incluye una representación 3D de la nanopartícula híbrida y la imagen TEM correspondiente, las nanopartículas de plata están incluidas en el núcleo, y la cubierta polimérica se encuentra en el exterior. De esta manera, este recubrimiento proporciona estabilidad coloidal y puede controlar la difusión de los reactivos involucrados en la reacción.

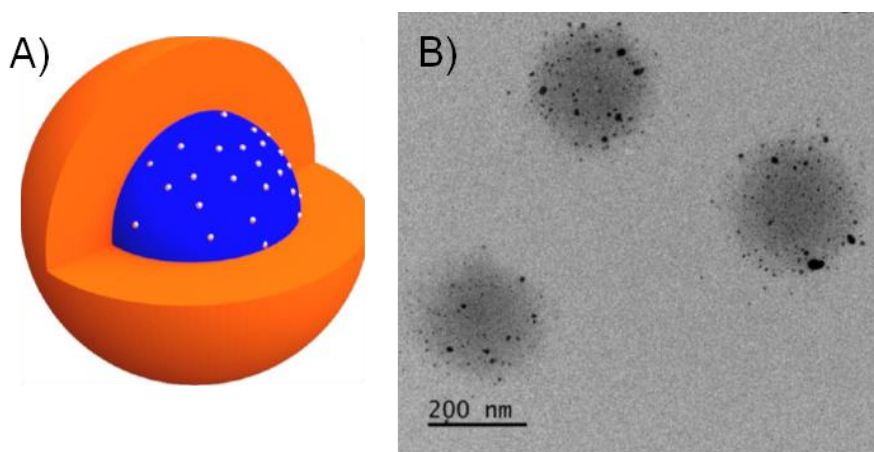


Figura C.3.8. A) representación esquemática de la arquitectura de nanopartículas híbridas tipo núcleo@corteza , con un núcleo compuesto por microgel@AgST y una corteza de otro microgel. Las AgNP están localizadas dentro del núcleo de microgel (azul) con cobertura de PNNPAM (naranja). B) imagen TEM de dicho sistema.

217 Li, K., Chen, X., Wang, Z., Xu, L., Fu, W., Zhao, L., Chen, L. (2015). Temperature-responsive catalytic performance of Ag nanoparticles endowed by *poly*(*N*-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) microgels. *Polym. Compos.*, 38(4), 708–718.

218 Brändel, T., Sabadasch, V., Hannappel, Y., Hellweg, T. (2019). Improved smart microgel carriers for catalytic silver nanoparticles. *ACS Omega*, 4(3), 4636–4649.

Roa y col. han publicado un artículo de revisión centrado en la catálisis realizada por nanopartículas metálicas.²¹⁹ En esta revisión, los autores dividieron los portadores activos en tres tipos:

- i) microgeles huecos con MeNP
- ii) sistemas MeNP@microgel
- iii) nanopartículas integradas aleatoriamente dentro del microgel.

Estos autores incluyen una teoría para la difusión de los reactivos y un estudio del comportamiento cinético de esa difusión en los diferentes sistemas. Los autores concluyen que la arquitectura de los sistemas híbridos es crítica y condiciona el comportamiento termo-catalítico.

En el apartado siguiente, de Resultados y Discusión de este Capítulo 3 de la Tesis Doctoral, se detalla la síntesis y la caracterización morfológica de sistemas híbridos nanométricos termosensibles con estructura núcleo@corteza y núcleo@corteza@satélites consistentes en Au@Ag@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM@AgST. Asimismo, se han sintetizado sistemas híbridos pNIPAM@AgST, ya publicados,²²⁰ con el objeto de comparar su morfología y características con los que tienen núcleo bimetálico Au@Ag, además de satélites de plata. Por último, también se estudia la actividad catalítica para los sistemas Au@Ag@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM@AgST utilizando la reacción de reducción de 4-Nip a 4-Amp en presencia de NaBH₄, y se investiga sobre el efecto de la temperatura sobre la velocidad de reducción.

219 Roa, R., Angioletti-Uberti, S., Lu, Y., Dzubiel, J., Piazza, F., Ballauff, M. (2018). Catalysis by metallic nanoparticles in solution: Thermosensitive microgels as nanoreactors. *Z. Phys. Chem.*, 32(5-6), 773–803.

220 Satapathy, S. S., Bhol, P., Chakkarambath, A., Mohanta, J., Samantaray, K., Bhat, S. K., Si, S. (2017). Thermo-responsive pNIPAM-metal hybrids: An efficient nanocatalyst for the reduction of 4-nitrophenol. *Appl. Surface Sci.*, 420, 753–763.

C.3.2. Resultados y Discusión

C.3.2.1. Preparación y morfología de las nanopartículas híbridas

En la preparación de los sistemas híbridos Au@Ag@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM@AgST se siguió el esquema sintético indicado en la Figura C.3.9. Como puede observarse en esta Figura, en primer lugar, se sintetizan AuNPs esféricas de 50 nm, para lo cual se sigue el procedimiento descrito en la Parte Experimental, apartado 3.2.1. Posteriormente se funcionalizan con 3BA (apartado 3.2.3). La siguiente etapa consiste en la encapsulación del núcleo con pNIPAM (para el caso del sistema Au@pNIPAM, método del apartado 3.3.1) o con el copolímero pNIPAM-alilamina (para el caso de Au@pNIPAM-Alilamina, descrito en el apartado 3.3.2). En tercer lugar, se crece una capa de Ag(0) sobre el núcleo de Au(0), obteniendo microgeles bimetálicos Au@Ag@pNIPAM (véase apartado 3.3.3). Finalmente se aprovecha la presencia de alilamina para coordinar iones Ag^+ , que se reducen a satélites de Ag(0) dentro de la estructura del microgel, generando estructuras núcleo@corteza@satélites de Au@Ag@pNIPAM@AgST (procedimiento que se describe en el apartado 3.3.4).

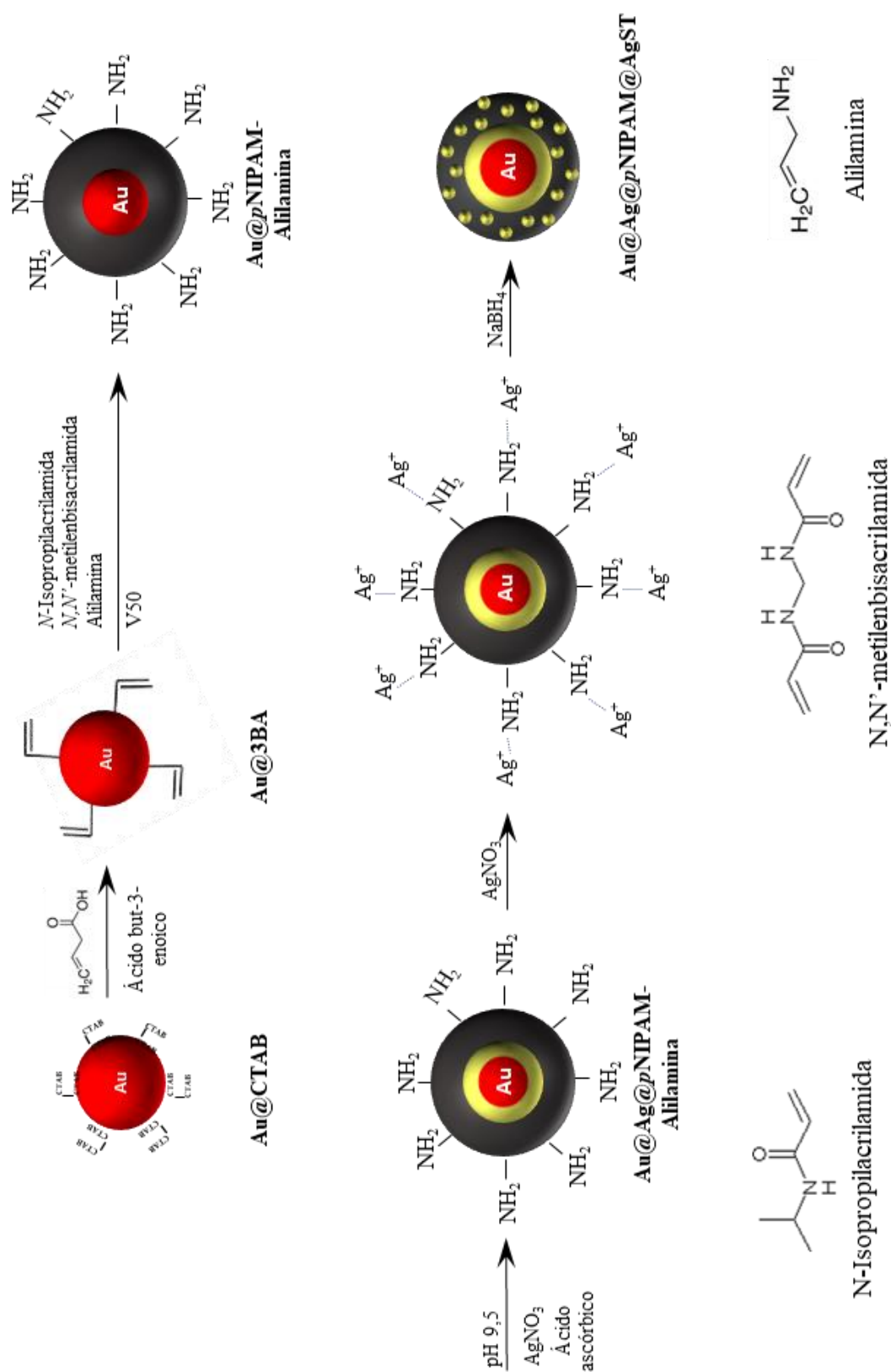


Figura.C.3.9 Esquema sintético seguido en la obtención de los sistemas híbridos termosensibles Au@Ag@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM@AgST.

La forma y tamaños de las nanopartículas híbridas se demuestran por microscopía electrónica de transmisión (TEM) y mediante análisis de dispersión dinámica de la luz (DLS). Cabe señalar que los tamaños de microgel medidos por DLS son mayores que los obtenidos por TEM, ya que el primero refleja el tamaño de microgel hinchado en disolución, mientras que el segundo revela la morfología del microgel colapsado en estado deshidratado, tras el secado de éste en una rejilla de TEM.

Como evidencia directa de la formación de estos sistemas híbridos, en la Figura C.3.10 se incluyen imágenes TEM representativas de los sistemas Au@pNIPAM, Au@Ag@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM@AgST. Como podemos observar en la figura, existen varias diferencias en comparación con el sistema publicado recientemente por Hellweg y col.:²²¹

- i) Nuestro sistema consiste en un núcleo bimetálico Au@Ag encapsulado por una capa de pNIPAM (Au@Ag@pNIPAM), y los satélites de plata se encuentran bien distribuidos en toda la corteza de microgel pNIPAM (Au@Ag@pNIPAM@AgST), como se demostrará en las próximas secciones de este capítulo.
- ii) Utilizamos como comonómero alilamina en lugar de ácido acrílico.
- iii) Nuestros sistemas no contienen una cubierta polimérica de PNN, solo usamos NIPAM como monómero.

221 Brändel, T., Sabadasch, V., Hannappel, Y., Hellweg, T. (2019). Improved smart microgel carriers for catalytic silver nanoparticles. *ACS Omega*, 4(3), 4636–4649

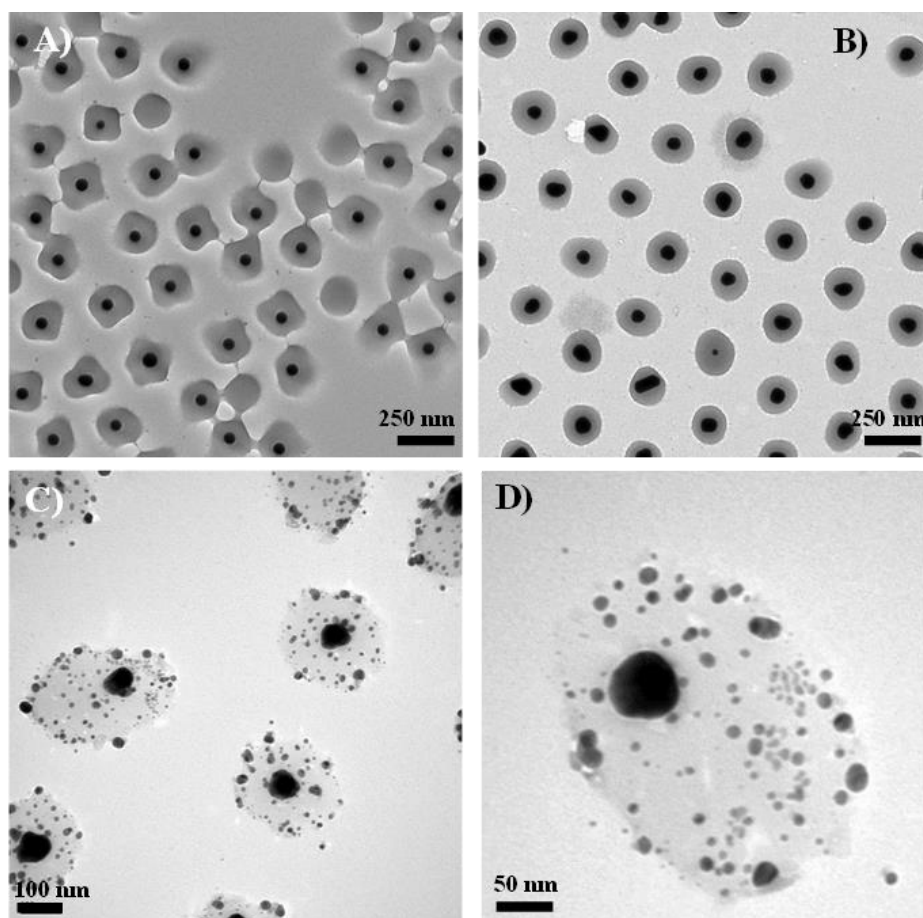


Figura.C.3.10. Imágenes TEM representativas de A) Au@pNIPAM, B) Au@Ag@pNIPAM, C) y D) Microgeles híbridos Au@Ag@pNIPAM@AgST a dos magnificaciones distintas.

La Figura C.3.10.A muestra la estructura híbrida compuesta por el núcleo de nanopartícula de oro encapsulada por una cubierta de microgel, en una estructura típica núcleo@corteza. Se observa un alto contraste entre las esferas de oro localizadas dentro de microgeles esféricos monodispersos, de menor contraste en la imagen. El análisis de las dimensiones de estas partículas (Au@pNIPAM) se ha realizado midiendo un total de 100 AuNPs, y este cálculo revela un diámetro del núcleo de 48.6 ± 3.4 nm (Figura C.3.11.A). La Figura C.3.10.B muestra una imagen TEM del sistema Au@Ag@pNIPAM. En ella se observa la misma morfología núcleo@corteza estructurada en un núcleo metálico encapsulado por un microgel. En este caso, el análisis de dimensiones proporciona un tamaño promedio de partícula de 63.6 ± 5.9 nm. Esto

significa que se ha formado una capa de Ag(0) de aproximadamente 15 nm alrededor del núcleo de Au(0).

Finalmente, en las Figuras C.3.10.C y C.3.10.D se exhibe el sistema híbrido nanoestructurado Au@Ag@pNIPAM@AgST. Las imágenes muestran la presencia de satélites de Ag(0) distribuidos en la red polimérica del microgel de pNIPAM. La distribución del tamaño de partícula correspondiente a los AgST se incluye en la Figura C.3.11.C, resultando un diámetro medio de 14.6 ± 4.8 nm.

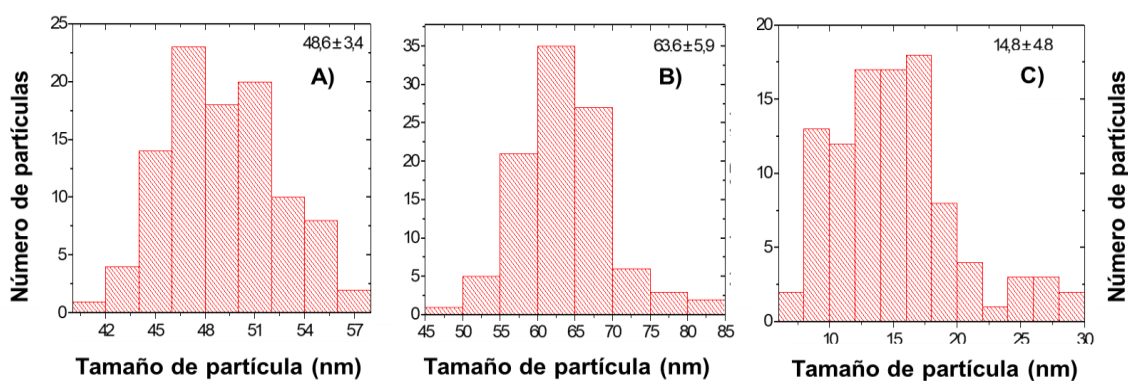


Figura C.3.11. Distribución de diámetros de nanopartículas obtenidos a partir de las imágenes TEM para A) AuNPs, B) Au@Ag y C) AgSTs.

Es importante mencionar que, dado que en la microscopía convencional TEM se obtienen imágenes en 2D, es difícil demostrar si las nanopartículas de plata se encuentran solo en la superficie del microgel o forman parte del interior de la matriz polimérica. No obstante, a partir de estas imágenes, si se puede concluir de forma cualitativa que los AgST se distribuyen uniformemente.

Para confirmar la posición exacta de los satélites de Ag en el microgel de pNIPAM, incluimos imágenes de tomografía 3D para una muestra Au@Ag@pNIPAM@AgST. En este caso, la muestra se estructura en un núcleo de Au de 100 nm, recubierto por una capa de plata de 15 nm, la cual está encapsulada por pNIPAM que contiene satélites de plata (véase Figura C.3.12).

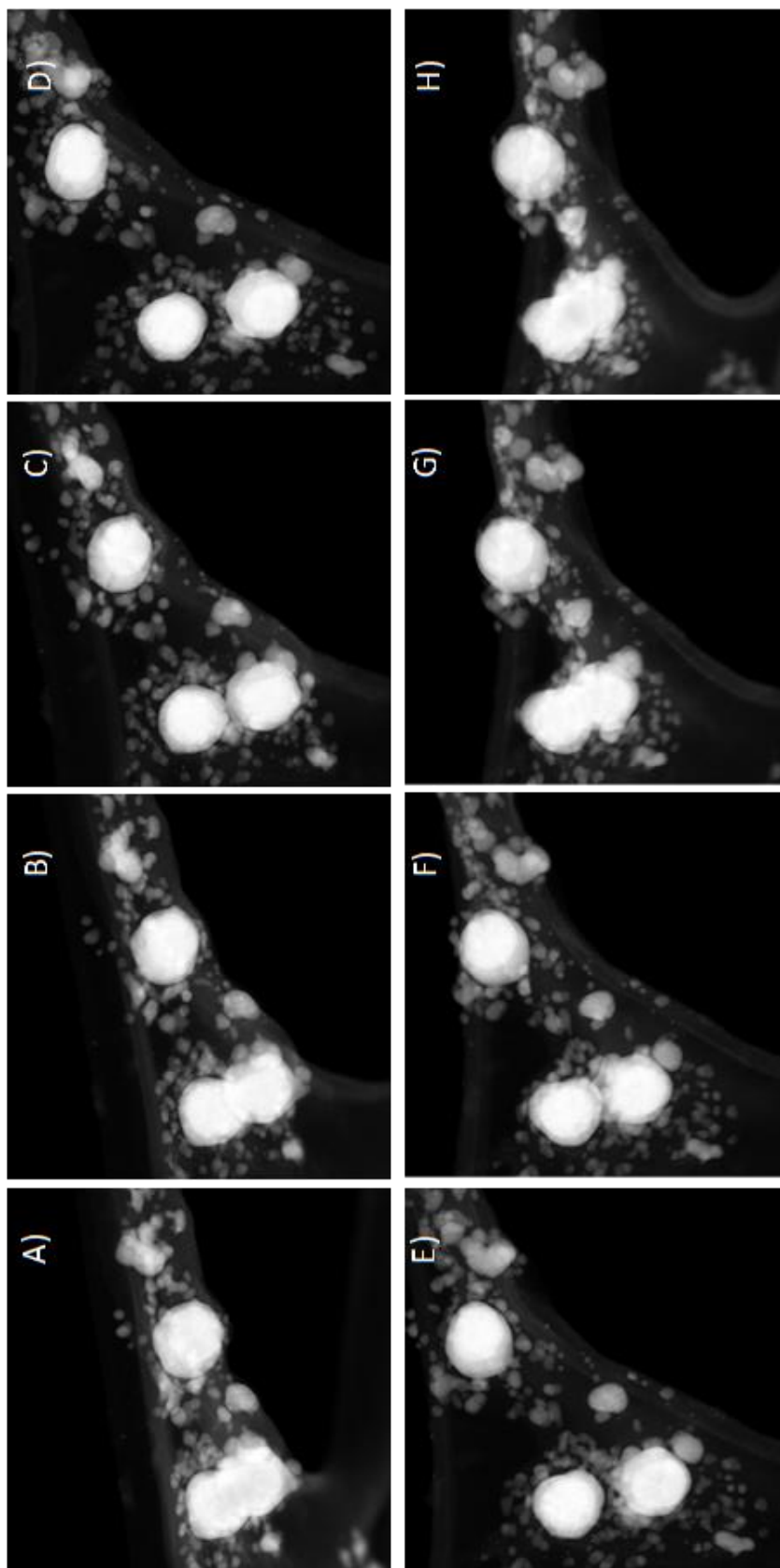


Figura C.3.12. Imágenes tomográficas tomadas para el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST tomadas girando la rejilla portamuestra en el interior del microscopio Talos a A) 0 °, B) 20 °, C) 40 ° D) 80 °, E) 100 °, F) 120 °, G) 140 ° y H) 160 °.

Como se observa en las imágenes de la Figura C.3.12, tomadas a distintos ángulos, se puede concluir que los satélites de Ag están distribuidos uniformemente dentro de la red de microgel, confirmando que no se encuentran únicamente en la superficie de pNIPAM. Esto se puede explicar en base a que los iones Ag^+ , precursores de las nanopartículas AgSTs, se estabilizan mejor en la zona interna del microgel, por presentar un mayor número de interacciones con los grupos funcionales de los monómeros, comparado con las interacciones que podrían presentar en la zona superficial del microgel o en el propio núcleo, donde el volumen de contacto es menor.

En la Figura C.3.13 se muestra la caracterización por microscopía TEM de los tres sistemas híbridos, junto con un esquema de las estructuras preparadas. En la Figuras C.3.13.A y C.3.13.B se muestran los sistemas de estructura núcleo@corteza de Au@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM respectivamente. Como se observa en las imágenes, los sistemas obtenidos son muy homogéneos en cuanto a tamaños y dispersibilidad. En la Figura C.3.13.C, se muestra el sistema con estructura núcleo@corteza@satélites. En este caso, los AgSTs se prepararon con cantidades de AgNO_3 y NaBH_4 duplicadas en comparación con las cantidades indicadas en la síntesis detallada en la Parte Experimental (apartado 3.3.4). Como se puede apreciar en la imagen, algunos AgSTs están conectados o fusionados. Esto hecho se puede explicar como consecuencia del aumento en el tamaño de partícula.

Es importante mencionar que, en el caso de la formación del sistema bimetalico Au@Ag , la capa de plata sobre la superficie del núcleo de oro ha sido obtenida por reducción de Ag^+ a $\text{Ag}(0)$ mediante la acción de un agente reductor suave (ácido ascórbico). De esta manera la plata no nuclea, y crece homogéneamente sobre la superficie de la nanopartícula de oro. Sin embargo, como el ácido ascórbico no tiene suficiente potencial redox para reducir Ag^+ a $\text{Ag}(0)$ a pH neutro, fue necesario aumentar el pH, y con ello, aumentar el potencial redox y favorecer la reducción de los iones plata.²²² Para ello se utilizó una

²²² Yang, Z., Lin, Y.-W., Tseng, W.-L., Chang, H.-T. (2005). Impacts that pH and metal ion concentration have on the synthesis of bimetallic and trimetallic nanorods from gold seeds. *J. Mater. Chem.*, 15(25), 2450.

disolución tampón de glicina de pH 9.5. Al usar estas condiciones suaves, sigue sin producirse nucleación, y los iones Ag^+ pueden difundir a través de la red de pNIPAM hasta la superficie de oro, donde se lleva a cabo la reducción a $\text{Ag}(0)$, obteniendo así la estructura de tipo núcleo@corteza.^{223,224} Por otro lado, los iones Ag^+ proporcionados por la sal de plata (AgNO_3), después de coordinarse con los grupos NH_2 de la alilamina, generan satélites cuando se introduce en la mezcla un agente reductor fuerte. En nuestro caso, hemos usado NaBH_4 , que conlleva a la nucleación de la plata (formación de satélites), en lugar de formar una corteza de $\text{Ag}(0)$ sobre la superficie del núcleo de $\text{Au}(0)$.

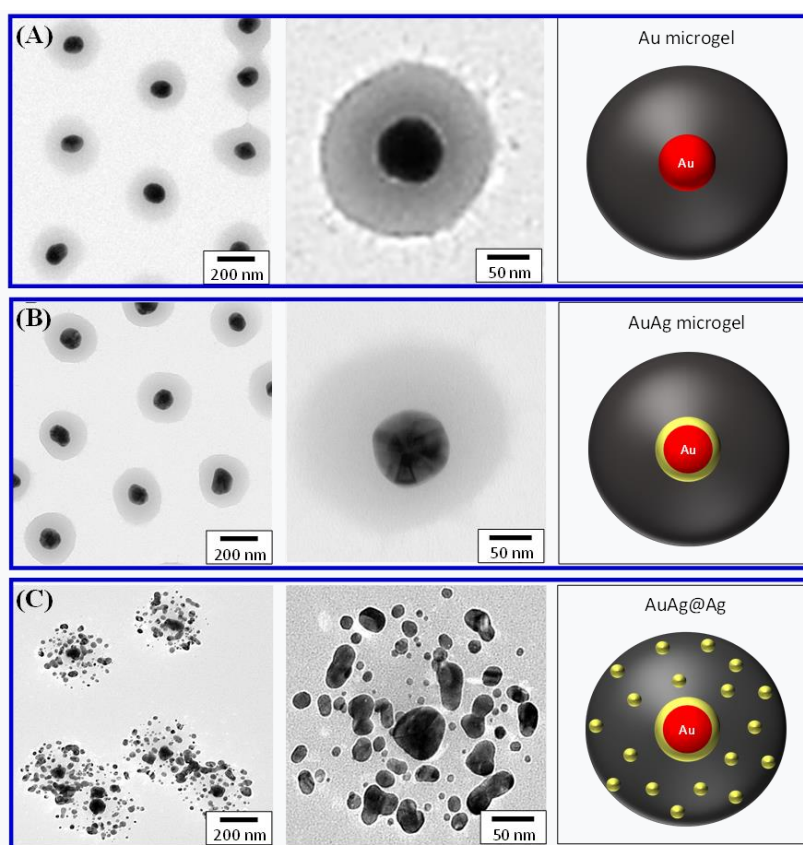


Figura C.3.13. Imágenes TEM y representación esquemática de los tres sistemas híbridos sintetizados A) Au@pNIPAM , B) Au@Ag@pNIPAM y C) Au@Ag@pNIPAM@AgST .

- 223 Contreras-Cáceres, R., Pastoriza-Santos, I., Alvarez-Puebla, R. A., Pérez-Juste, J., Fernández-Barbero, A., Liz-Marzán, L. M. (2010). Growing Au/Ag nanoparticles within microgel colloids for improved surface-enhanced Raman scattering detection. *Chem. A Eur. J.*, 16(31), 9462–9467.
- 224 Contreras-Caceres, R., Dawson, C., Formanek, P., Fischer, D., Simon, F., Janke, A., Stamm, M. (2013). Polymers as templates for Au and Au@Ag bimetallic nanorods: UV–Vis and surface enhanced Raman spectroscopy. *Chem. Mater.*, 25(2), 158–169.

Con objeto de detallar su estructura composicional, estos tres sistemas también se han caracterizado mediante microscopía electrónica de transmisión de campo oscuro anular de alto ángulo (HAADF-TEM) y mapeo elemental de rayos X de energía dispersiva (EDX). En la Figura C.3.14 se muestran las imágenes obtenidas para microgeles de Au@pNIPAM, y en la Figura C.3.15 para los sistemas Au@Ag@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM@AgST.

Como se observa en las imágenes de ambas figuras, la técnica de HAADF muestra imágenes de contraste a una posición diferente del detector del equipo, capaz de despreciar las dispersiones de electrones a ángulos pequeños (efectos Bragg). De esta manera se obtiene una imagen nítida de dicho núcleo. Por otra parte, el detector EDX muestra la estructura composicional del núcleo (en rojo, Au(0) y en verde, Ag(0)) porque analiza el espectro característico de dispersión de rayos X de cada elemento presente en la muestra.

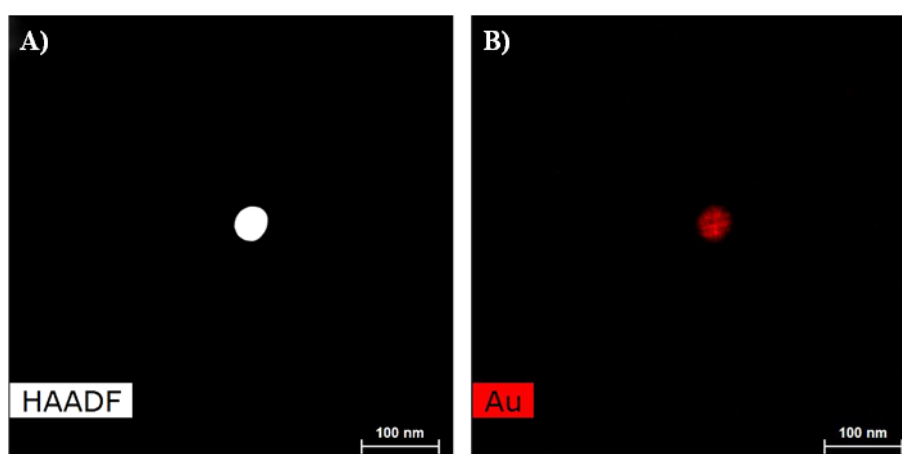


Figura C.3.14. A) Imagen HAADF-TEM y B) Análisis de mapeo elemental EDX de Au en partículas de Au@pNIPAM.

Para el caso del sistema Au@Ag@pNIPAM, el recubrimiento de plata y el núcleo de oro pueden distinguirse con claridad. Superponiendo los mapas elementales de ambos metales (Figura C.3.15.A y C.3.15.B) se observa una capa homogénea de Ag(0), de aproximadamente 17 nm de espesor, que rodea el núcleo de oro.

Para el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST, además de la configuración núcleo@corteza previamente observada, se puede distinguir también una gran cantidad de AgST (Figura C.3.15.E-I), distribuidos alrededor de la estructura núcleo@corteza.

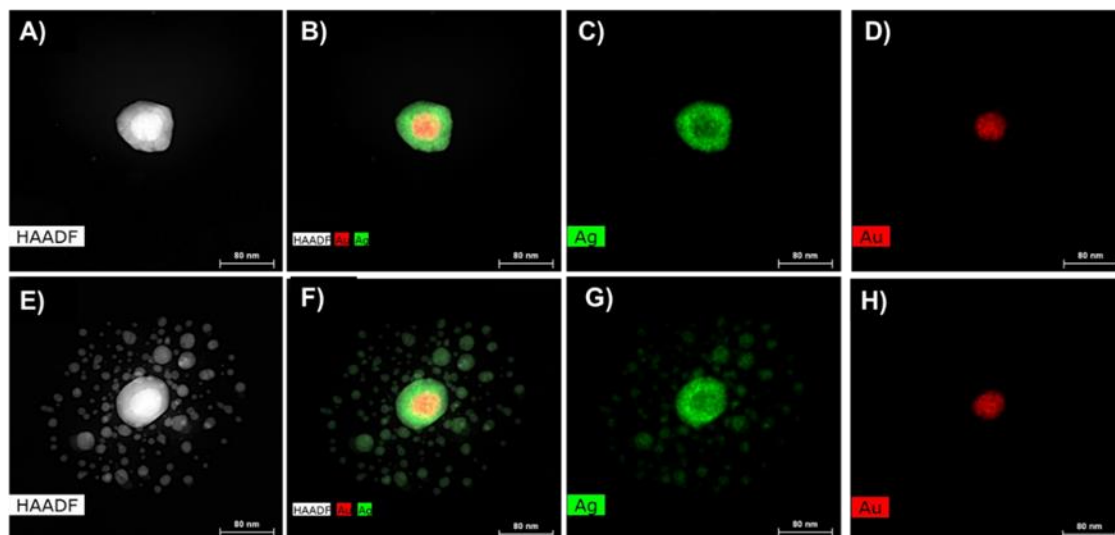


Figura C.3.15. Imagen HAADF-TEM para microgeles A) Au@Ag@pNIPAM y E) Au@Ag@pNIPAM@AgST B) y F) Mapeo elemental EDX de plata y oro mixtos para los dos sistemas. C) y D) mapeo elemental EDX de plata y oro para Au@Ag@pNIPAM, y G) y H) mapeo elemental EDX de plata y oro para microgeles Au@Ag@pNIPAM@AgST.

Es importante enfatizar que las nanopartículas bimetálicas con estructura núcleo@corteza de Au@Ag han sido descritas previamente, pero este microgel tipo Au@Ag@pNIPAM@AgST es el primer sistema publicado con estructuras de satélites sobre núcleo@corteza, que muestra además capacidad de respuesta térmica. Este sistema lo denominamos núcleo@corteza@satélites.

C.3.2.2. Análisis de la termosensibilidad en microgeles híbridos

La caracterización dimensional de los sistemas preparados se ha realizado mediante la técnica de DLS. El diámetro hidrodinámico (D_h), así como las variaciones de tamaño de los microgeles híbridos en función de la temperatura (en el rango 25-44 °C) para los sistemas

Au@pNIPAM, Au@Ag@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM@AgST, se muestran en la Figura C.3.16.

El factor de contracción (β) se define como la relación entre el volumen de la partícula en el estado hinchado (a 25 °C) y el volumen de la partícula a cada temperatura ($\beta = V_{\text{hinchado}} (25\text{ °C}) / V (T)$), siendo el inverso del factor de hinchamiento (α).²²⁵ Como era de esperar, la variación del diámetro hidrodinámico y el factor de contracción inducido por la temperatura de los sistemas Au@pNIPAM (cuadrados negros en la Figura C.3.16) y Au@Ag@pNIPAM (círculos rojos en la Figura C.3.16) fueron similares. Para los microgeles de Au@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM se obtuvo un valor de D_h de ~342 nm a 25 °C, con una disminución significativa del tamaño hasta ~240 nm en el estado colapsado a 44 °C, resultando un factor de contracción de ~2.7 para ambos sistemas. Sin embargo, el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST muestra una capacidad de hinchamiento más reducida, con un factor de contracción menor en comparación con los otros dos sistemas. El tamaño de partícula en el estado hinchado se midió en ~345 nm, y después de que la temperatura se elevara a 44 °C, el valor de D_h se redujo a ~260 nm. Básicamente, el sistema que contiene AgST produce un menor colapso de microgel, en comparación con los sistemas anteriores sin AgST, con un factor de contracción β de ~2.2. Este comportamiento se puede explicar si pensamos que los satélites de plata incorporados en la red polimérica de pNIPAM reducen las capacidades de hinchamiento y colapso del microgel, y esto a su vez, puede ser debido a que la presencia de AgSTs dificultaría la movilidad de las cadenas poliméricas durante el colapso del microgel, lo que se traduce en una menor capacidad de hinchamiento.

Este comportamiento también se sustenta con el hecho de que, debido a la naturaleza hidrófila de los AgSTs, estos se encuentran rodeados de una atmósfera de aniones BH_4^- y solvatados por moléculas de agua. Esta circunstancia dificulta que el microgel expulse eficientemente las

225 Contreras-Cáceres, R., Pacifico, J., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J., Fernández-Barbero, A., Liz-Marzán, L. M. (2009). Au@pNIPAM thermosensitive nanostructures: control over shell cross-linking, overall dimensions, and core growth. *Adv. Funct. Mater.*, 19, 3070-3076.

moléculas de agua por encima de LCST. Este hecho confirmaría por otra parte, que los AgSTs se distribuyan dentro de todo el microgel de pNIPAM.

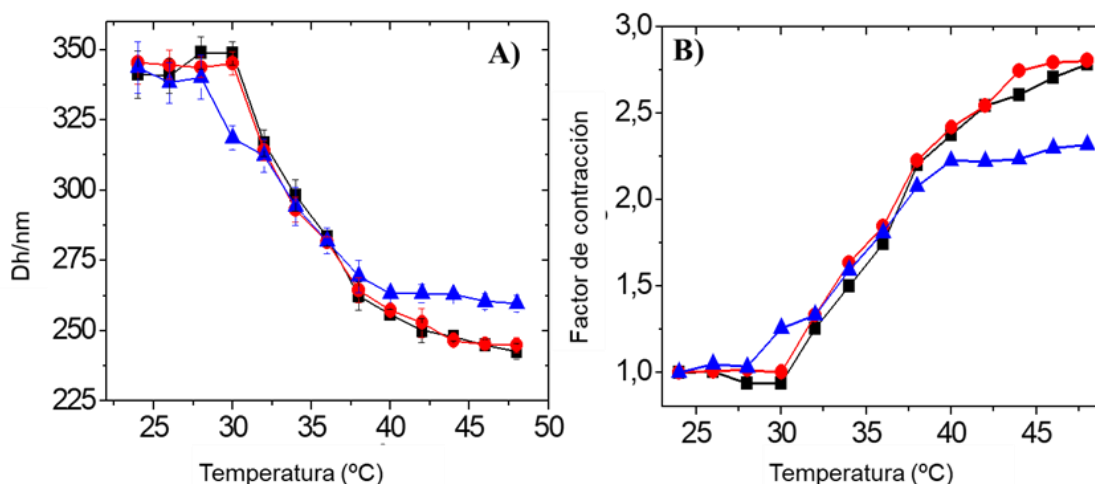


Figura C.3.16. A) Dh en función de la temperatura, y B) factor de contracción β para los microgeles híbridos Au@pNIPAM (cuadrados negros), Au@Ag@pNIPAM (círculos rojos) y Au@Ag@pNIPAM@AgST (triángulos azules).

C.3.2.3. Propiedades espectroscópicas (UV-vis y FTIR) de los microgeles híbridos

Es interesante destacar que, al registrar los espectros UV-vis para los sistemas Au@pNIPAM, Au@Ag@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM@AgST, en todos los microgeles se observó máximos de plasmón superficial localizado, así como un comportamiento dependiente de la temperatura. Esto se puede observar en la Figura C.3.17, en la que se incluyen los espectros UV-Vis de los microgeles híbridos obtenidos a 25 °C y 50 °C.

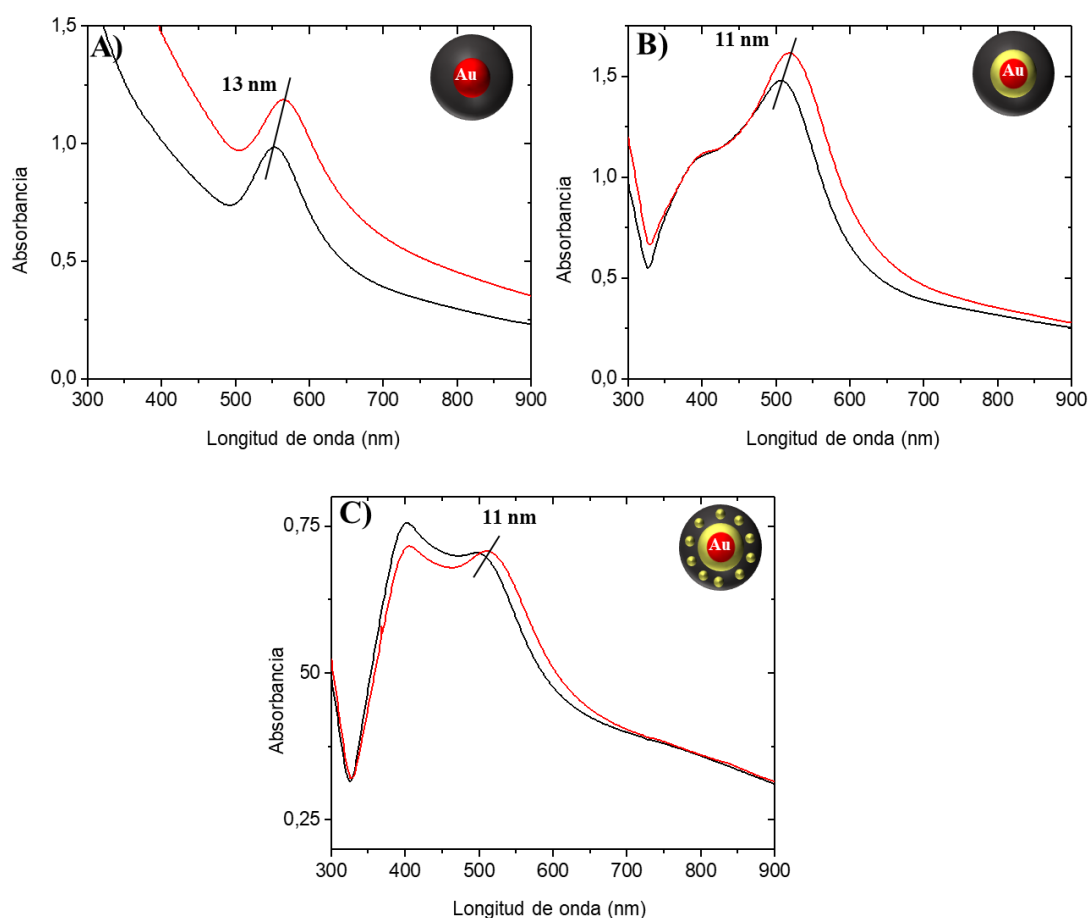


Figura C.3.17. Espectros UV-Vis de microgeles híbridos A) Au@pNIPAM, B) Au@Ag@pNIPAM y C) Au@Ag@pNIPAM@AgST obtenidos a 25 °C (línea negra) y 50 °C (línea roja).

El espectro UV-vis de los microgeles de Au@pNIPAM (Figura C.3.17.A), reveló un máximo de absorción para el oro ubicado a 540 nm a 25 °C, que se desplaza a 552 nm a 50 °C (un desplazamiento de 12 nm). Para el sistema Au@Ag@pNIPAM (Figura C.3.16.B), el espectro UV-vis inicialmente mostró un mínimo a aproximadamente 320 nm, característico de la transición entre bandas de conducción y de valencia de Ag(0).²²⁶ Se detectaron máximos plasmónicos para el oro a 507 nm y para la plata a 403 nm. El núcleo de oro es el principal contribuyente plasmónico en los espectros debido a su mayor tamaño, (50 nm), en comparación con el recubrimiento de Ag, de 15 nm, tal

226 Kreibig, U., Vollmer, M. *Experimental results and discussion. In optical properties of metal clusters*, Springer Berlin Heidelberg, 275-436. 1995.

como se ha demostrado en las imágenes TEM incluidas en el apartado C.3.2.1. El máximo correspondiente al Au(0), observado en la Figura C.3.17.B, se desplazó a longitudes de onda más bajas en comparación con la de oro. Este hecho coincide con resultados ya publicados, que explican que la banda de plasmón de oro para partículas bimetálicas tipo núcleo@corteza de Au@Ag desplaza la posición de la banda de plasmón de oro a longitudes de onda más cortas. El origen de dicho desplazamiento se asigna a las diferencias en la función dieléctrica compleja de plata y oro, lo que resulta en una variación de la función dieléctrica efectiva de las nanopartículas bimetálicas de Au@Ag.^{227,228,229} Además, experimentalmente también se observa un desplazamiento hacia el rojo del máximo del plasmón del oro por el aumento de la temperatura. La banda de plasmón para el oro se localiza a 507 nm a 25 °C (estado hinchado) y a 518 nm a 50 °C (estado colapsado), lo que supone un desplazamiento de 11 nm.

Como se ha mencionado, la sensibilidad del desplazamiento plasmónico en las nanopartículas bimetálicas de Au@Ag depende de la función dieléctrica efectiva de las nanopartículas bimetálicas.^{230,231,232} Este desplazamiento coincide con otros publicados previamente, donde se mostró un desplazamiento en la banda del plasmón del oro de 17 nm para las partículas Au@Ag@pNIPAM, formadas por un núcleo de Au(0) de 64 nm y un recubrimiento de Ag(0) de 40 nm.

-
- 227 Contreras-Caceres, R., Dawson, C., Formanek, P., Fischer, D., Simon, F., Janke, A., Stamm, M. (2013). Polymers as templates for Au and Au@Ag bimetallic nanorods: UV-Vis and Surface enhanced Raman spectroscopy. *Chem. Mater.*, 25(2), 158–169.
- 228 Carbó-Argibay, E., Rodríguez-González, B., Pacifico, J., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J., Liz-Marzán, L. M. (2007). Chemical sharpening of gold nanorods: the rod-to-octahedron transition. *Angew. Chem. Int. Ed.*, 46(47), 8983–8987.
- 229 Sánchez-Iglesias, A., Carbó-Argibay, E., Glaria, A., Rodríguez-González, B., Pérez-Juste, J., Pastoriza-Santos, I., Liz-Marzán, L. M. (2010). Rapid epitaxial growth of Ag on Au nanoparticles: from Au nanorods to core-shell Au@Ag octahedrons. *Chem. A Eur. J.*, 16(19), 5558–5563.
- 230 Khalavka, Y., Becker, J., Sönnichsen, C. (2009). Synthesis of rod-shaped gold nanorattles with improved plasmon sensitivity and catalytic activity. *J. Am. Chem. Soc.*, 131(5), 1871–1875.
- 231 Sepúlveda, B., Angelomé, P. C., Lechuga, L. M., Liz-Marzán, L. M. (2009). LSPR-based nanobiosensors. *Nano Today*, 4(3), 244–251.
- 232 Contreras-Cáceres, R., Pastoriza-Santos, I., Alvarez-Puebla, R. A., Pérez-Juste, J., Fernández-Barbero, A., Liz-Marzán, L. M. (2010). Growing Au/Ag nanoparticles within microgel colloids for improved surface-enhanced Raman scattering detection. *Chem. A Eur. J.*, 16(31), 9462–9467.

Finalmente, el espectro UV-vis para las partículas Au@Ag@pNIPAM@AgST (Figura C.3.17.C) mostró un mínimo a 320 nm, igual que en el sistema Au@Ag@pNIPAM. Además, se observa un desplazamiento de la posición del plasmón del Au(0) hacia menores longitudes de onda (desplazamiento hacia el azul), comparado con los sistemas anteriores. Al aumentar la temperatura en el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST el desplazamiento hacia el rojo del plasmón de oro fue de 11 nm (511 nm a 50 °C), igual al del caso del sistema Au@Ag@pNIPAM. Otra observación que se puede extraer en este sistema es el desplazamiento hacia el rojo de 4 nm para la banda de plasmón de plata, producido por la presencia de AgSTs.

Los desplazamientos hacia mayores longitudes de onda observados en todos los sistemas cuando se mide a 50°C se atribuye al aumento del índice de refracción local, como establece la Teoría de Mie (apartado 1.1.1). Esa diferencia se debe a la expulsión de agua del microgel, que se produce a temperaturas superiores a la de transición de fase volumétrica del pNIPAM.

Como se ha publicado en otros estudios similares, la espectroscopía UV-vis es una técnica adecuada para monitorear el desplazamiento de la banda del plasmón superficial debido al cambio en la distribución espacial de las nanopartículas metálicas.^{233, 234} Por lo tanto, otro mecanismo que podría explicar el desplazamiento hacia mayores longitudes de onda, especialmente para el plasmón de plata en el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST, es que debido al colapso de los microgeles de pNIPAM por encima de LCST podría reducir la distancia entre las AgNTs y el núcleo bimetálico Au@Ag, causando el acoplamiento plasmónico entre ellos.²³⁵ Sin embargo, los resultados

233 Contreras-Cáceres, R., Sánchez-Iglésias, A., Matthias, K., Pastoriza-Santos, I., Pérez-Juste, J., Pacífico, J., Hellweg, T., Fernández-Barbero, A., Liz-Marzán, L. (2008). Encapsulation and growth of gold nanoparticles in thermoresponsive microgels. *Adv. Mater.*, 20, 1666-1670.

234 Dong, X., Zou, X., Liu, X., Lu, P., Yang, J., Lin, D., Zhang, L., Zha, L. (2014). Temperature-tunable plasmonic property and SERS activity of the monodisperse thermo-responsive composite microgels with core-shell structure based on gold nanorod as core. *Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Asp.*, 452, 46-50.

235 Satapathy, S. S., Bhol, P., Chakkambath, A., Mohanta, J., Samantaray, K., Bhat, S. K., Panda, S. K., Mohanty, P. S., Si, S. (2017). Thermo-responsive pNIPAM-metal hybrids: An efficient nanocatalyst for the reduction of 4-nitrophenol. *Appl. Surface Sci.*, 420, 753-763.

experimentales apuntan a que este fenómeno no se produce, ya que el desplazamiento del plasmón fue el mismo que el observado en los microgeles Au@Ag@pNIPAM sin satélites de plata.

Del análisis de la absorción en UV-vis se puede concluir que las propiedades ópticas de los núcleos de Au(0), recubiertos de Ag(0) y con AgSTs incorporados dentro de los microgeles de pNIPAM, se pueden regular con la temperatura. Este hecho proporciona nanocoloides plasmónicos de respuesta térmica para su uso en catálisis modulada por la temperatura, e incluso en otros campos como la espectroscopía SERS o en biomedicina.

Una vez demostradas las propiedades plasmónicas de los sistemas híbridos fabricados, y con el objetivo de demostrar la presencia de grupos amino en el microgel de pNIPAM para su posterior unión a AgSTs, se ha llevado a cabo el análisis mediante espectroscopia FTIR de los sistemas bimetálicos preparados, Au@Ag@pNIPAM-Alilamina y Au@Ag@pNIPAM@AgST. En la Figura C.3.18 se muestran los espectros FTIR obtenidos, junto con el espectro de referencia de la alilamina. En ambos sistemas, el FTIR muestra la banda correspondiente a la vibración de estiramiento antisimétrica y simétrica del enlace C-H, 2923 y 2852 cm^{-1} , la cual está asociada a alcanos alifáticos. Para el sistema sin satélites de plata (línea negra), se observan bandas a 3424 y 3315 cm^{-1} , que se atribuyen a la vibración de estiramiento de los grupos $-\text{NH}_2$, así como los picos ubicados a 1646 y 1540 cm^{-1} , atribuidos a la vibración de flexión de los grupos $-\text{NH}_2$ de alilamina.

Si se compara con el espectro FTIR del sistema con AgSTs (línea roja en la Figura 3.18A), los picos de absorción de alilamina a 3424 y 3315 cm^{-1} , así como el pico de absorción a 1646 y 1540 cm^{-1} presentan menor intensidad. Esto se puede explicar como consecuencia de la nueva interacción resultante entre los grupos amino de alilamina y los satélites de plata presentes en la red del microgel.

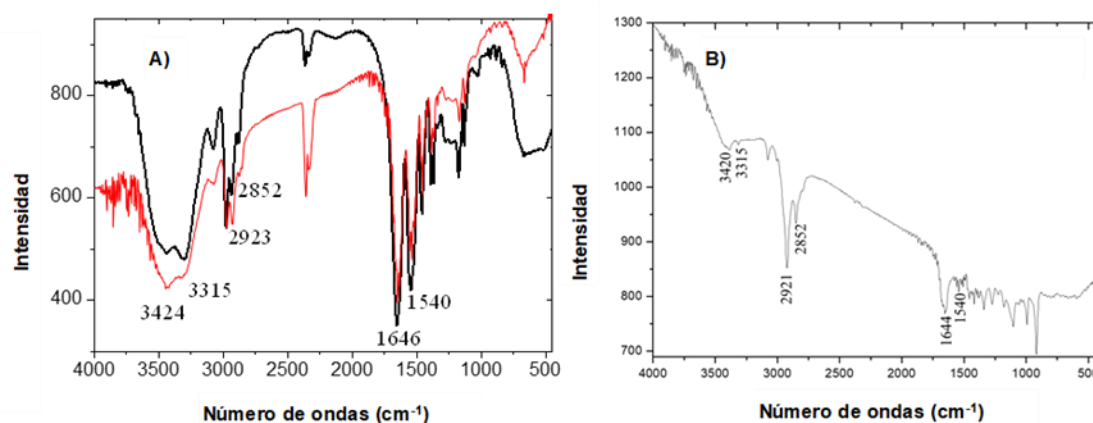


Figura C.3.18. Espectros FTIR de A) sistemas híbridos Au@Ag@pNIPAM-Alilamina (línea negra) y Au@Ag@pNIPAM@AgST (línea roja) y B) alilamina pura.

Estos resultados de FTIR están en concordancia con los obtenidos para otro tipo de microgeles copoliméricos previamente publicados, como, por ejemplo, de poliestireno, ácido metacrílico o polipirrol con NIPAM.²³⁶

C.3.2.4 Análisis de concentración y área superficial de metal

Para determinar la concentración de metal en los sistemas sintetizados con núcleo bimetálico de Au@Ag, así como en los sistemas con satélites de plata, se utilizaron las técnicas de análisis TGA y EDX-TEM.

En la Figura C.3.19 se presentan las gráficas obtenidas en los análisis termogravimétricos. En ellas se observa la pérdida de masa medida para los microgeles de Au@Ag@pNIPAM (Figura C.3.19.A) y de Au@Ag@pNIPAM@AgST (Figura C.3.19.B).

Para el primer sistema, Au@Ag@pNIPAM, el residuo metálico de Au@Ag restante después de calentar la muestra a 800 °C, representa el 14 % de la masa total del sistema híbrido. Y para el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST, el residuo que proviene del núcleo bimetálico de Au@Ag y los AgST, resultó el 26 % de la masa total del sistema.

236 Zhang, C., Li, C., Chen, Y., Zhang, Y. (2014). Synthesis and catalysis of Ag nanoparticles trapped into temperature-sensitive and conductive polymers. *J. Mater. Sci.*, 49(20), 6872–6882.

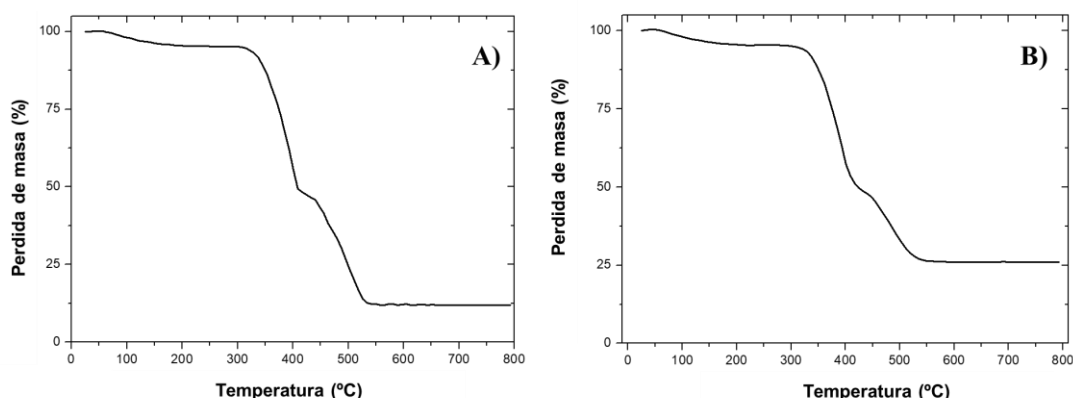


Figura C.3.19. Análisis TGA para los microgeles híbridos A) Au@Ag@pNIPAM y B) Au@Ag@pNIPAM@AgST

El porcentaje relativo de plata y oro para estos residuos metálicos se obtuvo a partir del espectro EDX, el cual se incluye en la Figura C.3.20.A para Au@Ag@pNIPAM y Figura C.3.20.B para Au@Ag@pNIPAM@AgST.

Por otra parte, el cálculo del área superficial de plata (S_{Ag}) se ha realizado siguiendo el procedimiento publicado ya anteriormente,^{237,238} y que se deduce de la siguiente manera, a partir del volumen y el área de una esfera:

$$V_{\text{esfera}} = \frac{4}{3}\pi R^3 \quad [1]$$

$$A_{\text{esfera}} = 4\pi R^2 \quad [2]$$

Despejando R de [1] y sustituyendo en [2], resulta:

$$A_{\text{esfera}} = 3V_{\text{esfera}} / R \quad [3]$$

Siendo V= volumen, A=área superficial y R es el radio.

237 Liz-Marzán, L. M., Giersig, M., Mulvaney, P. (1996). Synthesis of nanosized gold–silica core–shell particles. *Langmuir*, 12(18), 4329–4335.

238 Khalavka, Y., Becker, J., Sönnichsen, C. (2009). Synthesis of rod-shaped gold nanorattles with improved plasmon sensitivity and catalytic activity. *J. Am. Chem. Soc.*, 131, 1871–1875.

Como el volumen específico de las nanopartículas de plata se puede calcular con la concentración y el volumen molar de esta, el área superficial o específica de plata (S_{Ag}) se puede expresar como:

$$S_{Ag} = 3[Ag] V_{mAg} / R_{Ag} , \text{ donde las unidades son cm}^2/\text{L} \quad [4]$$

siendo $[Ag]$ la concentración de plata en mol/L, V_{mAg} es el volumen molar de plata ($10.27 \text{ cm}^3/\text{mol}$) y R_{Ag} es el radio del recubrimiento de Ag (0) (en cm).

El conocimiento del área superficial que presenta el metal en los sistemas $Au@Ag@pNIPAM$ y $Au@Ag@pNIPAM@AgST$ es importante porque de ella depende en gran medida la actividad catalítica del sistema. A partir de este valor, se podrá comparar de forma cuantitativa la actividad catalítica de estos dos microgeles híbridos con otros sistemas basados en plata publicados, y que se han usado como nanocatalizadores para la reducción de 4-nitrofenol.

En la Figura C.3.20 se muestra el espectro EDX y la tabla con el porcentaje de plata y oro obtenidos para el sistema híbrido $Au@Ag@pNIPAM$. En este caso, los porcentajes de plata y oro fueron 74.7 y 25.3 %, respectivamente.

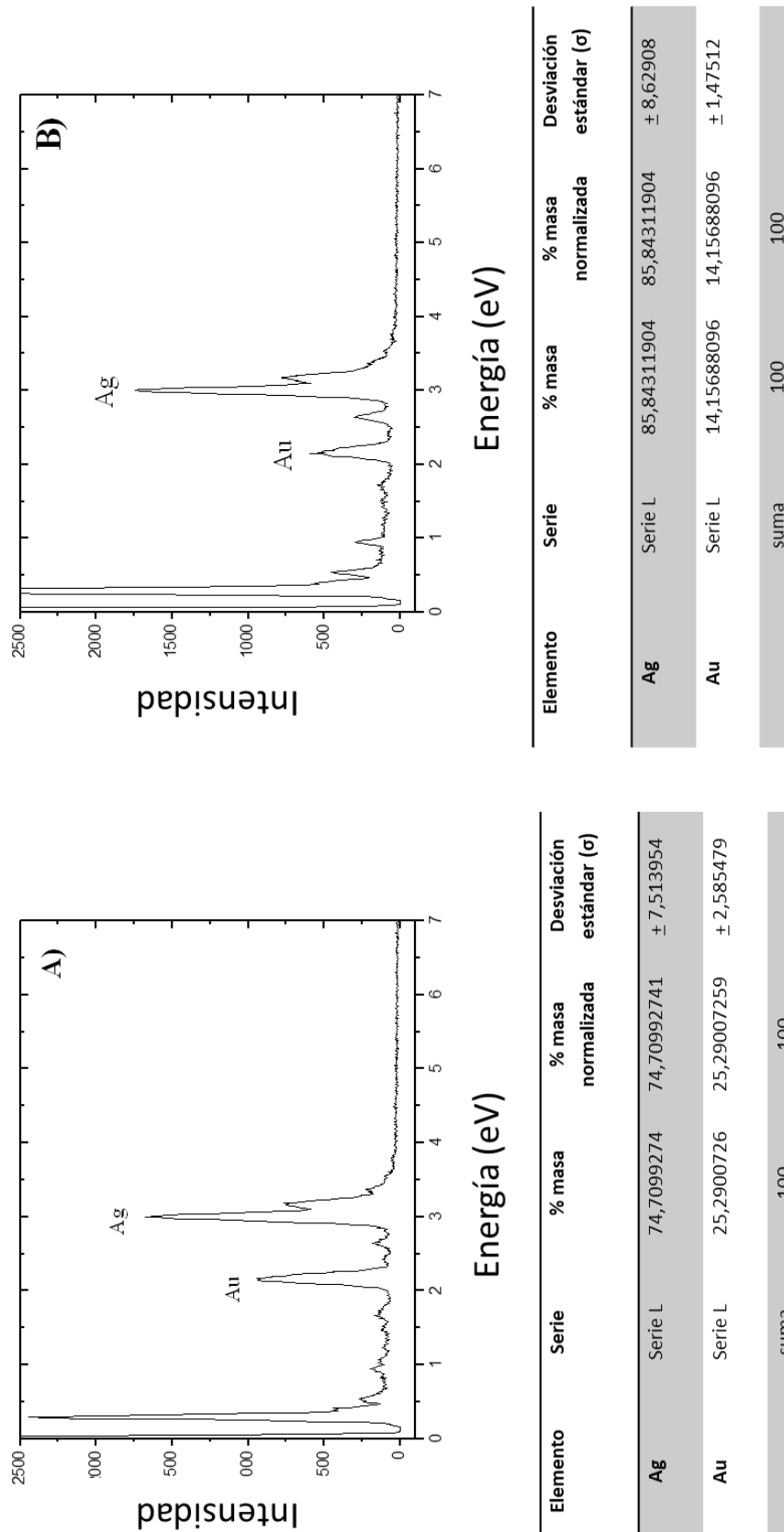


Figura C.3.20. Análisis EDX y porcentaje de oro y plata para los microgeles híbridos A) Au@Ag@pNIPAM and B) Au@Ag@pNIPAM@AgST.

Con estos datos, y tomando como cantidad de microgel añadida 50 μL en la reacción catalítica (cuyo residuo seco nos dio una concentración de 0.05 mg microgel /mL de dis.) y como radio de la esfera del núcleo bimetalico, 32 nm (medidos por TEM), el área superficial de Ag(0) calculada para el sistema Au@Ag@pNIPAM es de $9.16 \times 10^{-4} \text{ m}^2/\text{L}$.

Este cálculo se detalla a continuación:

1º) calculamos la concentración molar de plata:

$$[\text{Ag}] = \frac{\text{residuo seco} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ de dis.} \right) \times \text{volumen cat.} (\mu\text{L}) \times \% \text{ metal TGA} \times \% \text{ Ag EDX}}{107.86 \times \text{volumen dis.} (\text{mL})} \times 10^{-7}$$

Donde:

- volumen cat. = volumen de dis. que añadimos como catalizador en la reacción de 4-Nip a 4-Amp.
- volumen dis.= volumen de dis. a la que le hacemos residuo seco (en nuestro caso 2.55 mL)
- residuo seco = material que queda tras eliminar completamente el agua de la dis. secando en estufa a 90 °C durante 24h.
- % metal TGA = porcentaje de contenido metálico que obtenemos de TGA.
- % Ag EDX = porcentaje de contenido en plata que obtenemos del análisis TEM-EDX del sistema híbrido.
- dividimos por 107.86, peso atómico de la plata, para convertir a mol de plata y el factor multiplicador 10^{-7} reordena todos los demás cambios de unidades que deben hacerse para expresar el resultado de concentración de plata en mol/L.

En nuestro caso, el resultado obtenido fue $[\text{Ag}] = 9.51 \times 10^{-7} \text{ M}$

2º) Aplicando este valor de concentración en la ecuación [4] ($S_{\text{Ag}} = 3[\text{Ag}] V_{\text{mAg}} / R_{\text{Ag}}$), se obtiene el valor de S_{Ag} .

Para el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST, el análisis TGA dio como resultado un 26 % de residuo bimetálico, y el espectro EDX proporcionó un 85.8 % de plata y un 14.2 % de oro. El área de superficie de plata (S_{Ag}) calculada (siguiendo el mismo razonamiento que en el caso anterior) fue entonces de $4.2 \times 10^{-3} \text{ m}^2/\text{L}$, tomando en este caso como cantidad de microgel añadido durante el proceso de catálisis, 50 μL de dispersión coloidal de residuo seco igual a 0.025 mg/mL, y como radios de núcleo bimetálico y satélites de plata (medidos por TEM), 32 nm y 7.5 nm, respectivamente.

Para el cálculo de S_{Ag} se procede de manera análoga al caso anterior, pero para este sistema, la superficie de plata en el núcleo y en los satélites se calculan por separado y luego se suman. El cálculo se detalla a continuación:

1º) Para calcular las concentraciones de plata total ($[Ag]_{total}$), la de plata en el núcleo bimetálico Au@Ag ($[Ag]_{Au@Ag}$), y la de plata en forma de satélites ($[Ag]_{AgST}$):

$$[Ag]_{total} = \frac{\text{residuo seco} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ de dis.} \right) \times \text{volumen cat.} (\mu\text{L}) \times \% \text{ metal TGA} \times \% \text{ Ag EDX}}{107.86 \times \text{volumen dis.} (\text{mL})} \times 10^{-7}$$

$$[Ag]_{Au@Ag} = \frac{\text{residuo seco} \left(\frac{\text{mg}}{\text{mL}} \text{ de dis.} \right) \times \text{volumen cat.} (\mu\text{L}) \times \% \text{ metal TGA}^* \times \% \text{ Ag EDX}^*}{107.86 \times \text{volumen dis.} (\text{mL})} \times 10^{-7}$$

$$[Ag]_{AgST} = [Ag]_{total} - [Ag]_{Au@Ag}$$

Donde:

- volumen cat., volumen dis., residuo seco, % metal TGA y % Ag EDX ya se han definido anteriormente y se refieren al sistema híbrido Au@Ag@pNIPAM@AgST.

- % metal TGA* = porcentaje de contenido metálico que obtenemos de TGA del sistema Au@Ag@pNIPAM.
- % Ag EDX* = porcentaje de contenido en plata que obtenemos del análisis TEM-EDX del sistema Au@Ag@pNIPAM.

2º) Se aplica la ecuación [4] para obtener el área superficial de plata en el núcleo y en los satélites, empleando la concentración de plata y los radios de superficie de plata, correspondientes en cada caso. Finalmente, se suman para obtener la superficie de plata total.

En nuestro caso, los resultados fueron:

$$[Ag]_{total} = 1.02 \times 10^{-6} M$$

$$[Ag]_{Au@Ag} = 4.68 \times 10^{-7} M \quad S_{Ag@Au} = 4.52 \times 10^{-4} m^2/L$$

$$[Ag]_{AgST} = 5.52 \times 10^{-7} M \quad S_{AgST} = 2.27 \times 10^{-3} m^2/L$$

$$S_{Ag} = S_{Ag@Au} + S_{AgST} = 2.72 \times 10^{-3} m^2/L$$

También se ha realizado una comparativa con sistemas híbridos pNIPAM@AgST. Estos sistemas presentaron un porcentaje de plata de sólo el 11.22 % respecto a la masa total de la nanopartícula, obtenido mediante análisis por TGA. Es curioso comprobar como este porcentaje se corresponde, de manera casi exacta, con la diferencia que existe en % de plata entre el sistema bimetalico sin satélites Au@Ag@pNIPAM (14 %) y el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST (26 %).

En la Figura C.3.21 se muestra una imagen TEM del sistema núcleo@satélites de pNIPAM@AgST y el análisis termogravimétrico llevado a cabo.

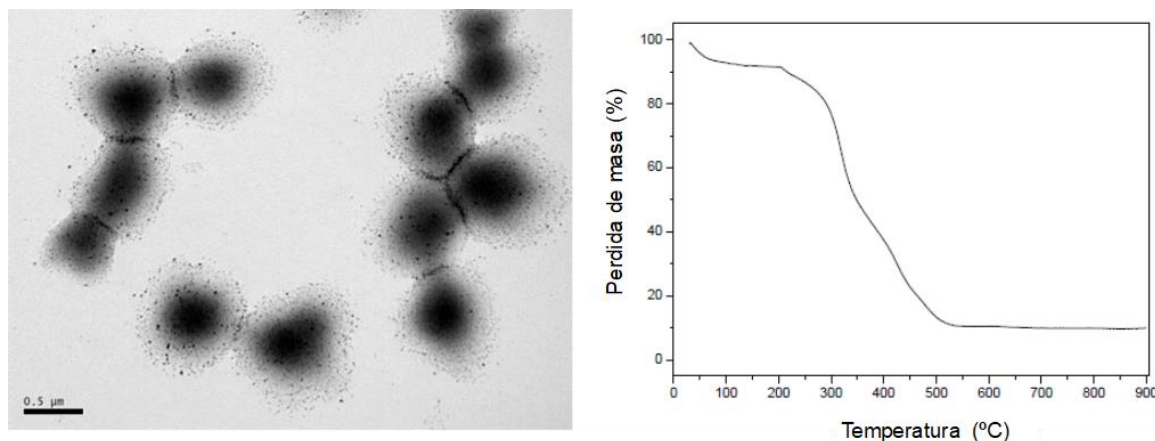


Figura C.3.21. Imagen TEM del sistema híbrido pNIPAM@AgST (a la izquierda) y gráfica de análisis TGA para ese mismo sistema (derecha).

C.3.2.5 Efecto catalítico en función de la temperatura

Se ha descrito recientemente que los nitrofenoles y sus derivados son uno de los contaminantes más persistentes que se pueden encontrar en las aguas residuales industriales, convirtiéndose así en una gran amenaza para el medio ambiente.²³⁹ Al mismo tiempo, la reducción de 4-nitrofenoles es también importante en la producción de materias primas industriales.

Aunque la reducción de 4-Nip a 4-Amp usando NaBH_4 es termodinámicamente favorable (potenciales estándar de reducción: E^0 (4-Nip/4-Amp) es de -0.76 V y $E^0(\text{BO}_2^-/\text{BH}_4^-)$ es de -1.24 V), la presencia de una barrera cinética debido a la gran diferencia de potencial entre dador y aceptor de electrones, sumado a la repulsión mutua que experimentan los iones negativos de 4-Nip y BH_4^- , dificultan la viabilidad de la reacción, y por lo tanto, la reducción no puede proceder sin mediación de un catalizador.

En este contexto, las nanopartículas metálicas pueden hacer de puente de electrones desde los iones BH_4^- , donadores de electrones (reductor),

²³⁹ Wang, M. L., Jiang, T.T., Lu, Y., Liu, H. J., Chen, Y. (2013). Gold nanoparticles immobilized in hyperbranched polyethylenimine modified polyacrylonitrile fiber as highly efficient and recyclable heterogeneous catalysts for the reduction of 4-nitrophenol. *J. Mater. Chem. A*, 1, 5923-5933.

a los iones del receptor 4-nitrofenolato (oxidante), superando la barrera cinética y catalizando eficientemente la reducción de 4-Nip a 4-Amp.²⁴⁰

Como se ha mencionado anteriormente, para evaluar cuantitativamente la eficiencia catalítica de los microgeles híbridos Au@Ag@pNIPAM@AgST, se empleó como reacción modelo la reducción de 4-nitrofenol (4-Nip) a 4-aminofenol (4-Amp) en presencia de NaBH₄. La capacidad catalítica de los sistemas pNIPAM@AgST ya ha sido descrita anteriormente, por lo que en este apartado se detallan los resultados obtenidos en la catálisis de la reacción mencionada por parte de los sistemas híbridos con núcleo bimetálico Au@Ag y con AgST, y se comparan con los resultados de sistemas pNIPAM@AgST que se disponen en la bibliografía.²⁴¹

Un UV-vis típico de una disolución acuosa de 4-Nip muestra un pico máximo de absorción a una longitud de onda de ~317 nm. Tras la adición de NaBH₄, el color amarillo claro de 4-Nip cambia a amarillo-verde y el máximo de absorción se desplaza inmediatamente hacia 400 nm, debido a la formación de iones 4-nitrofenolato en el medio alcalino causado por el NaBH₄.

En esta tesis, el progreso de la reacción catalítica se evaluó cuantitativamente monitoreando los cambios de los espectros de absorción UV-vis de los iones 4-nitrofenolato en función del tiempo (cada 60 s), como ya se mencionó en la Parte Experimental (apartado C.3.2.4).²⁴²

Como experimento de control, se evaluó la actividad catalítica de los microgeles de pNIPAM puros. Para esta reacción y como era de esperar, después de un período de tiempo de seis horas, no se observó

240 Gangula, A., Podila, R., M, R., Karanam, L., Janardhana, C., Rao, A. M. (2011). Catalytic Reduction of 4-Nitrophenol using biogenic gold and silver nanoparticles derived from breynia rhamnoides. *Langmuir*, 27, 15268-15274.

241 Liu, Y., Liu, X., Yang, J., Lin, D., Chen, X., Zha, L. (2012). Investigation of Ag nanoparticles loading temperature responsive hybrid microgels and their temperature controlled catalytic activity. *Colloids Surf. A: Physicochem. Eng. Asp.*, 393, 105-110.

242 Zhang, W., Tan, F., Wang, W., Qiu, X., Qiao, X., Chen, J. (2012). Facile, template-free synthesis of silver nanodendrites with high catalytic activity for the reduction of *p*-nitrophenol. *J. Hazard.*, 217-218, 36-42.

ningún cambio en la intensidad máxima en el UV-vis de los aniones nitrofenolato.

Después de la adición de cada uno de los sistemas catalíticos híbridos, y para diferentes temperaturas, se midió la reducción de 4-Nip por NaBH_4 y su conversión a 4-Amp. En este proceso la intensidad del pico a 400 nm disminuyó gradualmente con el tiempo, acompañado por la aparición simultánea de un nuevo pico a 295 nm que indica la formación de 4-Amp.

En la Figura C.3.22 se presentan los espectros UV-vis en función del tiempo de reacción, registrados cada 60 s. La reacción de reducción se lleva a cabo a distintas temperaturas (25, 28, 32, 36, 40 y 44 °C) y usando el sistema de microgel termosensible Au@Ag@pNIPAM como catalizador de reacción. Los resultados muestran que la reacción tarda en completarse un tiempo diferente en función de la temperatura de reacción.

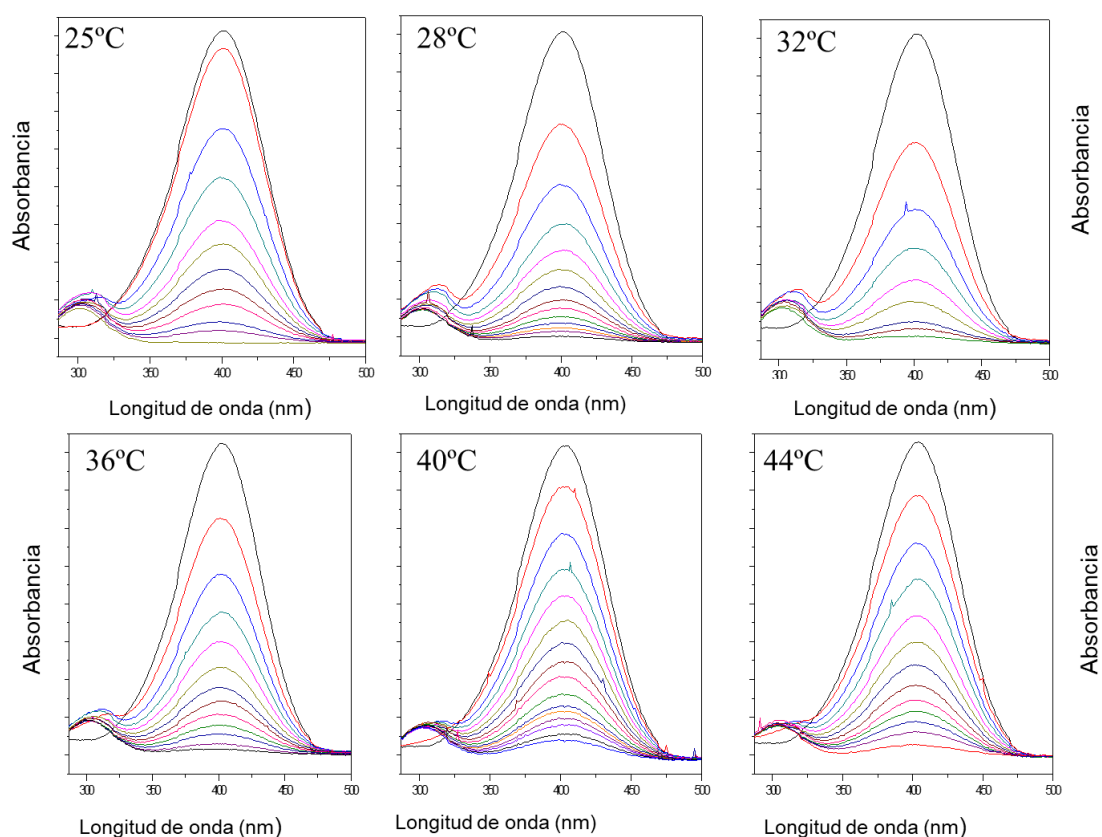


Figura C.3.22. Espectros UV-Vis dependientes del tiempo para la reducción catalítica de 4-Nip por NaBH_4 en presencia de Au@Ag@pNIPAM .

Por otra parte, en la Figura C.3.23 se muestran los espectros obtenidos durante la reducción de 4-Nip en función del tiempo utilizando el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST como catalizador de reacción.

En este caso, los resultados indican que los microgeles de Au@Ag@pNIPAM@AgST catalizan la reacción de forma más eficiente. Comparados con los microgeles de Au@Ag@pNIPAM, los tiempos de reacción son significativamente más bajos para todas las temperaturas de reacción.

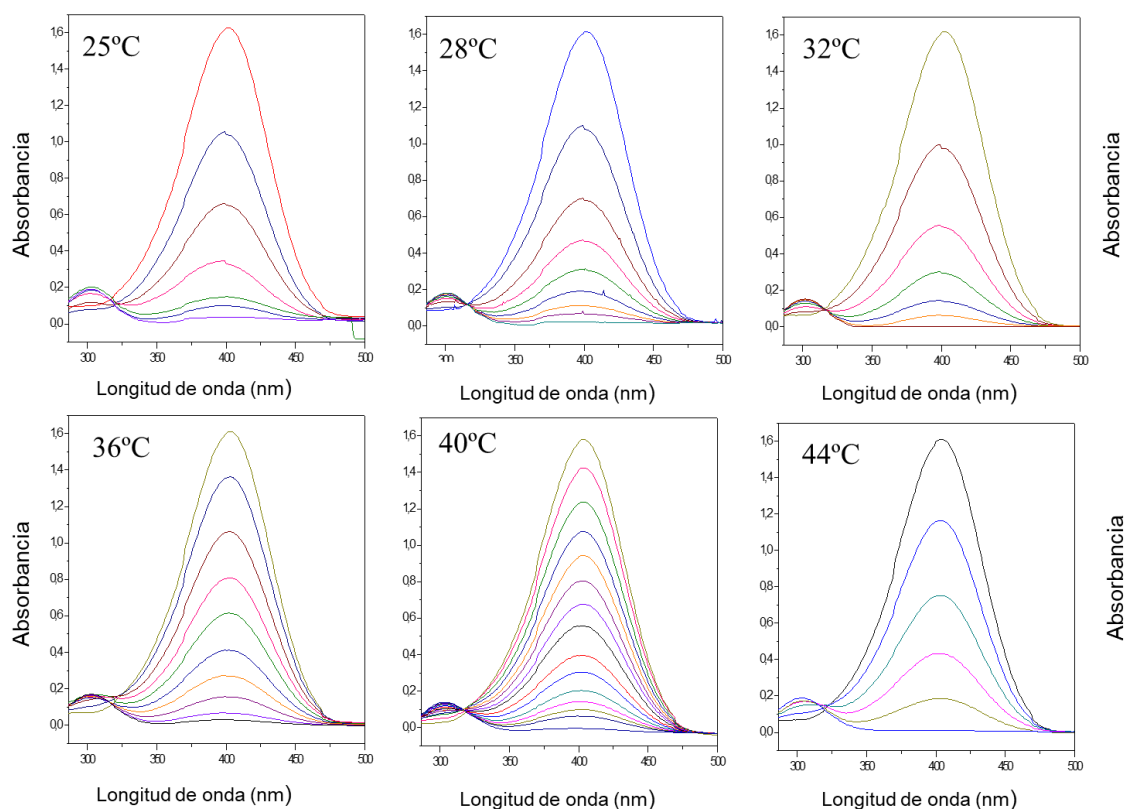


Figura C.3.23. Espectros UV-Vis dependientes del tiempo para la reducción catalítica de 4-Nip por NaBH_4 en presencia de Au@Ag@pNIPAM@AgST.

Dado que la concentración de NaBH_4 se mantiene constante para todas las reacciones debido a que se encuentra en exceso con respecto a la de 4-Nip y de microgel, la velocidad de reducción y constantes cinéticas aparentes dependerán solo de la concentración de 4-Nip. Teniendo en cuenta este supuesto, las constantes de

velocidad de reacción aparente (K_{app}) para la reducción catalítica pueden evaluarse estudiando la cinética de primer orden con respecto a la concentración de 4-Nip de la siguiente manera:²⁴³

$$-\ln(C_t/C_0) = k_{app} t \quad [5]$$

donde K_{app} es la constante aparente de velocidad de la reacción catalítica, C_t representa la concentración en el tiempo t , y C_0 es la concentración inicial en el tiempo 0 de la disolución de 4-Nip. Los valores C_t y C_0 pueden representarse como los valores de absorbancia, Abs_t y Abs_0 , correspondientes de los espectros UV-vis. En concreto, Abs_t representa la absorbancia a un tiempo t y Abs_0 para la absorbancia en el tiempo 0, la cual se tomó como el valor medido a un tiempo de 60 s. Este valor corresponde al valor de absorbancia a 400 nm del segundo espectro registrado. Se siguió esta metodología porque los tiempos de inducción (tiempo de espera hasta que da comienzo la reacción) observados son relativamente pequeños para este tipo de reacción.²⁴⁴ Los valores de K_{app} (s^{-1}) se calcularon a partir de las pendientes de los ajustes lineales de las gráficas en las que se representan el $\ln(Abs_t/Abs_0)$ frente al t .

Ambos sistemas exhibieron tiempos de inducción muy pequeños, de menos de 60 s, en todas las temperaturas probadas. Este hecho indica que la difusión y la transferencia de materia de 4-Nip y BH_4^- hacia el interior del microgel y la adsorción sobre las nanopartículas de plata se facilitan de manera eficiente.²⁴⁵

243 Yuan, J., Wunder, S., Warmuth, F., Lu, Y. (2012). Spherical polymer brushes with vinylimidazolium-type *poly*(ionic liquid) chains as support for metallic nanoparticles. *Polymer*, 53, 43-49.

244 Signori, A. M., Santos, K. d. O., Eising, R., Albuquerque, B. L., Giacomelli, F. C., Domingos, J. B. (2010). Formation of catalytic silver nanoparticles supported on branched *poly*ethyleneimine derivatives. *Langmuir*, 26, 17772-17779.

245 Satapathy, S. S., Bhol, P., Chakkarambath, A., Mohanta, J., Samantaray, K., Bhat, S. K., Panda, S. K., Mohanty, P. S., Si, S. (2017). Thermo-responsive *p*NIPAM-metal hybrids: An efficient nanocatalyst for the reduction of 4-nitrophenol. *Appl. Surface Sci.*, 420, 753-763.

En la Figura C.3.24.A se incluye la representación del $\ln(Abs_t/Abs_0)$ en función del tiempo, para diferentes temperaturas utilizando el sistema Au@Ag@pNIPAM como catalizador.

Podemos confirmar que el valor de K_{app} más alto ($8.5 \times 10^{-3} s^{-1}$) se corresponde con la temperatura de 32 °C y, por lo tanto, a esta temperatura se obtiene el tiempo más corto para la conversión completa de 4-Nip a 4-Amp, que resultó ser de 540 s. En la Figura C.3.24.B se muestra la representación de los valores de K_{app} en función de la temperatura. Estos resultados demuestran la potencial aplicabilidad del sistema híbrido desarrollado en la catálisis modulada por temperatura.

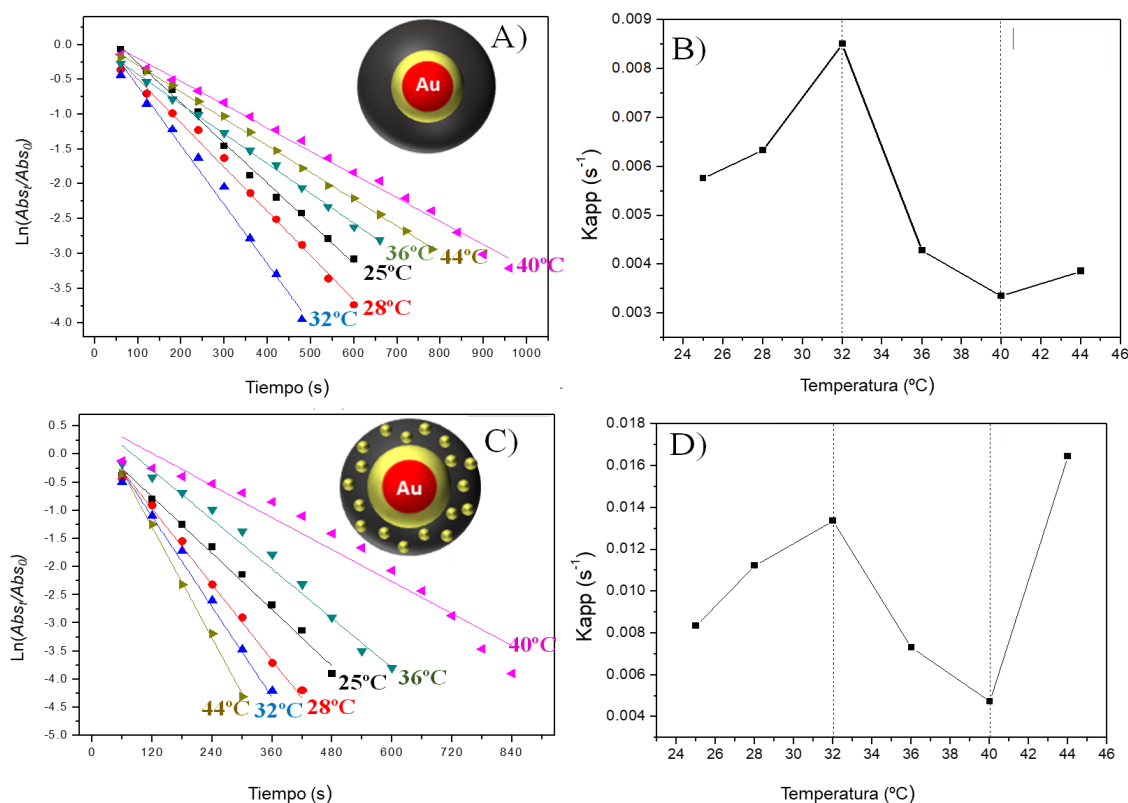


Figura C.3.24. Representación gráfica correspondientes al $\ln(Abs_t/Abs_0)$ en función del tiempo t para la reacción de reducción y representación de K_{app} para las distintas temperaturas utilizadas.

En la Figura C.3.24.C se muestra la representación del $\ln(Abs_t/Abs_0)$ en función del tiempo a varias temperaturas para las partículas de

Au@Ag@pNIPAM@AgST. En este caso, al valor más alto de temperatura (44 °C) le corresponde el menor tiempo necesario para la conversión completa de 4-Nip a 4-Amp, que resultó ser de 300 s, con un valor de K_{app} de $16.4 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$. En la Figura C.3.24.D se incluye los valores de K_{app} para las diferentes temperaturas de reacción en las que se ha ensayado la catálisis con microgeles de Au@Ag@pNIPAM@AgST.

Del análisis de las representaciones anteriores para ambos sistemas se puede extraer lo siguiente:

- i. La intensidad del pico a 400 nm disminuye gradualmente a medida que transcurre la reacción catalizada, pero con una K_{app} diferente en cada caso (Figuras C.3.24.A y C.3.24.C).
- ii. Es evidente que la actividad catalítica puede ser modulada por la temperatura, debido a la transición de fase de los microgeles de pNIPAM.

En consecuencia, estos sistemas híbridos sensibles a la temperatura son capaces de servir como "nanoreactores inteligentes" para la reducción catalítica de 4-Nip a 4-Amp. Todas las gráficas mostradas en la Figura C.3.24.A y C.3.24.C presentan una buena relación lineal entre $\ln(Abs_t/Abs_0)$ y el tiempo t , para prácticamente el 90 % de las reacciones llevadas a cabo a diferentes temperaturas y con cada sistema catalítico.

Las figuras C.3.24.B y C.3.24.D demuestran las diferencias de las constantes de velocidad de reacción a diferentes temperaturas, mientras se mantienen constantes todas las demás condiciones de reacción. Se pueden distinguir claramente tres regiones diferentes para los dos sistemas estudiados (véase la Tabla C.3.1):

- temperaturas < 32 °C, la constante de velocidad observada aumenta con la temperatura,
- región de 32-40 °C el valor de K_{app} disminuye al aumentar la temperatura y,
- temperaturas > 40 °C, la constante de velocidad aparente aumenta nuevamente con la temperatura.

Como se indicó anteriormente, la explicación del comportamiento observado se basa en la respuesta térmica del pNIPAM. A una temperatura inferior a la LCST, el microgel se encuentra en estado hinchado, por lo tanto, los reactivos pueden difundir fácilmente a través de los poros y alcanzar la superficie de Ag(0) en ambos sistemas híbridos. Como cabía esperarse de la ley de Arrhenius,²⁴⁶ la constante de velocidad aumentó con la temperatura, de 5.7×10^{-3} a $6.3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para Au@Ag@pNIPAM y de 8.3×10^{-3} a $11.2 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para los sistemas de microgel Au@Ag@pNIPAM@AgST.

En las proximidades de la LCST ($\sim 32^\circ\text{C}$), el diámetro de partícula comienza a disminuir debido a la contracción de pNIPAM. En este estado, las moléculas de agua son expulsadas de la red del microgel, afectando a la difusión de los reactivos a través de la cubierta del polímero. Dicha difusión se ralentiza a medida que aumenta la temperatura, y en consecuencia, lleva a una disminución en la constante de velocidad de 8.5×10^{-3} a $3.3 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para Au@Ag@pNIPAM y de 11.3×10^{-3} a $4.7 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$ para partículas Au@Ag@pNIPAM@AgST. Estos resultados indican que esta disminución en los coeficientes de difusión no se compensa con el aumento de la velocidad de reacción debido a la temperatura, como ocurrió por debajo de 32°C .

Una vez que la cubierta polimérica está completamente colapsada, la difusión de los reactivos ya no se ve afectada por la expulsión de las moléculas de agua de la estructura del microgel, y los aumentos de temperatura nuevamente conducen a un aumento gradual de la constante de velocidad con la temperatura. A 44°C , la K_{app} para los microgeles Au@Ag@pNIPAM aumentó ligeramente ($3.8 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$) debido al comportamiento tipo Arrhenius. Sin embargo, el valor de K_{app} para los microgeles Au@Ag@pNIPAM@AgST mostró un aumento brusco ($16.4 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$), obteniendo la constante de velocidad más alta, debido a los AgST inmovilizados dentro del recubrimiento de pNIPAM.

²⁴⁶ Carregal-Romero, S., Pérez-Juste, J., Hervés, P., Liz-Marzán, L. M., Mulvaney, P. (2010). Colloidal gold-catalyzed reduction of ferrocyanate (III) by borohydride ions: A model system for redox catalysis. *Langmuir*, 26, 1271-1277.

Para comparar cuantitativamente las actividades catalíticas de los diferentes sistemas coloidales, en esta Tesis se incluye un parámetro denominado K_1 , que es la constante de velocidad aparente (K_{app}) normalizada para el área de superficie específica de partículas metálicas (S o S_{Ag} en nuestro caso):

$$-\frac{dC_t}{dt} = k_{app}C_t = k_1SC_t \quad [6]$$

En la Tabla C.3.1 se incluye los valores calculados de K_1 para ambos sistemas de microgel a todas las temperaturas investigadas.

Tabla C.3.1. Resumen de la actividad catalítica de los dos sistemas de microgel diferentes en la reducción de 4-Nip a 4-Amp por $NaBH_4$ a diferentes temperaturas.

Muestra	Cantidad (μg)	Temperatura ($^{\circ}C$)	K_{app} (s^{-1})	K_1^* (L/m^2s)
Au@Ag@pNIPAM	2,5	25	5.7×10^{-3}	6,22
Au@Ag@pNIPAM	2,5	28	6.3×10^{-3}	6,88
Au@Ag@pNIPAM	2,5	32	8.5×10^{-3}	9,28
Au@Ag@pNIPAM	2,5	36	4.2×10^{-3}	4,59
Au@Ag@pNIPAM	2,5	40	3.3×10^{-3}	3,60
Au@Ag@pNIPAM	2,5	44	3.8×10^{-3}	4,15
Au@Ag@pNIPAM@AgST	1,25	25	8.3×10^{-3}	3,05
Au@Ag@pNIPAM@AgST	1,25	28	11.2×10^{-3}	4,12
Au@Ag@pNIPAM@AgST	1,25	32	13.3×10^{-3}	4,89
Au@Ag@pNIPAM@AgST	1,25	36	7.3×10^{-3}	2,68
Au@Ag@pNIPAM@AgST	1,25	40	4.7×10^{-3}	1,73
Au@Ag@pNIPAM@AgST	1,25	44	16.4×10^{-3}	6,03

Nota(*): El valor de K_1 que se indica para ambos sistemas no es comparable directamente, ya que la cantidad de catalizador empleada no ha sido la misma. Aunque sí podemos llegar a estimar para el sistema Au@Ag@pNIPAM@AgST , que este valor podría haber sido el doble si se hubiera empleado la misma cantidad que en el caso del sistema Au@Ag@pNIPAM .

Lo que se puede observar, es que los valores de K_{app} obtenidos son muy superiores a los descritos en bibliografía para los sistemas pNIPAM@AgST , que van desde 4.23×10^{-4} a $5.02 \times 10^{-3} \text{ s}^{-1}$, lo que hace que los sistemas híbridos con núcleo Au@Ag sean más eficientes que las nanopartículas sin núcleo metálico. Además, los nuevos sistemas híbridos Au@Ag@pNIPAM@AgST presentan una mejor actividad catalítica (mayor K_{app}) que los sistemas sin satélites, Au@Ag@pNIPAM , incluso habiendo empleado la mitad de cantidad de catalizador, a casi todas las temperaturas estudiadas.

Como se mencionó anteriormente, ambos sistemas catalíticos termosensibles exhibieron tiempos de inducción muy cortos para todas las temperaturas. El tiempo de inducción es un fenómeno típico para la catálisis heterogénea, y está relacionado con el tiempo requerido para la activación del catalizador. En las reacciones realizadas en este estudio, se observa después de la adición de todos los reactivos, una disminución de la intensidad de absorbancia a los 60 s, revelando el inicio de la reacción catalítica.

Esta observación puede demostrar que el tiempo de inducción en nuestros sistemas fue muy pequeño porque las AgNP están directamente en contacto con los componentes de la reacción y no se necesitó tiempo para que la difusión de 4-Nip alcance la superficie de los NP metálicos como en otros estudios.^{247,248}

247 Yuan, J., Wunder, S., Warmuth, F., Lu, Y. (2012). Spherical polymer brushes with vinylimidazolium-type *poly*(ionic liquid) chains as support for metallic nanoparticles. *Polymer*, 53, 43-49.

248 Signori, A. M., Santos, K. d. O., Eising, R., Albuquerque, B. L., Giacomelli, F. C., Domingos, J. B. (2010). Formation of catalytic silver nanoparticles supported on branched *poly*ethyleneimine derivatives. *Langmuir*, 26, 17772-17779.

Los tiempos de inducción más grandes normalmente se atribuyen a varios factores:

- i. La adsorción controlada por difusión de reactivos en la superficie de las nanopartículas.
- ii. La presencia de oxígeno disuelto en el agua que reacciona a una velocidad más rápida con NaBH_4 que con 4-Nip.
- iii. El recubrimiento de una capa de óxido metálico sobre la superficie metálica tras la adición de BH_4^- , envenenando la superficie del catalizador.
- iv. Una reestructuración lenta de la superficie de las nanopartículas.

Sin embargo, en esta Tesis el medio de reacción acuoso que contiene el 4-Nip se desgasificó antes de agregar NaBH_4 , por lo tanto, evitamos la formación de una capa de óxido en la superficie de las AgNP, así como la reacción de NaBH_4 con oxígeno disuelto.

Estos resultados presentan similitudes con las investigaciones publicadas por Carregal-Romero y col.²⁴⁹ sobre sistemas Au@pNIPAM . Estos autores describen un comportamiento catalítico similar al nuestro, para la reacción de transferencia de electrones del ión complejo hexacianoferrato(III) por borohidruro de sodio. Para este caso se obtuvo un aumento de K_{app} en las proximidades de la LCST (comportamiento tipo Arrhenius), una disminución durante la transición de fase y de nuevo, un aumento después del colapso del microgel (comportamiento tipo Arrhenius). La única diferencia es que para estos investigadores el doble comportamiento de “tipo Arrhenius” se obtuvo a temperaturas ligeramente más bajas. Esta diferencia puede deberse a que la molécula utilizada para la catálisis es diferente, $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$, que es más pequeña y polar en comparación con 4-Nip (más grande y que contiene un anillo aromático).

249 Carregal-Romero, S., Buurma, N. J., Pérez-Juste, J., Liz-Marzán, L. M., Hervés, P. (2010). Catalysis by Au@pNIPAM Nanocomposites: Effect of the Cross-Linking Density. *Chem. Mater.*, 22(10), 3051–3059.

En la Figura C.3.25 se muestra el esquema de los mecanismos de la reacción de reducción de 4-Nip a 4-Amp. En la misma figura, se observan dos soluciones de diferentes colores: una es el color amarillo que distingue al 4-Nip, y la otra es el producto incoloro reducido, el 4-Amp.

La reducción de 4-Nip a todas las temperaturas puede estar relacionada con el modelo Langmuir-Hinshelwood de catálisis heterogénea.²⁵⁰ Según este modelo, los iones de borohidruro se adsorben en la superficie de los AgNP y les ceden los electrones (Figura C.3.25). Al mismo tiempo, estos electrones son los responsables de la formación de las moléculas de H_2 que van a reducir a moléculas de 4-Nip, también adsorbidas sobre la superficie de los AgNP. Después de la reducción, el producto de reacción 4-Amp se desorbe de la superficie de plata.

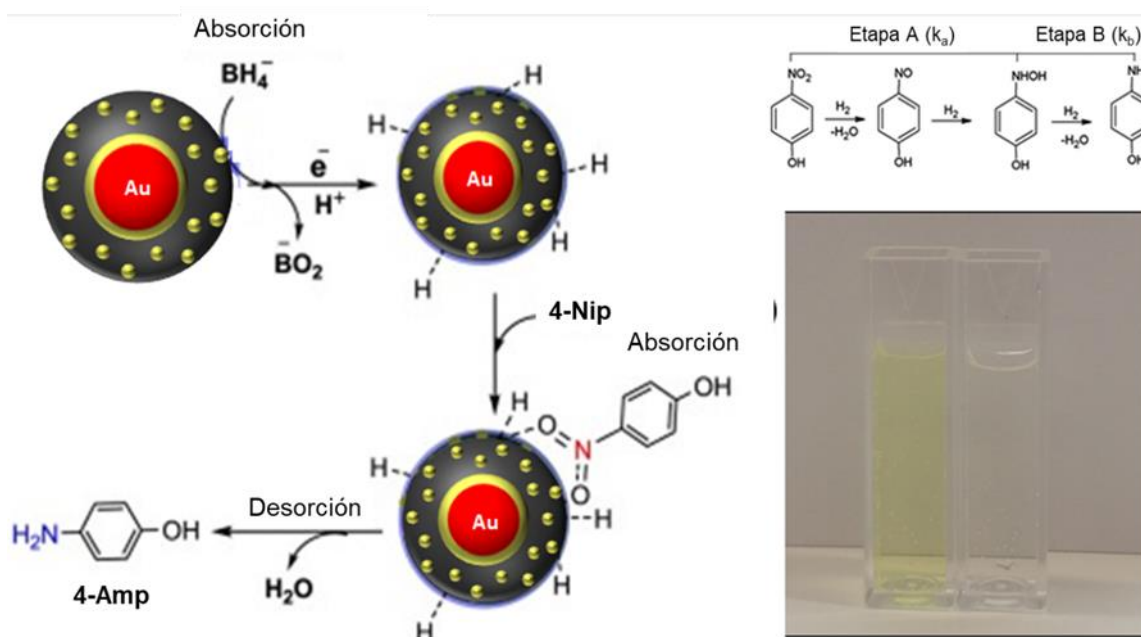


Figura C.3.25. Mecanismos de reacción de reducción para 4-Nip a 4-Amp. La foto muestra una cubeta que contiene una mezcla de 4-Nip y $NaBH_4$ antes de agregar el sistema catalítico (izquierda) y después de la reacción catalítica (derecha).

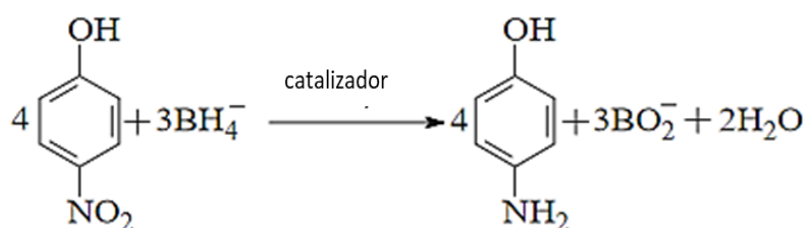
250 Khalavka, Y., Becker, J., Sönnichsen, C. (2009). Synthesis of Rod-Shaped Gold Nanorattles with Improved Plasmon Sensitivity and Catalytic Activity. *J. Am. Chemical Society*, 131, 1871-1875.

En otras palabras, la adición de NaBH_4 en H_2O da como resultado la aparición de la banda a 400 nm, debido a la formación de aniones 4-nitrofenolato. Al mismo tiempo, el NaBH_4 reduce el agua a hidrógeno como lo muestra la reacción:

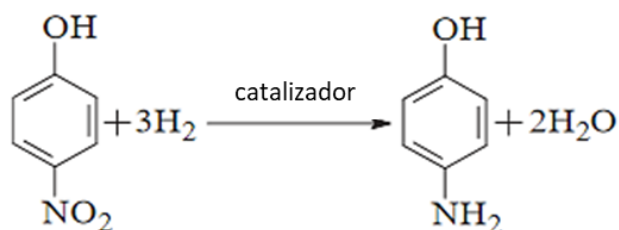
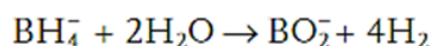


La reacción de reducción la lleva a cabo el hidrógeno, e implica la producción de gas hidrógeno que se ve en forma de burbujas. La adsorción del hidrógeno por AgNP hace que se libere eficientemente durante la reacción de reducción. Por tanto, las AgNP transportan el hidrógeno entre NaBH_4 y 4-Nip, actuando éstas como un facilitador de hidrógeno en esta reacción de reducción.

La reacción de reducción de 4-Nip es la siguiente:



que se puede dividir en una reacción que produce hidrógeno y una que consume hidrógeno de la siguiente manera:



Para la producción de hidrógeno, la transferencia de electrones es el factor cinético más importante y en nuestro caso, se trata de una reacción superficial, que depende de la morfología, el área superficial y la estructura bimetalica del catalizador, lo que convierte a estos microgeles híbridos en unos sistemas eficaces de transmisión de electrones.

Es bien sabido que las aplicaciones de MeNP en catálisis dependen de la cantidad de átomos de metal en la superficie de las nanopartículas, por lo tanto, las que contienen una mayor cantidad de átomos en la superficie tienen más actividad catalítica. Esto explica también el hecho de que nuestros resultados son superiores al rendimiento catalítico (mayor K_{app}) obtenido con los Au@pNIPAM publicados anteriormente en la bibliografía.²⁵¹

251 Carregal-Romero, S., Buurma, N. J., Pérez-Juste, J., Liz-Marzán, L. M., Hervés, P. (2010). Catalysis by Au@pNIPAM nanocomposites: effect of the cross-linking density. *Chem. Mater.*, 22, 3051–3059.

4. Conclusiones



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

4. Conclusiones

Como resultado del trabajo de investigación llevado a cabo en esta Tesis Doctoral se pueden extraer las siguientes conclusiones:

1.- Se ha realizado el estudio cinético de la reacción de oxidación del núcleo de Au(0) en nanopartículas híbridas metalopoliméricos con comportamiento sensible al pH y a la temperatura (capítulos 1 y 2 de esta Tesis). De este trabajo se desprende que:

- ✓ Las nanopartículas híbridas de Au@pNIPAM y Au@4VP que responden a la temperatura y al pH se pueden utilizar como semillas en la fabricación de microgeles huecos de pNIPAM y p4VP. Esta síntesis se puede llevar a cabo mediante la eliminación del núcleo de Au por difusión del complejo $\text{AuCl}_4^-/\text{CTAB}$ a través de la red de microgel.
- ✓ La caracterización microscópica demostró la naturaleza híbrida núcleo@corteza y la morfología de las nanopartículas, así como la estructura de los microgeles huecos. Se ha demostrado que estos sistemas híbridos no tienen la misma estructuración dentro del polímero. El núcleo de Au(0) esférico se encuentra en el centro en la estructura núcleo@corteza para microgeles termosensibles de pNIPAM. Contrariamente, se observó una morfología tipo Janus para las partículas de Au@p4VP. Este hecho se explica en base a la baja tendencia de los monómeros hidrófobos de la 4VP a polimerizar alrededor de las partículas de Au(0) hidrofílicas.
- ✓ Tras una investigación detallada acerca de los factores que influyen en la morfología de nanopartículas Au@p4VP con estructura tipo núcleo@corteza, se obtuvieron sistemas híbridos Au@p4VP-co-MMA con la partícula de Au(0) en el centro, y a partir de éstas, microgeles p4VP huecos con este hueco centrado.

- ✓ Se obtiene una disminución de las constantes de velocidad de oxidación y de los valores del coeficiente de difusión de la especie $\text{AuCl}_4^-/\text{CTAB}$ para las partículas $\text{Au}@p\text{NIPAM}$ a medida que aumenta la cantidad de BA en la red polimérica. Además, se obtuvo una mayor velocidad de ataque químico a temperaturas superiores a LCST del $p\text{NIPAM}$. Por el contrario, los coeficientes de difusión fueron menores cuando el proceso de oxidación se realizó en el estado colapsado. Este comportamiento dependiente del porcentaje de agente entrecruzante fue diferente para el caso de las partículas $\text{Au}@p4\text{VP}$. En este caso, los valores de las constantes de velocidad de oxidación fueron casi independientes de la cantidad de BA por debajo y por encima de la transición de fase. Se puede explicar este hecho en base a la morfología tipo Janus que exhiben estas nanopartículas, que hace que la difusión del complejo $\text{AuCl}_4^-/\text{CTAB}$ se produzca de forma directa sobre la parte no recubierta, o menos recubierta, de la superficie de $\text{Au}(0)$.
- ✓ Por lo tanto, se han preparado microgeles huecos que pueden ser empleados como microcontenedores con capacidad de acumulación y liberación de activos, con distintas concentraciones de entrecruzante y sintonizables con la temperatura o el pH, para aplicaciones biomédicas.

2.- Se ha desarrollado un nuevo protocolo químico en fase acuosa para la síntesis de coloides catalíticos "con actividad controlada por temperatura" que consisten en nanopartículas bimetálicas $\text{Au}@Ag$ tipo núcleo@corteza, encapsuladas por un microgel de $p\text{NIPAM}$ y con satélites metálicos incorporados dentro del estructura de microgel. De este trabajo se extraen las siguientes conclusiones:

- ✓ El sistema núcleo@corteza@satélites se puede obtener a partir de nanopartículas esféricas de $\text{Au}(0)$ de 50 nm de diámetro que se

usan para polimerizar una cubierta de pNIPAM. Posteriormente se lleva a cabo un recubrimiento de plata sobre el núcleo de Au(0) mediante la difusión de una sal de plata a través del microgel (obteniéndose un sistema Au@Ag@pNIPAM). Usando alilamina como comonómero durante la polimerización de pNIPAM, se facilita la coordinación de los iones Ag^+ con el par de electrones no compartidos del nitrógeno de los grupos $-\text{NH}_2$, que finalmente se reducen a semillas de Ag(0) de ~ 14 nm, obteniéndose los microgeles híbridos Au@Ag@pNIPAM@AgST.

- ✓ El sistema fabricado tiene propiedades plasmónicas (confirmadas mediante espectroscopía UV-vis), además posee capacidad de respuesta a la temperatura en todos los casos (medida mediante DLS). Los microgeles híbridos nanoestructurados sintetizados son muy homogéneos en cuanto a tamaño y composición metálica (analizada mediante microscopía electrónica y mapeo elemental EDX).
- ✓ Los dos sistemas fabricados (Au@Ag@pNIPAM y Au@Ag@pNIPAM@AgST) tienen actividad catalítica en la reducción de 4-nitrofenol a 4-aminofenol usando NaBH_4 . Ambos sistemas exhibieron constantes de velocidad de reacción dependientes de la temperatura extremadamente sensibles, con el mayor valor de K_1 de 6.03 L/m^2 , que es uno de los valores más altos de los publicados en bibliografía. La cinética de la reacción de reducción se llevó a cabo a diferentes temperaturas para ambos sistemas catalíticos. Los microgeles Au@Ag@pNIPAM@AgST mostraron un rendimiento catalítico superior a todas las temperaturas debido al efecto sinérgico del núcleo Au@Ag y los AgST. Por todo ello, estos microgeles híbridos podrían ser unos candidatos ideales para ser empleados en otras reacciones de catálisis heterogénea, como pueden ser en el tratamiento de aguas o medios orgánicos.

- ✓ Finalmente, se ha obtenido un diferente comportamiento de la velocidad de reacción en función de la temperatura, resultando un comportamiento tipo Arrhenius a temperaturas por debajo de LCST, un comportamiento anti Arrhenius en temperaturas próximas a LCST, y un comportamiento tipo Arrhenius a temperaturas por encima de LCST.



UNIVERSIDAD
DE MÁLAGA

