



UNIVERSITAT ROVIRA i VIRGILI
Facultat de Química

Disseny de nanosensors multifuncionals per aplicacions en anàlisi mediambiental

Estudiant: Diana Kovalevskaia
Tutor responsable: Xavier Mateos
Supervisors: Nicolás Pazos Pérez, Luca Guerrini
Departament: Dpt de Química Física i Inorgànica
Grau: Química
Assignatura: Treball de Fi de Grau
Curs: 2023-2024

Treball de Fi de Grau

Autorització

per al dipòsit de la memòria del Treball de Fi de Grau per a la seva
avaluació i defensa

Nom de l'alumna: Diana Kovalevskaia

Títol del TFG: Disseny de nanosensors multifuncionals per aplicacions en anàlisi
mediambiental

Nom del director/a del treball: *Nicolás Pazos Pérez*

Data: 11/06/2024

Signatura:



Nicolás Pazos Pérez

Nom del director/a del treball: *Luca Guerrini*

Data: 11/06/2024

Signatura:



Luca

Nom del/de la tutor/a acadèmic/a (si s'escau): *Xavier Mateos*

Data: 11/06/2024

Signatura:



Índex de continguts

.....	- 1 -
Disseny de nanosensors multifuncionals per aplicacions en anàlisi mediambiental.....	- 1 -
Treball de Fi de Grau.....	- 2 -
Abstract.....	- 5 -
Introducció	- 5 -
Objectius	- 9 -
Part experimental.....	- 10 -
1. Els reactius	- 10 -
1.0 N,N-dimetilformamida (DMF)	- 10 -
1.1 Polivinilpirrolidona (PVP)	- 11 -
1.2 Citrat trisòdic dihidratat	- 12 -
1.3 Clorur d'or(III) trihidratat	- 12 -
1.4 Isopropanol	- 13 -
1.5 Hidròxid d'amoni.....	- 14 -
2. Procediment experimental	- 15 -
2.0 Síntesi de nanopartícules d'or esfèriques.....	- 15 -
2.1 Preparació de les dissolucions de Tiram en etanol i en aigua amb diferents concentracions	- 18 -
2.2 Preparació de les gotes d'AuNPs	- 19 -
2.3 Determinació del volum de la gota òptim i límit de detecció de Tiram en etanol.....	- 19 -
2.4 Preparació d'elastòmer PDMS	- 19 -
2.5 Rentat dels portaobjectes de vidre RCA-1	- 19 -
2.6 Creixement dels pinxos amb llavor en dissolució.....	- 20 -
2.7 Creixement dels pinxos amb llavor sobre el substrat	- 20 -
2.8 Creixement d'estrelles en dissolució 1	- 20 -
2.9 Creixement d'estrelles en dissolució 2	- 21 -
2.10 Creixement d'estrelles en dissolució amb llavor en etanol	- 21 -
2.11 Mesura del senyal SERS.....	- 22 -
Resultats i Discussió	- 22 -
1. Caracterització mitjançant espectroscòpia UV-Vis	- 22 -
Nanopartícules d'or esfèriques.....	- 22 -
Nanopartícules d'or amb la geometria estrella amb llavor de la Mostra 3	- 25 -
Nanopartícules d'or amb la geometria estrella amb llavor de la Mostra 4	- 27 -
Nanopartícules d'or amb la geometria estrella amb llavor en etanol.....	- 28 -
2. Caracterització mitjançant microscòpia electrònica	- 30 -
Nanopartícules d'or esfèriques.....	- 30 -
Nanopartícules d'or amb pinxos crescuts sobre el substrat	- 33 -
Nanoestrelles d'or en dissolució 1	- 37 -
Nanoestrelles d'or en dissolució 2	- 38 -
Nanopartícules d'or amb la geometria estrella amb llavor en etanol.....	- 39 -
3. Espectroscòpia RAMAN	- 39 -
Nanopartícules d'or esfèriques.....	- 39 -
Nanopartícules d'or amb la geometria de "rods"	- 42 -
Nanopartícules d'or amb la geometria d'estrella.....	- 44 -
Determinació de Tiram en aigua.....	- 46 -

Conclusió - 47 -
Bibliografia..... - 48 -

Abstract

Disulfur tetramethylthiuram, known as Thiram, is a fungicide used as a plant protector and animal repellent to preserve fruits and vegetation. Due to its excessive and unregulated use in recent years, it has become a dangerous contaminant for health and the environment.^{1,2,3} Faced with this alarming situation, it is increasingly urgent to develop an optimal method for the determination and quantification of Thiram in various habitats. In this work, a method is proposed for the detection and quantification of Thiram in water using gold nanoparticles with different morphologies. After experimenting with the synthesis of spherical gold nanoparticles and four methods of growing spikes on gold seeds to form stars, it is concluded that spherical gold nanosensors are the most promising for Thiram detection, thanks to their response in surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS).

Disulfur de tetrametiltiuram, conegut com a Tiram, és un fungicida utilitzat com a protector de plantes i com a repel·lent d'animals per preservar fruites i vegetació. A causa de l'ús excessiu i no regulat en els últims anys, s'ha convertit en un contaminant perillós per a la salut i el medi ambient.^{1,2,3} Davant d'aquesta preocupant situació, és cada cop més urgent desenvolupar un mètode òptim per a la determinació i quantificació de Tiram en diversos hàbitats. En aquest treball, es proposa un mètode per a la detecció i quantificació de Tiram en aigua mitjançant l'ús de nanopartícules d'or amb diferents morfologies. Després d'experimentar amb la síntesi de nanopartícules d'or esfèriques i quatre mètodes de creixement de pinxos sobre les llavors d'or per a la formació d'estrelles, es conclou que els nanosensors d'or de la geometria esfèrica són els més prometedors per a la detecció de Tiram, gràcies a la seva resposta en l'espectroscòpia Raman millorada per efecte superficial (SERS).

Introducció

El present Treball de Final de Grau s'ha realitzat a la Universitat Rovira i Virgili al campus Sescelades (Tarragona), dins del departament de Química Física i Inorgànica al grup de Física i Cristal·lografia de Materials, FiCMA. Tenint en compte el tema del treball de fi de grau, l'àrea d'investigació ha estat dins de la nanociència. Aquest treball se centra en la síntesi de nanosensors utilitzant nanopartícules d'or d'unes característiques específiques amb la finalitat d'utilitzar-los per a la determinació d'un contaminant emergent, un fungicida utilitzat molt freqüentment i poc regulat, el disulfur de tetrametiltiuram, conegut com Tiram.

L'ús dels pesticides ha experimentat un increment exponencial al llarg dels últims anys, a causa del fort augment de la població i les propietats beneficioses dels pesticides, incloent-hi la millora de la vegetació, la qualitat i la protecció dels

cultius contra els animals. No obstant això, l'ús excessiu i no regulat dels pesticides ha causat una important contaminació dels cultius, amb el conseqüent perill de contaminar el medi ambient i afectar greument la salut dels éssers vius.⁴ Per aquest motiu, s'han desenvolupat regulacions específiques sobre els nivells permessos de certes substàncies presents en diferents hàbitats. La monitorització de les concentracions de les substàncies potencialment contaminants s'ha dut a terme tradicionalment a través de tècniques analítiques com la cromatografia de gasos (GC) i la cromatografia líquida d'alta resolució (HPLC), acoblades amb diferents detectors.⁴ En els últims anys s'han desenvolupat nous mètodes de detecció i control de la concentració dels possibles contaminants que inclouen la nanotecnologia, és a dir, s'utilitzen uns nanosensors, que són nanopartícules amb composició variable que, per les seves propietats de selectivitat i una resposta amplificada en l'espectroscòpia Raman, coneguda com a surface-enhanced-raman-spectroscopy (SERS), permeten anàlisis més ràpides i eficients.⁴

Com s'ha mencionat anteriorment, l'exposició contínua als pesticides pot tenir un impacte significatiu en el medi ambient i en els éssers vius que hi habiten. Investigacions recents han demostrat que la ingesta prolongada d'aquests productes químics pot desencadenar depressió, afectar el funcionament del sistema nerviós, induir problemes respiratoris i, en casos extrems, provocar la mort fetal, avortaments i alteracions genètiques. A més, no només els efectes de la ingesta són preocupants, sinó que també l'exposició física per via aèria pot tenir conseqüències greus, especialment per a aquells treballadors que manipulen regularment els pesticides durant les seves tasques diàries, com és el cas dels jardiniers.⁴

Actualment, és pràcticament inevitable no exposar-se als pesticides, ja que es troben presents en una àmplia gamma d'aliments i en l'aigua potable. Tot i que es troben en concentracions petites, l'exposició continuada pot provocar conseqüències greus sobre la salut dels éssers vius i el medi ambient. Això destaca la importància de la detecció i la quantificació precisa de la concentració d'aquests contaminants, essencial per a la preservació de la salut pública i la protecció del medi ambient. Un dels contaminants més comuns i preocupants és el Tiram, que, pel seu ampli ús i els seus efectes nocius, requereix el desenvolupament d'un mètode òptim per a la seva determinació.⁵

El Tiram és un fungicida àmpliament utilitzat per la seva eficàcia en el control de malalties causades per fongs en cultius agrícoles, així com el repel·lent contra els animals per protegir les sembradures. Tiram, classificat dins del grup de tiocarbamats, presenta propietats químiques específiques, que es descriuen en detall en la taula adjunta següent (**Taula 1**).

Nom	Disulfur de tetrametiltiuram (Tiram)
Color	Beige
Estat	Pols
Fórmula empírica	C ₆ H ₁₂ N ₂ S
Nº CAS	137-26-8
Pes molecular (g/mol)	240,43
Puresa (%)	97
Punt de fusió (°C)	144-146
Solubilitat a l'aigua	0,017 g/L a 20 °C
Densitat	1,36 g/cm ³ a 20 °C
Toxicitat pels peixos	<u>Exposició puntual:</u> 0,046 mg/l - 96 h <u>Exposició crònica:</u> 0,0046 mg/l - 33 d (Termini fatal)

Taula 1. Propietats químics del Tiram⁶

L'abundant ús d'aquest tipus de pesticida en l'agricultura pot desembocar en problemes de contaminació si no es manipula ni emmagatzema adequadament.⁵

A més, cal estar alerta als riscos d'explosió associats al Tiram, ja que el seu pols pot arribar a formar barreges explosives en entrar en contacte amb l'aire. La persistència d'aquesta substància en el sòl, juntament amb la seva capacitat de filtrar-se en les aigües subterrànies, també constitueix un tema preocupant. És digne de menció que les aigües subterrànies contaminades poden generar símptomes greus i, fins i tot, provocar la mort en cas d'ingestió. Davant d'aquesta realitat, és evident que la problemàtica de la contaminació hídrica per pesticides orgànics està cridant cada vegada més l'atenció.⁵

Aquest fungicida pot tenir efectes negatius en els animals, com ara peixos i aviram, provocant problemes de salut com la reducció de la supervivència embrionària i deformitats esquelètiques. Estudis han demostrat que també pot causar neurotoxicitat en ratolins i rates. A més, l'exposició humana a l'aquest contaminant pot provocar irritació cutània i gastrointestinal, així com inhibir la producció de glòbuls blancs. Aquests efectes poden manifestar-se com irritació de gola, tos, mal de cap, marejos, nàusees i diarrea⁵

Davant de tot el que s'ha dit fins ara, es fa molt evident la importància de disposar d'un mètode òptim, ràpid i senzill per a la determinació de Tiram en aliments de

consum i aigua potable. En aquest Treball Final de Grau, s'ha desenvolupat un mètode de determinació d'aquest contaminant en aigua que combini l'espectroscòpia SERS i nanoestructures d'or amb unes característiques específiques.

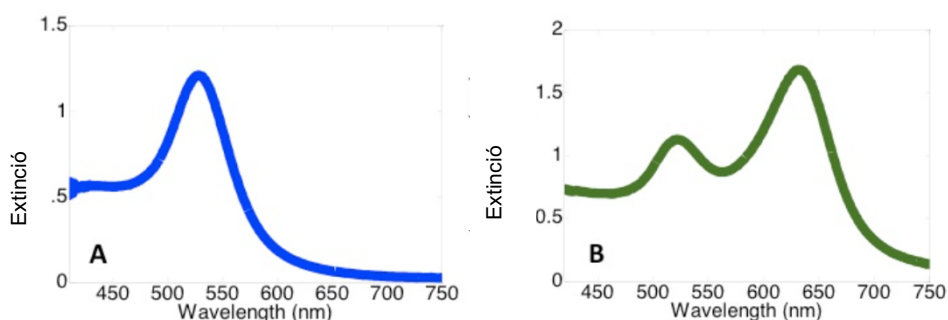
A més de les nanopartícules esfèriques, també s'han sintetitzat nanoestrelles d'or mitjançant el creixement de pinxos sobre la llavor d'or. Les nanoestrelles d'or són especialment valuoses per a l'espectroscòpia SERS, ja que les seves múltiples puntes generen "hot spots" que amplifiquen el camp electromagnètic local. Aquesta característica permet una detecció més sensible de molècules com el Tiram. La seva geometria millora la interacció amb les molècules d'interès, oferint senyals Raman més intensos i una major superfície activa, presentant-se com una alternativa prometedora per augmentar la sensibilitat dels sensors SERS.

Pel que fa a la caracterització de les nanopartícules sintetitzades, s'emprarà l'espectroscòpia òptica ultraviolada-visible (UV-Vis) juntament amb microscòpia electrònica de transmissió (TEM) i de rastreig (SEM).

Amb la tècnica d'espectroscòpia d'absorbància òptica ultraviolada-visible, es duu a terme la primera caracterització qualitativa de les nanopartícules d'or sintetitzades. Les nanopartícules de metalls nobles presenten una propietat intrínseca coneguda com a *localized-surface-plasmon-resonance*, ressonància plasmònica superficial localitzada (LSPR), la qual es manifesta quan fotons d'una longitud d'ona específica incideixen sobre els electrons que conformen el plasmó, induint una oscil·lació col·lectiva dels electrons de conducció en la superfície de les nanopartícules. Aquest fenomen porta a una dispersió més eficient i una major intensitat de camp electromagnètic al voltant de les nanopartícules, el que amplifica el senyal detectat.⁷

Mitjançant l'espectroscòpia UV-Vis, es pot realitzar una predicció qualitativa de la forma i mida de les nanopartícules d'or sintetitzades. Aquest procés implica l'anàlisi de la posició del pic màxim de la corba del senyal adquirit. En general, en el cas de partícules de geometria esfèrica, es pot observar que a mesura que augmenta el diàmetre de la nanopartícula, el pic màxim es desplaça cap a longituds d'ona més llargues, i al disminuir, a longituds d'ona més curtes. Tant el nombre com la posició dels pics també depenen de la geometria específica de la nanopartícula. Per exemple, en el cas de les nanopartícules esfèriques, es pot identificar un pic màxim característic, mentre que en el cas de partícules anisotròpiques, es poden observar més contribucions de ressonància plasmònica. Per exemple, les nanovarilles d'or metàl·liques exhibeixen dues absorpcions que típicament se centren en les regions visible i NIR i que s'originen, respectivament, per l'oscil·lació transversal i longitudinal dels electrons (**Gràfic 1**)

⁷



Gràfic 1. Espectres d'absorbància de nanoesferes d'or de 50 nm (A) i *nanorods* d'or de 25 nm de diàmetre i 60 nm de longitud.⁷

La morfologia i les dimensions exactes de les nanopartícules d'or es determinen mitjançant l'ús del microscopi d'electrons de transmissió (TEM). A través d'aquesta tècnica, es pot, fins i tot, avaluar la cristallinitat de les partícules.

Adicionalment, s'utilitza el microscopi electrònic de rastreig (SEM) per a l'anàlisi de la superfície de les nanopartícules. Aquesta eina proporciona imatges de la superfície de les mostres, permetent determinar si la superfície és llisa o presenta irregularitats com ara pinxos.⁸ Aquest estudi detallat de la morfologia superficial és crucial, ja que aquesta variable afecta directament la resposta òptica del material, i per tant, l'amplificació de la senyal Raman de les molècules que es troben en contacte directe amb la superfície d'or. Així, el coneixement d'aquests aspectes proporciona una comprensió més completa de la funcionalitat i l'eficàcia dels nanosensors en la detecció d'aquest contaminant.

Finalment, es farà servir espectroscòpia SERS per avaluar la detecció de Tiram dissolt en etanol i en aigua.

La tècnica SERS implica una intensificació de la resposta a la llum làser en l'espectroscòpia Raman. Aquest fenomen té lloc en presència de molècules situades a la superfície de les nanopartícules metàl·liques, com ara els metalls nobles, com l'or i la plata, i es coneix com a propietat SERS. Aquesta amplificació del senyal permet una detecció més sensible i precisa de les molècules d'interès, convertint la SERS en una eina valuosa per a una ampla gamma d'aplicacions analítiques i bioanalítiques.⁹

Objectius

El propòsit fonamental d'aquesta investigació consisteix en dissenyar nanosensors plasmonics de propietats avançades per aplicacions en anàlisi mediambiental. S'estudiarà la eficàcia dels nanosensors sintetitzats mitjançant la determinació de Tiram.

Per tal d'assolir el resultat final, s'han de complir una sèrie d'objectius secundaris. Aquests objectius específics es detallen a continuació.

- Sintetitzar nanopartícules esfèriques de la mida aproximada de 40 nm
- Caracteritzar-les mitjançant les tècniques d'espectroscòpia ultra-violada visible i microscòpia electrònica TEM i SEM
- Estudiar la capacitat de detecció de Tiram en etanol amb aquestes primeres nanopartícules
- Sintetitzar estrelles d'or a partir de les primeres nanopartícules esfèriques en dissolució
- Sintetitzar estrelles d'or a partir de nanopartícules esfèriques d'altres síntesis en dissolució
- Sintetitzar estrelles d'or a partir de nanopartícules esfèriques sobre el substrat
- Fer l'estudi de la capacitat de detecció SERS de Tiram en etanol amb totes nanopartícules sintetitzades
- Quantificar, mitjançant l'espectroscòpia SERS, la concentració del Tiram en aigua


Part experimental


1. Els reactius

1.0 N,N-dimetilformamida (DMF)

N,N-dimetilformamida, conegut comunament com DMF, és un compost orgànic que s'utilitza àmpliament com a dissolvent en reaccions químiques.

A la taula següent (**Taula 2**) s'especifica en detall les seves propietats químiques, així com les precaucions de manipulació i la seva toxicitat.

Nom	N,N-dimetilformamida (DMF)
Color	Incolor
Estat	Líquid
Fórmula empírica	C ₃ H ₇ NO
Nº CAS	68-12-2
Pes molecular (g/mol)	73.09
Punt de fusió/congelació (°C)	-61 °C
Punt d'ebullició (°C)	153 °C
Solubilitat en l'aigua	1.000 g/l a 20 °C totalment miscible
Densitat	0,944 g/mL
Puresa(%)	99,8
Toxicitat	


	<ul style="list-style-type: none"> • Líquids i vapors inflamables • Nociu en contacte amb la pell o si s'inhala • Provoca irritació ocular greu. • Pot danyar el fetus
Manipulació	 <ul style="list-style-type: none"> • Utilitzar amb campana extractora • Portar roba protectora (bata, ulleres i guants) • Mantenir-ho lluny de les fonts calents per evitar inflamabilitat

Taula 2. Propietats químiques de la N,N-dimetilformamida (DMF)¹⁰

1.1 Polivinilpirrolidona (PVP)



La polivinilpirrolidona (PVP) és un polímer sintètic format per la polimerització del monòmer vinilpirrolidona. A la taula següent (**Taula 3**) s'especifica en detall les seves propietats químiques, així com les precaucions de manipulació i la seva toxicitat.

Nom	Polivinilpirrolidona (PVP)
Color	Beig
Estat	Pols
Fórmula empírica	(C ₆ H ₉ NO) _x
Nº CAS	9003-39-8
Pes molecular mitjà (g/mol)	40.0
Toxicitat	No és una substància o barreja perillosa d'acord amb el Reglament (CE) núm. 1272/2008.

Manipulació	  <ul style="list-style-type: none"> • Portar roba protectora (bata i guants)
--------------------	---

Taula 3. Propietats químiques de la polivinilpirrolidona (PVP)¹¹




1.2 Citrat trisòdic dihidratat

Nom	Citrat trisòdic dihidratat
Color	Blanc
Estat	Sòlid
Fórmula empírica	$\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$
Nº CAS	6132-04-3
Pes molecular (g/mol)	294,10
Punt de fusió (°C)	300
Solubilitat en l'aigua	29,4 g/l a 20 °C - totalment soluble
Puresa(%)	99,0
Toxicitat	No és una substància o barreja perillosa d'acord amb el Reglament (CE) núm. 1272/2008.
Manipulació	  <ul style="list-style-type: none"> • Portar roba protectora (bata i guants)

Taula 4. Propietats químiques del citrat trisòdic dihidratat¹²

1.3 Clorur d'or(III) trihidratat






Nom	Clorur d'or(III) trihidratat
Color	Groc
Estat	Cristalls amb aglomerats
Fórmula empírica	$\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$
Nº CAS	16961-25-4
Pes molecular (g/mol)	393,83
Punt de fusió/congelació (°C)	75 °C a 1.013,25 hPa
Densitat	3,9 gcm ³ a 20 °C - (substància anhidra)
Puresa(%)	≥ 99,9

<p>Toxicitat</p>	  <ul style="list-style-type: none"> • Nociu en contacte amb la pell o si s'inhala • Provoca irritació ocular greu i cremades a la pell greus • Tòxic pels organismes aquàtics, amb efectes nocius duradors • Pot ser corrosiu pels metalls • Pot provocar danys als òrgans (ronyó) després d'exposicions prolongades o repetides en cas d'ingestió
<p>Manipulació</p>	 <ul style="list-style-type: none"> • Evitar la seva alliberació al medi ambient • Portar roba protectora (bata, ulleres i guants) • No inhalar

Taula 5. Propietats químiques del clorur d'or (III) trihidratat¹³







1.4 Isopropanol


Nom	Isopropanol
Color	Incolor
Estat	Líquid
Fórmula empírica	C ₃ H ₈ O
Nº CAS	67-63-0
Pes molecular (g/mol)	60,1
Punt d'ebullició (°C)	80,9 - 83,2 °C
Densitat	0,858 gcm ³
Puresa(%)	70

Toxicitat	  <ul style="list-style-type: none"> • Líquids i vapors inflamables • Provoca irritació ocular greu
Manipulació	   <ul style="list-style-type: none"> • Portar roba protectora (bata, ulleres i guants)

Taula 6. Propietats químiques de l'isopropanol¹⁴

1.5 Hidròxid d'amoni

Nom	Hidròxid d'amoni
Color	Incolor
Estat	Líquid
Fórmula empírica	NH ₄ OH
Nº CAS	1336-21-6
Pes molecular (g/mol)	35.05
Punt de fusió/congelació (°C)	-60 °C
Punt d'ebullició (°C)	38 - 100 °C a 1.013 hPa
Solubilitat en l'aigua	a 20 °C soluble
Densitat	0,9 gcm ³
Puresa(%)	28-30
Toxicitat	   <ul style="list-style-type: none"> • Provoca irritació ocular greu i cremades a la pell greus • Tòxic pels organismes aquàtics, amb efectes nocius duradors
	  

Manipulació	 <ul style="list-style-type: none"> • Utilitzar amb campana extractora • Portar roba protectora (bata, ulleres i guants) • Evitar la seva alliberació al medi ambient
--------------------	---

Taula 7. Propietats químiques de l'hidròxid d'amoni¹⁵

2. Procediment experimental

2.0 Síntesi de nanopartícules d'or esfèriques

Primerament, es neteja el matraç Erlenmeyer amb aigua ultrapura, Milli-Q, per evitar qualsevol contaminació de les nanopartícules i per aquesta raó durant tot el procediment s'han utilitzat les mesures de seguretat adequades. .

Després, es prepara una solució de citrat trisòdic dihidratat 0,1 M (50 mL), en aigua Milli-Q. El càlcul es presenta a continuació (**Càlcul 1**). Mentre s'espera que l'aigua bulli, es pesen 1,4853 g de citrat trisòdic en un Eppendorf de 50 mL i es dissolen en aigua Milli-Q, enrasant a 50 mL i agitant bé fins completa homogeneïtzació.

$$50 \text{ ml dissolució} * \frac{0,1 \text{ mols citrat trisòdic}}{1000 \text{ ml dissolució}} * \frac{294,10 \text{ g citrat trisòdic}}{1 \text{ mol citrat trisòdic}} * \frac{100 \text{ g citrat trisòdic}}{99 \text{ g citrat trisòdic}} = 1,4853 \text{ g citrat trisòdic dihidratat}$$

Càlcul 1. Preparació d'una solució de citrat trisòdic dihidratat 0,1 M

Quan l'aigua arriba a l'ebullició, s'afegeixen 680 µL de citrat trisòdic 0,1 M i es remou constantment amb un imant. Després d'un minut, s'afegeixen 625 µL de H_{AuCl}₄ 0,1 M, i es deixa que la reacció continuï durant aproximadament una hora fins que el volum s'evapori a uns 100 mL.

Un cop la solució s'hagi refredat una mica, es tapa amb parafilm i es deixa fins el dia següent.

La síntesi de les nanopartícules d'or a partir de citrat trisòdic dihidrat i la sal d'or, H_{AuCl}₄, mitjançant la reducció d'or va ser inicialment descoberta pel científic Turkevich. Aquesta síntesis es coneix com a mètode Turkevich.¹⁶

A continuació es descriu un dels possibles mecanismes d'aquesta reacció. El procés es desenvolupa en quatre etapes diferenciades. Inicialment, es produeix una reducció parcial del precursor d'or, donant lloc a la formació de petits clústers a partir dels monòmers d'Au. A la segona etapa, aquests clústers evolucionen en llavors amb radis que superen els 1,5 nm. Els ions d'or que queden es concentren i s'adhereixen a la doble capa electrònica de les llavors com a coions. En les etapes tercera i quarta, té lloc la reducció de l'or iònic, primer de manera lenta i després més ràpidament. Durant aquest temps, els monòmers d'or que es generen creixen exclusivament sobre la superfície de les llavors fins que el precursor s'ha consumit completament. Com a resultat, no es formen noves partícules durant aquestes dues últimes etapes.¹⁶

A la **Figura 1** es pot observar visualment aquest mecanisme de reacció de la síntesis de nanopartícules d'or a partir de citrat trisòdic dihidratat i la reducció d'or.

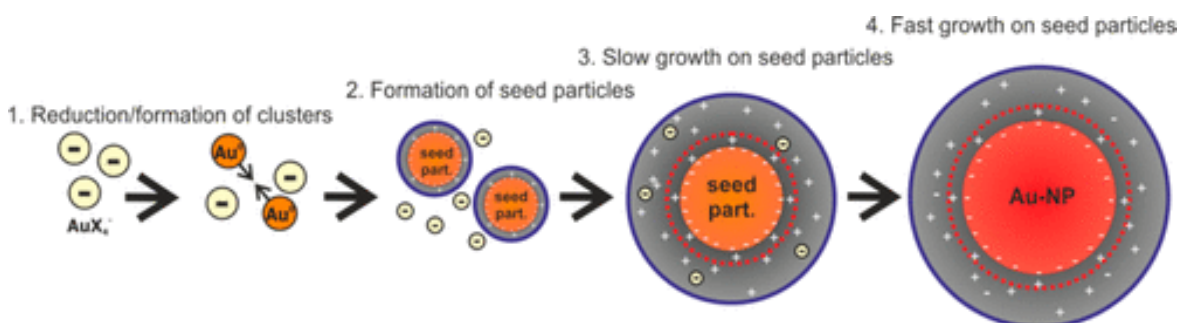


Figura 1. Desenvolupament esquemàtic de la reacció de citrat trisòdic i sal d'or per formar les nanopartícules d'or¹⁶

A la **Figura 2** es representa la estructura de les nanopartícules d'or final.

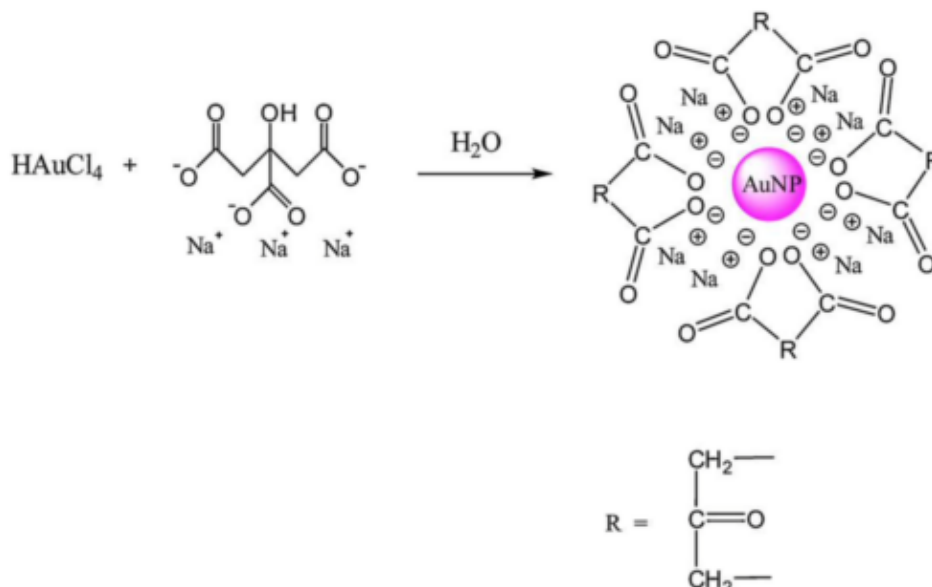


Figura 2. Estructura final de les nanopartícules d'or sintetitzades a partir de citrat trisòdic dihidratat i $HAuCl_4$ ¹⁷

Al dia següent, es traspasa tota la solució als tubs de 15 mL, omplint fins a 10 mL. Es determinen les condicions òptimes de centrifugació i es concentren fent dues centrifugacions. La primera a 3000 r.p.m. durant 15 min, i en la segona es centrifuga el líquid sobrenedant a 3500 r.p.m. durant 10 min. Mitjançant una micropipeta, es recullen tots els concentrats en un Eppendorf de 2 mL. Es realitza una dilució de 10 μ L de la solució concentrada de les nanopartícules d'or en 3 mL d'aigua Milli-Q per a la primera caracterització mitjançant espectroscòpia UV-Vis.

A l'espectroscòpia UV-Vis es determina la posició del plasmó (l'absorbància màxima) de les nanopartícules d'or sintetitzades a 570 nm. Tenint en compte l'absorbància màxima al UV-Vis i la amplada del plasmó de les nanopartícules d'or, d'aquí endavant referit com AuNPs, podem estimar que s'han format de la mida lleugerament més gran i de forma no completament esfèrica. Per aquesta raó es repeteix la síntesis i la concentració posterior de les AuNPs seguint el mateix procediment, s'anomenarà com a Mostra 2.

Mostra 2 presenta el plasmó a l'espectroscòpia UV-Vis a 550 nm, aquesta anàlisi qualitatiu indica que les AuNPs s'han format de la mida aproximada de 50 nm i de la geometria esfèrica.¹⁸

Les AuNPs de la Mostra 2 es caracteritzen amb la microscòpia electrònica de transmissió (TEM). A la **Figura 3** es pot observar la forma de les nanopartícules d'or sintetitzades i en l'apartat *Resultats i Discussió* es comentarà en detall l'estudi de la mida amb la microscòpia TEM.

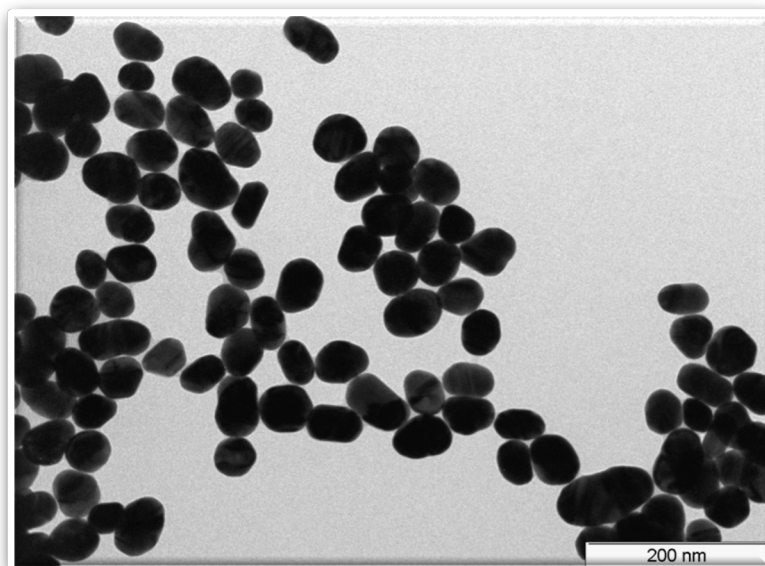


Figura 3. Caracterització de les AuNPs de la Mostra 2 amb TEM

Es calcula la concentració de les Au⁰ de la Mostra 2 a partir d'un valor de referència. A continuació es presenta el càlcul desenvolupat (**Càlcul 2**) i a la **Taula 6** es recullen les dades.

Longitud d'ona (nm)	Absorbància	[Au ⁰] (M)
400	0,30	1,25x10 ⁻⁴
400	2,34	X

← Valor de referència

Taula 6. Les dades per calcular la concentració de AuNPs de la Mostra 2

$$\frac{X}{2,34} = \frac{1,25 * 10^{-4}}{0,30}$$

$$X = 9,75 * 10^{-4} M$$

Càlcul 2. Determinació de la concentració de Au⁰ de la Mostra 2

Desfent la dilució la concentració d'Au⁰ de la Mostra 2 es 0,2925 M.

Es duen a terme tres síntesis més, seguint el mateix procediment i es referiran com a Mostra 3, Mostra 4 i Mostra 5. Més endavant es caracteritzen a través de l'espectroscòpia UV-Vis i es determina la posició del plasmó a 550 nm de les tres.

A la longitud d'ona de 400 nm la Mostra 3 presenta l'absorbància de 0,2657, la Mostra 4 de 0,4637 i la Mostra 5 de 0,3901. Fent el càlcul de la manera semblant que **Càlcul 2** i posteriorment desfent la dilució, es determina per a la Mostra 1 [Au⁰]= 993,9 x10⁻⁴ M, per la Mostra 3 [Au⁰] = 388,5 x10⁻⁴ M, per la Mostra 4 [Au⁰] = 675,5x10⁻⁴ M i per la Mostra 5 [Au⁰] = 487,625x10⁻⁴ M.

2.1 Preparació de les dissolucions de Tiram en etanol i en aigua amb diferents concentracions

Es prepara la solució de Tiram en etanol de la concentració 10 mM (10mL). Es calculen els grams necessaris de Tiram a continuació en el **Càlcul 3**.

$$10 \text{ ml solució} * \frac{10 \text{ mM Tiram}}{1000 \text{ ml solució}} * \frac{1 \text{ mol}}{1000 \text{ mMol}} * \frac{240,44 \text{ g Tiram}}{1 \text{ mol Tiram}} * \frac{100 \text{ g}}{97 \text{ g}}$$

$$= 0,0233 \text{ g Tiram}$$

Càlcul 3. Preparació de la dissolució de Tiram en etanol de la concentració 10 mM

A partir d'aquesta solució es prepara una solució de Tiram de la concentració 10⁻³ M. Per això es calcula a sota (**Càlcul 4**) el volum necessari de la solució de 10 mM.

$$V_i(10mM) * 10mM = 10 \text{ ml} * 1 \text{ mM}$$

$$V_i(10mM) = 1 \text{ ml} = 1000 \mu L$$

Càlcul 4. Preparació de la solució de Tiram en etanol de la concentració 10⁻³ M

Es preparen les altres solucions de les concentracions 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷, 10⁻⁸ i 10⁻⁹ M, seguint el mateix procediment i fent el càlcul semblant que **Càlcul 4**. A destacar que les solucions amb concentracions 10⁻⁴, 10⁻⁵, 10⁻⁶, 10⁻⁷ es preparen a partir de la solució de Tiram 10⁻³ M, i les solucions 10⁻⁸ i 10⁻⁹ M es preparen a partir de les solucions de Tiram de 10⁻⁴ i 10⁻⁵.

Es preparen les mateixes solucions de Tiram en aigua, seguint el procediment anterior.

2.2 Preparació de les gotes d'AuNPs

En una placa de petri gran amb parafilm pegat en la superfície, es pipetegen gotes de AuNPs de distint volum (5, 3, 1, 0,5 i 0,2 μL) per trobar el volum de la gota òptim per mesurar SERS. Es deixa 24 hores per a que el dissolvent s'evapori.

2.3 Determinació del volum de la gota òptim i límit de detecció de Tiram en etanol

Es preparen les mostres de gotes de diferent mida d'AuNPs en la solució de distinta concentració de Tiram en Eppendorfs de 2 mL.

Amb un bisturí es tallen les tires rectangulars d'AuNPs de distinta mida, preparades en la secció 2.3, i es deixen submergides dins d'Eppendorfs de 2 mL en solució per a cada concentració de Tiram durant 24 hores. Passat aquest temps, es renten 4 vegades en etanol i s'enganxen a sobre de portaobjectes de vidre en celo de doble capa. A continuació s'estudia la intensitat SERS a concentració més baixa detectada (10^{-9} M) per totes les gotes, i es determina ser gotes de 5 μL les més òptimes. Seguidament, es fa l'escombrat de concentracions de Tiram en etanol complert per la gota de 5 μL . La discussió d'aquests resultats es pot consultar més endavant, en l'apartat *Resultats i Discussió*.

2.4 Preparació d'elastòmer PDMS

Dins d'un Eppendorf de 50 mL es pesen en la balança analítica 25 grams de *Sylgard silicon elastomer* i, s'hi afegeixen 2,5 grams d'agent curant *Sylgard silicon elastòmer curing agent*. La mescla es remou energèticament amb una vareta de vidre durant 10-15 minuts i es reparteix en tres plaques de petri grans. Es deixa tota la nit per a que es desgasifiqui per si mateix, i al dia següent es posa a l'estufa a 85 °C durant 2 hores. Passat aquest temps es deixa que es refredi a temperatura ambient.

2.5 Rentat dels portaobjectes de vidre RCA-1

- I. La caixa de vidre i els portaobjectes es renten amb sabó i aigua Milli-Q, fregant amb cura cada vidre i utilitzant guants.
- II. Amb els portaobjectes dins de la caixa, es procedeix a omplir-la cinc vegades amb aigua Milli-Q per eliminar completament el sabó. A continuació, la caixa amb els portaobjectes es renta dues vegades amb isopropanol.
- III. La caixa s'omple amb 30 mL d'aigua Milli-Q i 90 mL d'isopropanol i es deixa en el sonificador durant 15 minuts.
- IV. En un bany d'arena escalfat a 70 °C, es deixa la caixa amb els portaobjectes durant 30 minuts, prèviament emplenada amb 85 mL d'aigua Milli-Q, 17 mL d' H_2O_2 i 17 mL de NH_4OH .

- V. Transcorreguts els 30 minuts, la dissolució es diposita al bidó de residus etiquetat com "solucions aquoses inorgàniques".
- VI. Finalment, la caixa amb els portaobjectes de vidre s'aclareix tres vegades amb aigua Milli-Q.

2.6 Creixement dels pinxos amb llavor en dissolució

- i. En quatre Eppendorfs de 2 mL es pesen 0,2 grams de PVP (40K), i dins de la vitrina s'hi afegeix 1 mL de DMF amb una micropipeta d'un sol ús.
- ii. La mescla es dissol completament utilitzant el vòrtex i el sonificador, i es deixa sonificant-se durant 30 minuts.
- iii. Es pipetegen 5 μL de la sal d'or HAuCl_4 , s'agita vigorosament i es col·loca a dins una tira de parafilm amb la gota d'AuNPs (Mostra 2).
- iv. Es repeteix el mateix procediment per les altres mostres pipetejant 4, 3 i 2 μL de la sal d'or respectivament.
- v. Les mostres es deixen reposar durant 24 hores.
- vi. Passades 24 hores, cada Mostra es renta 5 vegades en etanol i es deposita en un portaobjectes de vidre damunt de celo de doble capa.
- vii. Mitjançant la microscòpia FESEM es caracteritza la geometria de cada Mostra .

2.7 Creixement dels pinxos amb llavor sobre el substrat

- i. Es talla 1 portaobjectes de vidre rentat en 5 trossos, utilitzant el llapis de punta de diamant.
- ii. Amb un bisturí es talla un rectangle de PDMS i se li prepara un forat amb el *punch*. El tros de PDMS s'enganxa al vidre, tenint cura de deixar tota la superfície ben enganxada.
- iii. Amb una micropipeta es pipetegen 2 μL de la Mostra 3 dins del forat, i en una placa de petri es deixen les mostres 24 hores, fins que s'evapori el dissolvent.
- iv. Es col·loca cada Mostra en una placa de petri petita i individual.
- v. En tres Eppendorfs de 2 mL es pipetegen 0,5 mL de la solució de PVP 2 g en 10 mL de DMF, preparada anteriorment, i seguidament es pipetegen 4, 3 i 2 μL de la sal d'or.
- vi. Després de homogeneïtzar cada solució ràpidament es pipeteja cadascuna sobre el vidre amb la gota d'AuNPs respectivament, i es deixa durant 24 hores.
- vii. Passat aquest temps, les mostres es renten 4 vegades amb etanol i es caracteritzen amb el FESEM.
- viii. Es fan les proves, variant la concentració de PVP de 1g, 1,5 g, 3g i 4 g totes en 10 mL de DMF.

2.8 Creixement d'estrelles en dissolució 1

- I. Es prepara una solució de PVP dissolent 7 g d'aquest en un volum final de 50 mL de DMF. Es segueix el mateix procediment descrit a l'apartat 2.6, dissolent inicialment tot el PVP en uns 30-35 mL i després completant el volum fins a 50 mL.

- II. Un cop la solució s'ha refredat se li afegeix amb una micropipeta 106,9 μL de la sal d'or i es remou energèticament.
- III. Tot seguit, es pipetegen 13,5 μL d'AuNPs de la Mostra 3, i una última vegada es remou fortament la solució.
- IV. Finalment, es deixa en repòs durant 24 hores.
- V. Passat aquest temps, es renta la solució amb les nanopartícules estrellades. La solució es distribueix en 4 tubs de 15 mL, omplint fins a uns 8,5 mL i completant amb etanol fins a 13 mL. Es centrifuga a 7500 r.p.m. durant 40 minuts. Es rebutja el sobrenedant i es pipetegen 2 mL d'etanol al primer tub amb el concentrat, transferint-lo al següent tub i recollint tots els concentrats. Finalment, s'afegeixen 2 mL d'etanol al primer tub, transferint-los successivament a cadascun fins a arribar a l'últim amb el concentrat. S'enrasa fins a 13 mL amb etanol i es centrifuga de nou a 7000 r.p.m. durant 10 minuts. Aquest procediment es repeteix una última vegada amb les mateixes condicions.
- VI. Finalment, el concentrat de les estrelles (AuNS) es redispersa en 10 mL d'etanol.
- VII. Es prepara una dilució de 500 μL en 3 mL i es caracteritza amb l'espectroscòpia UV-Vis, determinant una concentració de $[\text{Au}^0(\text{M3})] = 56,125 \times 10^{-5} \text{M}$.
- VIII. S'analitzen les nanoestrelles al microscopi TEM.

2.9 Creixement d'estrelles en dissolució 2

Es segueix el mateix procediment descrit en l'apartat anterior, però en aquest cas s'han pipetejat 7,76 μL d'AuNPs de la Mostra 4, atès que aquesta Mostra presenta una major concentració. Finalment, es prepara una dilució de 1000 μL en 3 mL i es caracteritzen les nanopartícules mitjançant espectroscòpia UV-Vis, determinant una concentració de $[\text{Au}^0(\text{M4})] = 54,576 \times 10^{-5} \text{M}$.

2.10 Creixement d'estrelles en dissolució amb llavor en etanol

- I. Es prepara una solució de PVP dissolent 2 g d'aquest en un volum final de 10 mL de DMF. Es deix en el sonificador durant 30 minuts.
- II. Un cop la solució s'hagi refredat se li afegeix amb una micropipeta 30,4 μL de la sal d'or, es remou energèticament.
- III. Tot seguit, es pipetegen 20 μL de AuNPs redispersats en etanol amb una concentració de $17,1 \times 10^{-4} \text{M}$, i una última vegada es remou fortament la solució.
- IV. Finalment, es deixa en repòs durant 24 hores.
- V. Passat aquest temps, es renta la solució amb les nanopartícules estrellades. La solució es distribueix en 2 tubs de 15 mL, omplint fins a uns 5 mL i completant amb etanol fins a 13 mL. Es centrifuga a 7500 r.p.m. durant 40 minuts. Es rebutja el sobrenedant i es pipetegen 2 mL d'etanol al primer tub amb el concentrat, transferint-lo al següent tub i recollint tots els concentrats. Finalment, s'afegeixen 2 mL d'etanol al primer tub, transferint-los successivament a cadascun fins a arribar a l'últim amb el

concentrat. S'enrasa fins a 13 mL amb etanol i es centrifuga de nou a 7000 r.p.m. durant 10 minuts. Aquest procediment es repeteix una última vegada amb les mateixes condicions.

- VI. Finalment, el concentrat de les estrelles, AuNS, es redispersa en 10 mL d'etanol.
- VII. Es caracteritza amb l'espectroscòpia UV-Vis, determinant una concentració de $[Au^0 (EtOH)] = 231,33 \times 10^{-6} M$.

2.11 Mesura del senyal SERS

- I. Es mesura el senyal SERS de les mostres d'estrelles preparades en les seccions 2.6, 2.7, 2.8, 2.9 per a la concentració de $10^{-4} M$ de Tiram en etanol.
- II. Es realitzen quatre escombrats de concentració de Tiram en etanol amb les AuNPs esfèriques de diverses mostres i dos escombrats amb les mostres de la secció 2.7, modificant les condicions del tractament final.
- III. Finalment, es mesura la senyal SERS pel tot el rang de concentracions de Tiram en aigua amb les nanopartícules esfèriques de la Mostra 5. Els resultats detallats es discutiran a la secció de **Resultats i Discussió**.

Resultats i Discussió

1. Caracterització mitjançant espectroscòpia UV-Vis

Nanopartícules d'or esfèriques

Tal com s'ha detallat a l'apartat *Introducció*, la tècnica inicial que s'emprarà per a la caracterització de les nanopartícules d'or sintetitzades és l'espectroscòpia UV-Vis, utilitzant l'aparell *Cary 5000 UV-Vis-NIR*. Aquesta metodologia analítica ens permetrà dur a terme una avaluació preliminar i qualitativa de les propietats morfològiques de les nanopartícules, en particular la seva mida i geometria. L'espectroscòpia UV-Vis es basa en la interacció de la llum ultraviolada i visible amb les nanopartícules, permetent la detecció de fenòmens com la ressonància plasmònica de superfície, la qual proporciona informació crucial sobre les dimensions i la forma de les nanopartícules d'or.

L'anàlisi de l'espectroscòpia UV-Vis se centrarà en el pic màxim de l'espectre, conegut com a plasmó, de les nanopartícules d'or. En el cas de nanopartícules amb geometria esfèrica, s'observarà únicament un pic. La posició d'aquest pic permetrà estimar la mida aproximada de les nanopartícules sintetitzades. A més, el nombre de pics presents en l'espectre permetrà confirmar la morfologia esfèrica de les nanopartícules.

La posició del plasmó per a les nanopartícules esfèriques d'or d'aproximadament 50 nm s'espera al voltant dels 530 nm en l'espectre UV-Vis¹⁹. Com s'ha comentat anteriorment, a mesura que augmenta la mida de la nanopartícula, el plasmó es

desplaça cap a longituds d'ona més grans, i viceversa. Per tant, per a nanopartícules amb una mida de 40 nm, s'espera que el plasmó es trobi lleugerament per sota dels 530 nm.

Durant tot el treball, s'han sintetitzat cinc mostres de nanopartícules d'or a partir de citrat trisòdic dihidratat i la sal d'or. En primer lloc, aquestes cinc mostres s'han caracteritzat mitjançant espectroscòpia UV-Vis, la qual ha permès obtenir informació sobre les propietats òptiques de les nanopartícules, i predir la seva geometria i la mida. Posteriorment, s'ha calculat la concentració d'Au⁰ de cada Mostra utilitzant la informació obtinguda dels espectres UV-Vis, tal com s'ha explicat detalladament en l'apartat *Part experimental* (pàgina 15).

En la primera síntesi, les nanopartícules d'or obtingudes es van presentar en una dissolució de color violeta intens. L'anàlisi de l'espectre UV-Vis, suggereix que les nanopartícules sintetitzades tenen una mida superior als 40 nm i, possiblement, una morfologia que no és completament esfèrica. En observar l'espectre UV-Vis obtingut, presentat al **gràfic 2**, es pot apreciar que el màxim del plasmó es troba aproximadament a 570 nm. Aquesta dada indica que les nanopartícules obtingudes són significativament més grans que la mida de 40 nm que es pretenia aconseguir inicialment.

En les síntesis 2, 3, 4 i 5, la coloració de les dissolucions resultants era semblant, amb una tonalitat vermellosa. Als espectres UV-Vis d'aquestes mostres s'observa que el màxim del plasmó es troba a una longitud d'ona aproximadament de 550 nm. Aquesta uniformitat en la posició del plasmó indica que les nanopartícules sintetitzades en aquestes síntesis tenen una mida similar i que, tot i ser més petites que les de la primera síntesi, encara es troben per sobre de la mida desitjada de 40 nm.

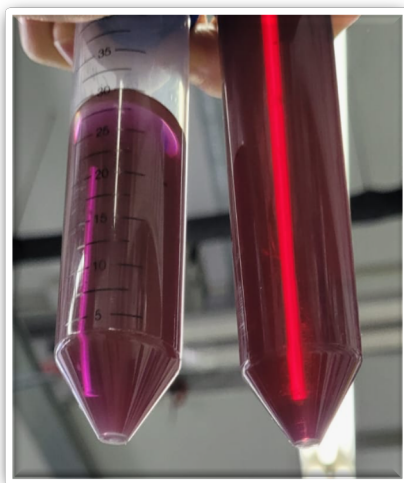
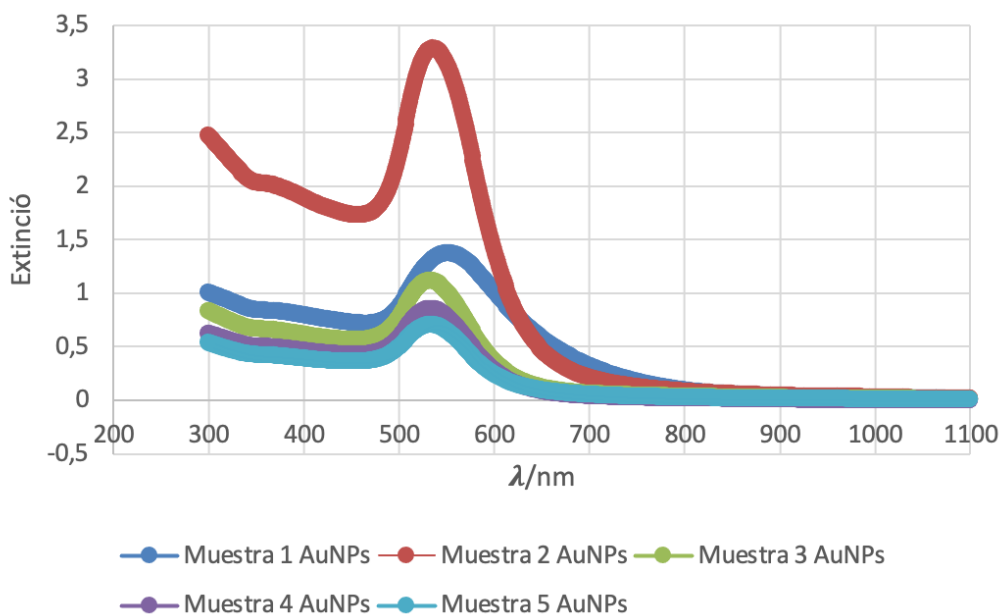


Figura 4. Mostra 1 (esquerra) i Mostra 2 (dreta) de les AuNPs obtingudes

A la **Figura 4** s'observa la diferència de color entre les nanopartícules d'or de la Mostra 1, situada a l'esquerra, i de la Mostra 2, situada a la dreta. Cal tenir

present que les mostres 3, 4 i 5 exhibeixen semblances amb la Mostra 2, per aquesta raó no s'adjunta la seva imatge.

A continuació, en el gràfic 2, es presenten tots els espectres obtinguts de les cinc mostres de les nanopartícules d'or sintetitzades. S'observa que cadascuna d'elles Mostra un únic pic, corresponent al plasmó típic d'or. En el cas de la primera Mostra, aquest pic es troba a 570 nm, indicant la presència de partícules de major grandària, com s'ha esmentat anteriorment. Pel que fa a les altres mostres, el plasmó és similar i es localitza al voltant de 550 nm.



Gràfic 2. Espectres UV-Vis de les cinc mostres de AuNPs obtingudes

A partir dels espectres UV-Vis obtinguts de les cinc mostres de nanopartícules d'or, s'ha determinat la concentració corresponent de cada Mostra. Totes aquestes dades es poden observar a la Taula 7.

Mostra	[Au ⁰] M
1	993,9 x10 ⁻⁴
2	292,5 x10 ⁻³
3	388,5 x10 ⁻⁴
4	675,5x10 ⁻⁴
5	487,6x10 ⁻⁴

Taula 7. Concentració de les AuNPs de les cinc mostres sintetitzades

A continuació, es descriu la relació entre la concentració de nanopartícules i la intensitat del pic màxim en els espectres.

La Mostra 1 mostra una intensitat de pic màxim notablement alta, en concordança amb la seva concentració elevada.

La Mostra 2 presenta el pic màxim més intens entre totes les mostres analitzades, reflectint una concentració major d'Au⁰, i per tant major concentració de les nanopartícules, aquest fet es comprova amb la concentració calculada i recollida a la Taula 7. Aquesta concentració tan elevada en comparació amb les altres mostres podria ser atribuïda a que durant el procés de concentració de les nanopartícules, es van ajuntar tant les de la meva síntesi com altres de disponibles al laboratori, amb l'objectiu d'obtenir la màxima concentració possible. Això es la conseqüència de que encara no s'havia complertes l'optimització del procés.

Quant a la Mostra 3, malgrat tenir una intensitat de pic màxim inferior a la de la Mostra 1, encara és significativa i concorda amb la seva concentració.

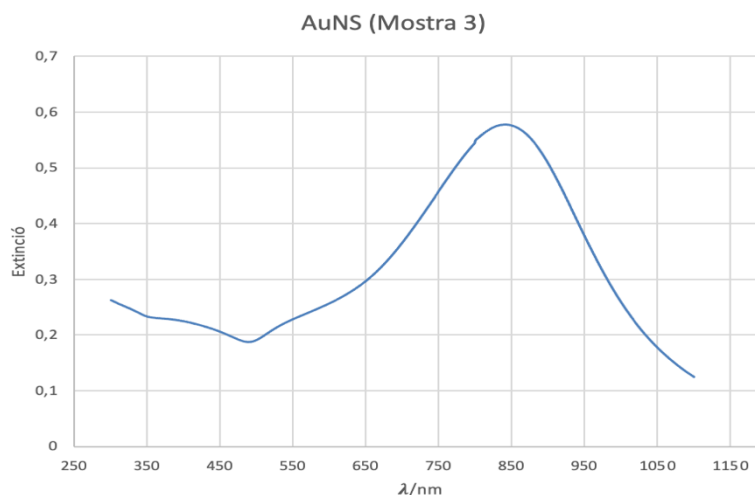
Pel que fa a la Mostra 4, la seva intensitat de pic màxim és lleugerament superior a la de la Mostra 5, però inferior a la de la Mostra 1 i 3, indicant una concentració intermèdia d'Au⁰.

Per últim, la Mostra 5 exhibeix una intensitat de pic màxim inferior a totes, la qual cosa és coherent amb la seva concentració.

Nanopartícules d'or amb la geometria estrella amb llavor de la Mostra 3

Com s'ha comentat en l'apartat *Part experimental* s'ha preparat una dilució de 500 µL en 3 mL de la dissolució de AuNS (Mostra 3), i s'ha mesurat el senyal UV-Vis en el rang 1200-300 nm. A continuació, al **gràfic 3** es pot observar l'espectre obtingut.

En aquest cas, les nanopartícules d'or en forma d'estrella es van sintetitzar a partir de les AuNPs esfèriques de la Mostra 3, que presentaven una concentració de $388,5 \times 10^{-4}$ M. Es va procedir afegint una solució de la sal d'or, HAuCl₄ 0,1 M en dissolució de PVP (40K) a una concentració de 7 g en 35 mL de DMF de volum final, amb l'addició d'una quantitat de 13,5 µL de les AuNPs de la Mostra 3. Posteriorment, durant un període de 24 hores les noves nanopartícules d'or es van créixer sobre les esferes de la Mostra 3, que van actuar de llavors, facilitant així el creixement de les nanopartícules en forma de les estrelles.



Gràfic 3. Espectre UV-Vis de les AuNS sintetitzades a partir de la Mostra 3

Tal i com s'ha vist anteriorment la posició del plasmó depèn fortament de la geometria i la mida de les nanopartícules.

En el cas de la geometria estrellada de les nanopartícules d'or, la posició del plasmó es veurà influïda per el nombre dels pinxos de les estrelles, ja que en cada pinxo els electrons concentren la energia fotònica rebuda. Per tant, el senyal mesurat en l'espectroscòpia UV-Vis variarà segons el nombre dels pinxos, amb el plasmó localitzat en diferents zones en funció d'aquest factor.²⁰

Per exemple, en el cas de les nanoestrelles d'or de cinc puntes, el plasmó es localitzaria aproximadament a uns 675 nm. És important tenir en compte també les dimensions de les nanoestrelles sintetitzades, ja que aquest és un altre factor determinant que influirà en la posició del pic màxim en l'espectre UV-Vis.^{20,21}

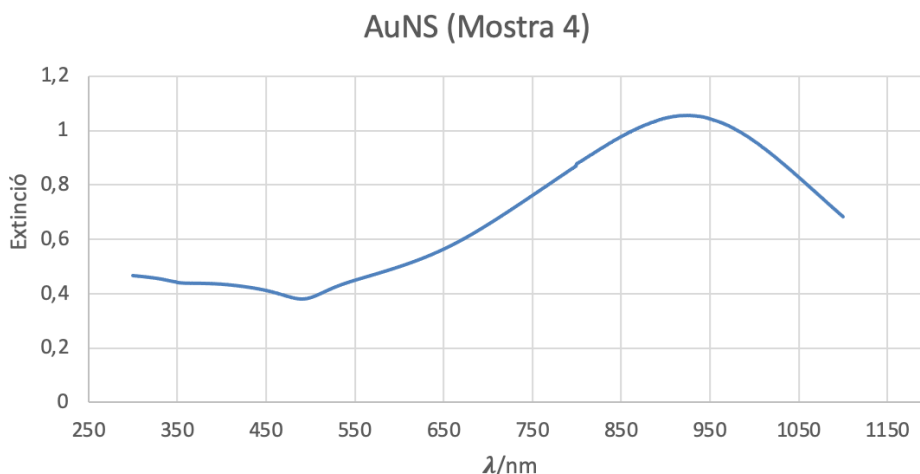
En l'espectre UV-Vis de la Mostra d'AuNS (Mostra 3), tal com s'observa en el gràfic 3, es pot constatar que la posició del plasmó es troba aproximadament als 850 nm. A partir de l'estudi previ, on s'ha establert una correlació entre el plasmó de les nanoestrelles de cinc puntes a 675 nm, es pot suposar que les nanoestrelles que s'han desenvolupat en aquesta Mostra probablement compten amb una distribució de la mida de les puntes més gran i variada. Segons la referència de l'estudi recent, la variació en la mida i distribució de les puntes pot desplaçar la posició del plasmó a longituds d'ona més llargues, reflectint les dimensions més grans de les nanoestructures.

La magnitud de la intensitat del pic màxim en l'espectre UV-Vis reflecteix una correlació directa amb la concentració de les nanoestrelles d'or presents en la Mostra. Com es va detallar prèviament a la secció Part experimental, la concentració es va determinar com a $56,125 \times 10^{-5}$ M a partir de l'anàlisi de l'espectre UV-Vis. Aquest càlcul es va realitzar basant-se en les característiques

específiques d'absorbància de la mostra, permetent una valoració precisa de la quantitat de nanoestrelles d'or en la solució.

Nanopartícules d'or amb la geometria estrella amb llavor de la Mostra 4

Com s'ha comentat en l'apartat *Part experimental* s'ha preparat una dilució de 1000 μL en 3 mL de la dissolució d'AuNS (Mostra 4), i s'ha mesurat a l'espectroscòpia UV-Vis en el rang 1200-300 nm. A continuació, al **gràfic 4** es pot observar l'espectre obtingut.



Gràfic 4. Espectre UV-Vis de les AuNS sintetitzades a partir de la Mostra 4

En aquest cas, les nanopartícules d'or en forma d'estrella es van sintetitzar a partir de les nanopartícules d'or esfèriques de la Mostra 4, que presentaven una concentració de $675,5 \times 10^{-4}$ M. El procés va començar amb l'afegit d'una solució de la sal d'or, HAuCl_4 a una concentració de 0,1 M, en una dissolució de PVP (40K), amb una concentració de 7 g de PVP en un volum final de 35 mL de DMF. A aquesta barreja es van afegir 7,76 μL de les nanopartícules d'or esfèriques de la Mostra 4.

Un cop preparada la solució, es va deixar reposar durant un període de 24 hores. Durant aquest temps, les noves nanopartícules d'or es van començar a formar sobre la superfície de les esferes de la Mostra 4. Aquestes esferes van actuar com a nuclis o llavors, facilitant així el creixement controlat de les nanopartícules en forma d'estrella. Aquest procés va assegurar que les nanopartícules d'or es desenvolupessin de manera uniforme, adquirint la forma d'estrella desitjada gràcies a la presència de les llavors inicials. Així, es va obtenir un producte final amb nanopartícules d'or en forma d'estrella, formades sobre les esferes originals de la Mostra 4.

En l'espectre UV-Vis de la Mostra de AuNS (Mostra 4), tal com es mostra en el **gràfic 4**, es pot observar que la posició del plasmó es troba aproximadament als 930 nm. Aquesta posició és notablement diferent del plasmó observat en

nanoestrelles de cinc puntes, que, com s'ha vist en estudis anteriors, es troba a uns 675 nm a l'espectroscòpia UV-Vis. Aquesta diferència suggereix que les nanoestrelles sintetitzades en la Mostra 4 tenen més de cinc puntes i probablement són de mida més gran.

La diferència en la posició del plasmó pot ser atribuïda a la geometria i la mida de les nanoestrelles. En les estrelles de cinc puntes, els electrons es concentren en les puntes, donant lloc a un plasmó característic a 675 nm. No obstant això, en el cas de les nanoestrelles de la Mostra 4, la posició del plasmó a 930 nm indica que aquestes estructures tenen més puntes i una mida més gran, ja que la longitud d'ona del plasmó augmenta amb la mida i la complexitat de la nanoestructura.

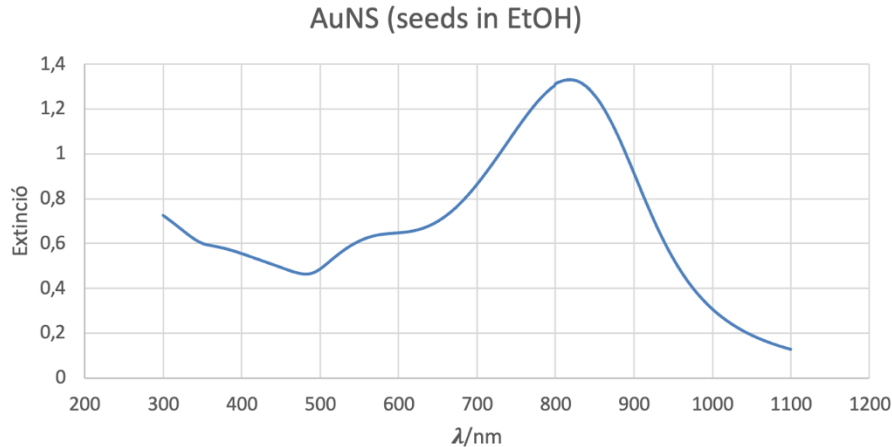
Aquesta interpretació es reforça quan es comparen aquestes nanoestrelles amb les sintetitzades a partir de la Mostra 3. Les nanoestrelles de la Mostra 3 tenien un plasmó a una longitud d'ona inferior, la qual cosa indica una mida menor i possiblement menys puntes. En contrast, les nanoestrelles de la Mostra 4, amb el seu plasmó a 930 nm, són clarament més grans. Això es dedueix de la comparació directa de la posició del plasmó en els espectres UV-Vis de cada mostra .

Per tant, podem concloure que les nanoestrelles sintetitzades a partir de les nanopartícules d'or de la Mostra 4 són significativament més grans i tenen més puntes que les de la Mostra 3. Aquesta observació és crucial per a la caracterització de les propietats òptiques i les possibles aplicacions d'aquestes nanoestrelles, ja que la mida i la geometria afecten directament les seves respostes òptiques i funcionals.

La intensitat del pic màxim en l'espectre UV-Vis reflecteix una correlació directa amb la concentració de les nanoestrelles d'or presents en la Mostra . Aquesta relació es fonamenta en el fet que l'absorbància d'una solució és proporcional a la concentració de les espècies absorbents, en aquest cas, les nanoestrelles d'or. Tal com es va detallar prèviament a la secció *Part experimental*, la concentració de les nanoestrelles d'or es va determinar com a $54,576 \times 10^{-5}$ M a partir de l'anàlisi de l'espectre UV-Vis.

Nanopartícules d'or amb la geometria estrella amb llavor en etanol

En aquesta síntesis es van fer diverses proves experimentals fins trobar les condicions òptimes per a la síntesi de nanoestrelles a partir de llavors d'AuNPs redispersats en etanol. Com que el volum de la dissolució amb les nanoestrelles era petit, i per tant la concentració també, s'ha decidit mesurar directament al espectrofotòmetre UV-Vis, sense fer cap dilució. S'ha efectuat la mesura en el rang 1200-300 nm, i tot seguit al **gràfic 5** s'observa l'espectre obtingut de la Mostra AuNS (llavors en EtOH).



Gràfic 5. Espectre UV-Vis de les AuNS sintetitzades a partir d'AuNPs redispersades en EtOH

Les nanoestrelles, AuNS (llavors en EtOH), es van sintetitzar a partir de les nanopartícules d'or esfèriques redispersades en etanol, que presentaven una concentració de $17,1 \times 10^{-4}$ M. El procediment experimental comença amb l'addició d'una solució de HAuCl_4 d'una concentració de 0,1 M, dins d'una dissolució de PVP(40K) amb una concentració de 2 g en un volum final de 10 mL de DMF. Finalment, s'afegeixen 20 μL de les nanopartícules d'or esfèriques en etanol.

Un cop es va preparar la solució, aquesta es va deixar reposar durant 24 hores. Durant aquest temps, les noves nanopartícules d'or van començar a formar-se sobre la superfície de les esferes de la Mostra. Aquestes esferes van actuar com a llavors, permetent el creixement controlat de les nanopartícules en forma d'estrella. Aquest procés va garantir que les nanopartícules d'or es formessin de manera homogènia, adquirint la forma d'estrella desitjada gràcies a la presència de les llavors inicials. Com a resultat, es va obtenir un producte final amb nanopartícules d'or en forma d'estrella, desenvolupades sobre les esferes originals de la Mostra.

Al **gràfic 5** podem observar l'espectre UV-Vis de la Mostra d'AuNS (seeds in EtOH). La primera propietat característica d'aquestes nanopartícules que podem destacar és la posició del seu plasmó, que es troba a 825 nm aproximadament. Aquesta localització del plasmó segueix sent més desplaçada cap a valors superiors que 675 nm, corresponent a les estrelles de cinc puntes. Aquesta variació que observem en totes les mostres de nanoestrelles indica que les estrelles que sintetitzem poden tenir una distribució de la mida de les puntes més gran i variada.

Segons la referència de l'estudi recent, la variació en la mida i distribució de les puntes pot desplaçar la posició del plasmó a longituds d'ona més llargues, reflectint dimensions més grans de les nanoestructures. Aquesta hipòtesi es

basa en les diferències en les posicions dels pics plasmònics en els espectres UV-Vis, que es desvien de les longituds d'ona esperades per a les nanoestrelles amb puntes menys definides. A més, no es pot descartar la possibilitat que aquestes nanoestrelles també variïn en la seva mida global.

Aquestes diferències en la geometria i la mida poden influir significativament en les seves propietats òptiques i en la seva funcionalitat potencial en aplicacions específiques. Per tant, caldria realitzar anàlisis més detallades per confirmar aquestes observacions.

En comparació amb les nanoestrelles sintetitzades a partir de les nanopartícules d'or esfèriques de la Mostra 3, observem que els seus plasmons són comparables. El plasmó de la Mostra 3 es troba a 850 nm, que està lleugerament desplaçat en relació amb el plasmó de la Mostra d'AuNS (seeds in EtOH).

En canvi, en el cas de les nanoestrelles sintetitzades a partir de la Mostra 4 de nanopartícules d'or esfèriques, amb un plasmó localitzat a 930 nm, és evident que aquestes nanoestrelles són probablement de mida més petita i presenten menys "hot spots". Això implica que hi ha menys pinxos on es concentren els electrons, els quals, mitjançant les transicions, generen la senyal en l'espectroscòpia UV-Vis.

La intensitat del pic màxim observat en l'espectre UV-Vis està directament relacionada amb la concentració de les nanoestrelles d'or presents a la Mostra . Aquesta relació es basa en el principi que l'absorbància d'una solució és proporcional a la concentració de les espècies que absorbeixen la llum, en aquest cas, les nanoestrelles d'or. Com es va descriure anteriorment a la secció Part experimental, l'anàlisi de l'espectre UV-Vis va permetre determinar que la concentració de les nanoestrelles d'or era de $231,33 \times 10^{-6}$ M.

2. Caracterització mitjançant microscòpia electrònica

Nanopartícules d'or esfèriques

Amb l'espectroscòpia UV-Vis hem efectuat la primera caracterització qualitativa de les nanopartícules d'or esfèriques. Amb aquesta tècnica hem recopilat les propietats òptiques del material en qüestió, i hem pogut fer la primera estimació de la mida de les AuNPs.

Analitzem la morfologia i la mida més precisa d'aquests nanomaterials, utilitzant el microscopi electrònic de transmissió (TEM).

A continuació es presenta, a la **Figura 5**, la imatge de les nanopartícules d'or esfèriques sintetitzades de la Mostra 2.

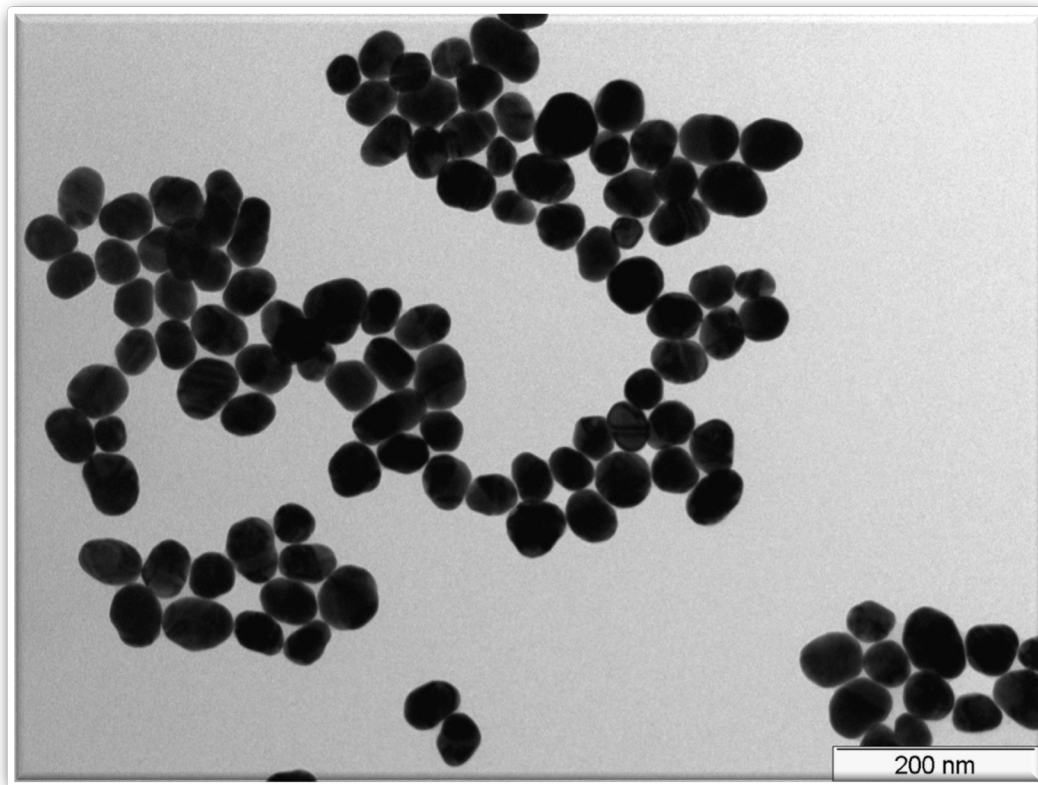
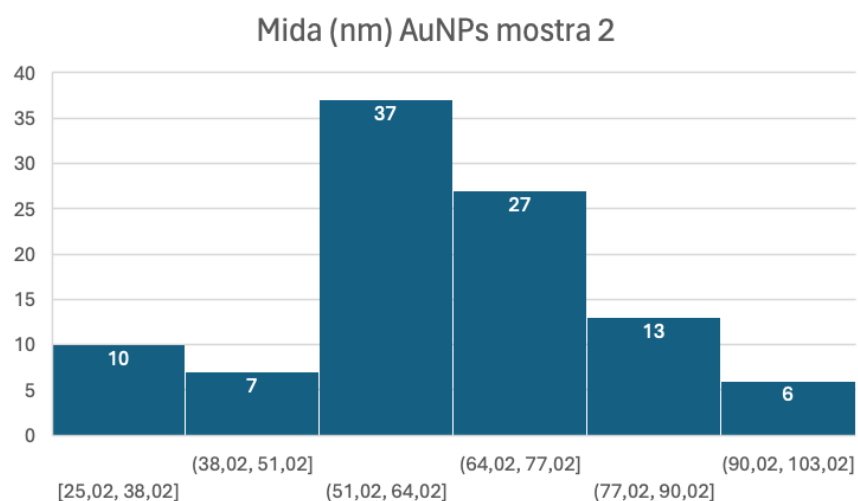


Figura 5. Nanopartícules d'or de la Mostra 2 al TEM

En primer lloc, s'ha analitzat la morfologia precisa de les nanopartícules d'or sintetitzades. L'objectiu de la síntesi era obtenir nanopartícules amb una geometria esfèrica. Mitjançant l'ús del microscopi electrònic de transmissió, s'ha pogut observar que les nanopartícules presenten una morfologia aproximadament esfèrica, amb algunes variacions ovalades.

A continuació, s'ha procedit a l'anàlisi de la mida de les nanopartícules d'or sintetitzades. Utilitzant el programa *Cmeias*, s'ha mesurat la mida de 100 nanopartícules per tal d'estimar la mida mitjana i la desviació estàndard. Els resultats indiquen que la mida mitjana de les nanopartícules és de 64 nm, amb una desviació estàndard de ± 17 nm.

En el **gràfic 6** es presenta un histograma que il·lustra la distribució de les mides de les 100 nanopartícules mesurades. Aquest gràfic permet visualitzar com es distribueixen les nanopartícules en funció de la seva mida.



Gràfic 6. Distribució de les AuNPs segons la seva mida

L'anàlisi detallada de les nanopartícules d'or sintetitzades ha proporcionat resultats significatius tant en termes de mida com de morfologia. La caracterització mitjançant el microscopi electrònic de transmissió ha revelat que les nanopartícules presenten una morfologia predominantment esfèrica, amb algunes variacions lleugerament ovalades. Aquest resultat és coherent amb l'objectiu de la síntesi, que pretenia obtenir nanopartícules amb geometria esfèrica.

Tot i que s'ha aconseguit obtenir nanopartícules d'una mida mitjana de 64 nm, cal destacar que l'objectiu inicial era sintetitzar nanopartícules de 40 nm. La desviació respecte a la mida desitjada pot ser deguda a diverses causes, com ara les condicions de síntesi no totalment controlades, per exemple la temperatura de escalfament durant tot el procés, o la naturalesa inherent del procés de formació de nanopartícules. Aquesta desviació posa de manifest la necessitat d'optimitzar encara més els paràmetres del procés de síntesi per aconseguir nanopartícules amb la mida exacta desitjada.

A més, la desviació estàndard relativament alta indica que hi ha una certa variabilitat en la mida de les nanopartícules, la qual cosa reforça la necessitat d'ajustar les condicions de síntesi per obtenir una major uniformitat. Tot i això, si analitzem la distribució de la mida de les AuNPs sintetitzades de les 100 mesurades, podem destacar com a punt positiu que moltes d'elles es troben dins d'un rang de mides estret, indicant una certa homogeneïtat en el producte final. Això suggereix que, malgrat la variabilitat general, la síntesi aconsegueix produir una proporció significativa de nanopartícules amb mides similars.

En resum, els resultats obtinguts mostren que s'ha aconseguit una síntesi de nanopartícules d'or amb una morfologia propera a l'esfèrica i una mida mitjana consistent, tot i que amb una certa dispersió en les dimensions. Malgrat que les nanopartícules d'or obtingudes presenten una mida més gran del que es pretenia

inicialment, aquest fet no interfereix en els futurs estudis, perquè al presentar una superfície lleugerament major no afectarà significativament a la senyal SERS.

Nanopartícules d'or amb pinxos crescuts sobre el substrat

Com s'ha comentat anteriorment a l'apartat *Part experimental*, s'ha procurat induir el creixement dels pinxos sobre les nanopartícules d'or esfèriques de la Mostra 3 sobre el substrat col·locat horitzontalment.

L'objectiu d'aquest experiment era veure si millorava la senyal SERS a Raman a l'hora de determinar el Tiram en etanol o en aigua. Els nanomaterials, com bé s'ha explicat anteriorment presenten propietats LSPR, que bàsicament amplifiquen la senyal emesa al incidir amb un feix radiatiu sobre la Mostra. Aquests llocs que es coneixen com a "hot spots" són els responsables de la millora de la senyal emesa, i es localitzen als electrons de superfície del material. Els pinxos són un altre tipus de "hot spots". Els electrons amb les propietats LSPR es concentren als pinxos i teòricament milloren encara més la senyal emesa que les nanopartícules de la geometria esfèrica. Aquí es presenta un inconvenient, quan els pinxos es toquen entre sí es desactiven, i així es perd la intensificació de LSPR. Per aquest motiu s'ha fet una investigació experimental en aquest treball de intentar créixer les estrelles, utilitzant les llavors d'AuNPs en pla, es a dir sobre un substrat, que va ser un tros de portaobjectes.

A la **Figura 6** observem tres mostres d'AuNPs (Mostra 3) amb distinta concentració la sal d'or i la concentració de PVP 2 g en 10 mL de DMF, medi en el qual es creixen els pinxos.

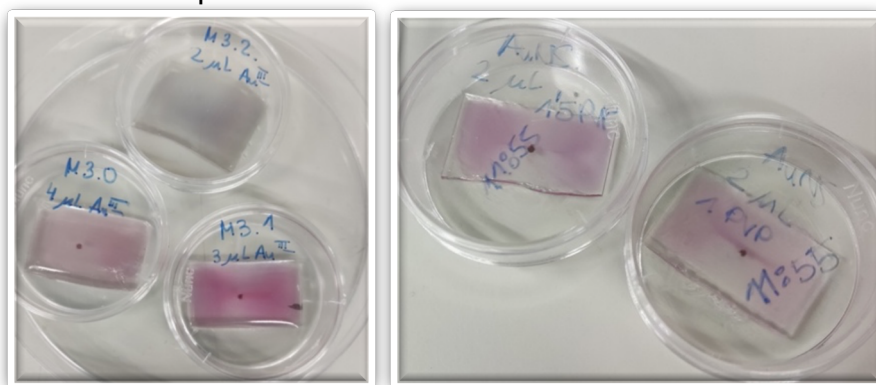


Figura 6. Diverses mostres de "estrelles" amb variació de concentració de PVP i la quantitat de HAuCl₄ 0,1M

Tal i com hem vist anteriorment, la coloració de la dissolució es relaciona amb la geometria de les nanopartícules, el qual es justifica a través de la posició del seu plasmó a l'espectroscòpia UV-Vis. En aquest cas observem una Mostra amb coloració gris-blau fosc, corresponent a la concentració de PVP de 2 g en 10 mL de DMF i 2 µL de HAuCl₄ 0,1 M, i les altres quatre de coloració violeta-rosa que corresponen a diverses concentracions de PVP i la quantitat de HAuCl₄. Mitjançant la coloració de les mostres podem fer el primer anàlisi qualitatiu de

la geometria de les nanopartícules. La coloració blau indica geometria estrellada de les nanopartícules d'or, mentre que la coloració violeta indica partícules esfèriques. Variem les concentracions de PVP de 1, 1,5, 2, 3 i 4 g totes en 10 mL de DMF, i la quantitat de la sal d'or de 4, 3 i 2 μ L. L'única Mostra, quina dissolució presenta la coloració blau típica de les nanopartícules estrellades es la que conté la concentració de PVP de 2 g en 10 mL de DMF i 2 μ L de HAuCl_4 0,1 M.

Analitzem totes les mostres al microscopi electrònic FESEM, per determinar amb més precisió la geometria d'aquestes nanopartícules d'or. A continuació es presenten les imatges del FESEM de cada Mostra, a les figures 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13 i 14.

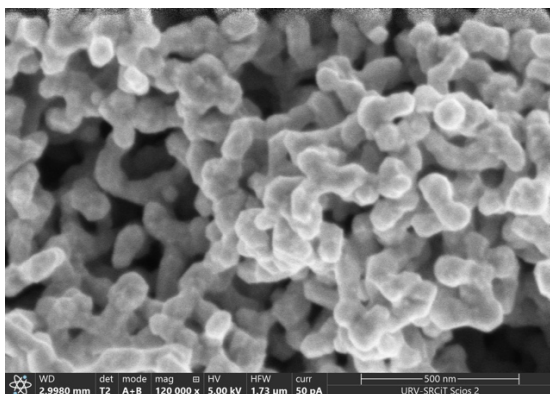


Figura 7. AuNPs concentració de PVP 1 g i 2 μ L de HAuCl_4 0,1 M al FESEM

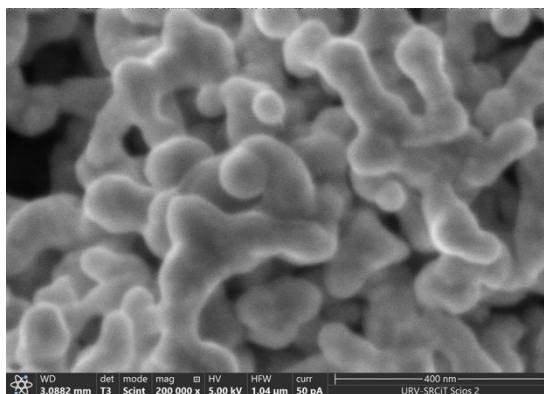


Figura 8. AuNPs concentració de PVP 1,5 g i 2 μ L de HAuCl_4 0,1 M al FESEM

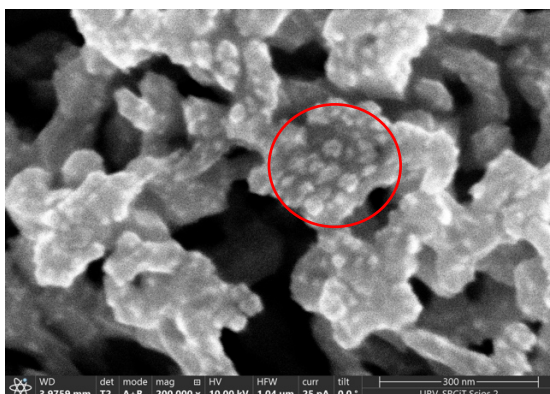


Figura 9. AuNPs concentració de PVP 2 g i 2 μ L de HAuCl_4 0,1 M al FESEM

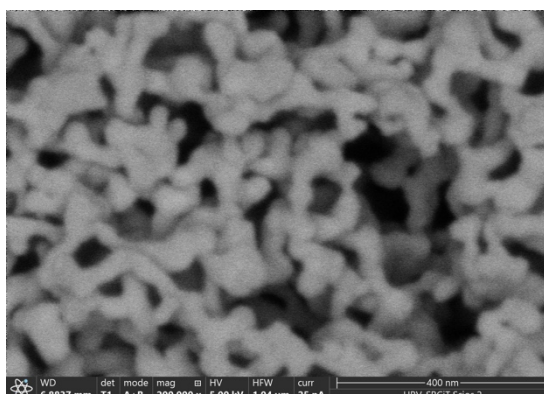


Figura 10. AuNPs concentració de PVP 3 g i 2 μ L de HAuCl_4 0,1 M al FESEM

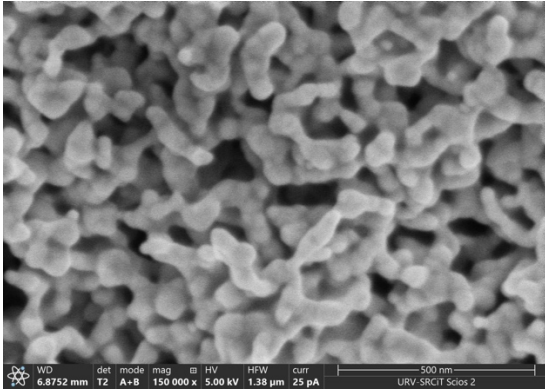


Figura 11. AuNPs concentració de PVP 4 g i 2 μ L de HAuCl₄ 0,1 M al FESEM

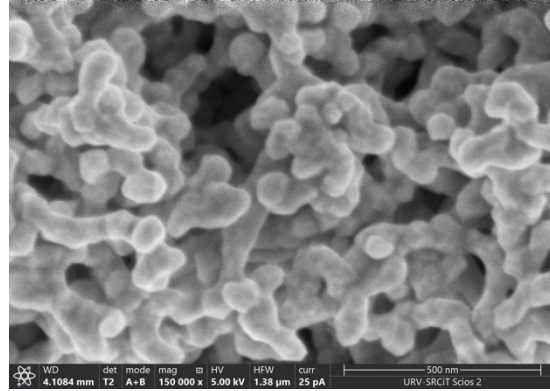


Figura 12. AuNPs concentració de PVP 2 g i 3 μ L de HAuCl₄ 0,1 M al FESEM

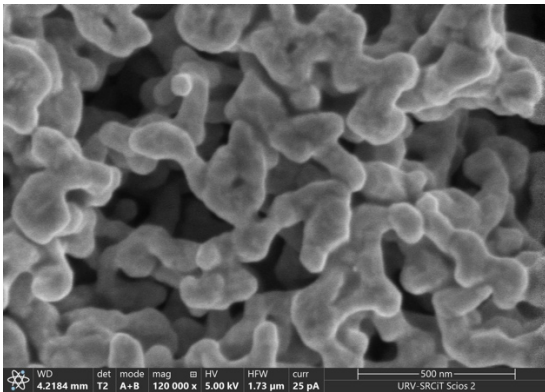


Figura 13. AuNPs concentració de PVP 2 g i 4 μ L de HAuCl₄ 0,1 M al FESEM

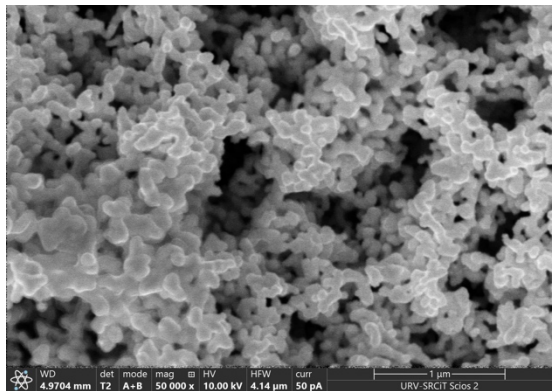


Figura 14. AuNPs concentració de PVP 2 g i 5 μ L de HAuCl₄ 0,1 M al FESEM

En primer lloc, veiem que no hem aconseguit fer créixer les nanopartícules amb la geometria estrella. Amb totes les variacions en les condicions experimentals, la morfologia de les nanopartícules d'or que obtenim es semblant a "rods" (vareta). Només en una Mostra, corresponent a les condicions experimentals de PVP de la concentració de 2 g en 10 mL de DMF i 2 μ L de HAuCl₄ 0,1 M, veiem alguns pinxos, que es veuen com a rugositats a la superfície dels rods.

En segon lloc, a través de les imatges obtingudes amb el microscopi electrònic FESEM, es pot observar que les esferes de nanopartícules d'or tendeixen a agregar-se, formant estructures lineals. Aquest fenomen possiblement contribueix a la formació de "rods" amb pinxos en lloc de les esperades estructures d'estrelles.

Per comprovar aquesta hipòtesis observem a la **Figura 15** les llavors d'AuNPs de la Mostra 3 a partir dels quals hem intentat créixer les estrelles.

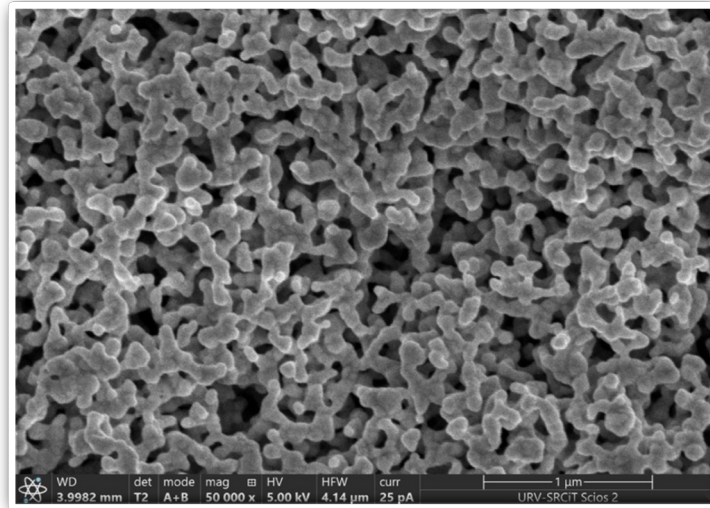


Figura 15. AuNPs de la Mostra 3 al FESEM

Efectivament, es pot observar que les nanopartícules d'or de la Mostra 3, que actuaven com a llavors per al creixement dels pinxos, ja es trobaven en una forma agregada. Aquest comportament podria ser atribuït al fet que el concentrat amb les AuNPs esfèriques havia estat emmagatzemat durant un període de temps, i aquest tipus de material, en la seva forma concentrada, és inherentment inestable. Com a resultat, les nanopartícules esfèriques que haurien d'estar separades i distribuïdes de manera homogènia es presenten en la seva forma agregada.

Finalment, la **Figura 16** es presenten les nanoestrelles sintetitzades en dissolució a partir de les llavors de la Mostra 3 d'AuNPs, analitzades mitjançant el FESEM. Aquesta visualització permet observar com haurien sigut les nanoestrelles si les partícules inicials no haguessin estat agregades, proporcionant una comparació clara del resultat esperat sense agregació de les partícules.

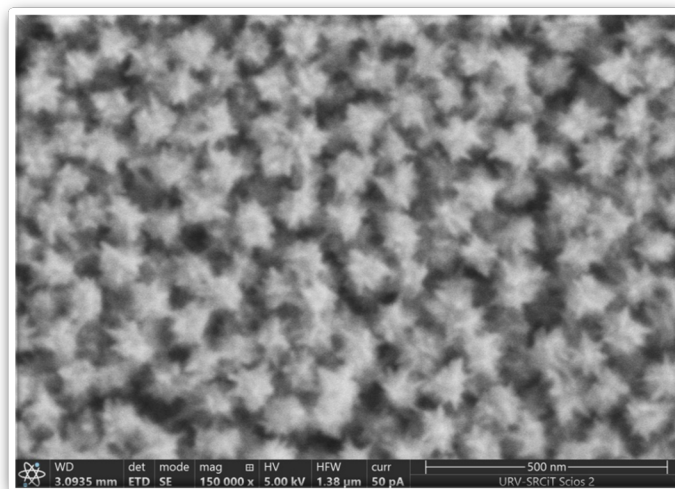


Figura 16. Nanoestrelles de la Mostra 3 al FESEM

Nanoestrelles d'or en dissolució 1

Les nanoestrelles crescuts en dissolució de PVP, DMF i HAuCl_4 a partir de les llavors de AuNPs de la Mostra 3 es caracteritzen amb la microscòpia TEM. Es pipeteja diverses vegades la dissolució amb les estrelles a la reixa del TEM i s'analitzen al microscopi. A la **Figura 17** podem contemplar les nanoestrelles obtingudes.

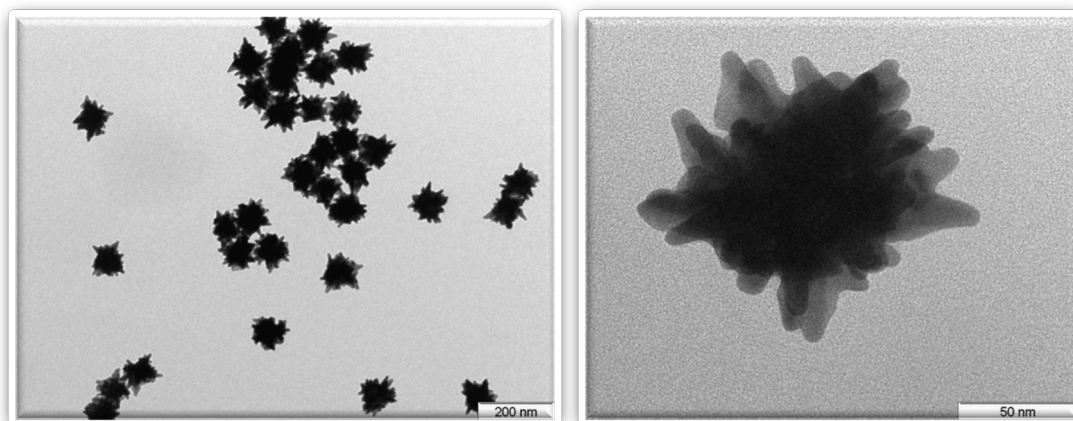


Figura 17. Nanoestrelles en dissolució caracteritzades amb el TEM

Observant la morfologia de les nanopartícules d'or, es pot apreciar clarament que hem aconseguit fer créixer els pinxos sobre les llavors d'AuNPs de la Mostra 3. Això ha resultat en la formació de les nanopartícules amb una geometria d'estrella ben definida. La distribució de les nanoestrelles en la solució és uniforme i homogènia, evitant la formació d'agregats. Cada nanopartícula es presenta com un nucli individual, amb els pinxos completament desenvolupats, la qual cosa confirma l'èxit del procés de síntesi.

Tenint en compte l'espectre obtingut a la tècnica d'espectroscòpia UV-Vis, podem establir una relació significativa entre els resultats obtinguts de les dues tècniques analítiques utilitzades. Recordem que, en l'espectroscòpia UV-Vis, el plasmó de les nanoestrelles d'or crescuts sobre les llavors de la Mostra 3 es localitzava aproximadament a 850 nm.

Com a referència, vam considerar un estudi en el qual es van sintetitzar nanoestrelles d'or amb cinc puntes, i aquestes es van caracteritzar utilitzant també l'espectroscòpia UV-Vis. En aquest cas, el plasmó es va localitzar a 675 nm. ²⁰Aquesta diferència en la posició del plasmó entre els dos estudis pot atribuir-se a diversos factors relacionats amb la morfologia de les nanoestrelles.

Tal com es va discutir en detall a les [pàgines 26-27](#), la posició del plasmó en les nanoestrelles d'or està influenciada per diversos aspectes de la seva geometria. Un dels factors clau és el nombre de pinxos presents en les nanopartícules. Un nombre major de pinxos pot provocar un desplaçament en la posició del plasmó

cap a longituds d'ona més llargues, degut a l'augment de les interaccions entre els pinxos i el camp electromagnètic incident.

A més del nombre de pinxos, la mida global de les nanoestrelles també té un paper crucial en relació a la posició del plasmó. Les nanopartícules més grans tendeixen a presentar desplaçaments del plasmó cap a longituds d'ona més grans, a causa de l'augment del volum de les partícules i les conseqüents modificacions en les seves propietats òptiques.

En resum, l'anàlisi detallada de l'estructura de les nanoestrelles a través de la microscòpia TEM ens permet establir una correlació directa amb el desplaçament del plasmó cap a 850 nm observat en l'espectroscòpia UV-Vis. Mitjançant la microscòpia TEM, hem pogut confirmar que les nostres nanoestrelles presenten un nombre superior a cinc puntes. Aquesta configuració implica un augment del nombre de "hot spots", que són zones de concentració electrònica elevada, les quals amplifiquen la senyal emesa quan aquestes interactuen amb el camp electromagnètic incident.

Aquest comportament observat ens permet confirmar la hipòtesi formulada prèviament durant la discussió de l'espectre UV-Vis d'aquesta Mostra .

Inicialment, vam suposar que les nanoestrelles podrien tenir més de cinc puntes basant-se en el desplaçament del plasmó i les característiques observades en l'espectre UV-Vis. Ara, gràcies a les imatges obtingudes amb la microscòpia TEM, podem verificar aquesta hipòtesi.

Així, podem concloure que les nostres nanoestrelles, efectivament, posseeixen més de cinc puntes, el que les dota de més "hot spots" i, en conseqüència, d'un desplaçament del plasmó cap a longituds d'ona més llargues.

Nanoestrelles d'or en dissolució 2

Les nanoestrelles d'or sintetitzades en dissolució utilitzant les llavors de la Mostra 4 no es van caracteritzar mitjançant cap tècnica microscòpica. Això es deu al fet que els resultats obtinguts a través de l'espectroscòpia UV-Vis per a aquestes nanoestrelles eren comparables amb els obtinguts per a les nanoestrelles de la Mostra 3. Tot i que els plasmons estaven lleugerament desplaçats en les dues mostres, es va considerar que per a futurs estudis no era necessari realitzar una caracterització microscòpica addicional per a les nanoestrelles de la Mostra 4.

Tal i com es va discutir a l'apartat *Espectroscopia UV-Vis*, la diferència que es pot extrapolar a través dels espectres de les nanoestrelles fetes amb les llavors de la Mostra 3 i 4 radica principalment en la seva mida, sent les últimes més grans que les primeres. Per aquest motiu es va decidir prescindir de la caracterització microscòpica de les nanoestrelles d'or crescuts amb les llavors de la Mostra 4.

Nanopartícules d'or amb la geometria estrella amb llavor en etanol

Les nanopartícules d'or sintetitzades a partir de les llavors d'AuNPs en etanol no es van caracteritzar amb cap tècnica microscòpica. La decisió de no realitzar aquesta caracterització es va basar en els reptes que van sorgir en el seu tractament durant els experiments posteriors. Em vaig enfrontar davant el problema d'aconseguir les gotes a sobre del portaobjectes, utilitzant el PDMS com a motlle. Aquest problema pot haver estat causat pel fet que les nanopartícules es trobaven redisperses en etanol a diferència amb totes les nanopartícules anteriors. A causa d'això, va ser impossible aconseguir una gota estable sobre el portaobjectes, ja que es trencava repetidament. En aquesta etapa de la investigació, es va optar per deixar de banda les nanopartícules d'or sintetitzades a partir d'AuNPs redispersats en etanol.

3. Espectroscòpia RAMAN

Nanopartícules d'or esfèriques

Tal com es va comentar a l'apartat *Procediment experimental*, la primera fase de la investigació per a la determinació de Tiram en etanol mitjançant espectroscòpia Raman consistia en establir el volum òptim de la gota de AuNPs. Es van realitzar proves amb gotes de 0,2, 0,5, 1, 3 i 5 μL . Es va seleccionar etanol com a dissolvent per aquesta etapa d'investigació a causa de la seva millor solubilitat comparada amb l'aigua.

Tiram presenta 3 bandes característiques al Raman, corresponents a les vibracions de diferents enllaços. A la **Figura 18** podem visualitzar l'estructura química de Tiram.

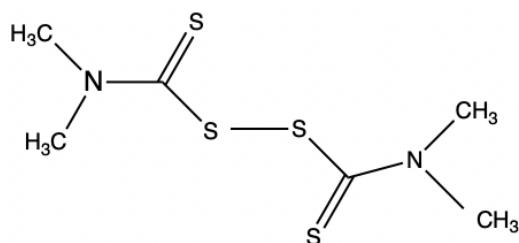
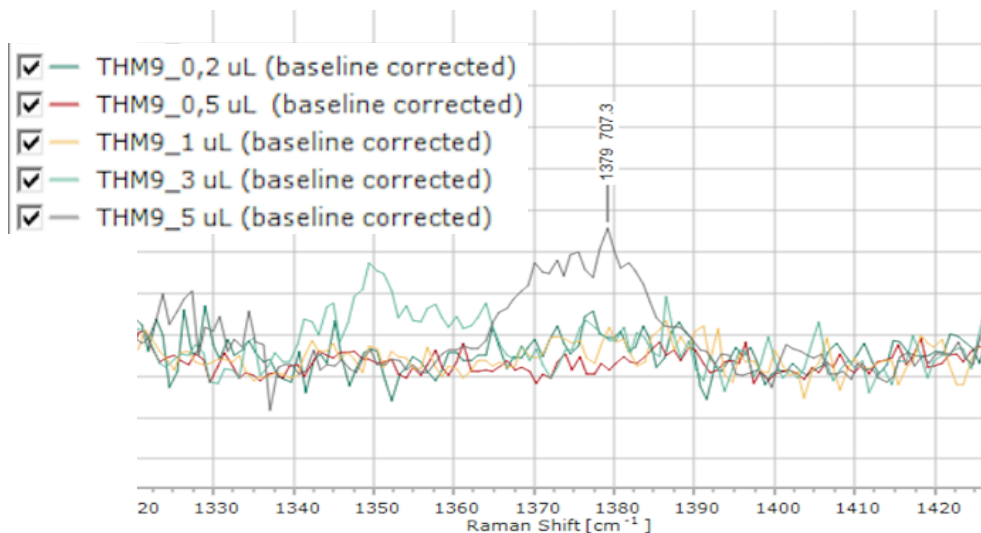


Figura 18. Estructura química de Tiram²²

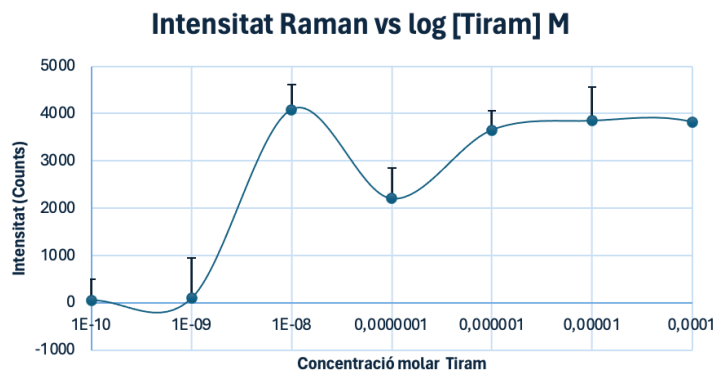
Banda aproximadament a 1380 cm^{-1} i $1145\text{ cm}^{-1} \Rightarrow$ *Stretching* de l'enllaç C-N.
Banda a $1511\text{ cm}^{-1} \Rightarrow$ *Rocking* de $-\text{CH}_3$.²²

Per determinar el volum de la gota òptim vam mesurar la senyal SERS a la concentració més baixa detectada de Tiram, 10^{-9} M . La banda màxima s'obté al costat de 1380 cm^{-1} . Observem a continuació, al **gràfic 7**, els espectres de cada gota amb la concentració de 10^{-9} M de Tiram centrats a la banda màxima.



Gràfic 7. Espectres Raman de les gotes 0,2, 0,5, 1, 3 i 5 µL d'AuNPs amb la concentració de Tiram 10^{-9} M

A partir dels espectres, es pot observar que la senyal SERS més intensa es produeix amb un volum de gota de 5 µL. Construïm el primer escombrat de concentracions de Tiram de 10^{-3} fins a 10^{-9} M amb la gota de 5 µL d'AuNPs. El **gràfic 8** Mostra la intensitat de la senyal Raman per a cada concentració de Tiram, acompanyada de la seva desviació estàndard. Per elaborar aquest gràfic, es van realitzar 7 mesures de cada Mostra, calculant-ne la mitjana i la desviació estàndard corresponent.



Gràfic 8. Escombrat de concentracions de Tiram amb AuNPs de la Mostra 2 amb volum de gota de 5 µL

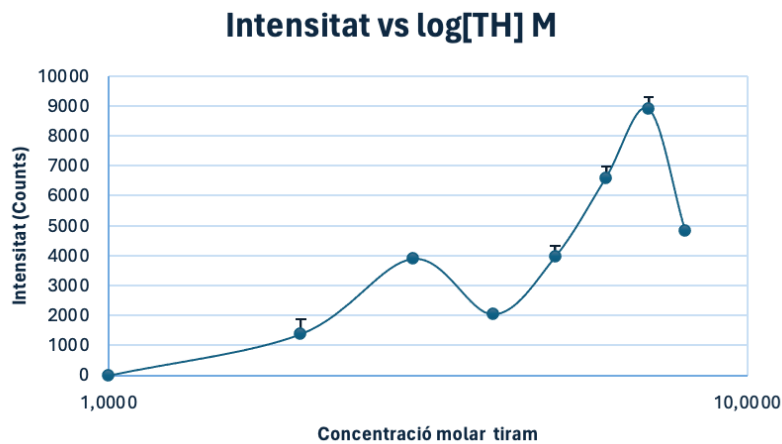
Un altre aspecte a tenir en compte és la superfície sobre la qual es diposita la gota. En aquesta fase de la investigació, vam triar utilitzar parafilm a causa de la seva facilitat i rapidesa de preparació. Després de cada mesura amb làser Raman, vam notar que la zona mesurada amb les nanopartícules es destruïa a causa del parafilm de fons.

Per aquestes raons, els següents experiments es van dur a terme utilitzant el mètode tradicional de preparació de gotes de nanopartícules d'or, pipetejant-les dins d'un motlle de PDMS adherit al portaobjectes, per tal de confinar les AuNPs.

Al realitzar el primer escombrat de concentracions de Tiram en etanol podem veure al **gràfic 8** que, per a la concentració de 10^{-8} M la senyal emesa augmenta significativament per sobre dels valors esperats. Per aquest motiu es repeteix l'escombrat de concentracions de Tiram en etanol però utilitzant nanopartícules de les altres síntesis, de la Mostra 3, 4 i 5, ja que els plasmons de cadascuna com vam veure anteriorment son comparables.

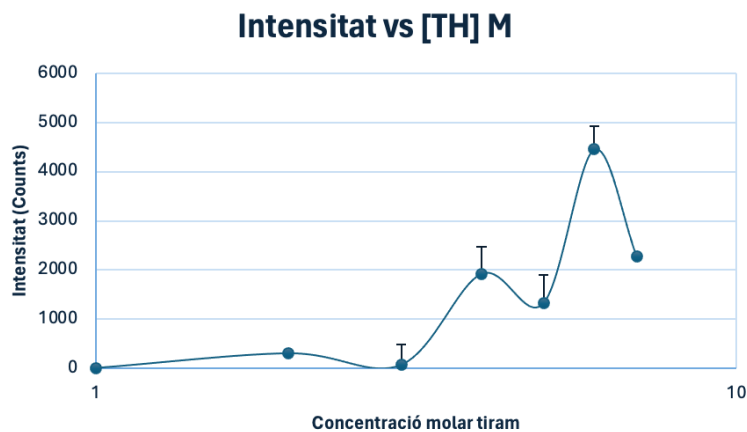
Per realitzar els escombrats restants es van tornar a preparar las dissolucions de Tiram de totes les concentracions, seguint la mateixa metodologia.

Al **gràfic 9** podem visualitzar la corba obtinguda per l'escombrat de concentracions de Tiram en etanol per les nanopartícules d'or esfèriques de la Mostra 3.



Gràfic 9. Escombrat de concentracions de Tiram amb AuNPs de la Mostra 3

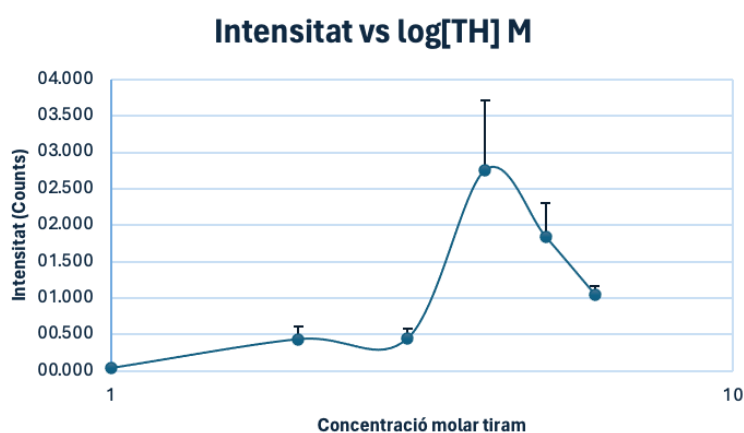
En aquest cas veiem que el punt corresponent a la concentració de Tiram de 10^{-8} M segueix sent superior a la tendència esperada. Tornem a repetir l'escombrat complet amb les nanopartícules d'or esfèriques de la Mostra 4. Al **gràfic 10** visualitzem la mitjana de les intensitats Raman vs la concentració molar de Tiram.



Gràfic 10. Escombrat de concentracions de Tiram amb AuNPs de la Mostra 4

Es poden identificar dos punts amb un comportament inesperat: la concentració de Tiram de 10^{-7} M i la de 10^{-5} M. Aquest fenomen podria ser causat pel fet que les nanopartícules d'or utilitzades per a aquests escombrats havien estat en estat concentrat durant un temps prolongat, cosa que afavoreix l'agregació dels nuclis de les partícules i altera la seva estructura inicial.

Es decideix tornar a sintetitzar les nanopartícules d'or, que s'anomenaran com a Mostra 5, i tornar a fer l'escombrat amb les nanopartícules recent sintetitzades. Al **gràfic 11** es Mostra la corba obtinguda amb la seva desviació estàndard de la Mostra 5 de nanopartícules d'or.



Gràfic 11. Escombrat de concentracions de Tiram amb AuNPs de la Mostra 5

Encara observem un punt amb valors superiors als esperats, en aquest cas corresponent a la concentració de Tiram de 10^{-5} M.

Un possible motiu pel qual s'observa un punt amb valors superiors als esperats per a la concentració de Tiram de 10^{-5} M podria ser degut a interaccions específiques entre el Tiram i les nanopartícules d'or. A certes concentracions, el Tiram pot tenir comportaments no lineals en la seva interacció amb les nanopartícules, induint canvis en l'estructura superficial o en la distribució espacial de les nanopartícules. Això crea "hot spots" on la intensitat de la senyal Raman es veu significativament amplificada, resultant en una senyal molt més elevada del que s'esperaria de manera teòrica.

Nanopartícules d'or amb la geometria de "rods"

Amb la finalitat de millorar la intensitat de la senyal SERS, vam decidir créixer l'or per damunt de la llavor amb unes condicions que haurien de donar com a resultat final pinxos, però ha resultat en una geometria anisotròpica allargada amb la superfície rugosa, semblant a "rods". Com es descriu a l'apartat de *Microscòpia Electrònica*, es va confirmar la morfologia allargada d'aquestes nanopartícules. Teòricament, la forma de "rods" té el potencial d'amplificar la

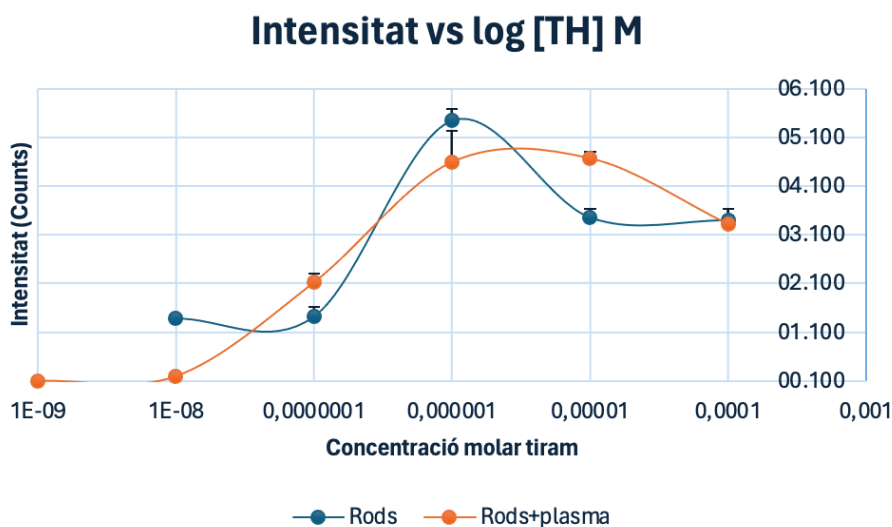
senyal SERS de manera més efectiva que les nanopartícules esfèriques, segons com s'orienti el Tiram en relació amb les nanopartícules d'or.

Per verificar aquesta hipòtesi, vam dur a terme un escombrat inicial de concentracions de Tiram, que va incloure un rang des de 10^{-3} fins a 10^{-9} M en etanol. L'objectiu d'aquest escombrat era avaluar l'eficàcia de la intensitat de la senyal SERS en resposta a diferents concentracions de Tiram. Aquest estudi pretenia determinar si les nanopartícules d'or en forma de "rods" oferien una millora en la detecció i quantificació del Tiram mitjançant espectroscòpia Raman, comparades amb les nanopartícules d'or esfèriques.

Posteriorment, vam realitzar un escombrat de concentracions de Tiram amb les nanopartícules en forma de "rods" després de sotmetre-les a un tractament de plasma. Aquest tractament neteja les nanopartícules d'or del PVP restant, que queda en el procés de síntesi i pot reduir la l'accessibilitat de les molècules de Tiram a la superfície metàl·lica.

El PVP, o polivinilpirrolidona, podria inhibir parcialment la interacció del Tiram amb les nanopartícules. En eliminar el PVP, es crea més espai i facilitat per a l'adsorció del Tiram a la superfície de les nanopartícules. Aquest augment en l'adsorció teòricament hauria de millorar la intensitat de la senyal SERS, proporcionant una detecció més eficaç del Tiram. Així, vam dur a terme un nou escombrat de concentracions de Tiram, cobrint el mateix rang des de 10^{-3} fins a 10^{-9} M en etanol, per avaluar si les nanopartícules d'or tractades amb plasma oferien una millora significativa en la intensitat de la senyal SERS en comparació amb les nanopartícules no tractades.

Al **gràfic 12** podem visualitzar les dues corbes construïdes a partir de les intensitats de cada escombrat amb les seves desviacions estàndard, amb AuNPs en forma de "rods" sense tractament de plasma i amb el tractament.



Gràfic 12. . Escombrat de concentracions de Tiram amb AuNPs "rods" amb plasma i sense

Els resultats dels escombrats de concentracions de Tiram amb les nanopartícules d'or en forma de "rods" no van mostrar diferències significatives. Quan es van realitzar les mesures sense el tractament de plasma, la corba resultant va mostrar un comportament inesperat, amb un punt, corresponent a la concentració de 10^{-6} M que es trobava significativament per sobre del que s'esperava.

En canvi, la corba obtinguda amb les nanopartícules tractades amb plasma va mostrar un comportament més lineal. Tot i que el tractament amb plasma no va augmentar significativament la senyal SERS de manera general, es van observar algunes concentracions específiques on la intensitat de la senyal sí que va augmentar. Aquest augment podria ser degut a una millor adsorció del Tiram a la superfície de les nanopartícules d'or, ja que el tractament amb plasma elimina el PVP restant, proporcionant més espai i facilitant una interacció més eficient entre el Tiram i les nanopartícules.

Com a conclusió, tot i que el tractament amb plasma pot oferir una millora en termes de linearitat de la corba i augment de la senyal SERS a certes concentracions, el treball i el temps requerits per a dur a terme aquest tractament no compensen els beneficis obtinguts en la intensitat de la senyal SERS. Per tant, es considera que el tractament amb plasma no és una solució pràctica per millorar la detecció del Tiram amb les nanopartícules d'or en forma de "rods".

Nanopartícules d'or amb la geometria d'estrella

Es van analitzar les senyals SERS amb nanopartícules d'or en forma d'estrella sintetitzades a partir de les mostres 3 i 4. L'experiment es va dur a terme utilitzant una concentració de Tiram en etanol de 10^{-4} M. Per a cada mostra, es van fer dues mesures: una amb nanopartícules sense tractament de plasma i una altra amb tractament de plasma. Els resultats d'aquestes mesures es poden veure a la **Taula 8**, que presenta les intensitats de la senyal Raman obtingudes. Aquests resultats permeten comparar l'efecte del tractament de plasma en la intensitat de la senyal SERS.

Mostra d'AuNS	Intensitat mitja	Desviació estàndard
AuNS(Mostra 3)	274,64	$\pm 86,36$
AuNS(Mostra 3) +plasma	386,72	$\pm 61,93$
AuNS(Mostra 4)	608,28	$\pm 70,96$
AuNS(Mostra 4)+plasma	476,38	$\pm 156,01$

Taula 8. Resposta SERS de les mostres d'AuNS de la Mostra 3 i 4 amb i sense el tractament de plasma

Els resultats de les mesures SERS amb nanopartícules d'or en forma d'estrella (AuNS) mostren variacions interessants entre les mostres tractades i no tractades amb plasma.

Per a la Mostra 3, la intensitat mitjana de la senyal SERS sense tractament de plasma és de 274,64 amb una desviació estàndard de $\pm 86,36$. Quan aquesta mateixa Mostra es tracta amb plasma, la intensitat mitjana augmenta a 386,72 amb una desviació estàndard de $\pm 61,93$. Aquest augment en la intensitat indica que el tractament amb plasma pot ajudar a netejar la superfície de les nanopartícules, eliminant el PVP residual i permetent una millor adsorció del Tiram, fet que millora la senyal SERS.

D'altra banda, la Mostra 4 presenta una intensitat mitjana de 608,28 amb una desviació estàndard de $\pm 70,96$ sense tractament de plasma. Curiosament, després del tractament de plasma, la intensitat mitjana disminueix a 476,38 amb una desviació estàndard de $\pm 156,01$. Aquesta disminució en la intensitat podria ser deguda a diversos factors, com la possible desestabilització o agregació de les nanopartícules durant el procés de tractament amb plasma, la qual cosa podria reduir la seva efectivitat en la detecció de Tiram.

En general, els resultats indiquen que el tractament amb plasma pot tenir un efecte positiu en algunes mostres, augmentant la intensitat de la senyal SERS. Tanmateix, també pot tenir efectes adversos, com es veu en la Mostra 4, on la intensitat disminueix i la variabilitat augmenta significativament. Això suggereix que el tractament amb plasma no sempre garanteix una millora consistent en la senyal SERS i que els seus efectes poden dependre de factors específics de cada Mostra. Per tant, cal considerar amb cura els beneficis i els inconvenients d'utilitzar el tractament de plasma en la preparació de nanopartícules per a experiments SERS.

Comparant aquests resultats amb altres mostres de nanopartícules, es pot concloure que les nanopartícules en forma d'estrella són menys efectives. Les nanopartícules "rods", per a la mateixa concentració de Tiram, mostren una intensitat mitjana de 3398 amb una desviació estàndard de $\pm 92,22$ sense tractament de plasma, i de 3319 amb una desviació de $\pm 316,56$ amb tractament de plasma. Aquestes intensitats són significativament superiors a les obtingudes amb les nanopartícules en forma d'estrella, tant amb tractament de plasma com sense.

A més, les nanopartícules esfèriques presenten intensitats mitjanes de 1046, 2266,56 i 8898,86, les quals, encara que són variades, indiquen que poden oferir senyals SERS molt més potents en comparació amb les nanopartícules en forma d'estrella.

Tot i que teòricament les nanopartícules en forma d'estrella haurien de generar intensitats superiors gràcies a les seves múltiples puntes que actuen com a "hot spots" per a la intensificació de la senyal SERS, en la pràctica, aquestes puntes sovint es toquen entre elles i es desactiven, provocant una senyal global més dèbil.

En resum, els agregats de nanopartícules en forma d'estrella proporcionen una senyal SERS inferior, i el temps i esforç addicional requerits per a la seva síntesi i tractament amb plasma no compensen els resultats obtinguts.

Determinació de Tiram en aigua

La determinació final de Tiram en aigua s'ha dut a terme utilitzant les nanopartícules d'or esfèriques de la Mostra 5, ja que, segons tots els resultats discutits, les nanopartícules amb aquesta geometria van proporcionar les millors senyals SERS. Aquesta elecció es va fer perquè la Mostra 5 era recentment sintetitzada i, teòricament, els nuclis de les nanopartícules no haurien d'estar agregats.

Tot i això, la determinació de Tiram en etanol, com es va observar anteriorment, va donar senyals inferiors en comparació amb altres mostres de nanopartícules d'or esfèriques. En anàlisis posteriors amb FESEM, es va descobrir que les nanopartícules de la Mostra 5 estaven agregades, tal i com es pot observar a la **Figura 19**.

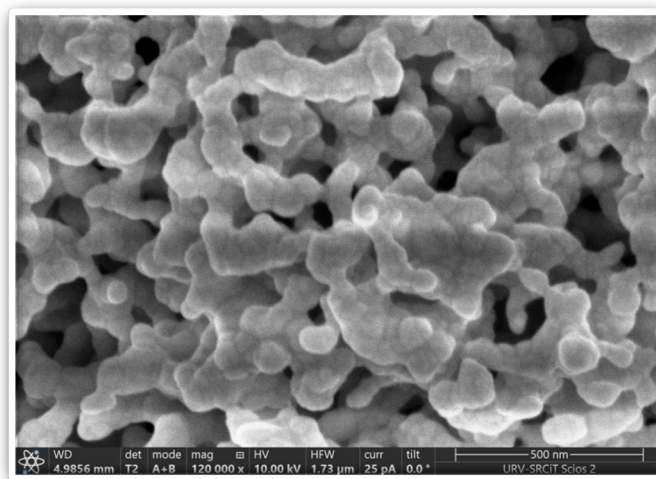
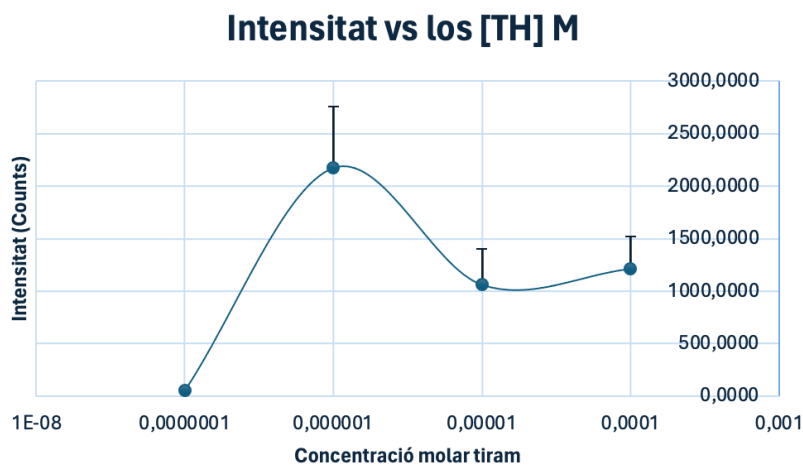


Figura 19. Les nanopartícules d'or esfèriques de la Mostra 5 al FESEM

Un possible motiu per a aquesta agregació podria ser una insuficient estabilització durant la síntesi. Això podria haver provocat una desactivació parcial dels agents estabilitzants, en el nostre cas el citrat, que normalment impedeixen que les nanopartícules s'agrupin.

Al **gràfic 13** observem la corba amb les intensitats mitjanes en resposta a l'espectroscòpia Raman del rang de concentracions de 10^{-4} M fins a 10^{-7} M amb les seves desviacions estàndard.



Gràfic 13. Resposta SERS en la determinació de Tiram en aigua amb AuNPs esfèriques de la Mostra 5

El límit de detecció de Tiram en aigua s'ha vist empitjorat per diversos motius. En primer lloc, la solubilitat de Tiram en aigua és menor que en etanol. Això redueix la quantitat de molècules de Tiram disponibles per a la interacció amb les nanopartícules d'or, afectant negativament la intensitat de la senyal SERS.

En segon lloc, l'estat agregat de les nanopartícules d'or ha contribuït a empitjorar el límit de detecció. Quan les nanopartícules es troben agregades, la seva capacitat per intensificar la senyal SERS es veu disminuïda, ja que els "hot spots" responsables de l'augment de la senyal es desactiven parcialment en tocar-se les partícules entre elles. Aquesta agregació redueix l'eficàcia del mètode de detecció, fent més difícil identificar baixes concentracions de Tiram en aigua.

Conclusió

In this thesis, a method has been established for the determination of thiram in water using gold nanoparticles. After several tests, it has been confirmed that gold nanoparticles with spherical geometry are the most promising in terms of sensitivity for the efficient detection of thiram in water.

However, due to the limited time of this work, the detection limit of thiram in water could not be fully defined. In the initial tests, concentrations of thiram as low as 10^{-9} M were detected, but in the last determination, only concentrations up to 10^{-7} M were detected. To address reproducibility issues, more tests with spherical gold nanoparticles are needed to establish a more precise detection limit.

Considering the time and difficulty of preparation, spherical gold nanoparticles present themselves as the best option compared to rod-shaped and star-shaped

nanoparticles. Spherical nanoparticles are not only more sensitive in the determination of thiram but are also easier to synthesize.

This work represents a contribution to the development of nanosensors for the detection of emerging contaminants, such as the fungicide thiram. Accurate detection of these contaminants is crucial for public health, as it allows for the identification and control of potentially harmful substances in drinking water. This study provides a foundation for future work and research aimed at improving water quality and protecting public health.

En aquest Treball de Fi de Grau, s'ha aconseguit establir un mètode per a la determinació del Tiram en aigua utilitzant nanopartícules d'or. Després de diverses proves, s'ha comprovat que les nanopartícules d'or amb la geometria esfèrica són les més prometedores en termes de sensibilitat per a la detecció eficient del Tiram en aigua.

Tot i això, a causa del temps reduït del treball, no s'ha pogut definir completament el límit de detecció del Tiram en aigua. En les proves inicials, s'ha aconseguit detectar concentracions de Tiram fins a 10^{-9} M, però en la darrera determinació només s'ha arribat a detectar fins a 10^{-7} M. Pel tema de la reproductivitat, caldria realitzar més proves amb les nanopartícules d'or de geometria esfèrica per establir un límit de detecció més precís.

Considerant el temps i la dificultat de preparació, les nanopartícules d'or esfèriques es presenten com la millor opció en comparació amb les nanopartícules en forma de "rods" i d'estrella. Les nanopartícules esfèriques no només són més sensibles en la determinació del Tiram, sinó que també són més fàcils de sintetitzar.

Aquest treball representa una aportació al desenvolupament de nanosensors per a la determinació de contaminants emergents, com el fungicida Tiram. La detecció precisa d'aquests contaminants és crucial per a la salut pública, ja que permet identificar i controlar substàncies potencialment nocives en l'aigua potable. Aquest estudi proporciona una base per a futurs treballs i investigacions que busquin millorar la qualitat de l'aigua i protegir la salut de les persones.

Bibliografia

- (1) Li, X.; Lin, X.; Lin, S.; Zhou, S.; Fang, G.; Zhao, H.; Wang, L.; Cong, S. From Dilute to Multiple Layers: Bottom-Up Self-Assembly of Rough Gold Nanorods as SERS Platform for Quantitative Detection of Thiram in Soil. *Adv Mater Interfaces* **2021**, *8* (12), 2100412. <https://doi.org/10.1002/ADMI.202100412>.
- (2) Cassella, A. R.; Cassella, R. J.; Garrigues, S.; Santelli, R. E.; De Campos, R. C.; De la Guardia, M. Flow Injection-FTIR Determination of

- Dithiocarbamate pesticides. *Analyst* **2000**, *125* (10), 1829–1833.
<https://doi.org/10.1039/B004504G>.
- (3) Hussain, A.; Sun, D. W.; Pu, H. Bimetallic Core Shelled Nanoparticles (Au@AgNPs) for Rapid Detection of Thiram and Dicyandiamide Contaminants in Liquid Milk Using SERS. *Food Chem* **2020**, *317*, 126429.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2020.126429>.
 - (4) Narenderan, S. T.; Meyyanathan, S. N.; Babu, B. Review of Pesticide Residue Analysis in Fruits and Vegetables. Pre-Treatment, Extraction and Detection Techniques. *Food Research International* **2020**, *133*, 109141.
<https://doi.org/10.1016/J.FOODRES.2020.109141>.
 - (5) Liu, K.; Li, Y.; Iqbal, M.; Tang, Z.; Zhang, H. Thiram Exposure in Environment: A Critical Review on Cytotoxicity. *Chemosphere* **2022**, *295*, 133928.
<https://doi.org/10.1016/J.CHEMOSPHERE.2022.133928>.
 - (6) *Tetramethylthiuram disulfide certified reference material, TraceCERT® | Sigma-Aldrich*.
<https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/product/sial/43966?context=product>
 (accessed 2024-05-03).
 - (7) Pavan M. V. Raja & Andrew R. Barron. 8.5: *Caracterización espectroscópica de nanopartículas - LibreTexts Español*.
[https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Anal%C3%ADtica/M%C3%A9todos_F%C3%ADsicos_en_Qu%C3%ADmica_y_Nano_Ciencia_\(Barron\)/08%3A_Estructura_en_la_Escala_Nano/8.05%3A_Caracterizaci%C3%B3n_espectrosc%C3%B3pica_de_nanopart%C3%ADculas](https://espanol.libretexts.org/Quimica/Qu%C3%ADmica_Anal%C3%ADtica/M%C3%A9todos_F%C3%ADsicos_en_Qu%C3%ADmica_y_Nano_Ciencia_(Barron)/08%3A_Estructura_en_la_Escala_Nano/8.05%3A_Caracterizaci%C3%B3n_espectrosc%C3%B3pica_de_nanopart%C3%ADculas) (accessed 2024-05-06).
 - (8) Rodrigo Ricardo. *Microscopía electrónica de transmisión: teoría y aplicaciones | Estudyando*. <https://estudyando.com/microscopia-electronica-de-transmision-teoria-y-aplicaciones/> (accessed 2024-05-07).
 - (9) Quester, K.; Avalos-Borja, M.; Vilchis-Nestor, A. R.; Camacho-López, M. A.; Castro-Longoria, E. SERS Properties of Different Sized and Shaped Gold Nanoparticles Biosynthesized under Different Environmental Conditions by *Neurospora Crassa* Extract. *PLoS One* **2013**, *8* (10), e77486.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0077486>.
 - (10) *N,N-Dimetilformamida anhydrous, 99.8% | Sigma-Aldrich*.
<https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/product/sial/227056> (accessed 2024-05-17).
 - (11) *Polyvinylpyrrolidone average mol wt 40,000 | 9003-39-8*.
<https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/product/sial/pvp40> (accessed 2024-05-17).
 - (12) *CITRATO DE TRISODIO DIHIDRATADO crystalline, EMPROVE® EXPERT, Ph. Eur., BP, JP, USP, ACS | Sigma-Aldrich*.
<https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/product/mm/137042> (accessed 2024-05-17).
 - (13) *Cloruro de oro(III) trihydrate ≥99.9% trace metals basis | Sigma-Aldrich*.
https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/product/aldrich/520918?utm_source=google&utm_medium=cpc&utm_campaign=20849242071&utm_content=158303414324&gclid=EAIaIQobChMIu5OvocOUhgMVT66DBx1hdg21EAAAYASAAEgK-S_D_BwE (accessed 2024-05-17).
 - (14) *Isopropanol 70% in H2O | Sigma-Aldrich*.
<https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/product/sigald/563935> (accessed 2024-05-22).

- (15) *Hidróxido de amonio solution ACS reagent, 28.0-30.0% NH3 basis* | Sigma-Aldrich. <https://www.sigmaaldrich.com/ES/es/product/sigald/221228> (accessed 2024-05-22).
- (16) Wuithschick, M.; Birnbaum, A.; Witte, S.; Sztucki, M.; Vainio, U.; Pinna, N.; Rademann, K.; Emmerling, F.; Kraehnert, R.; Polte, J. Turkevich in New Robes: Key Questions Answered for the Most Common Gold Nanoparticle Synthesis. *ACS Nano* **2015**, *9* (7), 7052–7071. https://doi.org/10.1021/ACSNANO.5B01579/SUPPL_FILE/NN5B01579_SI_001.PDF.
- (17) *Síntesis eficaz y controlada de nanopartículas de oro*. <https://www.hielscher.com/es/efficient-and-controlled-synthesis-of-gold-nanoparticles.htm> (accessed 2024-05-24).
- (18) Pazos-Perez, N.; Garcia De Abajo, F. J.; Fery, A.; Alvarez-Puebla, R. A. From Nano to Micro: Synthesis and Optical Properties of Homogeneous Spheroidal Gold Particles and Their Superlattices. *Langmuir* **2012**, *28* (24), 8909–8914. <https://doi.org/10.1021/la3002898>.
- (19) Pazos-Perez, N.; Garcia De Abajo, F. J.; Fery, A.; Alvarez-Puebla, R. A. From Nano to Micro: Synthesis and Optical Properties of Homogeneous Spheroidal Gold Particles and Their Superlattices. *Langmuir* **2012**, *28* (24), 8909–8914. <https://doi.org/10.1021/la3002898>.
- (20) Morla-Folch, J.; Guerrini, L.; Pazos-Perez, N.; Arenal, R.; Alvarez-Puebla, R. A. Synthesis and Optical Properties of Homogeneous Nanoshurikens. *ACS Photonics* **2014**, *1* (11), 1237–1244. <https://doi.org/10.1021/ph500348h>.
- (21) Becerril-Castro, I. B.; Calderon, I.; Pazos-Perez, N.; Guerrini, L.; Schulz, F.; Feliu, N.; Chakraborty, I.; Giannini, V.; Parak, W. J.; Alvarez-Puebla, R. A. Gold Nanostars: Synthesis, Optical and SERS Analytical Properties. *Analysis & Sensing* **2022**, *2* (3), e202200005. <https://doi.org/10.1002/ANSE.202200005>.
- (22) Quan, Y.; Yao, J.; Yang, S.; Chen, L.; Liu, Y.; Lang, J.; Zeng, H.; Yang, J.; Gao, M. Detect, Remove and Re-Use: Sensing and Degradation Pesticides via 3D Tilted ZMRs/Ag Arrays. *J Hazard Mater* **2020**, *391*, 122222. <https://doi.org/10.1016/J.JHAZMAT.2020.122222>.