



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño



**Síntesis de un nanocomposito conformado por
nanopartículas de oro embebidas en un hidrogel de Poli(N-
isopropilacrilamida-co-N-vinilpirrolidona), para la
detección de ácido perfluorooctanoico.**

**Tesis para cubrir parcialmente los requisitos necesarios
para obtener el grado de**

INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA

Presenta

Maria Angelica Ortiz Ortiz

Director

Dr. Franklin David Muñoz Muñoz

Programa de Ingeniería en Nanotecnología Facultad de Ingeniería,
Arquitectura y Diseño (FIAD)-UABC Ensenada, Baja California,
México

Codirector

Dr. José Manuel Romo Herrera

Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN) - Universidad
Nacional Autónoma de México (UNAM)

Ensenada, Baja California, agosto 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño

“Síntesis de un nanocomposito conformado por nanopartículas de oro embebidas en un hidrogel de poli(N-isopropilacrilamida-co-N-vinilpirrolidona) para la detección de ácido perfluorooctanoico”

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de

INGENIERA EN NANOTECNOLOGÍA

Presenta

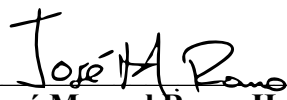
Maria Angelica Ortiz Ortiz

Aprobada por:



Dr. Franklin David Muñoz Muñoz

Director de Tesis



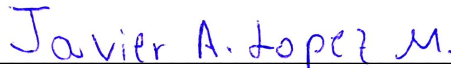
Dr. José Manuel Romo Herrera

Codirector de tesis



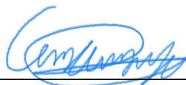
Dr. Gabriel Alonso Nuñez

Miembro del comité



Dr. Javier Alonso López Medina

Miembro del comité



Dr. Guillermo Amaya Parra

Miembro del comité

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

Dr. FRANKLIN DAVID MUÑOZ MUÑOZ

Dr. JOSE MANUEL ROMO HERRERA

MIEMBROS DEL COMITÉ JURADO DE TESIS:

Dr. GABRIEL ALONSO NUÑEZ

Dr. GUILLERMO AMAYA PARRA

Dr. JAVIER ALONSO LÓPEZ

Dedicado a:

A ese corazoncito que empezó a latir dentro de mí y hoy late por sí solo, pero al cual siempre acompañaré, a mi bebé, mi amor, Gabriel Alí.

A mis Padres, mis compañeros de vida, mi lugar seguro.

En memoria de mi abuelito Nico, mi más grande ejemplo del amor al trabajo y a las tazas de café, quien hoy está en cada anécdota, plática y risa que nos regaló.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Baja California (UABC) por ser un espacio de crecimiento y mejora constante para mí, por su apoyo en la realización de mi Tesis, y mi trayectoria educativa a nivel superior, a quien me vio ingresar con una mochila llena de sueños y salir con ella llena de herramientas y conocimiento con el deseo de servir y aportar a la sociedad.

Al Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN) por su contribución a mi formación académica y hacerme sentir sus instalaciones como propias en la realización de mi tesis.

Al Dr. Franklin Muñoz por ser guía y pilar en la realización de esta tesis, pero sobre todo por su calidad humana, empatía y apoyo, que sin duda es parte de lo más bonito que me llevo de esta experiencia y lo que verdaderamente recordaré al paso de los años. Gracias por su paciencia, su compromiso, por compartir su conocimiento y por motivarme a dar siempre lo mejor.

A mis padres, por quienes todo esto es posible. Gracias por brindarme la oportunidad de crecer, de no solo impulsarme a volar, sino sobre todo por permanecer cerquita por si los necesitaba. Gracias por creer en mí, en mis planes y en mis capacidades para lograrlos. Valoro cada esfuerzo y cada minuto de trabajo que realizaron para solventar mis gastos. Gracias a la vida por permitirme tenerlos como mi apoyo más grande.

A mi hijo Gabriel Alí, gracias por permitirme ser una mamá que aparte de serlo tiene la oportunidad de seguir trabajando en su crecimiento y en sus proyectos, en los cuales poder ofrecerte todo lo que te mereces y estar juntos, es la razón principal para lograrlos. Gracias por todas las veces que no pude estar cerquita de ti, pero, sin embargo, cuando volvía, me recibías con el mismo amor y anhelo, sin importar que físicamente no había estado presente. Gracias por ser mi hogar y el amor más puro que tengo.

A mi familia, mis hermanos y Pacheco por brindarme su apoyo y ser parte de este camino.

A mi amiga Abryl por ser mi compañera en este proceso, por todas las experiencias que logramos hacer durante la carrera y por su compañía, complicidad y apoyo.

A mis mejores amigos Fer, Kenia y Pablo, por seguir presentes en mi vida a pesar de la distancia y acompañarme en cada etapa.

Al Dr. Romo por su orientación y apoyo en este proyecto, y brindar su conocimiento e ideas, yendo siempre en la búsqueda de mejores resultados.

A Martín Ysidro Jáuregui, por su apoyo en la síntesis de las nanopartículas utilizadas en este proyecto, por brindarme amistad, aprendizaje y ser siempre una fuente de motivación.

A quienes conforman mi comité: Dr. Guillermo Amaya Parra, Dr. Javier Alonso López, y el Dr. Gabriel Alonso Nuñez, por su compromiso y apoyo en la realización y presentación de mi tesis.

A la Dr. Dra. Eunice Vargas por brindar su ayuda en la realización de los análisis XRD.

A la Dra. Jazmin Esqueda por su apoyo y aportación en los análisis SERS realizados en este trabajo.

A Francisco Ruíz por el análisis microscópico de los materiales y a Jesús Días por su asistencia técnica.

Índice general

1. RESUMEN	1
2. ABSTRACT	2
3. INTRODUCCIÓN	3
4. MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES	5
4.1. PFAS	5
4.1.1. Clasificación	5
4.1.2. Historia y origen	6
4.1.3. Efectos adversos en la salud	7
4.1.4. Regulaciones ambientales	8
4.1.5. Técnicas de detección de PFAS	9
4.2. PFOA	10
4.3. SERS (Surface Enhanced Raman Spectroscopy)	13
4.3.1. Historia y origen	13
4.3.2. Fundamentos teóricos	14
4.4. AuNPs	16
4.4.1. Síntesis de AuNPs por Método Turkevich	16
4.4.2. Aplicación de AuNPs como sustrato en SERS	16
4.5. Ácido 4-mercaptobenzoico	17
4.6. Polímeros	18
4.6.1. Polimerización por radicales libres	19
4.6.2. Homopolímeros y copolímeros	19
4.6.3. N-isopropilacrilamida	20
4.6.4. N-vinilpirrolidinona	21
4.7. Hidrogeles	22
4.7.1. Hinchamiento	23
4.8. Trabajos recientes sobre la detección de PFOA	24
5. JUSTIFICACIÓN	27
6. HIPÓTESIS	28
7. OBJETIVO	28

8. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	28
9. METODOLOGÍA.....	29
9.1. Materiales	29
9.2. Síntesis y funcionalización de nanopartículas de Au	29
9.3. Síntesis hidrogeles	31
9.3.1. Purificación del monómero NIPAAm	31
9.3.2. Síntesis de hidrogeles y nanocompositos.....	31
9.4. Estudios de hinchamiento	33
9.4.1. Determinación de LCST por hinchamiento	33
9.5. Caracterización de AuNPs, hidrogeles y nanocompositos	34
9.6. Carga de 4-MBA en los polímeros.....	35
9.7. Carga de PFOA en los polímeros	36
9.8. Curva de calibración del complejo CV-PFOA por espectroscopía UV-Vis	36
9.9. Medición en SERS	37
10. RESULTADOS	38
10.1. AuNPs	38
10.2. Síntesis de hidrogeles y nanocompositos	39
10.3. Estudios de hinchamiento de hidrogeles y nanocompositos	42
10.3.1. Hinchamiento a 25 °C	42
10.3.2. Determinación de la LCST	45
10.4. FTIR.....	49
10.5. XRD	53
10.6. Análisis de los materiales por espectroscopía XPS	54
10.7. Análisis térmico de los hidrogeles y nanocompositos	59
10.8. Absorción de 4-MBA y PFOA.....	62
10.8.1. Absorción de 4-MBA.....	62
10.8.2. Absorción de PFOA	63
10.9. Señal Raman y potencial efecto SERS.	65
10.9.1. Respuesta Raman y SERS de los polímeros y nanocompositos al 4-MBA.....	65
10.9.2. Evaluación de la respuesta Raman y SERS de los polímeros y nanocompositos con PFOA.....	71
11. CONCLUSIONES.....	73
12. REFERENCIAS	75

Índice de figuras

Figura 1. Clasificación de PFAS. Fuente: Imagen adaptada de: Moose 2020.....	6
Figura 2. Diagrama esquemático de (a) efecto LSPR (b) Interacción nanopartícula-molécula en efecto SERS. Fuente: Imagen adaptada de Ren et al., 2020.	15
Figura 3. Estructura química del ácido 4-mercaptobenzoico (4-MBA).	18
Figura 4. Estructuras químicas del monómero NIPAAm y del polímero lineal de PNIPAAm. Fuente: Albañil, 2019.....	21
Figura 5. Estructura química de la N-vinilpirrolidona y su homopolímero poli (vinilpirrolidona) o PVP. Fuente: Verduzco 2012).....	22
Figura 6. Representación esquemática de la síntesis de hidrogeles por polimerización por radicales libres y reacciones de entrecruzamiento. (Adaptada de Peppas y Hoffman, 2020).	23
Figura 7. Esquema del procedimiento experimental seguido para la síntesis de AuNPs.	30
Figura 8. Representación esquemática del proceso de preparación de la dispersión de AuNPs con $[Au^0] = 1.8 \text{ mM}$, a partir de la dispersión madre con $[Au^0] = 0.2 \text{ mM}$	31
Figura 9. Representación esquemática del proceso de absorción de 4-MBA en las muestras de hidrogel y nanocompositos seleccionadas.	35
Figura 10. Resultados de caracterización de AuNPs: espectros UV-vis de las AuNPs sintetizadas con y sin el uso de T20 como agente surfactante (a); Micrografías TEM de las AuNPs (b); e Histograma de la distribución de tamaños de AuNPs, estimados desde la micrografía TEM (c).	39
Figura 11. Correspondencia entre los colores e intensidad de tonos y la concentración de AuNPs usadas en la síntesis de los tres tipos de nanocompositos P(N-V)-Au propuestos en esta investigación. El subíndice indica la concentración relativa de AuNPs en el material: B = baja; M = media y A = alta.	42
Figura 12. Estudios de hinchamiento en función del tiempo, a 25°C , de los hidrogeles PN y P(N-V), y de los nanocompositos PN-AuM y P(N-V)-Au.	43

Figura 13. Evaluación del hinchamiento como función de la temperatura, iniciando a 5 °C y con cambios de temperatura cada 30 min, para los hidrogeles PN y P(N-V), y los nanocompositos PN-AuM y P(N-V)-Au.	46
Figura 14. Evaluación del hinchamiento como función de la temperatura, iniciando a 50 °C y con cambios de temperatura cada 3 h, para los hidrogeles PN y P(N-V), y los nanocompositos PN-AuM y P(N-V)-Au.	47
Figura 15. Espectros FTIR de los monómeros utilizados en la síntesis de los diferentes hidrogeles y nanocompositos: NIPAAm (N) y N-vinilpirrolidona (V).	50
Figura 16. Espectros FTIR de las muestras del hidrogel PN, el nanocomposito PN-AuM y el copolímero P(N-V).	51
Figura 17. Espectros FTIR de los materiales P(N-V) en sus tres diferentes concentraciones de AuNPs y en ausencia de ellas.	52
Figura 18. Patrones XRD de los hidrogeles PN y P(N-V), y de los nanocompositos P(N-V) a diferentes concentraciones de AuNPs: baja, media y alta.	54
Figura 19. Espectro XPS de baja resolución para los hidrogeles y nanocompositos sintetizados en esta investigación.	55
Figura 20. Espectros de XPS de alta resolución para las señales de carbono (a), oxígeno (b), nitrógeno (c) y la exploración sobre el intervalo de Au (d) en los materiales sintetizados para esta investigación.	56
Figura 21. Termogramas de TGA para los materiales sintetizados en nuestra investigación (a), y su vista ampliada en el intervalo de 250-450 °C (b).	60
Figura 22. Termogramas de la derivada del TGA (DTG) para los materiales sintetizados en nuestra investigación (a), y su vista ampliada en el intervalo de 275-430 °C (b).	60
Figura 23. Figura 21. Curva de calibración de la absorbancia de CV a diferentes concentraciones.	64
Figura 24. Curva de calibración de la absorbancia de CV a una concentración fija de 7×10^{-6} M, en función de su interacción con diferentes concentraciones de PFOA.	65
Figura 25. Espectros Raman de las muestras analizadas en el primer experimento.	66
Figura 26. Espectros Raman de 4-MBA en polvo (espectro amarillo) y de las restas realizadas entre los espectros.	67

Figura 27. Espectros Raman de las muestras analizadas en el segundo experimento.	70
Figura 28. Espectros Raman de 4-MBA en polvo (espectro amarillo) y de la resta de la señal obtenida del nanocomposito P(N-V)-AuA-4-MBA0.1 menos P(N-V)-AuA (espectro rosa)...	70
Figura 29. Espectros Raman obtenidos de los nanocompositos cargados con la molécula PFOA y el espectro de el PFOA analizado en estado sólido.	72

Índice de tablas

Tabla 1. Resumen de propiedades físicas de PFOA	12
Tabla 2. Relaciones molares de NIPAAm/NVP y volumen usado de dispersión de AuNP con $[Au0] = 1.8mM$ para preparar un volumen total de mezcla de reacción de 15 mL	32
Tabla 3. Hinchamiento límite de los hidrogeles y nanocompositos sintetizados en este trabajo.	44
Tabla 4. Resultados de la LCST y S_T determinados desde los estudios de hinchamiento como función de la temperatura, para los hidrogeles y nanocompositos sintetizados en este trabajo.	48
Tabla 5. Registro de transiciones térmicas y cantidad de residuos generados en las determinaciones de TGA de las diferentes muestras sintetizadas en este trabajo.	61
Tabla 7. Hidrogel y Nanocomposito sometidos a absorción de 4-MBA a 10 mM y las señales esperadas en el espectro Raman.....	69
Tabla 8. Hidrogel y Nanocomposito sometidos a absorción de solución 4-MBA a 0.1 mM y el tipo de espectro esperado al analizarlos en el equipo Raman.....	71

1. RESUMEN

En este trabajo de investigación se sintetizó un hidrogel termosensible y eléctricamente neutro como estrategia para embeber nanopartículas plasmónicas, formando así un nanocomposito con la capacidad de absorber un contaminante y potencialmente generar una respuesta medible que permita determinar su presencia en muestras de agua. Para la síntesis del hidrogel se usó como monómero principal a la N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y como monómero modificador a la N-Vinil-2-pirrolidona (NVP). Como agente entrecruzante se usó N,N'-metilenbisacrilamida (MBAAm) y como iniciador de la polimerización se usó persulfato de amonio (APS). Esta matriz polimérica, conformada por redes del copolímero poli(NIPAAm-co-NVP), fue sintetizada en la presencia de una dispersión de nanopartículas de oro (AuNPs), para formar así tres tipos de nanocompositos, en dependencia de la concentración de AuNPs presentes en el medio de reacción. Las AuNPs fueron sintetizadas previamente a través del método de Turkevich. Para la estabilización de la dispersión de AuNPs se utilizó el agente surfactante Tween-20. Estas nanoestructuras fueron caracterizadas por microscopía electrónica de transmisión (TEM) y espectroscopía UV-vis, arrojando como resultados un tamaño de partícula de ~13 nm y una absorbancia máxima a 522 nm debida a sus propiedades de resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR), respectivamente.

Para efectos comparativos, se sintetizó también un hidrogel y un nanocomposito usando NIPAAm como único monómero. En general, los estudios de hinchamiento fueron evaluados tanto para los hidrogeles de PNIPAAm y del copolímero poli(NIPAAm-co-NVP), así como sus respectivos nanocompositos, encontrándose como resultado una temperatura crítica de disolución inferior (LCST, por sus siglas en inglés) entre 32-37 °C. En este estudio se demostró que la incorporación de NVP aumenta tanto la capacidad de hinchamiento como el valor de la LCST en el polímero. En adición, todos los materiales fueron caracterizados por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS), difracción de rayos X (XRD) y análisis termogravimétrico (TGA). Comparados con la matriz polimérica sintetizada exclusivamente con PNIPAAm, los resultados obtenidos con estas técnicas corroboraron que la inclusión de NVP y AuNPs afectan la composición química, las propiedades cristalinas y térmicas de la matriz polimérica.

Finalmente, se evaluó la absorción de Ácido 4-mercaptobenzoico (4-MBA) y de ácido perfluorooctanóico (PFOA) sobre uno de los materiales sintetizados y se determinó la respuesta de todo el sistema ante la Espectroscopía de Dispersión Raman Mejorada en la Superficie (SERS). Se encontró finalmente que la matriz polimérica poli(NIPAAm-co-NVP) con AuNPs tiene potencial efecto SERS para la identificación de 4-MBA y PFOA, ya que en los espectros obtenidos se observaron modos vibracionales de enlaces característicos de estos compuestos.

Palabras clave: Nanocompositos termosensibles; Hidrogeles termosensibles; Contaminantes perfluoroalquilados; Detección de PFOA.

2. ABSTRACT

In this research work, a thermosensitive and electrically neutral hydrogel was synthesized as a strategy to embed plasmonic nanoparticles, thus forming a nanocomposite with the ability to absorb a contaminant and potentially generate a measurable response to determine its presence in body-water. The main monomer used for hydrogel synthesis was N-isopropylacrylamide (NIPAAm), and N-Vinyl-2-pyrrolidone (NVP) was used as a modifying monomer. N,N'-methylenebisacrylamide (MBAAm) was used as a crosslinking agent, and ammonium persulfate was used as the polymerization initiator. This polymeric matrix, consisting of networks of the copolymer poly(NIPAAm-co-NVP), was synthesized in the presence of a dispersion of gold nanoparticles (AuNPs) to form three types of nanocomposites, depending on the concentration of AuNPs in the reaction medium. The AuNPs were previously synthesized using the Turkevich method were previously synthesized, and Tween-20 surfactant was used to stabilize the AuNPs dispersion. These nanostructures were characterized by transmission electron microscopy (TEM) and UV-visible spectroscopy, revealing particle sizes of approximately 13 nm and a maximum absorbance at 522 nm due to their localized surface plasmon resonance (LSPR) properties, respectively.

For comparative purposes, a hydrogel and a nanocomposite were also synthesized using NIPAAm as the sole monomer. In general, swelling studies were conducted for both PNIPAAm and poly(NIPAAm-co-NVP) copolymer, as well as their respective nanocomposites, revealing a lower critical solution temperature (LCST) between 32-37 °C. This study demonstrated that the inclusion of VP increases both the swelling capacity and the LCST value of the polymer. Additionally, all materials were characterized using Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), X-ray diffraction (XRD), and thermogravimetric analysis (TGA). Compared to the polymer matrix synthesized exclusively with PNIPAAm, the results obtained from these techniques corroborated that the NVP and AuNPs inclusion affect the chemical composition, crystalline properties, and thermal behavior for the polymer matrix.

Finally, the absorption of 4-mercaptobenzoic acid (4-MBA) and perfluorooctanoic acid (PFOA) on one of the synthesized materials was evaluated, and the response of the entire system to Surface Enhanced Raman Spectroscopy (SERS) was determined. It was ultimately found that the poly(NIPAAm-co-NVP) polymer matrix with AuNPs has the potential for SERS effect in the identification of 4-MBA and PFOA, as the obtained spectra exhibited vibrational modes characteristic of these compounds.

Keywords: Thermosensitive nanocomposites; Thermosensitive hydrogels; Perfluoroalkyl contaminants; PFOA detection

3. INTRODUCCIÓN

En las últimas décadas, como consecuencia de la búsqueda de nuevos compuestos y materiales con propiedades específicas para la fabricación y explotación industrial, se han sintetizado y comercializado nuevos compuestos químicos, sin prever o proyectar el impacto de estas sustancias para el ambiente. Por lo general, muchos productos desarrollados con estos enfoques no disponen de estudios o de información que respalde y regule su impacto tanto en el ambiente como en la salud. En muchos países aún no se tienen normas que regulen el uso de sustancias que ya han sido catalogadas como peligrosas en países que han afrontado casos de contaminación con graves consecuencias para la población y los ecosistemas.

En ese sentido, durante los últimos años se han detectado nuevos contaminantes en el ambiente, conocidos como contaminantes emergentes. Estos pueden provenir de una gran variedad de productos químicos utilizados por la industria, la agricultura, el área farmacéutica, entre otras aplicaciones. Esto significa que se incluyen en esta categoría a aquellos compuestos, de uso recurrente, sobre los cuales aún no se han reconocido un peligro latente, puesto que se desconoce su composición exacta o se presenta omisión sobre la presencia de trazas de compuestos o elementos tóxicos en la información técnica del producto. Actualmente, organizaciones como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Agencia de Protección Ambiental (EPA) y la Comisión Europea (CE), están promoviendo su investigación y generando conciencia sobre este problema. No obstante, una gran parte de estos contaminantes sigue esparciéndose sobre los ecosistemas a través de las aguas residuales tanto domésticas como industriales, las actividades agrícolas y ganaderas, los efluentes hospitalarios, y las descargas directas al ambiente de residuos provenientes de las plantas de tratamiento de agua (Pachés 2020).

Entre los contaminantes emergentes sobre los que se ha determinado un mayor impacto con consecuencias negativas para el ambiente se encuentran las sustancias perfluoroalquiladas (PFAS) y polifluoroalquiladas (pFAS). A esta familia pertenece el ácido perfluorooctanóico (PFOA). En este aspecto, en los últimos años se han encontrado que la forma ionizada del PFOA, el carboxilato de perfluorooctano, es una de las moléculas más detectadas y estudiadas en el ambiente (Mueller & Yingling, 2017). Se trata de una especie altamente tóxica que llega en su mayoría a las aguas subterráneas, y de ahí se transfiere al suelo y al agua potable (Rumsby et al., 2009). Cabe agregar que la estabilidad química y térmica de esta sustancia se atribuye al alto contenido de enlaces carbono-flúor. Además, esta parte altamente fluorada confiere a toda la molécula una naturaleza hidrófoba y lipofóbica, lo que a su vez hace que estas sustancias sean muy duraderas y bioacumulativas (Mueller & Yingling, 2020).

Recientemente, se ha informado a través de estudios e investigaciones científicas, que en general la exposición de humanos a los PFAS genera graves afecciones en la fertilidad tanto femenina como masculina; en la función endocrina, incluyendo disfunción pancreática y riesgo a padecer diabetes tipo 2; disfunción hepática y renal; desarrollo de diferentes tipos de cáncer; entre muchas más afecciones (Espartero et al., 2022; Kirk et al., 2018; ATSDR 2021).

Dado que los PFAS son moléculas que varían en su carga y polaridad, su detección sólo con técnicas analíticas resulta difícil. Entre estas se destacan las técnicas cromatográficas, como la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC, por sus siglas en inglés) o cromatografía de gases (CG) acopladas a la espectroscopía de masas (MS), y la cromatografía líquida de ultra alta resolución (UHPLC) (Garg et al., 2022). Estas son técnicas sensibles que permiten una detección eficaz, sin embargo, se componen de equipo robusto y de alto costo, y requieren de

tratamientos exhaustivos de muestra, lo que termina limitando su uso para la exploración masiva de fuentes de agua naturales que abastecen comunidades enteras en el mundo. Por todo lo anterior, se hace necesario desarrollar materiales que puedan adaptarse a técnicas de detección analíticas portables para la detección de PFAS, con simplicidad operativa, portabilidad y accesibilidad.

4. MARCO TEÓRICO Y ANTECEDENTES

4.1. PFAS

Las PFAS son sustancias químicas orgánicas sintéticas en las que los átomos de hidrógeno están parcial o totalmente sustituidos por átomos de flúor (Buck et al., 2011; Wang et al., 2022), constituyen una familia de compuestos orgánicos sintéticos altamente fluorados que comprende más de 4700 especies únicas registradas (Söregård, 2022).

4.1.1. Clasificación

Las familias de PFAS se pueden dividir en dos principales: poliméricas (pFAS) y no poliméricas. En las no poliméricas, la estructura química básica se compone de una cadena de dos o más átomos de carbono con un grupo funcional cargado en un extremo. La mayoría de las veces, los grupos funcionales son carboxílicos o ácidos sulfónicos, tal como se muestra en la **Figura 1**. En estas sustancias, los átomos de flúor están unidos a todos los carbonos de la cadena, excepto al carbono que está unido al grupo funcional (Mueller & Yingling, 2017). Por otro lado, las sustancias polifluoroalquiladas se componen de largas cadenas de carbono que no necesariamente están completamente fluoradas. Sin embargo, estas largas cadenas tienen la capacidad de transformarse abióticamente o bióticamente en sustancias perfluoroalquiladas (Mueller & Yingling, 2017).

En general, los PFAS son no-degradables y actualmente son de gran preocupación para el ambiente. La degradación de algunos PFAS puede resultar en la formación de otros PFAS. Por ejemplo, $C_nF_{2n+1}SO_2NHCH_2CH_2OH$, se degrada produciendo $C_nF_{2n+1}SO_3H$ (Buck et al., 2011). El PFOA y el ácido perfluorooctano sulfónico (PFOS) son los PFAS mayormente estudiados debido a que tienen una amplia variedad de fuentes y son productos de degradación terminal de muchos compuestos precursores (Brusseau, 2018).

Se cree incluso que los pFAS, por su naturaleza polimérica, representan un riesgo menor para la salud humana y del ambiente que las moléculas con cadenas más cortas como es el caso del PFOS y PFOA (Butt et al., 2013). No obstante, el uso de pFAS como materia prima para la producción de otros polímeros, contribuye a la presencia de PFAS no poliméricos en el medio, liberándolos como subproductos (Mueller & Yingling, 2017).

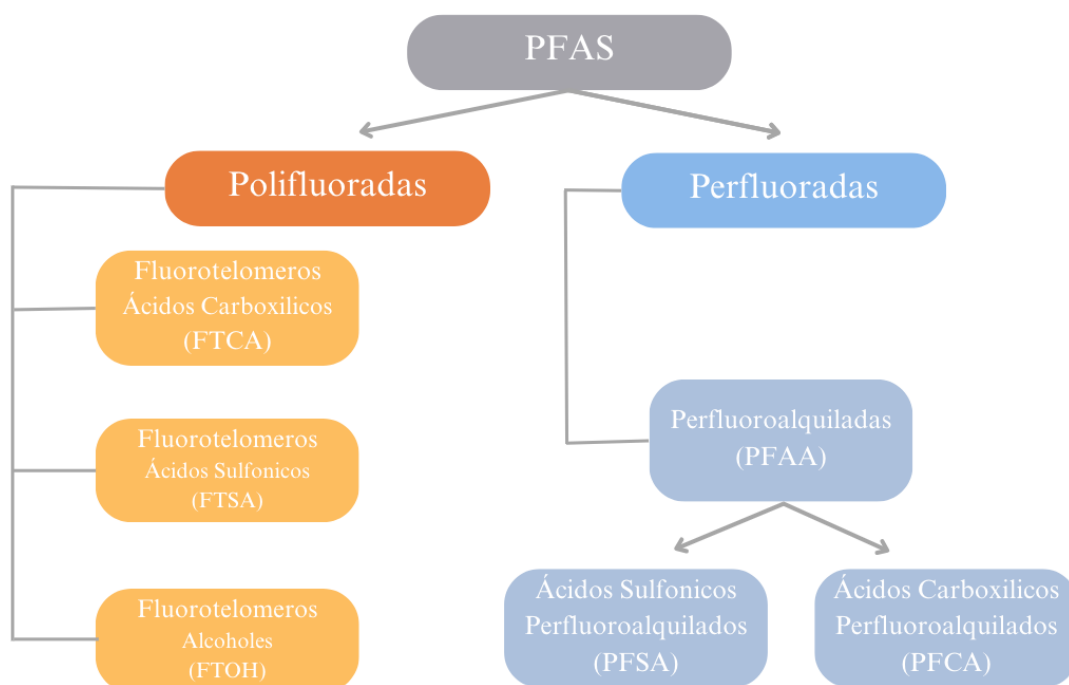


Figura 1. Clasificación de PFAS. Fuente: Imagen adaptada de: Moose 2020.

4.1.2. *Historia y origen*

El politetrafluoroetileno (PTFE) conocido comercialmente como Teflón, se encuentra entre los pFAS que son materiales poliméricos sólidos de alto peso molecular. Este polímero se descubrió al azar en 1938 al investigar posibles refrigerantes a partir del TFE por el químico Roy J. Plunkett en la empresa DuPont de Deepwater, New Jersey, y fue patentado bajo la compañía Kinetic Chemicals en 1941. En 1945 se registró el nombre de marca registrada: Teflón (Blake & Fenton, 2020). Al analizar y probar las características de este polímero DuPont introdujo el Teflón en la década de 1940, utilizándolo para el recubrimiento de válvulas y como sellador en tubos que contenían hexafluoruro de uranio, un material altamente reactivo (Arrieta, 2017). En 1948, DuPont producía más de 900 toneladas de PTFE al año en sus laboratorios de Parkersburg, West Virginia. Así también, la empresa 3M había comenzado la producción de PFAS en su planta de Minnesota (Blake & Fenton, 2020). El proceso original era a partir del monómero TFE y directamente se hacía reaccionar para producir el polímero, hasta que en 1944 ocurrió una explosión en la planta piloto de Arlington, dando lugar a la modificación del método de producción. Como producto de ello establecieron que el proceso partiría del PFOA, metodología que se utilizó ampliamente desde 1950 para producirlo de forma industrial (Arrieta, 2017).

Desde la década de 1950 el PFOS y el PFOA se empezaron a utilizar para fabricar productos resistentes a las manchas y al agua, así como revestimientos protectores. En 1961, el PTFE se aplicó a los utensilios de cocina comerciales. Desde la década de 1960 hasta la década de 1970, se fabricó espuma contra incendios a base de PFOS, y a partir del 2000 se eliminó voluntariamente de las espumas contra incendios Clase A (US DOD, 2000; 3M, 2000).

Las primeras preocupaciones documentadas con respecto a las afecciones a la salud de las PFAS se mencionaron en un memorando interno de DuPont, por parte de la toxicóloga Dorothy Hood, en 1961. Ya para 1980, los PFAS se midieron en el suero de los trabajadores expuestos ocupacionalmente y en 1981 se plantearon preocupaciones internas en DuPont con respecto a los defectos de nacimiento en niños nacidos de mujeres expuestas ocupacionalmente (EWG 2019). En 1988, Wilbur Tennant, un ganadero cuya tierra estaba río abajo y bordeaba un vertedero utilizado por la planta DuPont Washington Works cerca de Parkersburg, WV, solicitó el asesoramiento legal de Rob Bilott, ya que se estaba percatando de un fenómeno inusual. Este consistía de la presencia agua espumosa y descolorida en el arroyo del que bebía su ganado, además de comportamientos atípicos y anomalías del ganado, tales como dientes negros, lesiones en la piel y tumores, órganos descoloridos, pezuñas malformadas y terneros nacidos con defectos congénitos profundos (Rich 2016). De las 200 cabezas de ganado de su propiedad, 153 murieron debido a esto. Tennat creía que la contaminación vertida por DuPont en el río, arriba de su granja, estaba relacionada directamente con lo que le estaba sucediendo a su ganado. El caso legal en nombre de un ciudadano privado condujo a una demanda colectiva presentada por Bilott en nombre de más de 70,000 ciudadanos en Mid-Ohio, Valley, cuyas fuentes de agua potable se vieron afectadas por la contaminación derivada de la planta de DuPont (Rich 2016). La demanda colectiva resultó en un acuerdo que financió un esfuerzo de biomonitorio de tamaño y escala sin precedentes, llamado C8 Health Study (Steendland et. al., 2009). Los resultados del Estudio de salud C8 identificaron un vínculo probable entre la exposición al PFOA y el aumento del colesterol, el cáncer de riñón, el cáncer testicular, la colitis ulcerosa, la enfermedad tiroidea y la hipertensión inducida por el embarazo (Blake & Fenton, 2020).

En 2001, gracias a un estudio realizado por Giesy y Kannan fue posible demostrar por primera vez el alcance mundial de dicha contaminación para el PFOS en la vida silvestre (Giesy et. al., 2001). Luego, se llevó a cabo otro estudio de Hansen et al. (2001), en donde se encontró que el PFOS y otros PFAS estaban presentes en numerosas muestras de sangre humana obtenidas de empresas de suministros biológicos. Este último estudio sugirió que las PFAS eran responsables de una fracción sustancial del flúor detectada en el suero humano de personas no expuestas ocupacionalmente a estos compuestos químicos. Cabe resaltar que la presencia de compuestos fluorados fue reportada por en los años 80 por Belisle (1981) e incluso desde finales de los 60 por Taves (1968). En efecto, para 1980 ya se había encontrado que la sangre de un grupo de empleados de la industria fluoro química contenía propiamente al PFOA (Ubel et al. 1980).

4.1.3. Efectos adversos en la salud

El uso generalizado de PFAS ha llevado a la presencia de estos productos químicos en el ambiente, incluidos el suelo, el aire, el polvo en el hogar, los alimentos y las fuentes de agua potable de la superficie y del suelo (Pelch et al., 2019). En mayo del 2009, se publicó un sumario con todos los estudios realizados en sangre de personas de varias partes del mundo, involucrados diversos países de Europa, Asia, tres zonas de Alemania, cuatro zonas de Estados Unidos y dos zonas de Canadá. Para los estudios tomaron muestras de 20 a 645 personas por país o por zona, obteniendo resultados que iban de los 0.4 µg/L hasta 6.6 µg/L de PFOA en suero sanguíneo (Fromme et al., 2009).

Los PFAS se han relacionado con numerosos efectos sobre la salud, incluidos el cáncer, la disfunción inmunitaria, el daño hepático, trastornos del desarrollo reproductivo y alteraciones

hormonales (ATSDR, 2021). A diferencia de otros contaminantes ambientales comunes, como los pesticidas organoclorados, las PFAS no se bioacumulan en el tejido adiposo (Pérez et al., 2013). El PFOA y el PFOS se unen a las proteínas séricas, especialmente a la albúmina, con gran afinidad (Han et al., 2003). Las PFAS se bioacumulan una vez que se absorben en el torrente sanguíneo a través de vías digestivas y de intercambio de gases, debido a su estabilidad bioquímica. En general, los PFAS tienden a acumularse en los tejidos con un gran suministro de sangre, incluidos el hígado, los riñones y los pulmones (Pérez et al., 2013). La distribución de PFAS en el tejido no solo depende de la especie y el sexo, sino también de las características de la sustancia química de la "cabeza" (el grupo funcional ubicado en uno de los extremos de la molécula), la longitud de la cadena (la "cola") y la dosis de exposición (Kirk et al., 2018). La "cabeza" de PFA tiene una carga eléctrica, positiva o negativa, y por lo tanto, la forma en que los compuestos químicos se le unirán, estará determinados por las características de dicha carga. En consecuencia, los productos químicos que se adhieren a la 'cabeza' regulan en qué parte del cuerpo se bioacumularán las PFAS.

Se ha obtenido como resultado de varios estudios que la exposición a los PFAS altera varias vías relacionadas con la enfermedad renal, incluido el estrés oxidativo, el receptor activado por proliferadores de peroxisomas y la permeabilidad endotelial mejorada a través del modelado de filamentos de actina (Gong et al., 2019). Los resultados adversos del embarazo asociados con la exposición a PFAS en humanos incluyen un mayor tiempo de gestación, trastornos hipertensivos, hipertensión inducida por el embarazo, preeclampsia, diabetes gestacional, exceso de aumento de peso gestacional, y bajo peso del bebé al nacer (Blake & Fenton, 2020). La vida media de una sustancia en el cuerpo es el tiempo que el cuerpo requiere para eliminar una sustancia mediante procesos fisiológicos normales. La vida media biológica en el suero humano varía según el tipo de PFAS, con estimaciones de 3,8 años para el PFOA, 5,4 años para el PFOS y 8,5 años para el sulfonato de perfluorohexano (PFHxS) (Olsen et al., 2007).

Una investigación reciente de los impactos de la exposición a PFAS en Europa identificó gastos anuales directos en atención médica entre 52 000 y 84 000 millones de euros (Goldenman et al., 2019). Los costos equivalentes relacionados con la salud para los Estados Unidos, teniendo en cuenta el tamaño de la población y las diferencias del tipo de cambio, serían de \$37 a 59 mil millones anuales. Estos costos no los paga la empresa que está contaminando; corren a cargo de las personas afectadas, los proveedores de atención médica y los contribuyentes (Cordner et al., 2021).

4.1.4. Regulaciones ambientales

En enero del 2006, la EPA y ocho de las principales industrias norteamericanas que utilizan PFOA en sus procesos, formaron el Programa de Administración del PFOA para 2010/2015 (PFOA Stewardship Program). En este programa, las ocho empresas se comprometen a reducir el contenido de PFOA de sus productos en un 95% para el 2010 y en un 100% para el 2015. Las empresas que participaron son: Arkema, Asahi, BASF Corporation, Clariant, Daikin, 3M, DuPont y Solvay Solexis (Arrieta, 2017).

En México no se cuenta con algún inventario o reportes de información acerca de productores o distribuidores, como por ejemplo la empresa 3M México (principal productora de PFOA en el mundo), con lo cual se pueda hacer una estimación de los compuestos y productos relacionados con PFAS que se han consumido, elaborado o importado en el país. Sin embargo,

el Instituto Nacional Electoral (INE) ha iniciado la obtención de datos concernientes a la importación, manufactura y exportación de productos relacionados con PFAS, con el fin de cumplir con los acuerdos tomados en noviembre de 2002 en la 34° reunión de la Organización para la Cooperación y Desarrollo Económico (OCDE). En esta se estableció que para los contaminantes PFOS y PFOA, la información estadística debe actualizarse cada dos o tres años, lo cual promueve el inicio de actividades para recopilar información estadística sobre el estado que involucran estas sustancias y los productos relacionados con ellas (Bremauntz et al., 2005). No obstante, la regulación en México sobre PFAS es muy pobre en la actualidad, y esto hace que se requieran documentos que demuestren a partir de un análisis de riesgos, qué hacer y cómo controlar y buscar erradicar estas sustancias del ambiente, y reducir así los riesgos que pudieran causar a la población (Arrieta, 2017).

La falta de evidencia y relación entre los impactos adversos para la salud pública y el nivel de PFAS ha hecho que la regulación sobre estas sustancias sea un proceso lento e indefinido. Todavía el camino es incierto en torno a los niveles exactos de PFAS que ya representan un riesgo para la salud humana, debido a los datos limitados sobre las diversas formas en como las personas podrían estar expuestas a estas sustancias, y durante cuánto tiempo. Por esa diversidad, algunos autores concuerdan en que los niveles de exposición y sus consecuencias aún siguen siendo poco conocidas, a pesar de los casos ya registrados en el mundo (Abunada et al., 2020).

La ley de seguridad para el agua potable (SDWA, por sus siglas en inglés) es una ley Federal que protege las reservas públicas del agua potable de todo USA (USEPA 1974). Bajo esta ley, la USEPA (Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos) tiene la autoridad de establecer los niveles máximos de contaminantes (MCLs, por sus siglas en inglés) para químicos específicos y requerir pruebas del suministro de agua pública. La SDWA se aplica a todo el sistema de aguas públicas de USA, pero no se aplica a los pozos privados de agua ni al agua usada para consumo. La USEPA no ha estabilizado los MSCLs para ningún PFAS. Sin embargo, en mayo del 2016, la USEPA estableció el asesoramiento de salud vitalicia (LHA por sus siglas en inglés) para PFOA y PFOS en agua potable de 70 nanogramos por litro (ng/L, equivalente a partes por trillón [ppt]). Este LHA es aplicado a PFOA y PFOS individualmente, o en conjunto, si ambos químicos se encuentran en concentraciones por encima de los límites reportados (USEPA 2016 a; USEPA 2016 b).

4.1.5. *Técnicas de detección de PFAS*

Considerando que los PFAS son una familia de más de 4700 especies sintetizadas comercialmente, hace que su identificación y detección selectiva sea un desafío importante (Söregård, 2022). Los desafíos relacionados con la detección de PFAS son múltiples, ya que no poseen ningún grupo cromóforo a lo largo de su estructura, lo que dificulta la identificación temprana basada en colorimétrica. Además, al ser resistentes químicamente a las reacciones de derivatización, limita la capacidad para realizar la mayoría de las evaluaciones analíticas que se realizan con otros contaminantes orgánicos persistentes (COP). A todo esto, se le suma que se comportan como tensioactivos en el agua, con propiedades electrostáticas sobresalientes,

por lo que pueden acumularse como micelas laminares en las interfases entre el agua y los materiales (Guelfo & Higgins, 2013).

Entre las técnicas de detección mayormente utilizadas para los PFAS se encuentran: las técnicas cromatográficas que incluyen los acoples HPLC-MS, GC-MS y UHPLC (Gremmel et al., 2016). El límite de detección (LOD) de 0,0001 µg/L que ofrecen los métodos convencionales, permiten una buena determinación cuantitativa de PFOA y PFOS, cuyos límites ambientalmente permisibles (PL) son de 0,4 µg/L y 0,2 µg/L, respectivamente, según lo exige la USEPA (Rodríguez et al., 2020). Otros métodos incluyen la medición de tetrafluoruro de carbono (CF₄), un producto de degradación de la incineración de PFAS, midiendo el flúor orgánico absorbible (AOF) mediante cromatografía iónica de combustión, con un límite de cuantificación (LOQ) de 2 µg/L (Van Leeuwen y de Boer, 2007). Se han reportado análisis de precursores oxidables totales (TOP) realizado con HPLC-MS, obteniendo LOD entre 0,0001 y 0,0005 µg/L (Chatterjee et al., 2020), y análisis de flúor orgánico total (TOF) realizado mediante espectrometría de absorción molecular (MAS) en un horno de grafito de fuente continua de alta resolución (HR-CS), obteniendo un LOD de 0,00028 µg/L (Özbek & Akman, 2018; Garg et al., 2022).

Aunque las técnicas de detección comúnmente utilizadas proporcionan buenos resultados, también involucran múltiples factores no tan favorecedores. En primer lugar, se deben utilizar estándares internos para resolver el problema de la identificación de los picos al tener concentraciones de trazas de PFAS en muestras ambientales de agua, alimentos, sedimentos del suelo, sangre y partículas. En segundo lugar, la falta de cromóforos en el PFOA y el PFOS hace que los métodos de HPLC sean inadecuados si no se usan o agregan agentes de derivatización (Jahnke & Berger, 2009). El proceso de derivatización en HPLC requiere mucho tiempo y aumentan la carga ambiental de contaminantes químicos. Del mismo modo, la alta polaridad del PFOA genera una severa cola de picos durante la fase de gas. Por lo tanto, en el análisis cromatográfico, a menudo se requiere un tratamiento adicional de la muestra con sulfato de hidrógeno de tetrabutilamonio y diazometano (Liu et al., 2015). En tercer lugar, para estas técnicas se requieren pasos de preconcentración como la extracción en fase sólida (SPE), la extracción en fase líquida (LPE), la filtración y la centrifugación, ya que la concentración de PFAS en las muestras ambientales suele ser de nanogramos por litro y es difícil de detectar en muestras enteras sin preconcentración (Garg et al., 2022). Así también, dichos métodos presentan problemas de especificidad, necesidad de equipos de laboratorio robustos, costo de personal y largos tiempos de detección.

4.2. PFOA

El PFOA con fórmula química CF₃(CF₂)₆COOH pertenece a la categoría de PFAS debido a que su cadena de carbono se encuentra completamente fluorada con una cabeza de grupo funcional (ácido carboxílico) cargada en un extremo. El PFOA es una molécula estable químicamente, y por lo tanto es no-degradable. Incluso, el PFOA puede llegar a generarse de la degradación biótica y abiótica de otras PFAS de cadena más larga. Por sus características

químicas, se puede clasificar dentro de los ácidos perfluoroalquilados (PFAA), que a su vez pertenecen a los ácidos perfluoroalquilcarboxílicos (PFCAs), o perfluoroalquilcarboxilatos, los cuales son productos de degradación terminal de precursores de PFAS específicos, como los alcoholes fluoroteloméricos (FTOHs). El PFOA, al igual que todas las demás PFAS, no se produce de forma natural, y, por lo tanto, es creado por el hombre y se ha producido y utilizado en productos comerciales y procesos industriales durante más de 60 años (Lindstrom et al., 2011).

Al ser un ácido, el PFOA presenta un pKa, el cual se encuentra en el orden de 3.8 ± 0.1 . Este factor impacta en su solubilidad y transporte dentro de todos los niveles tróficos (Goss & Arp, 2009). El PFOA existe predominantemente como un anión en condiciones ambientales, migra fácilmente del suelo, a las aguas subterráneas, ya que es altamente soluble en agua (Davis et al., 2007). En agua, este ácido se encuentra disociado. Debido a que la cadena carbonada es fuertemente apolar, las moléculas no se distribuyen al azar en la disolución acuosa. Las moléculas sitúan la cadena carbonada en la superficie mientras que el grupo carboxilo lo orienta hacia la disolución. Esto explica que el PFOA se utilice como tensioactivo, y por consiguiente, se puedan formar micelas con su intervención (Martín, 2018).

El PFOA se ha fabricado mediante dos métodos principales de fabricación, la fluoración electroquímica (ECF) y la telomerización. ECF produce una mezcla de compuestos que incluyen isómeros ramificados, lineales y cíclicos de varias longitudes de cadena, mientras que la telomerización produce principalmente compuestos de cadena lineal con un número par de carbonos, como el PFOA (Buck et al., 2011; Lindstrom et al., 2011).

El PFOA no se elimina del agua potable mediante procesos de tratamiento estándar como la coagulación, la filtración con arena, la sedimentación, la ozonización o la cloración, pero se tienen estudios en los que se ha explorado su eliminación usando carbón activado (Rumsby et al., 2009; Bartell et al., 2009). En la **Tabla 1** se muestran algunas de las propiedades físicas y químicas del PFOA.

El PFOA, debido a su estructura molecular y los tipos de enlace presentes entre los átomos, es muy estable químicamente, es persistente y difícil de degradar. Esto ha logrado que sea utilizado en revestimientos resistentes al agua, la suciedad y las manchas para ropa, cuero, tapicería y alfombras; revestimientos resistentes al aceite para papel en contacto con alimentos; fluidos hidráulicos de aviación; espumas contra incendios; pinturas, adhesivos, ceras, abrillantadores y otros productos; e industrialmente, como tensioactivos, emulsionantes, agentes humectantes, aditivos y recubrimientos. El PFOA se utiliza como emulsionante en la producción de PTFE, así como otros fluoropolímeros y fluoroelastómeros utilizados como revestimientos antiadherentes en utensilios de cocina (Lau et al., 2007).

Tabla 1. Resumen de propiedades físicas de PFOA

PROPIEDAD	VALOR O CARACTERÍSTICA
Apariencia a temperatura y presión ambientes	Sólido blanco ceroso
Masa molecular	414 g/mol
Presión de vapor	10 mmHg (25°C)
Solubilidad en agua pura	9.5 g/L (25 °C)
Punto de fusión	45-50 °C
Punto de ebullición	189-192 °C (736mmHg)
pK ₂	2.5

FUENTE: (Adaptada de Martín, 2018)

Las fuentes de exposición al PFOA incluyen alimentos, envases de alimentos, productos de consumo, polvo doméstico y agua potable. El PFOA se encuentra en aguas subterráneas y superficiales contaminadas por descargas de instalaciones industriales, así como en aguas que no se sabe que hayan sido impactadas por una fuente puntual (Mak et al., 2009). Al igual que otros contaminantes de las aguas subterráneas, el PFOA puede llegar a los pozos de agua potable a través de la vía bien establecida de migración de una columna de agua subterránea contaminada. A diferencia de otros contaminantes ambientales, puede llegar a las aguas subterráneas a partir de las emisiones al aire de las instalaciones industriales cercanas, seguido de la deposición del aire en el suelo y la migración a través del suelo hacia las aguas subterráneas (Davis et al., 2007). El PFOA se absorbe esencialmente por completo después de la exposición oral (Lau et al., 2007), y también se absorbe por vía dérmica y por inhalación del polvo (Kennedy et al., 1986; Post et al., 2012). En estudios con animales, el PFOA se distribuye principalmente en el hígado y el suero, seguido del riñón, con concentraciones más bajas en otros órganos, y en el suero, se une casi por completo a la albúmina y otras proteínas. Estudios en animales revelan una variedad de efectos toxicológicos, incluidos algunos que ocurren después de la exposición a dosis bajas durante el desarrollo, sin un umbral identificado. Estos incluyen cambios persistentes en la glándula mamaria, cambios histopatológicos en el aparato reproductor femenino, efectos neuroconductuales persistentes y obesidad y cambios metabólicos en la edad adulta (Post et al., 2012).

El PFOA induce tumores en los testículos, el hígado y el páncreas en roedores a través de la ingesta dietética, y hay evidencia de que también aumenta los tumores mamarios (Biegel et al.,

2001; EPA, 2005). También reduce el peso al nacer en ratones y provoca la muerte neonatal en ratas (Lau et al., 2007; EPA 2005). En ratones disminuye las respuestas inmunitarias de células B y células T, y en ratas produce atrofia del bazo y el timo, causa hepatomegalia y disminuye los niveles de colesterol (Kennedy et al., 2004; Lau et al., 2007). En animales, el PFOA es un proliferador de peroxisomas en el hígado, alterando con dicha proliferación los lípidos, las enzimas hepáticas y el tamaño del hígado (Kennedy et al., 2004). Se han encontrado también aumentos en el estradiol y disminuciones en la testosterona con la exposición al PFOA en roedores (Lau et al., 2007).

Otras de las patologías relacionadas con la exposición a los PFAS son:

- Salud reproductiva masculina: disminución de la testosterona total y libre (Cui et al., 2020).
- La exposición materna aumenta el riesgo de cáncer de mama en las hijas.
- Mayor riesgo de factores de infertilidad (endometriosis, síndrome de ovario poliquístico, infecciones del tracto genital) (Kim et al., 2020)
- Impacto en el crecimiento y desarrollo fetal (Hu et al., 2020).
- Deficiencia de vitamina D en el embarazo (Chang et al., 2021).
- Alterar el desarrollo pancreático (Liu et al., 2018).
- Efecto diabetogénico (Alderete et al., 2019).
- Aumento del colesterol y las enfermedades cardiovasculares (Bjorke-Monsen et al., 2020).
- Disminución de la viabilidad de las células hepáticas (Ojo et al., 2021).
- Osteoporosis (Banjabi et al., 2020).

4.3. SERS (*Surface Enhanced Raman Spectroscopy*)

4.3.1. Historia y origen

El efecto SERS (Surface-enhanced Raman Scattering) se descubrió en los años setenta y consiste en un aumento de la difusión inelástica (señal Raman), procedente de determinadas moléculas en presencia de una nanoestructura metálica rugosa especialmente preparada (García-Ramos & Sánchez-Cortés, 2006). El primer análisis realizado con SERS ocurrió con el aumento inesperado de la señal Raman de la piridina adsorbida en un electrodo de plata rugoso electroquímicamente. El aumento de la señal se atribuyó originalmente a un mayor número de moléculas absorbidas con el área de superficie aumentada, pero luego se descubrió que se debía a un aumento anómalo de la superficie (Ren et al., 2020). Este descubrimiento es de importancia central para fines analíticos, ya que proporciona un medio para superar la baja eficiencia intrínseca de los procesos ordinarios de dispersión Raman en comparación con los de emisión de fluorescencia y absorción infrarroja. Con respecto a la espectroscopia Raman ordinaria, el resultado principal de SERS es la gigantesca intensidad Raman mejorada en el

nivel de varios órdenes de magnitud, que es ampliamente aceptado principalmente por la contribución conjunta de los mecanismos electromagnéticos y químicos (Ren et al., 2020).

4.3.2. *Fundamentos teóricos*

La dispersión Raman fue descubierta por C.V. Raman y K.S Krishnan en 1928 (Raman, 1928). Este fenómeno ocasiona vibraciones y rotaciones moleculares al incidir un haz de luz monocromática sobre la muestra. La mayor parte de la luz dispersada por la muestra presenta la misma frecuencia que la luz incidente, pero una fracción muy pequeña presenta un cambio frecuencial resultado de la interacción con la materia, lo que se conoce como dispersión Raman. La teoría clásica de la dispersión Raman establece que una molécula bajo un campo eléctrico incidente oscilante puede experimentar una polarización inducida (P_0) y emitir luz dispersada a una frecuencia desplazada Raman (ω_R). La magnitud de P_0 depende de la polarizabilidad Raman de los electrones en la molécula (α^R_0) y la fuerza de la radiación electromagnética entrante E_0 (con una frecuencia de ω_0) (Ren et al., 2020), como se puede observar en la **Ecuación 1**:

$$P_0(\omega_R) = \alpha^R_0(\omega_0, \omega_R) m_{i0}(\omega_0) \quad (\text{Ecuación 1})$$

Cuando una nanoestructura metálica se irradia con una luz entrante (E_0), los electrones conductores se deslocalizan en oscilaciones colectivas, que generan un campo alrededor de la interfaz formada por la nanoestructura metálica y el entorno dieléctrico. La frecuencia de tales oscilaciones de electrones depende de la densidad de electrones, la masa efectiva de electrones y la forma y tamaño de la distribución de carga. Si la frecuencia de la radiación entrante (ω_0) es resonante con el de la oscilación de electrones, el proceso de excitación se conoce como resonancia de plasmón superficial (SPR) (Kelly et al., 2003). SPR puede propagarse como una onda longitudinal en superficies metálicas extendidas o permanecer altamente localizado en lugares tales como bordes, puntas o grietas de la interfaz entre la superficie metálica y el dieléctrico, correspondientes a polaritones de la resonancia de plasmón de superficie localizada (LSPR), tal como se puede observar en la **Figura 2** (Ren et al., 2020).

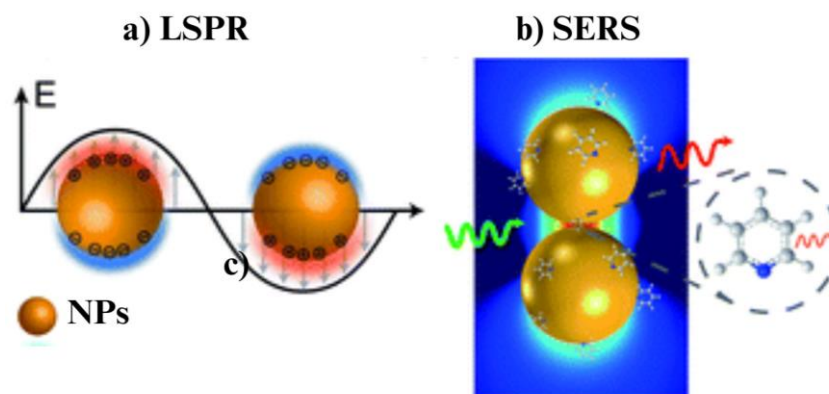


Figura 2. Diagrama esquemático de (a) efecto LSPR (b) Interacción nanopartícula-molécula en efecto SERS. Fuente: Imagen adaptada de Ren et al., 2020.

El perfil espectral Raman de una molécula "libre" se puede predecir simplemente aplicando simetría y teoría de grupos puntuales. Para SERS, la predicción y la interpretación del perfil espectral no suelen ser tan sencillas. Primero, el campo EM local en la región visible tiene componentes perpendiculares y paralelos a la superficie de la nanoestructura, como resultado de la interacción de la luz con una nanoestructura plasmónica. En segundo lugar, la molécula puede tomar cierta orientación en la superficie de la nanoestructura cuando interactúa con la nanoestructura. Para que un modo vibracional logre una mejora SERS alta, requiere que el modo tenga un cambio de polarizabilidad a lo largo de la dirección del campo EM local (Moskovits, 1982). Esta es la base del concepto conocido como reglas de selección de superficie, que describen las propiedades de simetría correspondientes del dipolo Raman modificado (P) y cambios en las intensidades relativas de los picos Raman causados por la polarización del campo EM en la superficie del metal. Además, las reglas de selección de superficies permiten comprender la mejora selectiva de ciertos modos de vibración debido a la orientación preferida de la molécula adsorbida en la superficie de la nanoestructura (Ren et al., 2020).

La efectividad del método SERS está estrechamente relacionada con las características morfológicas y superficiales de las nanopartículas metálicas utilizadas, estos sistemas nanoestructurados deben cumplir unas condiciones de forma y tamaño para inducir un mayor acoplamiento con la radiación incidente, lo que se traduce en una mayor intensidad de señal. por tanto, los procesos de obtención de nanopartículas deben ser controlados (Martínez-Zuñiga et al., 2020).

Las nanopartículas metálicas de metales nobles como Au y Ag interactúan con la radiación electromagnética para producir un pico de extinción en el rango ultravioleta-visible (UV-Vis) del espectro, conocido como plasmón de resonancia superficial (SPR), y esto es causado por oscilaciones de electrones en la banda de conducción de la nanoestructura. Las propiedades de SPR dependen de la forma, el tamaño, la disposición de las nanopartículas y la permitividad del medio que rodea las nanopartículas. Debido a las resonancias de plasmones superficiales, son capaces de generar altas concentraciones de energía electromagnética en el entorno de la

nanoestructura, lo que los convierte en excelentes candidatos para la aplicación del método SERS (Martínez-Zuñiga et al., 2020).

4.4. AuNPs

Las AuNPs son una suspensión de oro coloidal que tiene un tamaño de entre 2 a 150 nm (Canal, 2016). Exhiben excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, intrínsecas a su tamaño nanométrico (Auffan et al., 2009). Además, las AuNPs pueden ser producidas en distintos tamaños y formas y pueden ser fácilmente funcionalizadas con un amplio abanico de ligandos. Todo esto hace que las AuNPs despierten un gran interés en multitud de campos, pero especialmente en los sectores biomédico y alimentario (Mateo et al., 2013).

4.4.1. Síntesis de AuNPs por Método Turkevich

Existen diversas técnicas de síntesis de AuNPs, las cuales han permitido generar un amplio espectro de distintos tamaños y funcionalidades. El primer informe científico sobre la síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs) fue publicado en el siglo XIX por Faraday (Faraday, 1857). Más recientemente, las AuNPs se han convertido en objeto de intensos estudios debido a sus propiedades únicas, principalmente ópticas, que las hacen adecuadas para diversas aplicaciones como fotovoltáica orgánica, sondas sensoriales, espectroscopia Raman mejorada de superficie (SERS), agentes terapéuticos, conductores electrónicos, nanocompuestos de núcleo-envoltura inteligentes y catálisis (Li et. al., 2009; Notarianni et al., 2014; Kim et al., 2013).

Las AuNP se pueden adaptar a ciertas aplicaciones mediante la modificación de sus propiedades ópticas y electrónicas al cambiar su tamaño, forma, química superficial o estado de agregación. Muchas de esas aplicaciones requieren el uso de AuNP con distribuciones de tamaño estrechas. Así, el protocolo más popular y estándar para la síntesis de AuNP cuasi-esféricas y monodispersas mediante la reducción del ácido cloroáurico con citrato de sodio, fue reportada por primera vez en 1940 por Hauser y Lynn. El método basado en citrato, a menudo se denomina método de Turkevich. Turkevich fue el primer científico en proponer el mecanismo de reducción de la sal de oro. Este investigador investigó también la influencia de la temperatura, la concentración de reactivos y la dilución de los productos de reacción en un método basado en citrato (Bartosewicz et al., 2018).

La preparación por reducción química consta de dos pasos fundamentales, el primero es la reducción de un precursor de oro utilizando agentes reductores adecuados, como citrato sódico o borohidruro, logrando obtener así oro elemental. El segundo paso es la estabilización de las nanopartículas obtenidas mediante agentes atrapadores o estabilizantes, como citrato sódico, evitando así, la aglomeración de las nanopartículas (Canal, 2016).

4.4.2. Aplicación de AuNPs como sustrato en SERS

Los coloides metálicos nanoparticulados se han empleado de manera muy frecuente en los últimos años en espectroscopía SERS (Surface-enhanced Raman Scattering), debido a las propiedades ópticas y electroquímicas adecuadas de estos materiales. La forma y el tamaño de las nanopartículas utilizadas son parámetros que están relacionados directamente con las propiedades optoelectrónicas (Sánchez-Cortés, 2004). Las resonancias plasmónicas generan campos electromagnéticos muy intensos y localizados en las superficies de las partículas metálicas nanométricas, induciendo una fuerte absorción de la luz incidente (Martín, 2018).

Cuando una nanopartícula es irradiada por luz con una longitud de onda mayor que su tamaño, el campo eléctrico provoca la oscilación colectiva de su nube de electrones (Neel et al., 2022). Cuando la frecuencia de la luz coincide con la frecuencia natural de oscilación de los electrones, el confinamiento del plasmón al tamaño de una nanopartícula da como resultado una resonancia de plasmón superficial localizada (LSPR), que genera una mejora fuerte y localizada del campo electromagnético de la nanopartícula, y conduce a una modificación de sus propiedades ópticas (Ritchie, 1973). Aunque el oro tiene un rendimiento ligeramente inferior al de la plata en plasmónica, se usa más comúnmente en biología gracias a su mayor biocompatibilidad y estabilidad química (Neel et al., 2022).

4.5. *Ácido 4-mercaptobenzoico*

El ácido 4-mercaptobenzoico (4MBA) es un derivado del benceno conteniendo un grupo tiol y un ácido carboxílico en la posición opuesta, tal como se muestra en la Figura 3 (Capocefalo et al., 2019). La función tiol de esta molécula le permite asociarse a la superficie de AuNPs o de nanopartículas de plata (AgNPs) (Wang & Li, 2021; Gomez et al., 2022). Además, posee una fuerte sección transversal por SERS, típica de los derivados del benceno. Por esta razón suele ser muy utilizado para análisis por SERS usando AuNPs como sustratos. En general, la unión covalente entre el átomo de azufre (S) del 4MBA con la superficie de las AuNPs generan señales cuantificables en el espectro Raman, que corresponden a la vibración Au-S. Estas señales han sido utilizadas en los trabajos realizados por Capocefalo y colaboradores (2019), Wang y su equipo de investigación (2021, 2023), en la tesis realizada por Jauregui (2021), Jiang y colaboradores (2013), en los cuales la molécula 4MBA ha desarrollado un papel importante para la detección en SERS de diferentes compuestos esto debido a su capacidad de adsorción sobre superficies metálicas y con ello lograr obtener una señal Raman mejorada.

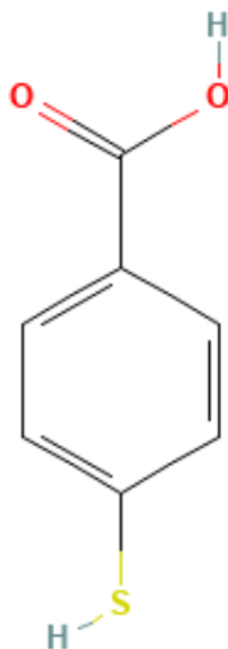


Figura 3. Estructura química del ácido 4-mercaptobenzoico (4-MBA).

4.6. Polímeros

Los polímeros son macromoléculas formadas por la unión química de un gran número de moléculas más pequeñas, o unidades repetitivas, llamadas monómeros. El número de monómeros dentro de la molécula de polímero puede variar mucho, y también puede variar el grado en que aparece la regularidad en el orden, la orientación relativa y la presencia de diferentes monómeros dentro de la misma molécula de polímero. En muchos polímeros sintéticos y algunos naturales, la cantidad de monómeros (a veces denominada grado de polimerización) se puede determinar con exactitud, a menudo para adaptar las propiedades del material (Gad, 2014).

Las propiedades del polímero dependen de los productos químicos de los que está hecho el polímero y de las condiciones de polimerización que finalmente establecen la arquitectura molecular: tipo de enlace químico, longitud de la cadena y la naturaleza de los grupos finales. El tipo de unidad de repetición de monómero que forma un polímero tiene un fuerte efecto sobre las propiedades del polímero. En consecuencia, las propiedades del polímero se pueden ajustar cambiando el tipo de monómero.

La microestructura de un polímero depende de cómo se organizan las unidades de repetición de monómero a lo largo de la columna vertebral de la cadena polimérica. Según su estructura, los polímeros se clasifican en polímeros lineales, ramificados y reticulados. Según sus fuerzas moleculares, se clasifican en elastómeros, fibras, termoplásticos y termoestables (Soroush & Grady, 2019).

Entre otras cosas, las condiciones de la reacción de polimerización afectan las propiedades del polímero al alterar la distribución del peso molecular, la distribución de la ramificación y la distribución de la composición (para copolímeros), el número de dobles enlaces terminales, etc. Una vez que se forma un polímero, sus propiedades importantes rara vez se pueden alterar. Debido a estas características de la polimerización y los polímeros, la etapa de síntesis durante la cual las reacciones de polimerización tienen lugar, es el paso más importante en la fabricación de materiales polímeros (Soroush & Grady, 2019).

4.6.1. Polimerización por radicales libres

La polimerización por radicales libres es uno de los métodos de polimerización más versátiles disponibles. Esta polimerización por crecimiento de cadena procede con la adición sucesiva de bloques de construcción de radicales libres que pueden formarse mediante diferentes mecanismos en presencia de varias moléculas iniciadoras. Después de la iniciación, los radicales libres reaccionan con las unidades de monómero, lo que aumenta la longitud de la cadena del polímero y la naturaleza no específica de los radicales libres los convierte en una ruta sintética importante para una amplia gama de compuestos poliméricos (Patra et al., 2022).

La polimerización implica la adición de radicales libres al doble enlace del monómero y se lleva a cabo mediante tres etapas bien diferenciadas: iniciación, propagación y terminación. La primera es la creación del centro activo del radical libre mediante la formación de radicales libres a partir del iniciador, y el segundo es la adición de uno de estos radicales libres a una molécula de monómero. En la etapa de propagación se van añadiendo moléculas de monómero al monómero radical formado en la etapa de la iniciación y la cadena va creciendo. Y, por último, en la etapa de terminación, el crecimiento de la cadena del polímero llega a su fin. Los dos mecanismos más comunes de la terminación implican la reacción biomolecular de las cadenas crecientes del polímero. La combinación involucra el acoplamiento de dos cadenas crecientes para formar una sola molécula de polímero (López, 2004).

4.6.2. Homopolímeros y copolímeros

Los materiales poliméricos derivados de un solo monómero (homopolímero) presentan una amplia variedad de propiedades y aplicaciones, sin embargo, sí se sintetizan polímeros que incorporen dos o más tipos de monómeros (copolímeros), en numerosos casos se pueden obtener mejores propiedades que las presentadas por los homopolímeros correspondientes por separado. Un copolímero corresponde a la unión de dos o más tipos de monómeros en la misma macromolécula. En este tipo de macromoléculas es posible distinguir tres grandes subtipos de acuerdo con la naturaleza de sus unidades monoméricas y de cómo estas se distribuyen a lo

largo de las cadenas macromoleculares. Por ejemplo, en los copolímeros alternantes, las unidades monoméricas se encuentran dispuestas en forma alternada y periódica en la estructura. En los aleatorios, las unidades monoméricas carecen de un orden o secuencia específica. Finalmente, en los copolímeros en bloque, las cadenas poliméricas están constituidas por dos o más subunidades homopoliméricas unidas a través de enlaces covalentes (Araneda Reyes, 2015). En general, cuando se desconoce el ordenamiento de las unidades, una forma de representar un copolímero, tomando como ejemplo a las unidades monoméricas A y B, es: *poli(A-co-B)*. Por otro lado, existen los copolímeros de injerto, en los cuales las cadenas laterales están formadas por monómeros diferentes a los que conforman la cadena principal. Este tipo de copolímero requiere de condiciones especiales de reacción para lograr formarlos.

4.6.3. *N*-isopropilacrilamida

La *N*-isopropilacrilamida (NIPAAm), ha sido de gran interés en las últimas décadas, ya que debido a su carácter vinílico produce, a través de distintos métodos, el polímero de cadena principal saturada denominado poli(*N*-isopropilacrilamida). En la **Figura 4** se muestra la estructura química del monómero NIPAAm y del polímero lineal de poli-(NIPAAm) (o PNIPAAm). Este polímero posee propiedades particulares que resultan adecuadas para su aplicación en el área de la biomedicina. La importancia de este polímero radica en su comportamiento térmico característico en disolución acuosa. Presenta una temperatura de disolución crítica más baja (LCST, por sus siglas en inglés). Esto lo ha convertido en uno de los más usados dentro de los polímeros que poseen “solubilidad inversa” frente al calentamiento, es decir, una propiedad contraria al comportamiento de la mayoría de los polímeros en solución a presión atmosférica y temperatura ambiente (Albañil, 2019). En ese sentido, PNIPAM es un polímero termosensible soluble en agua que tiene la propiedad de formar hidrogeles. Los hidrogeles de PNIPAAm tienen una baja temperatura de transición crítica (LCST de 32 °C aproximadamente). Tal como los hidrogeles termosensibles típicos, los hidrogeles de PNIPAAm exhiben un drástico cambio en volumen al alcanzar su LCST debido a la polaridad de sus moléculas. En otras palabras, los geles termosensibles forman una sola fase con el agua hinchándose por debajo de su LCST, mientras que arriba de esta temperatura colapsan (deshinchan) para formar fases separadas.

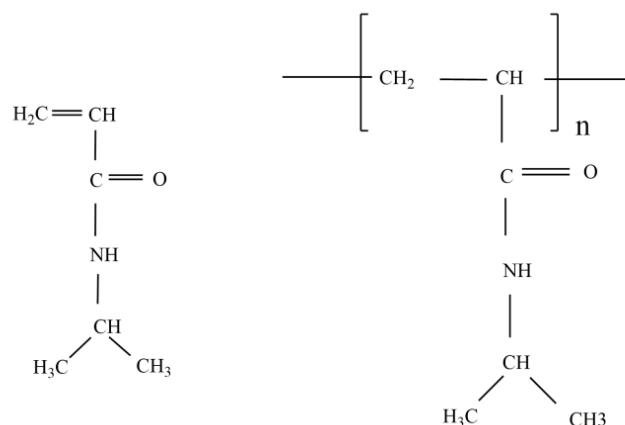


Figura 4. Estructuras químicas del monómero NIPAAm y del polímero lineal de PNIPAAm.
Fuente: Albañil, 2019.

Algunos de los primeros trabajos con hidrogeles PNIPAAm fueron realizados por Dong y Hoffmann (1986). Ellos inmovilizaron una enzima en hidrogeles de copolímero de NIPAAm y acrilamida (AAm), y observaron un máximo en la actividad específica de la enzima en cada hidrogel a medida que aumentaba la temperatura. Llegaron a la conclusión de que, por encima del máximo, el gel colapsaba a medida que se superaba la LCST del copolímero, y el colapso bloqueaba la difusión del sustrato hacia el interior y el producto del gel. A medida que aumentaba la proporción de AAm/NIPAAm, el máximo se desplazó a temperaturas más altas debido al aumento de la hidrofiliidad, lo que provocó un aumento en la LCST del hidrogel de copolímero. Lo más interesante fue el hecho de que las curvas eran reversibles hasta el máximo alcanzado para la mayor relación AAm/NIPAAm; por encima de esa LCST, la enzima se desnaturalizó debido a la alta temperatura (Peppas & Hoffman, 2020).

4.6.4. *N*-vinilpirrolidona

La *N*-vinilpirrolidona (NVP) es el monómero base del poli(*N*-vinilpirrolidona) (PVP). El PVP es un polímero con un amplio número de aplicaciones. Una de las propiedades más importantes de este material, que está relacionada con un buen número de sus aplicaciones, es su anfifilia, la cual lo hace que sea soluble en disolventes tanto polares como apolares, usándose también como surfactante polimérico. Dicha anfifilia es debida al balance de grupos hidrofílicos e hidrofóbicos de su estructura. Con relación a la solubilidad en agua, la PVP pertenece a una exclusiva familia de polímeros neutros solubles en este medio y de gran interés biomédico (Prado, 2016).

La estructura química del NVP y su homopolímero PVP se representan en la **Figura 5**. En esta la unidad repetitiva muestra un ciclo altamente polar con un grupo lactama (amida cíclica) capaz de formar interacciones de tipo puente de hidrógeno. El resto de la estructura está

formada por grupos metilos y metilenos, que le confieren carácter no polar, altamente hidrófobo. Este monómero es soluble en un amplio intervalo de disolventes poco polares y no polares, entre los que se incluyen como ejemplos cloroformo, metanol y cloruro de metileno (Verduzco, 2012).

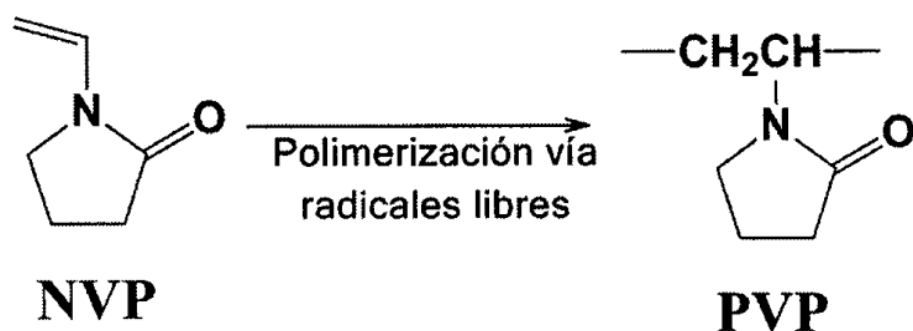


Figura 5. Estructura química de la N-vinilpirrolidona y su homopolímero poli (vinilpirrolidona) o PVP. Fuente: Verduzco 2012).

En investigaciones y estudios consultados se demuestra que la inclusión del monómero NVP en un polímero basado en acrilamida, eleva notablemente su resistencia y estabilidad térmica bajo entornos salinos abundantes en cationes divalentes, lo cual expresa claramente que además de incrementar la resistencia térmica, la NVP también previene la hidrólisis del polímero (Thomas, 2013).

4.7. Hidrogeles

Los hidrogeles son redes de polímeros reticulados tridimensionales (3D), que pueden absorber y retener gran cantidad de agua (Wang et al., 2020). Los hidrogeles han recibido una atención significativa debido a su alto contenido de agua y potencial relacionado para muchas aplicaciones biomédicas. Los hidrogeles son estructuras poliméricas que se mantienen unidas como geles hinchados con agua mediante: (1) enlaces cruzados covalentes primarios; (2) fuerzas iónicas; (3) enlaces de hidrógeno; (4) interacciones de afinidad; (5) interacciones hidrofóbicas; (6) cristalitos poliméricos; (7) enredos físicos de cadenas poliméricas individuales; o (8) una combinación de dos o más de las interacciones anteriores Peppas & Hoffman, 2020). Los primeros trabajos sobre hidrogeles se iniciaron a mediados de la década de 1930, principalmente en Alemania, con estudios sobre la cinética de polímeros reticulados. En la **Figura 6** se puede observar, de una forma esquemática, la síntesis de hidrogeles por polimerización por radicales libres y la formación simultánea de reacciones de entrecruzamiento. Con relación a esto, en la década de 1940, la investigación del premio Nobel, Paul Flory, condujo a una comprensión detallada y fundamental de la estructura entrecruzada de los hidrogeles, sus características de hinchazón/sinéresis y el comportamiento de deformación pequeña y grande en agua pura y fluidos fisiológicos. El libro pionero de Andrade (1976), dio a conocer algunos de los primeros trabajos que estaban disponibles antes

de 1975. Desde entonces, numerosas revisiones y varios libros han abordado la preparación, estructura, caracterización y aplicaciones de hidrogeles (Peppas & Hoffman, 2020).

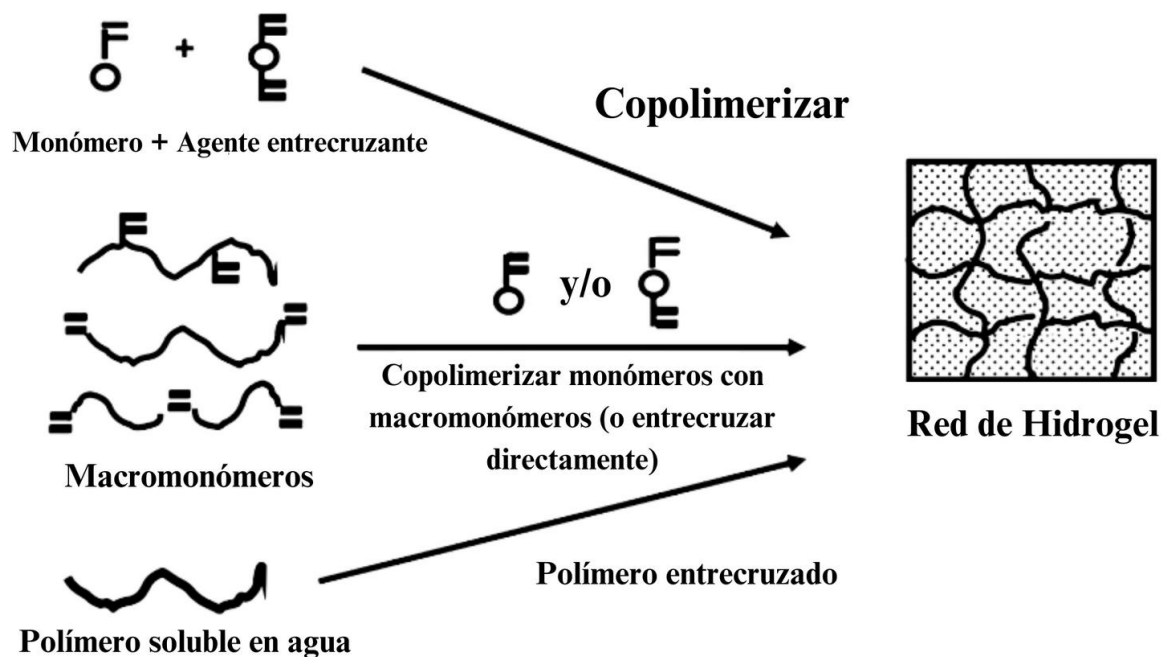


Figura 6. Representación esquemática de la síntesis de hidrogeles por polimerización por radicales libres y reacciones de entrecruzamiento. (Adaptada de Peppas y Hoffman, 2020).

El grado de entrecruzamiento de los hidrogeles determina propiedades tan importantes como la solubilidad del hidrogel, el grado de hinchamiento, el tamaño de poro del material, el área total superficial, así como la resistencia mecánica del polímero (Akelah y Moet, 1990). Para obtener las propiedades del hidrogel tal cual se desea sintetizar es imprescindible emplear en la reacción el agente entrecruzante adecuado, dicha adecuación dependerá fundamentalmente del tipo de monómero base (Albañil, 2019).

Los hidrogeles suelen presentar un comportamiento de hinchamiento que depende del entorno externo. Durante los últimos 30 años ha habido un interés significativo en el desarrollo y análisis de hidrogeles sensibles al ambiente. Estos tipos de geles muestran cambios grandes y significativos en su proporción de hinchamiento debido a pequeños cambios en las condiciones ambientales, como pH, temperatura, fuerza iónica, naturaleza y composición del agente de hinchamiento (incluidos los solutos de afinidad), luz (visible frente a UV), y estímulos eléctricos y magnéticos (Yoshida & Okano, 2010).

4.7.1. Hinchamiento

Uno de los factores más importantes que influyen al hinchamiento de los hidrogeles es el grado de entrecruzamiento, y se define como la relación que existe entre los moles de agente entrecruzante y los de las unidades repetidas de monómero (Albañil, 2019). Un alto grado de

entrecruzamiento indica mayor cantidad de agente entrecruzante incorporado en la estructura del hidrogel.

Los hidrogeles muy entrecruzados poseen una estructura más compacta, por lo tanto, la capacidad de hinchamiento es mucho menor en comparación con el mismo hidrogel con menor grado de entrecruzamiento. El entrecruzamiento dificulta la movilidad de las cadenas de polímero, disminuyendo así el hinchamiento. Dicho en otras palabras, a mayor grado de hinchamiento, menor tamaño de poro de la malla que conforma el hidrogel, por lo tanto, menor capacidad para retener moléculas de agua o soluciones acuosas entre sus cadenas moleculares. La estructura molecular del polímero también puede afectar al hinchamiento. Los hidrogeles que contienen grupos hidrófilos en su estructura se hinchan en mayor grado que aquellos que contienen grupos hidrófobos, estos grupos colapsan en presencia de agua, minimizando su interacción con las moléculas de la misma y dando como resultado hidrogeles mucho menos hinchados (Albañil, 2019).

El porcentaje de hinchamiento es una variable relativamente medida y cuantificable de la ganancia de peso o volumen de los hidrogeles (Sievers et al., 2020). Si se mide el peso m de los hidrogeles y se calcula de la siguiente manera:

$$\%H = \frac{m_i - m_0}{m_0} \times 100 \quad \text{(Ecuación 2)}$$

Donde m_0 es el peso inicial del hidrogel antes del hinchamiento y m_i es el peso del hidrogel hinchado.

4.8. Trabajos recientes sobre la detección de PFOA

En el 2018 se publicó un trabajo donde se presentó una herramienta de monitoreo colorimétrico basado en una aplicación para teléfonos inteligentes para lograr la detección de tensioactivos aniónicos, incluidos PFOA/PFOS. Para evitar la interferencia derivada de aniones inorgánicos (como los que se encuentran en el agua del grifo y agua subterránea), la muestra de agua se trata previamente mediante extracción en fase sólida (SPE) con un LOD de 0.5 ppb (duración de 3 horas) o mediante extracción en fase líquida dual (dual-LPE) con un LOD de 10 ppb (duración de 5 minutos) (Fang et al., 2018). El agua para monitorear en dicho trabajo fue la proveniente de acueducto, siendo alimentada en parte por agua subterránea. Lo anterior hacía que el líquido presentara un contenido alto de multicomponentes, en su mayoría iones y partículas en suspensión, que podrían interaccionar con el colorante elegido. Por ello, dicha metodología requirió de extracción dual en fase líquida, incrementando así el costo y complejidad de la aplicación de esta idea.

En ese mismo año en un artículo realizado por Cennamo y colaboradores (Cennamo et al., 2018), se presentó un polímero molecularmente impreso (MIP, por sus siglas en inglés) capaz de unir compuestos perfluorados, combinado con una plataforma de fibra óptica de resonancia de plasmón superficial. El receptor MIP se depositó en una fibra óptica de plástico cubierta con una capa fotorresistente y una fina película de oro. Los resultados experimentales demostraron que el sensor desarrollado permite detectar selectivamente los compuestos mencionados. Este sistema de sensor óptico químico es selectivo y capaz de detectar concentraciones muy bajas de PFAs, con un LOD de hasta 0,13-0,15 ppb. Dicho dispositivo presenta las ventajas clásicas de los receptores MIP: bajo coste y muy buena reproducibilidad, mejor estabilidad fuera del entorno nativo y la posibilidad de depositarlo directamente en la superficie de oro, sin modificar la propia superficie. En otro estudio publicado en el del 2017 también se utilizaron los MIP llevando a cabo un método novedoso para la síntesis de polímeros impresos molecularmente (MIP), utilizando ácido 2-(trifluorometil) acrílico y 4-vinilpiridina como monómeros funcionales binarios (Cao et al., 2017). Los MIP preparados son adsorbentes potenciales para la eliminación selectiva de PFOA y PFOS en medio acuoso. Las capacidades de adsorción de los MIP para PFOA y PFOS fue de 6.42 y 6.27 mg/g, respectivamente. No obstante, la técnica de impresión molecular requiere que la síntesis del polímero se realice en la presencia de las moléculas que se quiere detectar (Haupt et al., 2020). Luego, una vez formado el polímero, dichas moléculas deben ser retiradas para dar paso a las nuevas moléculas que se quieren detectar. Esto conlleva a la paradoja de que la fabricación de un dispositivo MIP generaría, en principio, desechos ricos en PFOA o PFOS, resultando así en una estrategia que va en contraposición a los intereses mundiales de reducir la presencia de este contaminante en el ambiente. Por otro lado, la estrategia MIP también podría aplicarse para el desarrollo de biodispositivos de detección. En esos casos, el polímero debe fabricarse sobre componentes biológicos, como la albúmina, por ejemplo. Para este problema específico, se ha reportado en la literatura que el daño que generan los PFAs en los humanos se debe principalmente a la fuerte unión con esta proteína (Fortsthuber et al., 2020; Merzougui et al., 2020; Jain & Ducatman 2019). Dicha unión genera un cambio estructural en la albúmina, por lo que un complejo formado por el sistema proteína-PFA, al ser moldeado previamente con MIP, podría ser detectado. Sin embargo, el uso de proteínas aumenta el costo de fabricación del material, y el uso de PFA para que actúe como molde por medio del complejo proteína-PFA, hace que se generen desechos del contaminante que se quiere detectar posteriormente, pues se tiene que eliminar de la matriz polimérica antes de su uso.

En un estudio reciente, se presentó un sensor "conmutable" a base de marcos organometálicos (MOF), contruidos mediante procesos de autoensamblaje, que muestra una fuerte señal intensidad de la fotoluminiscencia (PL) de encendido y apagado cuando se expone a aniones F^- y PFOA (Yin et al., 2021). Sus límites de detección para iones F^- y PFOA son $1.3 \mu g L^{-1}$ y $19 \mu g L^{-1}$, respectivamente, lo que indica una alta sensibilidad hacia ambas especies químicas. No obstante, esta técnica presenta limitaciones en la selectividad de la molécula a identificar, en caso tal de que la muestra a analizar contenga mezclas de PFAs.

En un trabajo del 2016 se utilizó la técnica SERS (dispersión Raman mejorada en la superficie) para la detección de fluorosurfactantes (FS), al aumentar su afinidad de carga y potenciar su

actividad Raman (Fang et al., 2016). Para aumentar la afinidad de carga de FS, se introdujo un tinte catiónico, el cual fue violeta de metilo, o también llamado cristal violeta, en la solución acuosa de incubación para coprecipitar el FS en la superficie del sustrato SERS, formando un par iónico inmiscible (tinte-FS), el cual tuvo una mayor intensidad de la señal SERS en comparación a la del FS solo. Lo anterior debido a que la actividad Raman fue mucho más alta en el tinte que en FS. Se compararon dos tipos de sustrato SERS elaborados a partir de una superficie de plata estampada (Ag) y una membrana de óxido de grafeno (GO). Los resultados de esta investigación indicaron que la unión colorante-análito-superficie SERS mejoró la señal Raman, mientras que la unión colorante-análito-GO aumentó la afinidad de carga del par de iones, debido a la contribución de la superficie hidrofóbica del GO. Por lo tanto, en dicho trabajo trataron de introducir nanopartículas de plata (AgNP) en la solución de incubación (así como en el tinte) para coprecipitar FS en la superficie GO, a través de un ensamblaje de tinte-FS-AgNP-GO. Al utilizar se ensamblaje, lograron detectar con éxito FS, entre los cuales se encuentran: el PFOA con un LOD de 50 ppb (120 nM). Sin embargo, este procedimiento implica que cada sustancia se debe medir por separado, y que, por lo tanto, en un líquido conteniendo una mezcla de estos contaminantes, la medición no sería específica y, en consecuencia, la contribución de cada componente en la mezcla sería indeterminada.

5. JUSTIFICACIÓN

La frecuencia con la que se presentan los PFAS en el ambiente ha ido en aumento, a tal grado que se estima que, en Estados Unidos de América, 200 millones de habitantes, siendo estas dos terceras partes de la población total del país, consumen agua potable con presencia de PFAS suministrada por el estado (Cordner et al., 2021). Diversos estudios han demostrado los efectos adversos en la salud provocados por la exposición a los PFAS. Uno de ellos, fue publicado en mayo del 2021 por la Agencia para Sustancias Tóxicas y el registro de Enfermedades (ATSDR, 2021). Este da a conocer los efectos en la salud derivados de la exposición a PFAS (predominando los PFOA y PFOS), demostrando su impacto a nivel hepático, cardiovascular, inmunológico y reproductivo. Además, da a conocer los gastos anuales como resultado de la atención médica por afecciones provocadas por PFAS. Se estima que varía de entre 52 a 84 mil millones de euros (ATSDR, 2021).

Se ha resaltado también que dentro de las técnicas actualmente utilizadas para la detección de PFAS se encuentran HPLC y GC, acopladas a la técnica MS. Aunque HPLC-MS y GC-MS ofrecen alta sensibilidad y selectividad, consumen mucho tiempo y trabajo intensivo, y requieren procesos de pretratamiento como la extracción en fase sólida y la extracción líquido-líquido. HPLC-MS y GC-MS también son caros y no portátiles para la detección “*in situ*” en tiempo real de estos productos químicos peligrosos. Por ello, es necesario el desarrollo de técnicas complementarias que ofrezcan un rendimiento de detección comparable al de HPLC y GC, pero con simplicidad operativa, portabilidad y asequibilidad.

La espectroscopia de dispersión Raman de superficie mejorada (del inglés SERS) es una de las técnicas analíticas más prometedoras, y por tanto, ha recibido un interés creciente en las últimas décadas. SERS permite el análisis de pequeñas cantidades de moléculas o hasta de una sola, utilizando las llamadas “huellas dactilares” a nivel molecular. Además de su alta sensibilidad, SERS hereda las ventajas de la espectroscopia Raman como la naturaleza analítica química, no destructiva y sin etiquetas. Gracias a estos atributos, SERS ha atraído la atención de las comunidades de investigación y las últimas cuatro décadas han visto un aumento dramático en su aplicabilidad (Pérez et. al., 2020).

Es por ello que en este trabajo se busca desarrollar una alternativa de detección de PFOA basada en la técnica de SERS, debido a que su uso práctico y accesibilidad, en comparación con las técnicas ya mencionadas, permiten una detección más rentable. Este tipo de detección se hace necesaria por las alertas que los PFAS están generando sobre la salud pública y ambiental. Por otro lado, el uso de matrices poliméricas termosensibles para el diseño y desarrollo de sistemas SERS, confiere la posibilidad de que cada PFA presente una interacción diferenciadora con las cadenas del polímero, en dependencia de la temperatura del medio, logrando con ello, el desarrollo de materiales con respuesta específica hacia la molécula a detectar.

6. HIPÓTESIS

Los hidrogeles de poli(NIPAAm-co-NVP) sintetizados en presencia de AuNPs conformarán un nanocomposito termosensible con la capacidad de hincharse en agua y absorber moléculas como MBA y PFOA, para lograr realizar ensayos de detección por la técnica SERS.

7. OBJETIVO

Sintetizar nanocompositos termosensibles conformados por nanopartículas de oro (AuNPs) dispersadas de forma homogénea en hidrogeles de poli(NIPAAm-co-NVP), para evaluar la capacidad de absorción de MBA y PFOA, así como su respuesta de detección por medio de la técnica SERS.

8. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar AuNPs (~ 15 nm) por medio del método Turkevich a partir de ácido cloroáurico (HAuCl_4) y citrato de sodio como precursores de reacción, y Tween 20 como agente surfactante.
- Caracterizar las AuNPs con Espectroscopia UV-Visible y Microscopía de transmisión electrónica (TEM).
- Sintetizar hidrogeles por polimerización radicalaria de una mezcla de monómeros NIPAAm y NVP, usando N,N'-metilenbisacrilamida (BIS) como agente entrecruzante.
- Sintetizar hidrogeles de NIPAAm-NVP, en la presencia de una dispersión de AuNPs, para formar nanocompositos, variando la proporción de AuNPs en el medio.
- Sintetizar hidrogeles y nanocompositos de NIPAAm, para fines comparativos.
- Realizar los estudios de hinchamiento de los hidrogeles y nanocompositos a diferentes tiempos y temperaturas.
- Caracterizar los materiales por medio de espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS), TEM, difracción de rayos X (XRD) y análisis termogravimétrico (TGA), para determinar su composición química, morfología, arreglos cristalinos, y propiedades térmicas.
- Evaluar la respuesta SERS de los nanocompositos, usando ácido mercaptobenzoico (4-MBA) como molécula de referencia.
- Determinar la capacidad de absorción de PFOA en los materiales propuestos, mediante el hinchamiento de dichos polímeros en disoluciones acuosas de PFOA.
- Determinar la respuesta SERS de los nanocompositos propuestos para lograr detectar PFOA en agua.

9. METODOLOGÍA

9.1. *Materiales*

Los precursores químicos utilizados en este trabajo fueron adquiridas desde Sigma-Aldrich, México: N-isopropilacrilamida (NIPAAm, 97%) N-vinilpirrolidona (NVP, $\geq 99\%$, con hidróxido de sodio como inhibidor), N,N'-metilenbisacrilamida (BIS, $\sim 99\%$), N,N,N',N'-tetrametiletilendiamina (TEMED, 99%), persulfato de amonio (APS $\geq 98\%$), ácido clorhídrico (HAuCl_4 , 99.995%), citrato de sodio, Tween-20 (T20), ácido 4-mercaptobenzoico (4MBA), ácido perfluorooctanoico (PFOA; 95%), hexano (C_6H_{14} , 95%, SKU: 296090-1L) y tolueno (C_7H_8 , 99.5%, No. CAS:108-88-3).

También se utilizó argón de ultra alta pureza. Agua desionizada con resistividad de $18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$, usada para todos los experimentos.

Se utilizó un horno de secado al vacío, instrumentación volumétrica de vidrio, lámpara de calor (150 Watts), membranas de celulosa, tubos de ensayo, un equipo de corte rotativo Dremel, un baño termostático (Lindberg blue M) y los equipos de caracterización especificados en la sección 9.5.

9.2. *Síntesis y funcionalización de nanopartículas de Au*

Se preparó una disolución acuosa de HAuCl_4 con una concentración de 10 mM. Posteriormente se extrajo 2.5 mL de la solución madre de HAuCl_4 y se agregó en un matraz Erlenmeyer con 47.5 mL de agua desionizada para obtener 50 mL de una solución a 0.5 mM de HAuCl_4 . En seguida, la solución precursora se colocó en una placa calefactora hasta superar los 90°C . Cuando se alcanzó la temperatura se agregó 2.5 mL de disolución de citrato de sodio 1.6 mM. La solución se mantuvo bajo agitación hasta tornarse color rojo oscuro. Se retiró la solución de la placa calefactora y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Las nanopartículas de oro sintetizadas se sometieron a un proceso de lavado, utilizando la centrifugación (1000 rpm durante 20 min) y la dispersión por repetidas ocasiones. En el proceso de dispersión se utilizó una solución de citrato de sodio con una concentración de 2.2 mM, con el objetivo de estabilizar las nanopartículas de oro. En la **Figura 5**, se puede observar un esquema que resume este procedimiento.

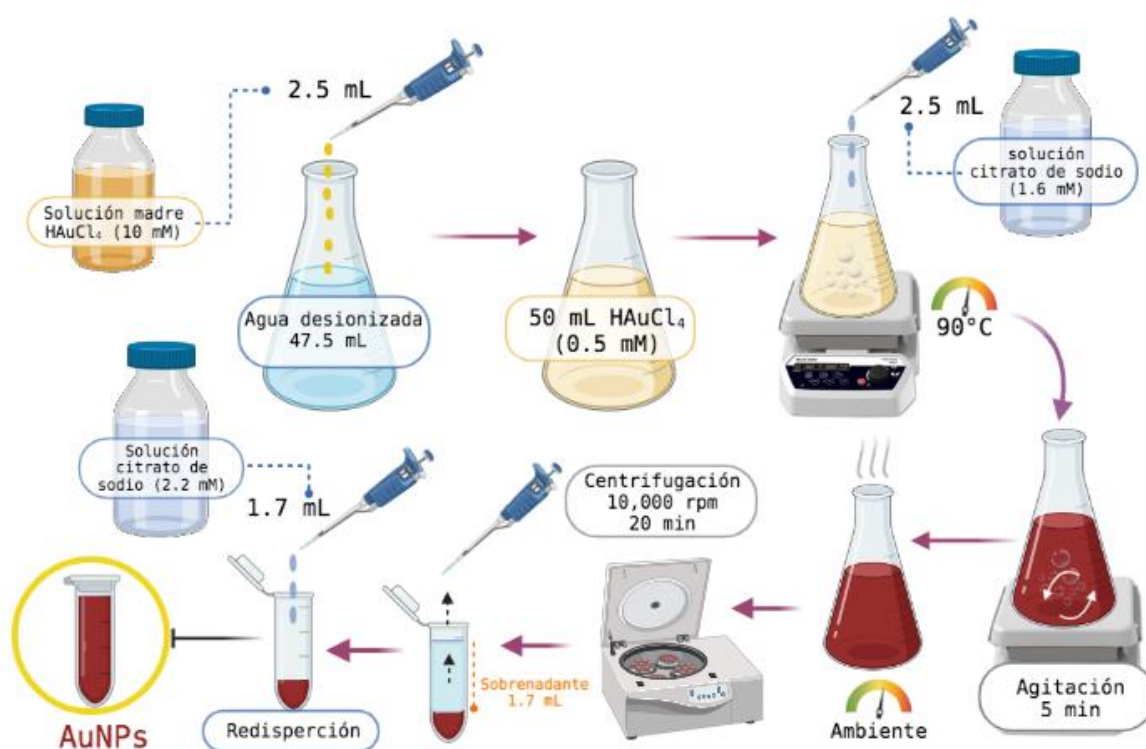


Figura 7. Esquema del procedimiento experimental seguido para la síntesis de AuNPs.

Para la estabilización de las AuNPs se usó T20, siguiendo el protocolo reportado por Jáuregui (2021). Para ello, se tomaron 50 mL de la dispersión de AuNPs para ser adicionadas a 50 mL de solución T20 a 2 mg/mL. La mezcla se expuso a agitación moderada durante 30 minutos, con el objetivo de fisorber la molécula T20 en las AuNPs. Basados en el método reportado por Scarabelli et. al., (2015), se calculó la concentración de Au con estado de oxidación cero (Au^0) presente en la dispersión de AuNPs/T20, arrojando un resultado de $\text{Au}^0 = 0.2 \text{ mM}$. A esta se le denominó dispersión madre.

Para la obtención de una dispersión más concentrada de AuNPs, se distribuyó el contenido de la dispersión madre de AuNPs/T20 [$\text{Au}^0 = 0.2 \text{ mM}$] en varios tubos eppendorf de 2mL (**Fig. 6.a**). Luego, todos los tubos fueron centrifugados por 20 min a 10000 rpm (**Fig. 6.b**). Después, a cada tubo se le retiró 1.8 mL del sobrenadante (**Fig. 6.c**), quedando un remanente de 0.2 mL en el tubo, el cual correspondía a toda la fase insoluble de las AuNPs/T20 dispersadas en dicho volumen (**Fig. 6.d**). Finalmente, el contenido de todos los tubos fue mezclado en un matraz erlenmeyer (**Fig. 6.e**). Aplicando el método reportado por Scarabelli et. al. (2015), se estimó que esta nueva dispersión era de $\text{Au}^0 = 1.8 \text{ mM}$.

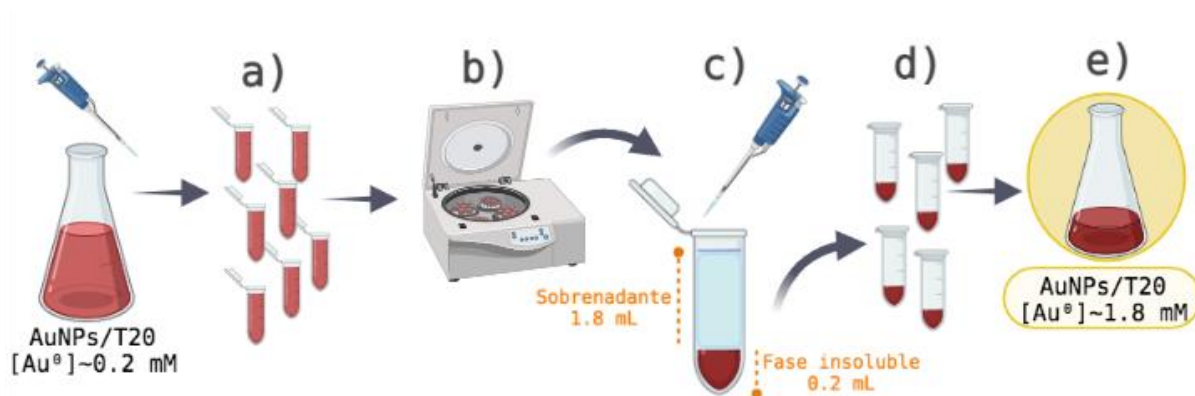


Figura 8. Representación esquemática del proceso de preparación de la dispersión de AuNPs con $[Au^0] = 1.8 \text{ mM}$, a partir de la dispersión madre con $[Au^0] = 0.2 \text{ mM}$.

9.3. Síntesis hidrogeles

9.3.1. Purificación del monómero NIPAAm

La purificación del monómero NIPAAm se llevó a cabo por el método de recristalización. Para ello, 25 g de NIPAAm se adicionaron a 175 mL de una disolución de hexano/tolueno 50:50 (v/v). La mezcla se calentó sin exceder la temperatura de 30°C , bajo agitación magnética constante, hasta la disolución completa del NIPAAm. Luego, la mezcla fue filtrada a presión reducida usando membranas de celulosa para eliminar impurezas sólidas. El líquido filtrado se colocó a 0°C durante 24 horas para recristalizar el NIPAAm. El sólido formado fue recuperado por filtración con membrana y a presión reducida, para luego secarlo en una estufa de vacío durante 48 horas. El NIPAAm purificado se almacenó para su posterior uso, usando para ello un recipiente de vidrio capaz de evitar el contacto permanente del monómero con la luz.

9.3.2. Síntesis de hidrogeles y nanocompositos

El método para la síntesis de los hidrogeles y nanocompositos fue adaptado desde el procedimiento reportado por Maheswari et al., (2014). Los materiales fueron sintetizados en tubos de ensayo de 20 mL. Las proporciones de NIPAAm/NVP utilizadas para un volumen total de 15 mL se muestran en la **Tabla 2**. El volumen utilizado de la dispersión de AuNPs con $[Au^0] = 1.8\text{mM}$ para la preparación de nanocompositos con concentración baja (-B), media (-M) y alta (-A), también es mostrado en la **Tabla 2**. Todas las mezclas fueron preparadas usando agua desionizada como disolvente.

Tabla 2. Relaciones molares de NIPAAm/NVP y volumen usado de dispersión de AuNP con $[Au^0] = 1.8mM$ para preparar un volumen total de mezcla de reacción de 15 mL.

<i>Código de muestra</i>	<i>NIPAAm (M)</i>	<i>NVP (M)</i>	<i>Volumen de dispersión de AuNPs con $[Au^0] = 1.8mM$ (mL)</i>
PN	0.777	0	0
PN-Au _M	0.777	0	1.50
P(N-V)	0.700	0.415	0
P(N-V)-Au _B	0.700	0.415	0.30
P(N-V)-Au _M	0.700	0.415	1.50
P(N-V)-Au _A	0.700	0.415	3.00

Fuente: elaboración propia.

La concentración de agente entrecruzante (BIS) usada para todos los materiales fue de 1% (p/p) con respecto a la cantidad total, en gramos, de los monómeros NIPAAm y NVP presentes en el medio de reacción. Las mezclas fueron realizadas en tubos de ensayo de 20 mL. Cada contenido se colocó en burbujeo con gas argón por 10 minutos para eliminar el oxígeno disuelto. La polimerización fue estimulada por radicales libres, por lo tanto, a cada medio de reacción se agregaron 105 μL de APS como iniciador y 15 μL de TEMED como acelerador. Después de esto se burbujeó por otros 5 segundos y se procedió a sellar el tubo con tapones de caucho bajo presión, para reducir la entrada de oxígeno al medio. Cada tubo de ensayo se colocó en un baño maría a 30°C por 16 horas. Finalizado dicho tiempo, los polímeros fueron extraídos desde los tubos, realizando un corte transversal sobre el tubo con la ayuda de una herramienta de corte rotatorio. Debido a que el polímero adquiere la forma del recipiente de reacción, los polímeros extraídos fueron cortados de forma transversal con un escalpelo, para formar cilindros de aproximadamente 1.5 cm de grosor. Luego, todas las piezas de polímero fueron lavadas en agua desionizada, realizando sustitución del medio líquido cada 3 horas durante las primeras 12 horas, y cada 6 horas durante 4 días posteriores. La duración de este proceso de lavado fue optimizada hasta asegurarse de la ausencia de monómero residual en el polímero sintetizado, lo cual fue evaluado por medio de espectrometría UV-Vis. Los hidrogeles y nanocompuestos fueron extraídos del agua y se colocaron a secar exponiéndolos bajo una lámpara de calor (45 °C). El proceso de secado se completó colocando los materiales en una estufa de vacío a 40 °C por 24 horas, asegurándose de que el peso del polímero seco alcanzara un valor constante. Finalmente, cada cilindro fue lijado hasta formar pastillas con superficies

uniformes y pesos similares para cada serie de materiales sintetizados (diámetros promedio de 1 cm y espesor de 2 mm). Cada pastilla fue almacenada y rotulada según los códigos asignados en la **Tabla 2**, para su posterior uso y análisis.

9.4. Estudios de hinchamiento

El proceso de hinchamiento se realizó en agua destilada a 25 °C, utilizando un baño térmico calibrado a 25 °C. Los polímeros fueron colocados en recipientes de vidrio con aproximadamente 25 mL de agua. Se registró el peso de los polímeros a los siguientes tiempos: 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 y 360 min. Enseguida, se registraron los pesos al completar las 7, 8, 24, 28, 32, 48, 52, 56, 72, 76 y 78 horas de estudio. Se llevó a cabo este procedimiento por duplicado para cada tipo de muestra (**Tabla 2**). Los porcentajes de hinchamiento fueron evaluados por medio de la siguiente ecuación:

$$\text{Hinchamiento (\%)} = \left(\frac{W_f - W_0}{W_0} \right) \times 100 \quad \text{(Ecuación 3)}$$

donde W_f es el peso del hidrogel hinchado y W_0 es el peso del hidrogel en su estado seco.

9.4.1. Determinación de LCST por hinchamiento

En este estudio se colocaron las muestras previamente hinchadas hasta su valor límite (hasta alcanzar 48 h de hinchamiento) en 25 mL de agua, en un baño térmico estabilizado a 5 °C. Luego, cada muestra fue transferida, cada 30 min, en el siguiente orden de temperaturas: 10, 15, 20, 25, 30, 32, 34, 36, 38, 40, 45 y 50 °C. En cada transferencia se registró el peso y se estimó el porcentaje de hinchamiento utilizando la **ecuación 3**. El experimento se realizó por duplicado para cada material.

Para tratamiento de los resultados, el valor promedio del intervalo de temperaturas a la cual se presenta un cambio considerable en el hinchamiento de los hidrogeles se consideró como el valor de la LCST.

En otro estudio, se determinó la LCST colocando las muestras evaluadas en la prueba anterior, a 50 °C, durante 48 h. En esta ocasión, las muestras fueron transferidas, cada una hora, en el siguiente orden de temperaturas: 45, 40, 38, 36, 34, 32, 30, 25, 20, 15, 10 y 5 °C. Los experimentos fueron realizados por duplicado, y la LCST fue calculada tal como se mencionó anteriormente.

9.5. Caracterización de AuNPs, hidrogeles y nanocompositos

La espectroscopía Ultravioleta-visible (UV-Vis) fue utilizada para correlacionar el tamaño de las AuNP en dependencia de su absorbancia, utilizando un espectrofotómetro Agilent Cary 60 UV-Vis, en un rango de 300-800 nm. La espectroscopía UV-vis también fue útil para evaluar la presencia de monómero residual durante los procesos de lavado de los hidrogeles y nanocompositos.

Las AuNPs, después de sintetizadas y funcionalizadas, se caracterizaron inmediatamente por espectroscopia UV-Visible, para medir la resonancia del plasmón de superficie localizado (LSPR), característico de cada sistema nanoestructurado. La morfología y tamaño de las nanopartículas se determinó con microscopía electrónica de transmisión (TEM) en el equipo JEOL JEM-2010, con filamento de LaB₆ y adquisición de imágenes digitales.

Los análisis de FTIR fueron realizados en un espectrofotómetro óptico Bruker GMBH tensor 27. Para este análisis la muestra se preparó en forma de pastillas, usando bromuro de potasio (KBr) como aglutinante y una prensa manual Specac, a una presión de 8 toneladas durante 2 minutos. La pastilla obtenida se analizó en un rango de 400-4000 cm⁻¹ en modo transmitancia. Para la evaluación del monómero NVP en su estado líquido, se utilizó una ventana de sodio. Los espectros fueron sometidos a una corrección de línea base, por medio del software OPUS instalado en el instrumento de medición.

La espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) se utilizó para evaluar la composición elemental de los materiales. Para esto se utilizó un equipo de Espectroscopía Fotoelectrónica de rayos X (XPS), mediante el equipo SPECS. Para los análisis se usó una presión de 1x10⁻⁹ Torr y se utilizó radiación Al K α a 200 W. El sistema de XPS está equipado con un analizador de electrones hemisférico modelo PHOIBOS 150 WAL y una fuente de rayos X modelo XCR 1000.

La caracterización de las fases cristalinas de las muestras se hizo a partir de medidas de Difracción de Rayos X (XRD) en un rango de 10 a 80° en la configuración 2 θ , usando radiación Cu K α , a una longitud de onda de 0.15406 nm, en un equipo Bruker D2 Phaser con un detector LYNXEYE.

La estabilidad térmica fue analizada en un equipo TGA Q50 TA Instruments, equipado con celda de alúmina. El análisis se efectuó en atmósfera de gas nitrógeno. El programa de calentamiento fue de 10 °C/min, desde temperatura ambiente (25 °C) hasta 700 °C. Los termogramas de DSC fueron obtenidos en el mismo instrumento de medición.

9.6. Carga de 4-MBA en los polímeros

Se llevaron a cabo pruebas de absorción de 4-MBA utilizando pastillas de hidrogel y nanocompuesto en su estado deshidratado. Cada pastilla fue sumergida en 25 mL de una disolución tampón ajustada a pH 10.0, conteniendo 4-MBA a una concentración de 10 mM, a una temperatura de 5 °C, durante un período de 72 horas. Posteriormente, se extrajo cada pastilla del medio y se procedió a su secado a una temperatura de 45 °C con la ayuda de una lámpara de calentamiento. Para esta serie de pruebas, se seleccionaron dos muestras diferentes: hidrogel de P(N-V) y nanocompuesto P(N-V)-Au_M.

Adicionalmente, se repitió el mismo procedimiento para otras dos muestras: P(N-V) y P(N-V)-Au_A, pero esta vez se utilizó una concentración reducida de 4-MBA, específicamente de 0.1 mM. En la **Figura 9** se muestra una representación esquemática del proceso de absorción de 4-MBA.

Las pruebas de absorción y el proceso de secado fueron realizados meticulosamente para cada una de las muestras mencionadas, asegurando la precisión y fiabilidad de los resultados obtenidos. Estas pruebas permitieron evaluar y comparar la capacidad de absorción de 4-MBA entre los distintos materiales, abriendo posibilidades de aplicación como sensores de detección

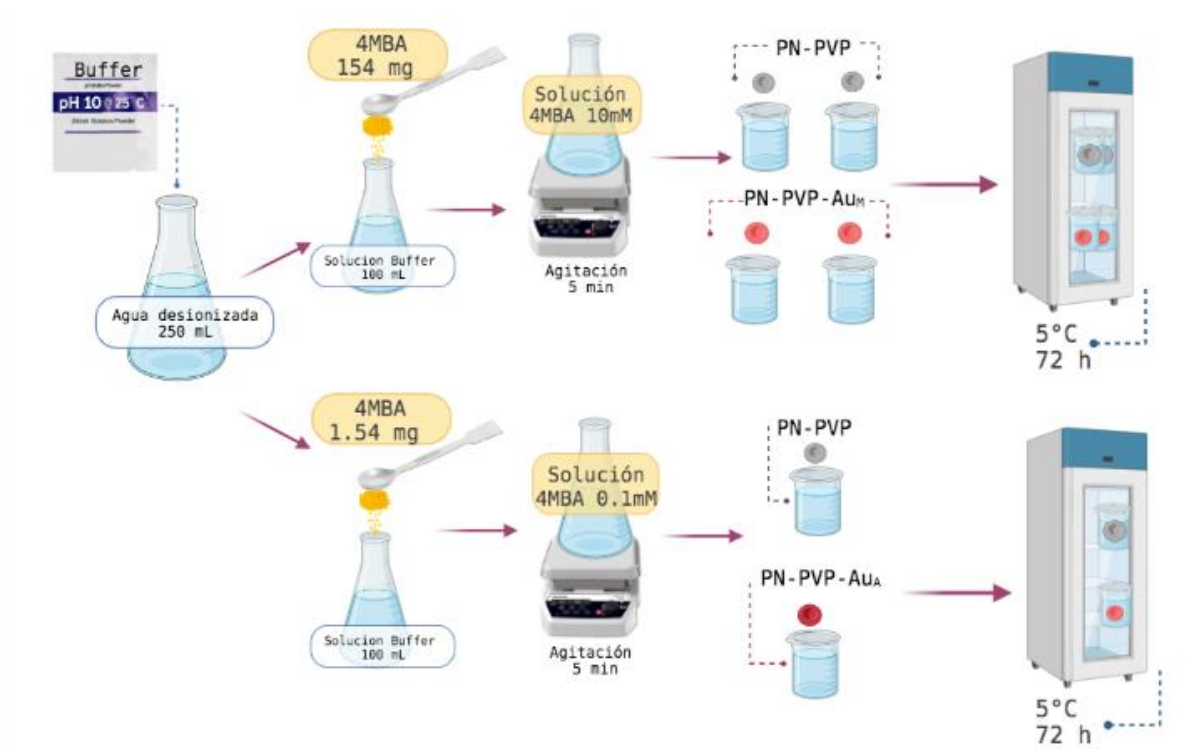


Figura 9. Representación esquemática del proceso de absorción de 4-MBA en las muestras de hidrogel y nanocompuestos seleccionadas.

9.7. Carga de PFOA en los polímeros

Para la preparación de disoluciones de PFOA se utilizaron recipientes de polipropileno, con el propósito de evitar la adhesión de este contaminante en los recipientes de vidrio. Para cargar PFOA en los polímeros, una pastilla seca de la muestra P(N-V)-Au_A se sumergió en 25 ml de una disolución de PFOA con una concentración de 200 ppm, durante un período de 22 horas. Este procedimiento fue repetido para otra muestra de P(N-V)-Au_A, pero a un tiempo de absorción de 5 h. Posteriormente, las muestras fueron retiradas del medio líquido y secadas en una estufa de vacío a 40 °C. Las muestras fueron rotuladas y almacenadas hasta su análisis.

Del medio líquido en el que se realizó la carga, se tomó 1 ml de cada muestra y se agregó por separado a 4 mL de una solución de cristal violeta con una concentración de 7×10^{-6} M. Después de transcurridas 24 horas, se midió la absorbancia de las disoluciones y se utilizó la curva de calibración del complejo CV-PFOA para estimar la concentración de PFOA presente en las muestras, y con ello, comprobar si el PFOA fue absorbido efectivamente en el nanocomposito.

9.8. Curva de calibración del complejo CV-PFOA por espectroscopía UV-Vis

Para estimar un posible cambio de concentración de PFOA en el medio de carga o absorción, se utilizó un método indirecto de medición UV-Vis, empleando el colorante cristal violeta (CV) para formar un complejo CV-PFOA como intermediario de medición, ya que el PFOA por sí solo no absorbe en la región UV-Vis. Por lo tanto, este experimento fue diseñado para determinar la disminución en el pico de absorbancia del CV, conforme se forma el complejo, una vez se adiciona una cantidad específica de PFOA. Para esto, se prepararon disoluciones madre de CV en el intervalo de concentración de 7×10^{-6} a 1×10^{-3} M, y se exploró su respuesta al interaccionar durante 20 h con una cantidad específica de PFOA. A partir de dichos resultados, se eligieron las concentraciones de CV de 1.3×10^{-5} M y 7×10^{-6} M para probar su respuesta con PFOA a diferentes concentraciones: 5, 10, 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. Las pruebas fueron realizadas tomando los volúmenes necesarios para preparar 5 mL totales de disolución. Este enfoque permitió evaluar la linealidad y determinar el rango de trabajo mediante la lectura de las absorbancias a 589 nm. Así, se eligió finalmente la disolución de CV con concentración de 7×10^{-6} M como referente, ya que presentó un comportamiento más lineal y reproducible.

Finalmente, se utilizaron dos muestras de los materiales P(N-V)-Au_A para explorar la absorción de PFOA. Estos fueron sumergidos en 25 mL de disolución acuosa de PFOA preparada en el laboratorio a una concentración de 200 ppm. Una muestra se retiró del medio al completar las 5 h, mientras que la otra se dejó hasta las 22 h. Los materiales se colocaron al proceso de

secado y se almacenaron para realizar posteriormente los análisis SERS, mientras que del medio líquido se tomó una alícuota de 1.0 mL para hacerlo interaccionar con la disolución referencia de CV a 7×10^{-6} M. Para comprobar si el PFOA fue absorbido por el material, se verificó que la absorbancia del CV del medio líquido fuese menor a la de la solución de referencia.

9.9. Medición en SERS

Los análisis se realizaron utilizando espectroscopia Raman mediante el método SERS en un equipo de alta precisión, el XploRA de HORIBA-Jobin Yvon, el cual estaba equipado con un microscopio Olympus BX41. El láser empleado tenía una longitud de onda de 638 nm, y se estableció un tiempo de integración de 5 segundos. El equipo estaba equipado con un número de rejillas de 1200, y se utilizó un rango de detección de 700 cm^{-1} a 1800 cm^{-1} .

Las muestras analizadas fueron evaluadas en su estado deshidratado, es decir, como xerogeles. Por lo tanto, previo a los análisis fueron lijadas hasta obtener un espesor delgado que facilitara su análisis. Este procedimiento permitió obtener información detallada sobre la composición y estructura de las muestras después de absorber 4-MBA o PFOA, brindando una visión clara sobre el rol del nanocomposito como material para detección de contaminantes.

10. RESULTADOS

10.1. AuNPs

En este trabajo de investigación se utilizó el método Turkevich para la síntesis de AuNPs. Si bien, se ha documentado que este método produce nanopartículas con un buen control de tamaño y unas propiedades de dispersión en medios líquidos sobresalientes, la naturaleza misma de estas nanopartículas hace que presenten una alta tendencia a la agregación irreversible. Por consiguiente, se prefirió utilizar el agente surfactante Tween-20 (T20) para conferir una mayor estabilidad a las AuNPs sintetizadas. Esto debido a que se ha comprobado que T20 actúa generando una capa protectora de oligo-(etilenglicol) sobre la superficie de la partícula, impactando con ello en la estabilidad de la dispersión (Godoy 2017; Jáuregui 2021). De esa manera, se buscó asegurar la conservación de las propiedades de las AuNPs bajo las condiciones de almacenamiento o al ser expuestas bajo condiciones de reacción con monómeros u otras sustancias químicas, durante la etapa de síntesis de nanocompositos.

Entre las observaciones a destacar durante la síntesis de las AuNPs se resalta que la dispersión obtenida presentó una coloración de tono rojo intenso. Se conoce que los cambios abruptos de color o tonalidad en esta dispersión son indicativos de una agregación del producto (Mao et al., 2020). No obstante, con la incorporación del T20, las dispersiones de AuNPs sintetizadas mantuvieron la coloración inicial, después de su almacenamiento. Esto demuestra que el sistema nanoestructurado permaneció estable durante el tiempo comprendido entre la síntesis de AuNPs y la síntesis de los nanocompositos.

Para la caracterización de las AuNPs, se usaron dos técnicas complementarias: espectroscopía UV-vis y la microscopía electrónica de transmisión (TEM). En la **Figura 10a** se muestra el espectro UV-Vis de las AuNPs sin funcionalizar y las que fueron estabilizadas con T20. La señal observada a aproximadamente 520 nm corresponde al efecto LSPR propio de la plata nanoparticulada, de acuerdo con lo reportado por Gutiérrez, 2008 y Botasini, 2021. Esta señal permite inferir el rango aproximado de tamaño de las partículas y el efecto producido sobre dicho tamaño tras la incorporación del agente surfactante T20. En ese sentido, las dos muestras analizadas de AuNPs presentan un patrón similar a las partículas de su tipo que presentan un tamaño en el rango de 10-20 nm. Sin embargo, la adición del T20 desplazó el máximo de absorción UV hacia valores mayores de longitud de onda, en dos unidades (de 519.98 nm a 521 nm) y redujo la intensidad de la señal. Este comportamiento revela que este agente surfactante modifica el tamaño de la doble capa eléctrica, y por tanto, el radio hidrodinámico de la partícula (Botasini, 2021), lo cual afecta su respuesta LSPR. Resultados similares han sido reportados para los procesos relacionados con la funcionalización de AuNPs (Amendola y Meneghetti, 2009). De forma complementaria, en la **Figura 10b** se puede observar una imagen panorámica TEM de las AuNPs, evidenciando su morfología esférica y un tamaño homogéneo en las partículas. No obstante, a partir de los tamaños de estimados en esta micrografía, se realizó un histograma para analizar la distribución de los tamaños de las AuNPs

(Fig. 10c), obteniendo un promedio de tamaño de partícula de 13 nm y una desviación de 1.2 nm.

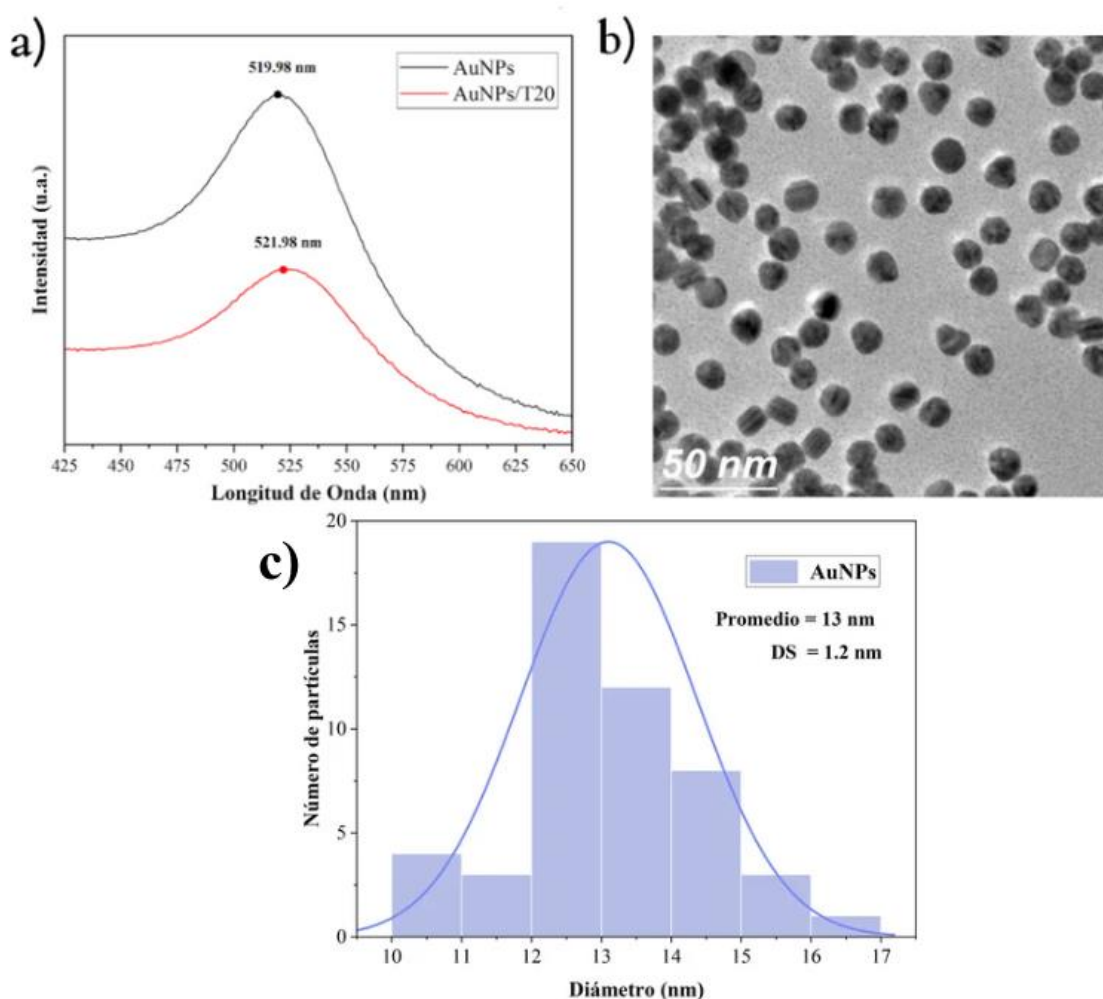


Figura 10. Resultados de caracterización de AuNPs: espectros UV-vis de las AuNPs sintetizadas con y sin el uso de T20 como agente surfactante (a); Micrografías TEM de las AuNPs (b); e Histograma de la distribución de tamaños de AuNPs, estimados desde la micrografía TEM (c).

Hasta este punto, la caracterización de las AuNPs revela que la ruta de síntesis utilizada conduce a la formación de nanopartículas uniformes en su morfología, con una distribución homogénea de tamaño.

10.2. Síntesis de hidrogeles y nanocompositos

Para este trabajo, la elección de NIPAAm como monómero principal y N-VP como monómero modificador para la síntesis de los hidrogeles, se basó principalmente en el balance hidrofílico/hidrofóbico que se consigue con sus respectivos homopolímeros. Además, los dos

monómeros poseen una estructura química eléctricamente neutra, lo que se debe a que contienen grupos funcionales no ionizantes. Este factor es importante para no generar interacciones indeseadas entre el sistema nanoestructurado y los monómeros, que afecten la estabilidad de la dispersión de AuNPs. En contraste, la adición de monómeros ionizables como ácido acrílico y ácido metacrílico, conduce a la agregación inmediata de las AuNPs presentes en el medio, lo cual se hace evidente con el cambio en la coloración de la dispersión (pasó de rojo a violeta o azul). Esto se considera como una limitante para el objetivo de embeber las AuNPs de forma homogénea en una matriz de hidrogel, y generar con ello, un material nanocomposito.

En cuanto a las propiedades buscadas en los materiales propuestos en esta investigación, la elección de PNIPAAm como componente principal se justifica en el aprovechamiento de la sensibilidad a la temperatura que se quiere obtener en los nanocompositos. Ya es conocido que las cadenas de PNIPAAm confieren un punto crítico denominado LCST, que ocasiona que el hidrogel adopte una conformación extendida (estado hidratado) al entrar en contacto con el agua cuando la temperatura del medio se encuentra por debajo de su valor, mientras que pasa a un estado contraído, cuando ese valor de temperatura es superado (Tang et al., 2017; Ahmad et al., 2019). El ajuste controlado e intensional de esta transición permite, a futuro, evaluar los diferentes modos de interacción que se pueden dar entre el polímero y las moléculas específicas que se quieren absorber y detectar usando este tipo de matrices poliméricas.

De forma similar al PNIPAAm, el PVP también presenta un comportamiento dual hidrofílico e hidrofóbico. Aunque este polímero por sí solo no presenta un punto crítico como la LCST, presenta la capacidad de modificar significativamente las interacciones intermoleculares del PNIPAAm, de tal manera que puede también desplazar levemente su termosensibilidad hacia valores mayores o menores de temperatura (Fan et al., 2020). Por lo tanto, con la incorporación de N-VP en este trabajo, a una proporción menor que la de NIPAAm, se busca introducir impedimentos estéricos en las cadenas del copolímero, de tal manera de que aumente la capacidad del material para absorber agua y las sustancias presentes en ella, además de desplazar en el orden de 1 a 5 °C el valor de la LCST, sin afectar drásticamente la sensibilidad térmica dada por las cadenas de PNIPAAm.

En cuanto a las observaciones de los resultados experimentales, se destaca que la reacción de polimerización, iniciada por radicales libres, tanto para NIPAAm como para la mezcla de monómeros NIPAAm y N-VP, en la presencia del agente entrecruzante, BIS, condujo a la formación de polímeros viscoelásticos traslúcidos, cumpliendo así con la apariencia típica de los hidrogeles. Ahora bien, durante su síntesis, la gelificación se alcanzó después de una hora de iniciada la reacción. Sin embargo, esta reacción fue extendida hasta completar las 16 horas, con la finalidad de reducir la cantidad de monómero residual.

Con relación a lo anterior, es importante destacar que, al lograr reducir la cantidad de monómero residual, y como consecuencia, al aumentar la relación de conversión de monómero a polímero, se logra también reducir la toxicidad del material, debido al riesgo que generan para la salud los compuestos insaturados o con dobles enlaces entre átomos de carbono (Araújo

et al., 2002;Urošević et al., 2020). Por lo tanto, esta clase de materiales también requieren de lavados exhaustivos en agua, hasta asegurar que las mínimas trazas de monómero sin reaccionar hayan sido eliminadas del producto final. Para nuestro caso, se recurrió al análisis por espectroscopía de UV-vis durante los procesos de lavado de los primeros lotes de hidrogeles sintetizados, con el fin de inspeccionar la presencia de las moléculas sin reaccionar de los monómeros NIPAAm y N-VP, o incluso, del agente entrecruzante, BIS. Para esta prueba, se identificó la presencia de monómero residual en los medios de lavado, a través de la aparición de un pico ancho de absorción ubicado en el intervalo de 200-300 nm (datos no mostrados). Como consecuencia, el proceso de lavado de los materiales fue intensificado, hasta asegurarse de la eliminación total de estas especies reactivas. Esto fue logrado después del sexto día de lavado. De esta manera, se consideró como óptimo que el proceso de limpieza de todos los materiales sintetizados en esta investigación incluya cambios frecuentes del agua del medio de lavado, durante 7 días consecutivos.

Hasta esta sección se resume que los hidrogeles obtenidos usando exclusivamente el monómero NIPAAm fueron nombrados como PN, mientras que los que corresponden al copolímero P(NIPAAm-co-NVP) se les denominó P(N-V), siguiendo la asignación de códigos establecida en la Tabla 2 (*ver sección 9.3.2*)

Por otro lado, para la síntesis de los nanocompositos se utilizó la estrategia de polimerizar los monómeros en la presencia de una dispersión acuosa de AuNPs estabilizada con T20. Esta dispersión fue preparada tomando volúmenes específicos de la dispersión $\text{Au}^0 = 1.8 \text{ mM}$, generando así tres tipos de concentraciones, a las cuales se les denominó A (alta), M (media) y B (baja). Los volúmenes adicionados se encuentran reportados en la **Tabla 2** (*ver sección 9.3.2*). Entonces, una vez completado el proceso de polimerización, los materiales sintetizados adoptaron el color y la intensidad de tonos dados por la concentración de AuNPs presente en el medio. En la **Figura 11** se muestra la carta de colores y tonos determinados desde diferentes lotes de materiales sintetizados, usando la herramienta de inteligencia artificial de la aplicación Canva®. Los códigos de muestra usados en la **Figura 11** para nombrar a los nanocompositos corresponden a los asignados en la **Tabla 2**, en donde la matriz del copolímero P(NIPAAm-co-NVP) es representada como P(N-V), a la presencia de oro en el material se la reconoce con el sufijo -Au, y la concentración relativa de AuNPs adicionada está representada con los subíndices A, M y B, dependiendo si la concentración relativa de nanopartículas es alta, media y baja, respectivamente. Como se esperaba, la intensidad del color observada en los materiales resultó proporcional a la cantidad de nanopartículas presentes en el medio.

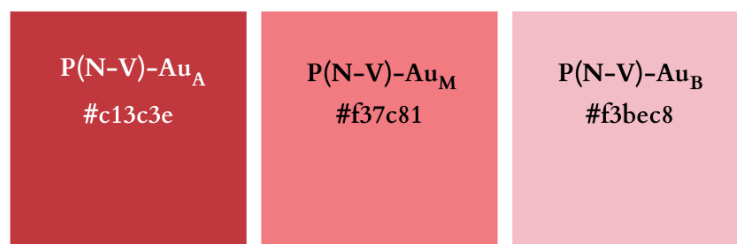


Figura 11. Correspondencia entre los colores e intensidad de tonos y la concentración de AuNPs usadas en la síntesis de los tres tipos de nanocompositos P(N-V)-Au propuestos en esta investigación. El subíndice indica la concentración relativa de AuNPs en el material: B = baja; M = media y A = alta.

En cuanto a la concentración relativa de AuNPs en cada nanocomposito, se destaca que a simple vista se encontró que la distribución o dispersión de las AuNPs en la matriz polimérica resultó homogénea para los tres casos. También se observó que no se presentaron fugas del sistema nanoestructurado en los medios líquidos de lavado, lo cual fue verificado también por medio del análisis con la técnica de UV-vis. Con esta técnica se registraron los cambios de absorción en el intervalo de 200 a 700 nm (datos no mostrados) de las alícuotas tomadas de los medios de lavado de los nanocompositos. Así, ante la ausencia del pico de absorción a la longitud de onda típica para dispersiones de AuNPs (520 nm), se consideró que las AuNPs efectivamente sí quedaron embebidas en el interior de las matrices poliméricas de PN y P(N-V), y que no migran desde el interior de la matriz polimérica cuando el material se encuentra en estado hidratado o hinchado.

Otros autores también han reportado la síntesis de hidrogeles o de matrices poliméricas en la presencia de AuNPs, para lograr desarrollar sistemas nanoestructurados embebidos (Gutarra et al., 201; Jauregui 2022; Becerril et al., 2021). Sin embargo, nuestra propuesta de investigación se diferencia de estos trabajos en cuanto al aprovechamiento de la sensibilidad térmica del material para lograr generar una señal cuantificable de un contaminante en agua. En ese sentido, los estudios de hinchamiento proporcionan información relevante para determinar el comportamiento de los materiales al entrar en contacto con el agua.

10.3. Estudios de hinchamiento de hidrogeles y nanocompositos

10.3.1. Hinchamiento a 25 °C

Determinar la influencia del entrecruzamiento de cadenas poliméricas y la inclusión de otros componentes (monómeros o nanoestructuras) en la matriz polimérica es crucial para comprender los estudios de hinchamiento de polímeros absorbentes. Estos estudios nos permiten inferir los cambios estructurales en una red polimérica y su capacidad para absorber

y retener agua. En nuestros experimentos, se analizaron los hinchamientos de hidrogeles y nanocompuestos de P(NIPAAm-co-NVP) con diferentes concentraciones de AuNPs a temperatura ambiente. Con fines comparativos, se incluyó en este estudio una sola muestra del nanocomposito sintetizado exclusivamente con PNIPAAm, conteniendo una concentración media de AuNPs (PN-Au_M). La **Figura 12** muestra los resultados de hinchamiento como función del tiempo y en la **Tabla 3** se pueden observar los hinchamientos límites obtenidos de los diferentes materiales. En general, se observa que todos los materiales presentan niveles significativos de hinchamiento, que van desde 1500 % para el hidrogel PN, hasta por encima de los 2750 % para el nanocomposito P(N-A)-Au_A. En cuanto al hinchamiento límite, se observa que todos los materiales alcanzan este nivel a las 48 h de estudio. Solamente el material PN-Au_M presentó un descenso en el hinchamiento después de las 50 h de estudio, lo cual se atribuyó a los desprendimientos de pequeños fragmentos del polímero durante el proceso de manipulación necesario para llevar a cabo las mediciones gravimétricas. Estos desprendimientos influyeron significativamente sobre la reducción de los valores promedio del peso registrado para este material, e indican que el nanocomposito que no contiene NVP en la matriz polimérica presenta mayor tendencia a la fragmentación.

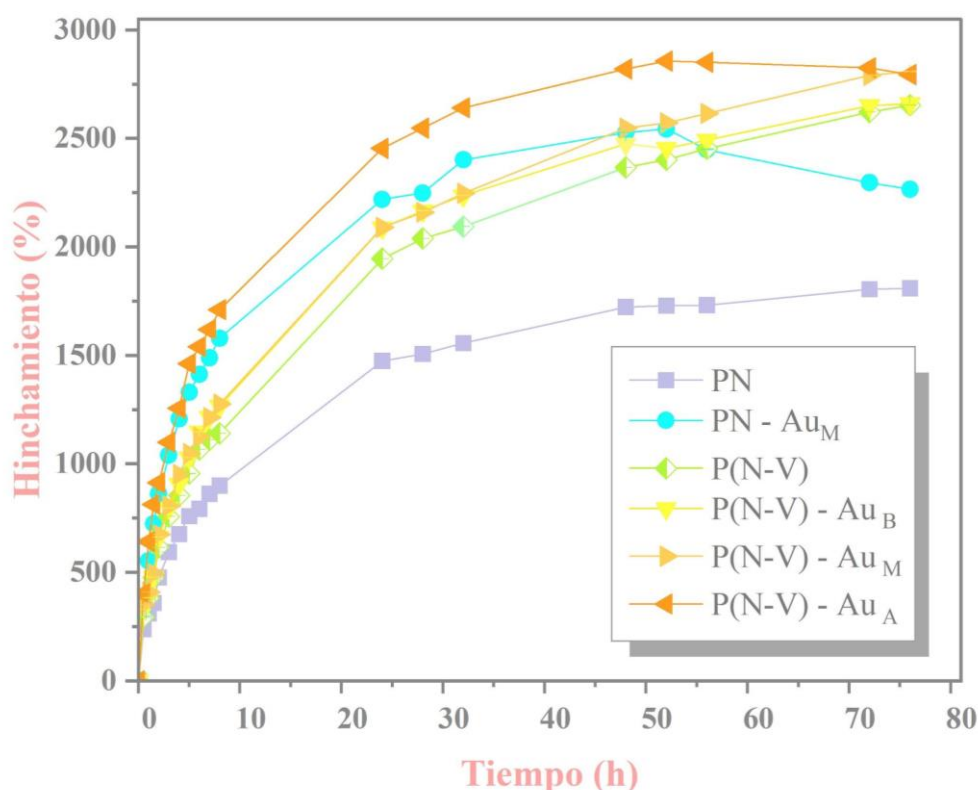


Figura 12. Estudios de hinchamiento en función del tiempo, a 25 °C, de los hidrogeles PN y P(N-V), y de los nanocompuestos PN-Au_M y P(N-V)-Au.

Tabla 3. Hinchamiento límite de los hidrogeles y nanocompositos sintetizados en este trabajo.

Muestra	Hinchamiento límite
PN	1813.7%
PN-Au _M	2295.3%
P(N-V)	2609.1%
P(N-V)-Au _B	2430.3%
P(N-V)-Au _M	2846.5%
P(N-V)-Au _A	2793.6%

En la **Figura 12** también se observa que los materiales que utilizan PNIPAAm como único componente de la matriz polimérica (muestra PN), exhibe un menor porcentaje de hinchamiento en comparación con su respectivo nanocomposito P(N-Au_M). También presenta un menor hinchamiento al compararlo con el copolímero P(N-V) y las demás muestras de los nanocompositos P(N-V)-Au. Esto indica que, al incluir al NVP, la parte hidrofílica de esta molécula (grupo funcional amida) incrementa la afinidad del polímero con las moléculas de agua, generando un mayor hinchamiento en material, lo cual concuerda con lo reportado por Fan et al., (2020). En adición, el impedimento estérico generado por el anillo pirrolidona del NVP, interfiere generando mayores espacios entre los entrecruzamientos en la red polimérica, lo que aumenta la capacidad de retención de agua en este material. En la **Figura 12** también se observa que el aumento en la concentración de AuNPs condujo a un leve incremento en la capacidad de hinchamiento de los nanocompositos. En este caso, queda demostrado que el volumen ocupado por el sistema AuNPs/T20 también influyó sobre la densidad de entrecruzamiento formada durante el crecimiento del polímero. Por lo tanto, a mayor concentración de nanopartículas en el medio, mayor es el espacio formado en cada segmento de la red (tamaño de poro), y en consecuencia, mayor es el nivel de hinchamiento que puede alcanzar el material. Otros autores han reportado que la capacidad de un hidrogel puede verse influenciada por la inclusión de sistemas nanoestructurados en la matriz polimérica, y que los factores como tamaño, concentración y estabilidad de la dispersión de partículas, juegan un rol importante en las propiedades de hinchamiento del polímero (Gutarra et al., 2017; Nguyen et al., 2015; Rodríguez 2011). Además, es importante considerar que el recubrimiento con T20 sobre la superficie de las nanopartículas puede actuar también como material absorbente, ya que el T20 presenta en su estructura grupos hidrofílicos capaces de interaccionar con las moléculas de agua. Este fenómeno también resulta congruente con el resultado obtenido, ya que con el aumento en la cantidad de AuNPs/T20 embebidas en la matriz polimérica, se incrementa también el área de contacto entre el T20 y las moléculas de agua, y como

consecuencia, se presenta un aumento en el grado de hinchamiento del nanocomposito (Gonzalez, 2023).

En resumen, se observa en nuestros resultados que la incorporación de NVP y de AuNPs en los materiales mejoraron la capacidad de absorción de agua, comparados con las matrices poliméricas libres de nanopartículas (hidrogeles). Este comportamiento fue también reportado por Gonzalez Castro (2023) para hidrogeles y nanocompositos sintetizados con PNIPAAm y poli(acrilamida) (PAAm), bajo las mismas condiciones de reacción reportadas en esta investigación.

10.3.2. Determinación de la LCST

La Temperatura Crítica Inferior de Disolución (LCST, por sus siglas en inglés) fue estimada mediante la medición del grado de hinchamiento de los hidrogeles con relación al cambio de temperatura del medio. El objetivo de este análisis era investigar cómo la incorporación de NVP y AuNPs afecta la sensibilidad térmica, característica típicamente asociada al PNIPAAm. En nuestro estudio, se consideró un rango de temperatura entre 5 y 50 °C, que abarca los valores de LCST reportados en investigaciones previas sobre materiales que contienen PNIPAAm (Muñoz-Muñoz et al., 2014; Sosnik et al., 2015; Gutarra et al., 2017). Con fines comparativos, se llevaron a cabo dos estrategias: la primera consistió en variar las temperaturas de manera ascendente, comenzando desde 5 °C (**Figura 13**), mientras que la segunda estrategia implicó variar la temperatura en sentido inverso, desde la temperatura más alta (50 °C) hasta la más baja (5 °C) (**Figura 14**). Sin embargo, los intervalos de tiempo entre cada medición difirieron para cada estrategia. En el caso de la primera estrategia, las temperaturas del entorno se modificaron cada 30 minutos, mientras que para la segunda estrategia se realizaron cambios cada 3 horas. De esta manera, se buscó determinar si la sensibilidad térmica del material se manifiesta en intervalos cortos de tiempo o sí, por el contrario, requiere de períodos más prolongados para que se registren cambios medibles en su hinchamiento como función del cambio de la temperatura del entorno. Esta información resultó útil para proyectar el uso o potencial desempeño de estos materiales como sensores.

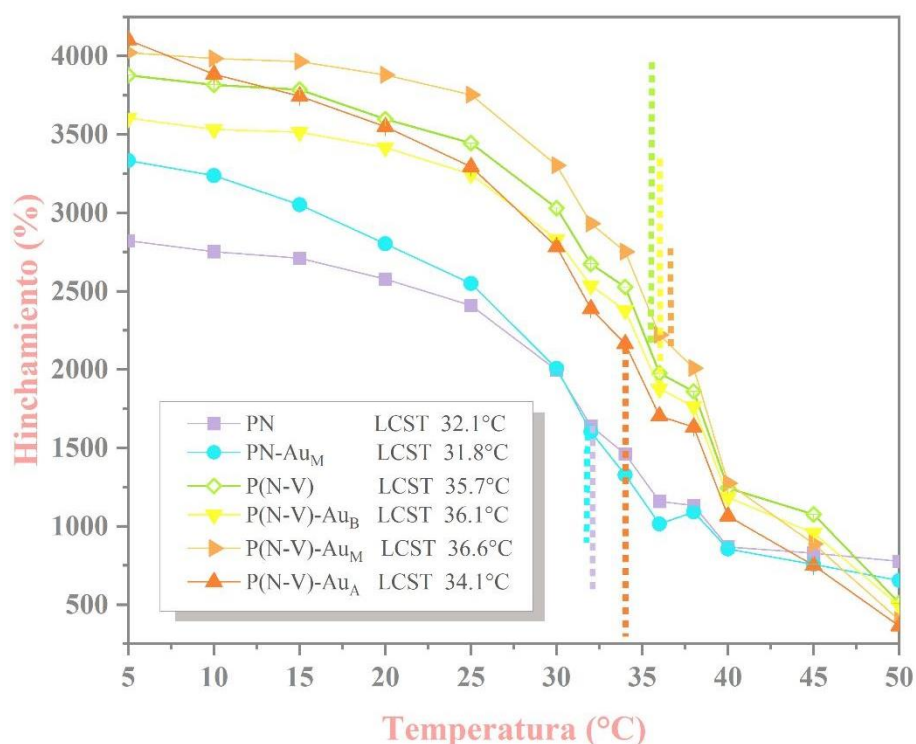


Figura 13. Evaluación del hinchamiento como función de la temperatura, iniciando a 5 °C y con cambios de temperatura cada 30 min, para los hidrogeles PN y P(N-V), y los nanocompositos PN-AuM y P(N-V)-Au.

Los resultados de los dos estudios realizados (**Fig. 13 y 14**) revelan que todos los materiales experimentan una transición de volumen con un mayor grado de hinchamiento a temperaturas bajas (< 20 °C), seguido de una disminución en el grado de hinchamiento a temperaturas altas (> 40 °C). Este comportamiento es coherente con los reportados por Garcia et. al., (2003). Otros autores como Ahmad y colaboradores (Ahmad et al., 2019) han reportado la LCST de hidrogeles basados en PNIPAAm a 32 °C. Por debajo de esta temperatura se ha reportado que el polímero presenta una estructura de espiral aleatoria, mientras que por encima adopta una estructura colapsada (Li et. al., 2009). Para nuestro caso, la determinación de la LCST para todas las muestras se estimó a partir de las tendencias de hinchamiento observadas en las **Figuras 13 y 14**, utilizando una función sigmoideal mediante el software Origin-pro. Los resultados encontrados se resumen en la **Tabla 4**. En esta Tabla también se reporta la sensibilidad térmica (S_T) de los materiales, la cual se define como el cociente entre el mayor (a 5 °C) y menor (a 50 °C) grado de hinchamiento obtenido para cada material.

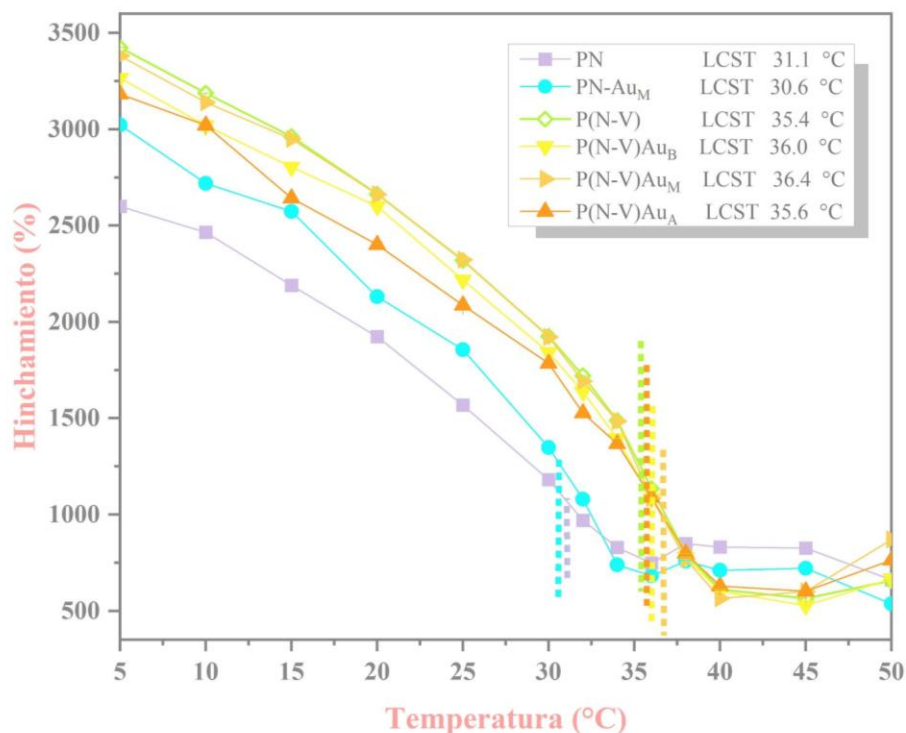


Figura 14. Evaluación del hinchamiento como función de la temperatura, iniciando a 50 °C y con cambios de temperatura cada 3 h, para los hidrogeles PN y P(N-V), y los nanocompositos PN-AuM y P(N-V)-Au.

Según los resultados de LCST de la **Tabla 4**, y de forma similar al análisis realizado para los estudios de hinchamiento a 25 °C, se observa que esta transición se ve afectada en mayor grado con la incorporación de NVP, y en menor proporción, con la inclusión de AuNPs en la matriz polimérica. Por un lado, se conoce que NVP es un monómero hidrofílico que puede introducir grupos funcionales polares en la estructura de la red polimérica. Esto puede provocar un aumento en la afinidad del copolímero por el agua y cambiar su comportamiento de hinchamiento en respuesta a los cambios de temperatura. Por lo tanto, el hecho de que la adición de unidades de NVP aumente la hidrofobicidad del polímero, se considera como un resultado esperado. Además, se ha reportado que la incorporación de unidades hidrofílicas actúa desplazando la LCST hacia temperaturas más altas. Esto significa que el polímero modificado puede exhibir un mayor grado de hinchamiento a temperaturas superiores a la LCST en comparación con el PNIPAAm puro (Nam et al., 2002). Evidentemente, eso es lo que se demuestra con los resultados resumidos en la **Tabla 4**, pues para los hidrogeles PN, la LCST estimada fue de 32.1 °C, mientras que para los hidrogeles de copolímero P(N-V), el valor de la LCST aumentó hasta los 35.7 °C. Comportamientos similares del aumento de la LCST de matrices poliméricas de PNIPAAm, debidas a la copolimerización con NVP, ya ha sido demostrada por Fan et al., (2020) y Geever et al., (2007).

Tabla 4. Resultados de la LCST y S_T determinados desde los estudios de hinchamiento como función de la temperatura, para los hidrogeles y nanocompositos sintetizados en este trabajo.

Muestra	Valores estimados desde los estudios iniciando a 5 °C y con cambios de temperatura cada 30 min		Valores estimados desde los estudios iniciando a 50 °C y con cambios de temperatura cada 3 h	
	LCST	S_T	LCST	S_T
PN	32.1 °C	3.6	31.1°C	3.9
PN-Au _M	31.8 °C	5.1	30.6°C	5.6
P(N-V)	35.7 °C	7.6	35.4 °C	6.1
P(N-V)-Au _B	36.04 °C	7.3	36.0 °C	6.2
P(N-V)-Au _M	36.6 °C	10	36.4 °C	6.0
P(N-V)-Au _A	34.01 °C	11.3	35.6 °C	5.3

Para los resultados de S_T reportados en la **Tabla 4**, se observa que para las dos estrategias de análisis, el valor de esta sensibilidad aumenta significativamente con la inclusión de AuNPs en la matriz de PNIPAAm. Sin embargo, esa variación no resultó significativa con la comparación directa entre la serie de nanocompositos cuya matriz polimérica consiste en el copolímero de P(NIPAAm-co-NVP), cuando el estudio fue realizado a tiempos largos de medición (3 horas). Esto indica que en la matriz del nanocomposito sintetizada exclusivamente con PNIPAAm, los espacios ocupados por la AuNPs impactaron en mayor grado sobre la densidad de entrecruzamiento de la red polimérica. Esto implica que las asociaciones hidrofóbicas entre las cadenas de PNIPAAm se ven impedidas en mayor proporción cuando las AuNPs se encuentran embebidas en la matriz polimérica. Por el contrario, para el copolímero, hasta el momento se reconoce que la inclusión de NVP puede generar por sí sola una afectación sobre la densidad de entrecruzamiento, lo que indica que el crecimiento de las cadenas poliméricas en la presencia del sistema nanoestructurado no arroja una distribución de entrecruzamientos sustancialmente diferente entre los hidrogeles y los nanocompositos. Sin embargo, a tiempos cortos de medición (30 minutos), esos espacios de la red ocupados por las AuNPs sí representan un impacto en la ralentización de la respuesta térmica del material ante el cambio del estímulo externo, ya que aparentemente obstaculizan la interacción inmediata entre las cadenas hidrofílicas del polímero y las moléculas de agua. Lo anterior se contempla como una posibilidad para explicar el por qué se presentan mayores diferencias entre los valores de sensibilidad térmica estimados para los nanocompositos P(N-V)-Au_M (10.0) y P(N-V)-Au_A (11.3), comparados con los demás materiales sintetizados en esta investigación (< 7.6).

Aunque hasta el momento no se cuenta con materiales referentes en la literatura sobre los cuales realizar una comparación directa, es importante tener en cuenta que el efecto preciso en los desplazamientos de la LCST y las diferencias entre S_T dependerá de varios factores como la proporción de unidades de NVP incorporadas, la estructura del polímero resultante y las interacciones entre las unidades de NVP y PNIPAAm. Sería necesario realizar estudios experimentales específicos y adicionales para determinar cómo exactamente la adición controlada de unidades de NVP influiría en la LCST del polímero. No obstante, el propósito de nuestro trabajo se enfocó solamente en utilizar la NVP como un modificador suave de la conformación de las cadenas de PNIPAAm, para lograr determinar en un futuro su influencia sobre los diferentes modos de interacción específicos que se podrían establecer entre el polímero y las moléculas del contaminante PFOA. Por lo tanto, ante el resultado observado en las **Figuras 13 y 14**, se estaría cumpliendo con este objetivo, ya que se demuestra que con la inclusión de NVP en el copolímero, se presenta un desplazamiento leve de la LCST en un intervalo entre 3- 5 °C, y, además, que los nanocompositos sí presentan una respuesta térmica diferenciadora a tiempos cortos de medición, lo cual los hace potencialmente atractivos para su uso en la construcción de sensores portables.

10.4. FTIR

La caracterización FTIR (Espectroscopia de Infrarrojo por Transformada de Fourier, por sus siglas en inglés) es una técnica analítica utilizada para estudiar y analizar aspectos relacionados con la composición química de materiales orgánicos. Esta técnica se basa en la interacción de las moléculas con la radiación infrarroja, lo que permite obtener información sobre los grupos funcionales químicos presentes en una muestra. En consecuencia, este análisis se utilizó para la identificación de los grupos presentes tanto en los hidrogeles como en los nanocompositos sintetizados. En la **Figura 15** se muestran los espectros FTIR obtenidos de los monómeros NIPAAm y NVP. Para estas dos se observa a 1623 cm^{-1} la banda de vibración característica para el enlace C=C, y alrededor de los 1700 cm^{-1} la correspondiente al grupo carbonilo (C=O). Las señales presentes en el intervalo de $800\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ evidencian los modos de estiramiento de los enlaces C=C provenientes del grupo vinilo (Geever et al., 2007). Para los dos monómeros también resulta común encontrar la banda de estiramiento C-N en el intervalo $1150\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$, y las bandas de tensión C-H a $2900\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ que corresponden a los grupos alifáticos presentes en estas dos moléculas. Sin embargo, la señal intensa típica de vibración del enlace N-H a 3300 cm^{-1} , sólo se observa en NIPAAm, debido a su naturaleza de amida secundaria, mientras que para NVP, por tratarse de una amida terciaria, esta banda se encuentra ausente en el espectro. De forma similar, un doblete de bandas observado a 1386 y 1366 cm^{-1} , corresponden al grupo isopropilo del NIPAAm, y, por lo tanto, solo fueron observadas en el espectro FTIR de este monómero.

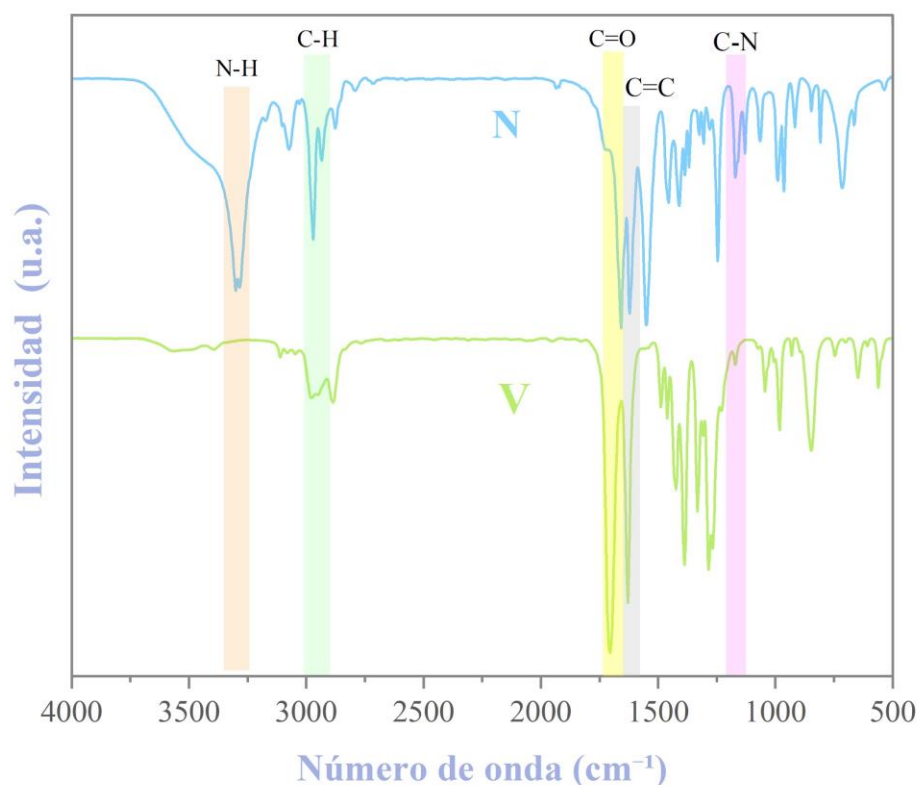


Figura 15. Espectros FTIR de los monómeros utilizados en la síntesis de los diferentes hidrogeles y nanocompositos: NIPAAm (N) y N-vinilpirrolidona (V).

Para efectos comparativos, la **Figura 16** muestra el espectro de los productos de polimerización de los monómeros: el hidrogel PN, el nanocomposito PN-Au_M y el copolímero P(N-V). Para estas tres muestras es posible identificar las bandas de vibración a 1649 cm⁻¹ características del grupo carbonilo (C=O) proveniente de las amidas en NIPAAm y NVP. De igual manera, la señal a 1541 cm⁻¹, asignada a la vibración del enlace C-N y a la vibración de flexión N-H a 1541 cm⁻¹, también es identificada en estos espectros, tal como lo indica la literatura (Cui et. al., 2018). En cuanto a la señal doblete ubicada a 1386 y 1366 cm⁻¹, la cual es característica del grupo isopropilo de PNIPAAm, también es observado en los tres espectros. No obstante, la señal fina e intensa observada a 1621 cm⁻¹ para el enlace C=C en el espectro de los monómeros (**Fig. 15**), no se observa en las muestras poliméricas, debido al solapamiento generado por el ensanchamiento de las bandas carbonilo producido tras el aumento típico de los modos vibracionales de los grupos funcionales al generarse las cadenas del polímero. De todas formas, cabe destacar que con el proceso de polimerización se espera que la señal de C=C sea reducida significativamente o desaparezca en el espectro.

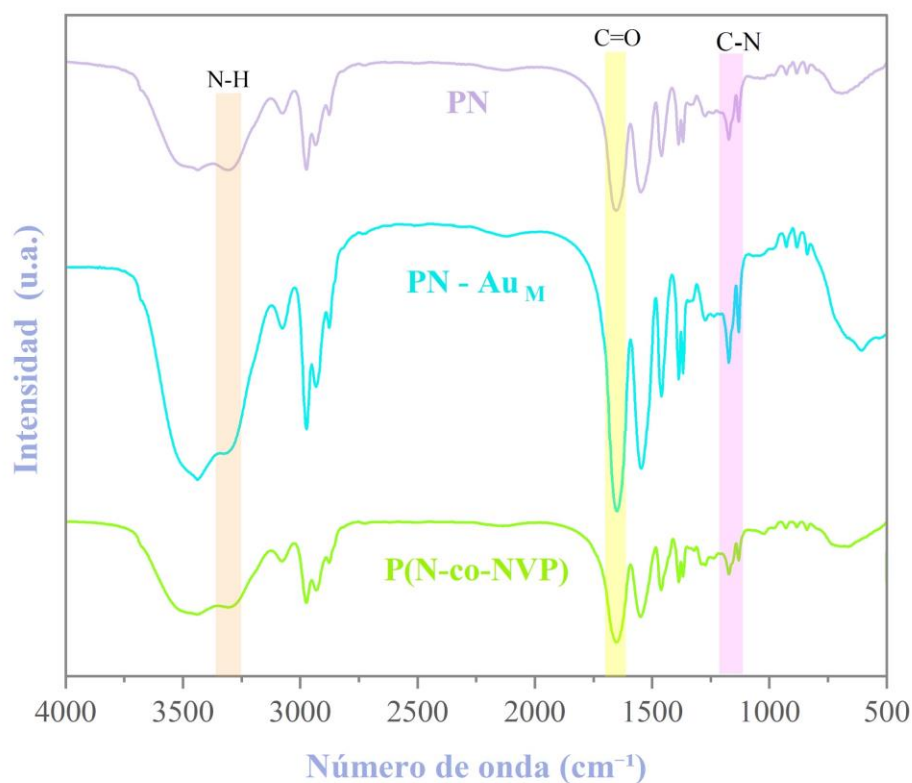


Figura 16. Espectros FTIR de las muestras del hidrogel PN, el nanocomposito PN-AuM y el copolímero P(N-V).

Por otro lado, la presencia de AuNPs en PN generó un aumento en la intensidad de las señales en el espectro FTIR, posiblemente debido al volumen ocupado por el sistema nanoestructurado en la red polimérica. Esto es respaldado con los resultados de los estudios de hinchamiento reportados en la sección 10.3, ya que los nanocompositos, cuyas cadenas fueron crecidas en la presencia de AuNPs, presentaron menor densidad de entrecruzamiento que los respectivos hidrogeles. Por lo tanto, se esperaría que cuando los polímeros se encuentran en su estado deshidratado, alcanzan un grado de contracción menos intenso entre sus cadenas, generando así un mayor espacio entre los grupos funcionales, en consecuencia, una mayor libertad para los movimientos vibracionales. Dicho de otra manera, una mayor densidad de entrecruzamiento en las redes poliméricas produce un mayor establecimiento de enlaces intermoleculares entre las cadenas poliméricas cuando el polímero alcanza su estado contraído, produciendo a su vez una reducción de la intensidad de las señales en el espectro FTIR. Resultados similares han sido reportados por Saruchi & Kumar en su trabajo publicado en 2019 en el cual utilizaron nanopartículas de plata embebidas en un hidrogel de carboximetilcelulosa para la degradación de un colorante.

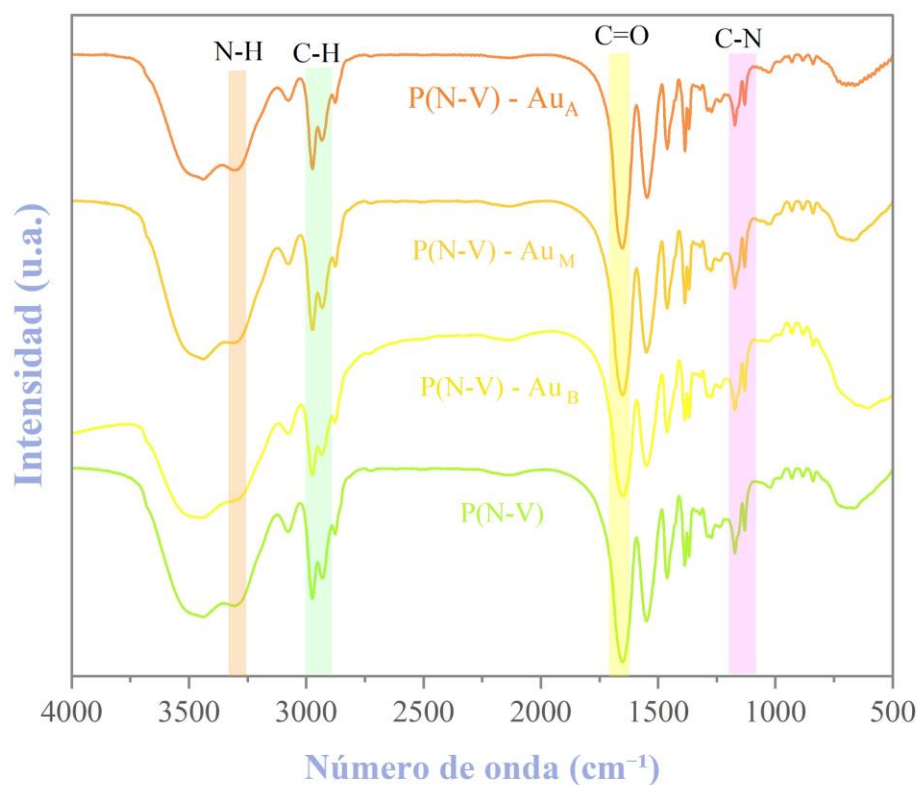


Figura 17. Espectros FTIR de los materiales P(N-V) en sus tres diferentes concentraciones de AuNPs y en ausencia de ellas.

En la **Figura 17** se presenta el espectro FTIR comparativo de los nanocompositos cuya matriz polimérica es el copolímero P(N-V). Es importante señalar que las bandas identificadas en cada muestra de nanocomposito corresponden exactamente a las del copolímero P(N-V). Sin embargo, la influencia de la concentración de nanopartículas en cada muestra se determina por la variación en la intensidad de las señales del espectro. En ese sentido, se observa que a mayor concentración de AuNPs resulta un ligero aumento en la intensidad de algunas bandas en el espectro FTIR, entre las que se destaca la de tensión N-H (3300 cm^{-1}), C-H ($2900\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$) y C=O/C-N ($1500\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$). Debido a que las AuNPs por sí mismas no emiten señal en la región del espectro IR, se asume que su superficie, funcionalizada con T20, estaría contribuyendo en el aumento de grupos funcionales que presentan señales en estos rangos. En ese aspecto, se conoce que una molécula de T20 aporta grupos alifáticos, hidroxilo y carbonilo, por lo que su inclusión en la formación de los nanocompositos puede impactar en los resultados de esta espectroscopía.

10.5. XRD

La técnica XRD es muy útil y no destructiva que se utiliza para estudiar la estructura cristalina de materiales sólidos. En el caso de polímeros, como las redes de PNIPAM y de PVP, que son materiales amorfos, el XRD puede proporcionar pistas relevantes sobre la organización molecular en la muestra y la presencia de estructuras cristalinas ordenadas o regiones semi-cristalinas (Ahmad et al., 2019; Zdravkovieta et al., 2017). Como se observa en la **Figura 18**, al analizar un hidrogel de PNIPAAm (PN) en su estado seco mediante XRD, se observa un patrón de difracción típico de materiales amorfos. A diferencia de los materiales cristalinos que muestran picos de difracción bien definidos debido a la repetición periódica de la estructura cristalina, los polímeros amorfos exhiben un patrón difuso y amplio, que sugiere la falta de orden a gran escala. En ese sentido, la muestra PN presenta un pico amplio en el intervalo $2\theta = 10-45^\circ$, con un máximo a 18.3° y dos hombros con menor intensidad a 27° y 39° . Estos picos se atribuyen a la presencia de regiones semi-cristalinas en el material, donde pequeños dominios pueden exhibir un mínimo de ordenamiento. Con la incorporación de NVP para la conformación del copolímero P(N-V), se observan las mismas señales que para la matriz PN, diferenciándose solamente en la intensidad de las señales, lo cual indica que las unidades modificadoras de PVP aumentan las regiones semi-cristalinas en el material.

En cuanto al análisis de AuNPs por XRD, trabajos como el de Krishnamurthy y colaboradores (Krishnamurthy et al., 2014), han reportado la alta cristalinidad en este tipo de muestras, lo cual se demuestra con la presencia de un pico de alta intensidad a $2\theta = 38.1^\circ$, acompañado con otros a 44.3° , 64.5° y 77.7° . De forma similar, en otro trabajo de investigación han reportado dicho patrón XRD a $2\theta = 38.07^\circ$, 44.21° , 64.41° , 79.38° y 81.52° , que corresponden a los planos (111), (200), (220), (311) y (222) de la estructura fcc, respectivamente (Borhamdin et al., 2015). Sin embargo, para nuestros resultados, en el difractograma de la **Figura 18** no se observan con claridad las señales intensas que típicamente son asociadas a la presencia de AuNPs en la muestra. Esto puede atribuirse a la baja concentración del sistema nanoestructurado en el material. No obstante, debido a que las AuNPs se encuentran encapsuladas dentro de la matriz PN o del copolímero P(N-V), se observan cambios en el patrón de difracción de los nanocompositos en comparación con los hidrogeles sin las nanopartículas. En otras palabras, la presencia de AuNPs en los materiales sí influyó en la organización de las cadenas del polímero, ya que su crecimiento, orientación y ordenamiento en el espacio, estuvo determinado por los espacios libres que dejó el sistema nanoestructurado en el medio de reacción. Esa influencia se observa más marcada en las muestras de referencia PN-Au_M y el nanocomposito P(N-V)-Au_A, ya que la relación de intensidad entre el máximo a 18.3° y los ubicados a 27° y 39° , se reduce. Esto es un indicativo de que las AuNPs inducen un mayor ordenamiento de las zonas semicristalinas de los polímeros.

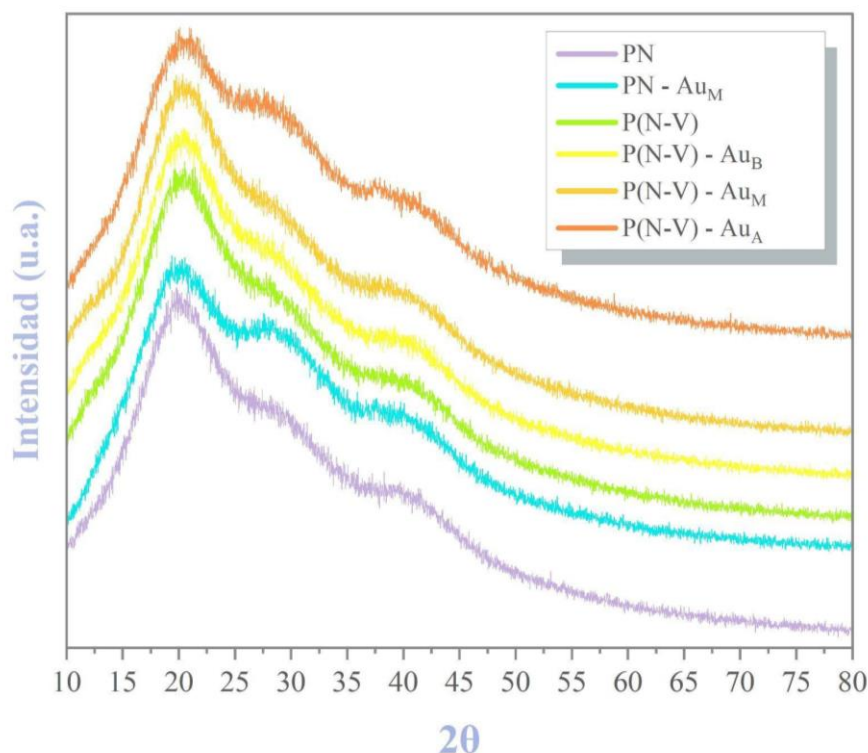


Figura 18. Patrones XRD de los hidrogeles PN y P(N-V), y de los nanocompositos P(N-V) a diferentes concentraciones de AuNPs: baja, media y alta.

10.6. *Análisis de los materiales por espectroscopía XPS*

La espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS) se utilizó para evaluar la composición elemental de los materiales en estado seco o deshidratado. En primera instancia, los espectros XPS de baja resolución (**Figura 19**) permitieron identificar todos los elementos que integran cada una de las muestras evaluadas. En ellos se observa que tanto para los hidrogeles como nanocompositos, los elementos principales identificados fueron: Carbono (C1s, ubicado en 245 eV), Nitrógeno (N1s, en 400 eV), y Oxígeno (O1s, en 531 eV). Estas señales corresponden al aporte de la matriz polimérica, dada su naturaleza orgánica, y también por el aporte de los elementos C, O y N que los monómeros NIPAAm y N-VP realizan a la estructura de la red. Por lo tanto, es esperado que la mayor intensidad en el espectro XPS sea presentada por la señal de C1s, ya que este elemento hace parte de las cadenas principales del polímero. La participación del iniciador de polimerización, el persulfato de amonio (APS), aun cuando se utiliza en cantidades mínimas, también puede aportar azufre (S) a las muestras. En consecuencia, una pequeña señal observada a 164 eV, puede atribuirse a la señal de S2p. Por otra parte, en este espectro también se realizó una señalización del área en la cual se espera observar las señales debidas a la contribución del elemento inorgánico, el Au (entre 90-100 eV), el cual debería ser aportado por el sistema nanoestructurado. Sin embargo, con la ayuda de los espectros XPS de alta resolución, se discutirá más adelante el aporte real y las características de cada una de estas señales.

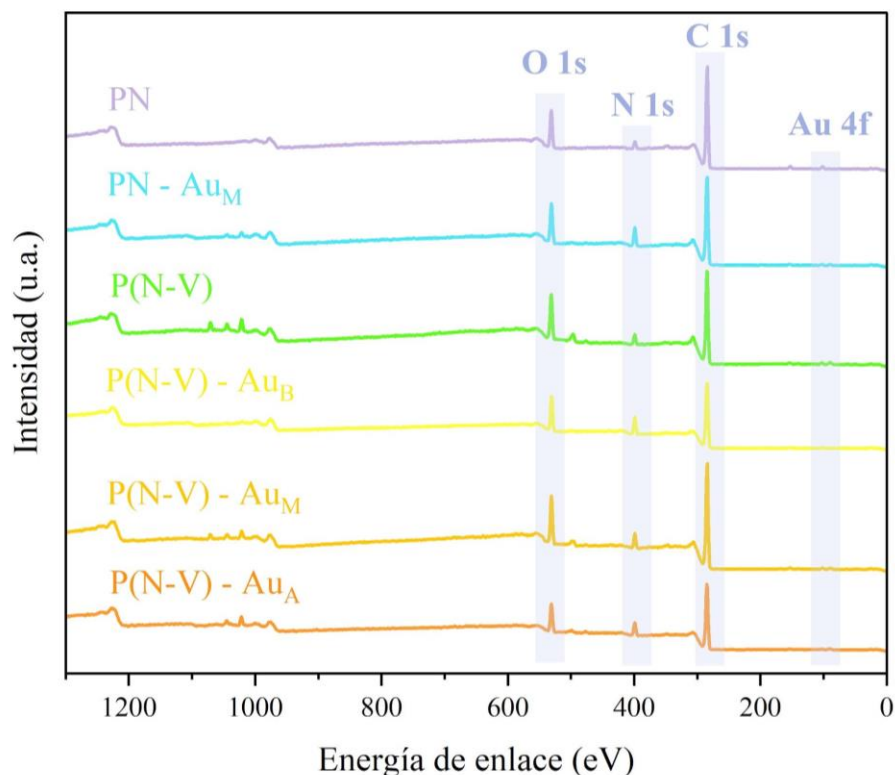


Figura 19. Espectro XPS de baja resolución para los hidrogeles y nanocompositos sintetizados en esta investigación.

La **Figura 20** muestra el espectro XPS de alta resolución de los hidrogeles y nanocompositos. La **Figura 20(a)** muestra la ventana correspondiente a la señal C1s para todas las muestras, con los máximos de picos ubicados a 284.5 eV. El aporte en este nivel de energía corresponde principalmente a los enlaces C-C de las cadenas principales de la red o matriz polimérica (Kuo et al., 2010). En adición, el hombro de menor intensidad en la señal C1s ubicado en el intervalo de 285 a 288 eV, se atribuye en parte a los enlaces C-N aportados por los dos monómeros (NIPAAm y N-VP) y el agente entrecruzante (BIS), los cuales usualmente se ubican a 286 eV. El otro aporte es realizado por los enlaces C=O de los grupos carbonilo presentes también en NIPAAm, NVP y BIS, los cuales se ubican generalmente a una energía más alta (288 eV) (Masaaki Okubo et al., 2008). Aquí es importante resaltar que al comparar el hidrogel sintetizado exclusivamente con PNIPAAm (muestra PN) contra su correspondiente nanocomposito (PN-Au_M), se esperaría como resultado una reducción general en la intensidad de la señal C1s, debida al aporte del componente inorgánico nanoestructurado (las AuNPs). Sin embargo, aunque para este caso nuestros resultados arrojan una reducción en la señal a 284.5 eV, se confirma un aumento significativo en el hombro de la señal C1s en el intervalo de 285.5 a 288 eV. Este comportamiento indica que para los nanocompositos, el componente orgánico que recubre las nanopartículas de Au, estaría aportando también señales de carbono con un ambiente químico diferente al de los enlaces C-C. Considerando esta hipótesis, el T20, usado como agente surfactante para mejorar la estabilidad del sistema nanoestructurado en las dispersiones acuosas, se caracteriza por aportar enlaces C-O tanto de los grupos -OH (ubicados generalmente hacia 286 eV) como de los grupos carbonilo (C=O; ubicados hacia 288 eV). De

esta manera, se puede considerar este resultado como un indicativo de que el T20 presenta un notable impacto en el estudio de composición química de las muestras debido tanto al aporte en composición química debido a su estructura, como al efecto estérico o los espacios que genera dentro de la red polimérica al ser incluido en el proceso de síntesis del polímero.

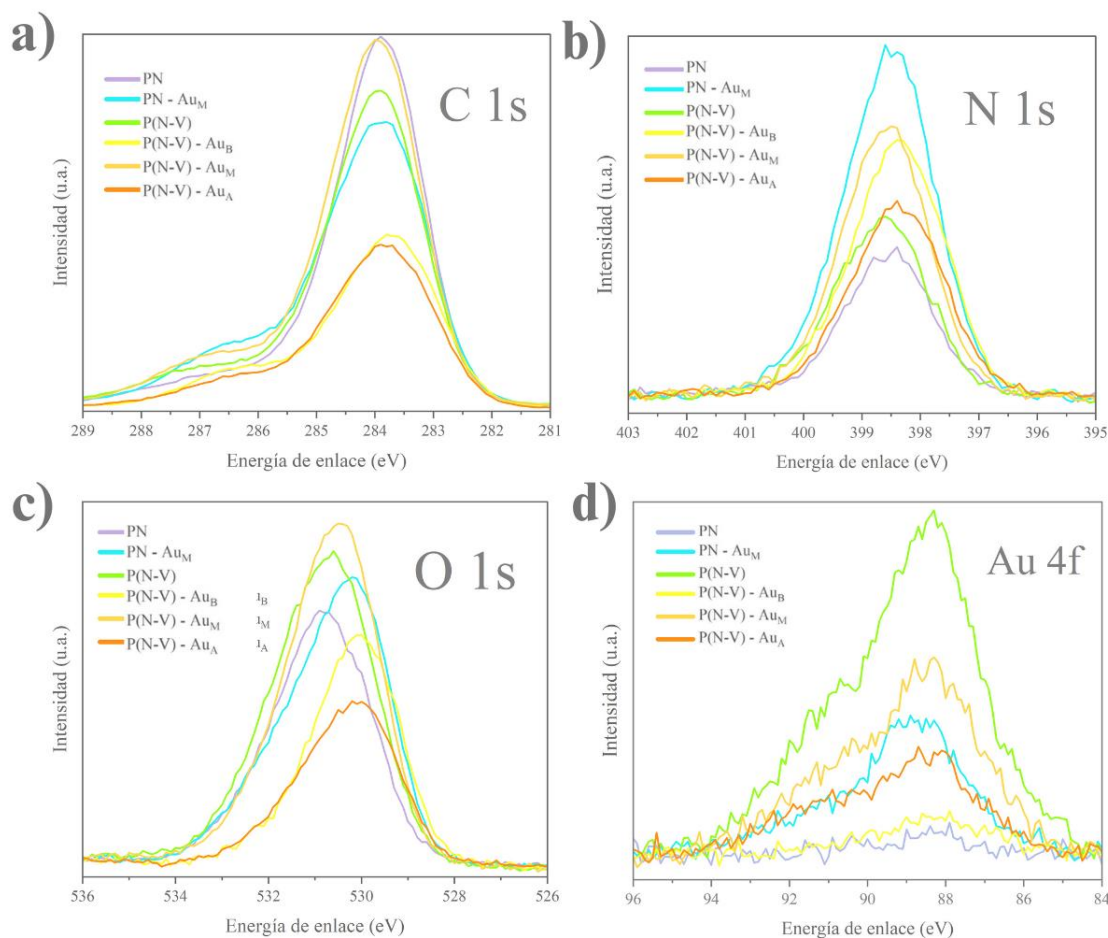


Figura 20. Espectros de XPS de alta resolución para las señales de carbono (a), oxígeno (b), nitrógeno (c) y la exploración sobre el intervalo de Au (d) en los materiales sintetizados para esta investigación.

En cuanto a la contribución de la señal C1s del copolímero P(N-V) y de sus correspondientes nanocompuestos (Fig. 20(a)), se destacan las siguientes observaciones:

- La intensidad general del pico C1s de P(N-V) disminuye en comparación con la matriz PN, lo cual indica que la inclusión de NVP para formar el copolímero podría influenciar en la generación de mayor espacio entre cada punto de entrecruzamiento, formando de esta manera redes con menor densidad de entrecruzamiento. Una red menos densa podría generar menor número de señales en el área de análisis XPS, ya que reduce la probabilidad de colisión del haz del rayo X con los átomos que componen la muestra.

- En los nanocompositos del copolímero P(N-V) se presenta una disminución de la señal C1s, excepto para la muestra P(N-V)-Au_M. Debido que la inclusión de AuNPs se realizó en el medio de reacción para lograr el crecimiento de las cadenas poliméricas durante la síntesis de los nanocompositos, se espera que su concentración sí influya significativamente sobre la cantidad y volumen de los espacios de entrecruzamiento formados en cada red polimérica. Por lo tanto, se podría considerar que la concentración media de nanopartículas (Au_M) conduce a la formación de un material con una distribución estructural y de componentes más homogénea que las obtenidas a baja y alta concentración. Aunque hasta el momento no se ha encontrado en la literatura un antecedente similar a este resultado XPS obtenido durante nuestra investigación, se considera entonces que la concentración media de AuNPs representa la condición experimental óptima para la síntesis de este tipo de nanocompositos. No obstante, se deberán realizar estudios y análisis adicionales que corroboren esta afirmación.

En la **Figura 20(b)** se observa la ventana XPS correspondiente a la presencia de nitrógeno (N1s) en la muestra. La señal observada a 398.5 eV corresponde a los enlaces C-N de las amidas. Este grupo funcional está presente tanto en los monómeros, NIPAAm y NVP, como en el agente entrecruzante, BIS, que fueron utilizados para la síntesis de los materiales. La señal monomodal y simétrica observada en esta ventana del espectro evidencia la dificultad para lograr descomponer con claridad la contribución de cada uno de estos componentes por separado, debido a que presentan un ambiente químico similar. Sin embargo, el orden creciente de intensidad nos revela que al tomar como referencia al hidrogel sintetizado exclusivamente con PNIPAAm (muestra PN), tanto la generación del copolímero como la inclusión de nanopartículas influyen en el aumento de esta señal a 398.5 eV. Esto indica que entre los cambios que se generan sobre la estructura base y referente del PNIPAAm, se encuentra la posibilidad de que se hayan efectuado reordenamientos de los grupos amida para generar redes con distribuciones más homogéneas. Este fenómeno puede influir en el aumento de la cantidad de átomos por unidad de volumen de la muestra sobre los que el haz de rayos X finalmente colisiona en el área de análisis seleccionada del material (Kovač 2011). En ese sentido, un leve desplazamiento de aproximadamente 0.2 eV hacia mayor energía observado en la muestra P(N-V)-Au_A, indica un cambio en el ambiente químico del enlace C-N, debido probablemente a la saturación de asociaciones por enlace de hidrógeno entre los grupos funcionales de la superficie del sistema nanoestructurado (grupos -OH) y los átomos de nitrógeno de función amida propia de la red polimérica.

En la **Figura 20(c)** se presenta la ventana XPS de la señal O1s en el intervalo de 527-535 eV. Teniendo en cuenta las observaciones anteriores correspondientes a los resultados de las ventanas de C1s (Fig. 18(a)) y N1s (Fig. 18(b)), se considera que en este intervalo se presenta la contribución de los diferentes enlaces C-O contenidos tanto en la estructura del material como en el componente nanoestructurado. Cabe resaltar que en este intervalo se observa una mayor variación en las energías de enlace entre las muestras. Por ejemplo, en la muestra del hidrogel PN se observa un pico máximo a 531 eV, mientras que la incorporación de AuNPs en dicha matriz (PN-Au_M) produce un desplazamiento del máximo hacia 530.3 eV. Un fenómeno similar ocurre para la muestra del copolímero P(N-V), ya que al incorporar las AuNPs, se

presenta un desplazamiento del máximo hacia menores energía. Este comportamiento reafirma la posibilidad de que los grupos funcionales de la superficie del sistema nanoestructurado (AuNPs/T20) presentan algún tipo de interacción con los grupos funcionales carbonilo de la red polimérica, y por tanto, su inclusión afecta significativamente el ambiente químico de estas especies. Tal como se comentó anteriormente, las afectaciones sobre la intensidad de cada señal en los espectros XPS se pueden atribuir a que en el área de análisis elegida para cada material, las densidades de entrecruzamiento y el ordenamiento o reorientación de los grupos funcionales se encuentran en función de la presencia o ausencia del sistema nanoestructurado, influyendo así sobre la cantidad de átomos que interaccionan con el haz de rayos X del instrumento de medición.

En la **Figura 20(d)** se muestra la ventana de análisis XPS realizada sobre el intervalo de 82 a 98 eV, la cual fue explorada con el propósito de identificar la presencia de Au en los nanocompuestos sintetizados. Se conoce que la señal de Au 4f se conforma típicamente de dos picos simétricos y definidos, uno ubicado a 84 eV y otro a 88 eV, tal como lo reportan otros autores (Laurenzana et al., 2022). En contraste, para nuestro caso se encontró una sola señal en cada muestra, con máximos variando entre 88 y 89 eV, y con niveles de intensidad bajos, casi al nivel de ruido instrumental para algunas muestras. Sin embargo, se conoce que el elemento zinc (Zn) presenta un pico asimétrico con un máximo a 89 eV que corresponde a Zn 3p_{3/2} y un hombro a 91 eV que corresponde a Zn 3p_{1/2}, tal como lo reportó Ekicibil y colaboradores (2015). Cabe resaltar que estas características son observadas para algunas de nuestras muestras, por lo que se puede atribuir que el análisis XPS está reportando realmente la presencia de Zn como uno de los componentes de la superficie de los materiales, en lugar del esperado Au. Es por ello que la presencia de Zn en nuestros materiales se cataloga como una contaminación externa de los materiales, ya que ninguna de las sustancias químicas utilizadas para esta investigación contiene Zn. En cuanto a su origen o fuente, se considera que este elemento pudo haber llegado a las muestras desde el papel lija usado para pulir las superficies de las pastillas de cada material, proceso que fue realizado antes de introducir las muestras en el equipo XPS. Debido a que se conoce que los elementos abrasivos del papel lija pueden contener minerales como óxidos de aluminio y zinc, se atribuye que la presencia de este último pudo estar influenciada por el contacto directo y recurrente de nuestros materiales con esta herramienta de pulido. Además, la identificación de este elemento explica el por qué la muestra P(N-V), sintetizada en ausencia de AuNPs, presenta la mayor intensidad, comparada con las demás muestras, aun cuando la intensidad de esta señal es muy baja para todo el conjunto de muestras analizadas.

En cuanto a la presencia de Au en los materiales sintetizados, la identificación por medio de la técnica de análisis XPS de este elemento no fue posible debido a dos causas potenciales: las concentraciones de AuNPs en los medios de dispersión usados para el crecimiento de las cadenas poliméricas aún se encuentran por debajo de los límites de detección del instrumento de análisis; o el recubrimiento formado con T-20 sobre las nanopartículas de Au actúan como una barrera, dificultando así la medición del Au. Cabe resaltar que el límite de penetración del análisis XPS es de 10 nm para las superficies de materiales sólidos, por lo que se puede suponer que ante la barrera que genera la matriz polimérica junto al recubrimiento del sistema

nanoestructurado con el agente surfactante, se reduzca la posibilidad de interaccionar con el Au para generar una señal cuantificable. Esto indica que los resultados obtenidos por espectroscopía XPS corroboran lo discutido anteriormente para las técnicas FTIR, XRD y los resultados de hinchamiento, y consiste en que el compuesto T-20 usado para mejorar la dispersión de las AuNPs y reducir el fenómeno de agregación, influye directamente sobre las propiedades fisicoquímicas de los nanocompositos.

10.7. Análisis térmico de los hidrogeles y nanocompositos

Para evaluar la estabilidad térmica de los hidrogeles de PN y P(N-V) y sus correspondientes nanocompositos, se realizó la caracterización por medio de la técnica de análisis termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés), a partir de las muestras en estado deshidratado. Los termogramas de todas las muestras se muestran en la **Figura 21**. En el termograma de la **Figura 21(a)** se observan principalmente tres etapas de transición térmica. La primera se relaciona con la pérdida de peso gradual entre un 10 y 20 % cuando el polímero fue calentado desde 50 a 130 °C, lo cual es atribuido a la eliminación del agua asociada en cada material, tal como se ha reportado para algunos polímeros hidrofílicos (Ahmad et al., 2019). La segunda etapa, comprendida desde los 150 hasta los 300 °C se presenta como una zona en la que el material alcanza una estabilidad térmica, ya que no pierde peso. Finalmente, en la tercera, que se comprende desde los 350 hasta los 400 °C, es en donde ocurre la degradación térmica del material, ya que se presenta una pérdida abrupta de la mayor parte de su peso. La **Figura 21(b)** muestra una ampliación de la zona del termograma en donde inicia la descomposición, con el objetivo de estimar la temperatura en la cual el material ha perdido un total del 30 % de su peso total. A esta temperatura se le denomina como T_{30} . Para complementar este análisis, en la **Figura 22(a)** se presentan las derivadas de TGA, conocidos como termogramas DTG, mientras que en la **Figura 22(b)** se presenta una vista ampliada de estas derivadas a un intervalo de temperatura entre 275 y 430 °C, con el objetivo de facilitar la diferenciación entre el trazo de estas tendencias de degradación y la estimación de la temperatura de degradación (T_d). Es importante resaltar que los puntos máximos alcanzados en cada pico de los DTG representan al punto medio de la temperatura de descomposición de cada material. Por ejemplo, la primera transición atribuida a la pérdida de agua asociada muestra su máximo a 100 °C (T_1), mientras que la zona de descomposición presenta máximos entre los 350-358 °C para los hidrogeles y nanocompositos que consisten en la matriz del copolímero P(N-V), y entre 400 y 415 °C para el hidrogel de PN y su respectivo nanocomposito. Los valores exactos de las transiciones T_{30} y T_d , estimados desde las Figuras 19 y 20 se encuentran resumidos en la **Tabla 5**.

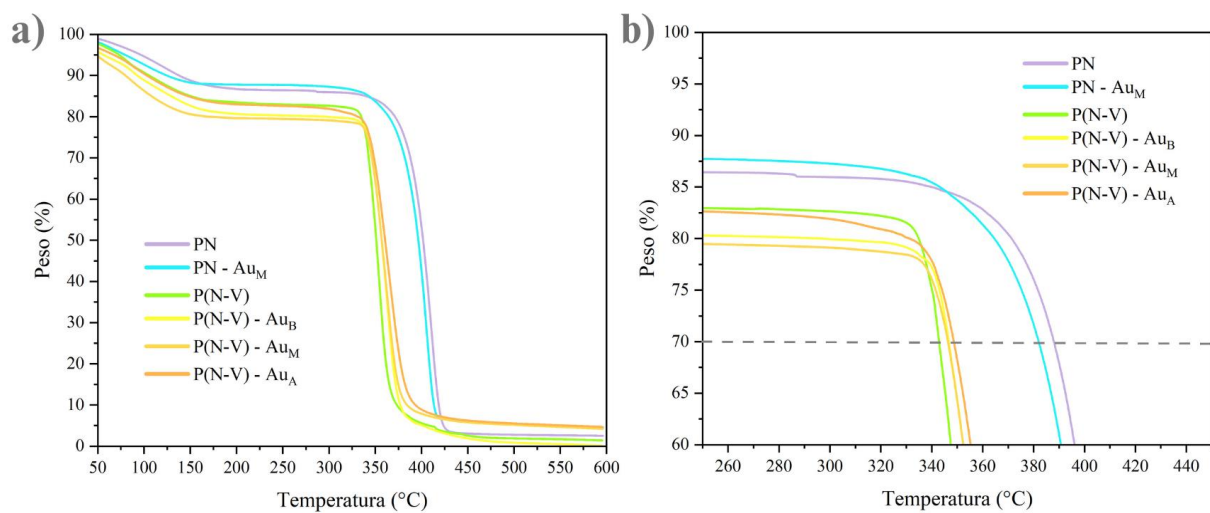


Figura 21. Termogramas de TGA para los materiales sintetizados en nuestra investigación (a), y su vista ampliada en el intervalo de 250-450 °C (b).

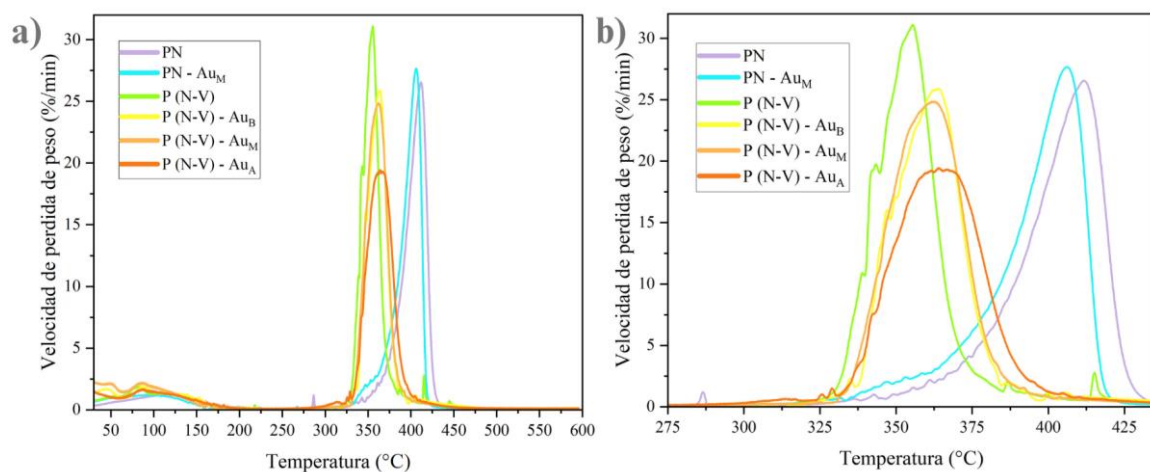


Figura 22. Termogramas de la derivada del TGA (DTG) para los materiales sintetizados en nuestra investigación (a), y su vista ampliada en el intervalo de 275-430 °C (b).

Tabla 5. Registro de transiciones térmicas y cantidad de residuos generados en las determinaciones de TGA de las diferentes muestras sintetizadas en este trabajo.

<i>Muestra</i>	<i>T₃₀ (°C)</i>	<i>T_d (°C)</i>	<i>Residuo (%)</i>
PN	388	411	2.5
PN-Au _M	382	406	4.9
P(N-V)	342	355	1.4
P(N-V)-Au _B	346	364	0.1
P(N-V)-Au _M	346	363	4.6
P(N-V)-Au _A	348	364	5

Considerando los resultados estimados desde los termogramas TGA y DTG, se resalta que el material PN presenta una temperatura de descomposición mayor, comparada con todas las muestras analizadas. Luego, al incluir AuNPs sobre esta matriz sintetizada exclusivamente con PNIPAAm (muestra PN-Au_M), se presenta una leve disminución en dicha temperatura. Sin embargo, un efecto contrario es observado para el copolímero P(N-V), pues, aunque la incorporación de N-V en el material conduce a una reducción significativa de la temperatura de descomposición al compararla con la matriz de PN, cuando se incluyen las AuNPs esa temperatura aumenta aproximadamente 7 °C. Esto indica que las AuNPs dotan de un efecto de resistencia térmica a los nanocompositos cuyas matrices están compuestas del copolímero P(N-V), mientras que, de forma contraria, para los materiales sintetizados exclusivamente con PNIPAAm, actúa como un conductor térmico que ocasiona que el material se descomponga a una temperatura más baja. Esta acción conductora también fue reportada por González Castro (2023) en un trabajo reciente para nanocompositos basados en el copolímero de PNIPAAm y poliacrilamida (PAM) con AuNPs embebidas en la matriz polimérica, los cuales fueron sintetizados siguiendo la misma metodología reportada en esta investigación. No obstante, hasta el momento no se ha encontrado en la literatura un trabajo que cuestione el uso de nanopartículas para reducir o aumentar la temperatura de descomposición de copolímeros basados en NIPAAm y NVP.

En términos de la cantidad de residuo que queda después de llegar a la transición de descomposición de cada material, se deduce de la **Figura 21(a)** y de los datos resumidos en la Tabla 5, que los materiales que conducen a una mayor generación de residuo corresponden a los nanocompositos del copolímero P(N-V) que fueron sintetizados en la presencia de concentraciones de AuNPs media y alta,. En contraste, los demás materiales presentaron un porcentaje mínimo o despreciable de residuo. Este es un factor que nos indica que

probablemente los grupos amida de las fracciones de N-VP agregados al polímero confieren una mayor asociación física con los grupos funcionales de la superficie del sistema nanoestructurado de AuNPs/T-20. Es por ello que al aumentar la concentración de AuNPs se genera aparentemente un sistema más estable térmicamente, en el que se forma un producto carbonáceo al alcanzar la temperatura de descomposición. Esto se puede relacionar con el efecto protector que genera el Tween 20 sobre las nanopartículas, ya que con el aumento en la concentración de AuNPs, también aumenta la proporción de cadenas alifáticas provenientes de este agente surfactante (González Castro 2023). En ese sentido, este resultado es congruente con el análisis realizado a los resultados obtenidos mediante las técnicas de XRD y XPS, en donde se concluye que el T-20 ejerce un efecto protector, pero también de oclusión sobre las AuNPs, que no facilita su identificación o determinación directa. No obstante, los cambios en las propiedades térmicas y otras como el color, capacidad de hinchamiento y sensibilidad a los cambios de temperatura del medio acuoso, nos confieren la certeza de que las AuNPs sí se encuentran embebidas en la matriz polimérica de los nanocompositos. Finalmente, en las siguientes secciones se discutirán los resultados del efecto que tendrán estos sistemas en la potencial detección de contaminantes.

10.8. Absorción de 4-MBA y PFOA

10.8.1. Absorción de 4-MBA

Se realizaron experimentos utilizando una selección de nuestros materiales para sumergirlos en disoluciones acuosas de 4-MBA (unos a 10 mM y otros a 0.1 mM), con el objetivo de absorber este compuesto en el interior de las matrices poliméricas mediante hinchamiento y difusión. Se resalta que en esta investigación se aprovecha a la técnica SERS para medir la respuesta producida, que se espera sea el resultado de la interacción entre las nanopartículas de oro (AuNPs) y las moléculas de 4-MBA, mediada por las cadenas hinchadas del copolímero P(NA). Por ello, el 4-MBA se utilizó como una molécula de referencia para analizar el fenómeno SERS, basándonos en trabajos previos publicados por nuestro grupo de investigación, entre ellos los estudios de Jáuregui et al. (2021) y Romo et al. (2021).

Para verificar que el 4-MBA fue efectivamente absorbido dentro de los materiales, se interrumpió el contacto entre los materiales y la disolución de 4-MBA. Luego, los materiales se sometieron a un proceso de secado, y se demostró que en estado deshidratado adquirieron un aspecto blanco-amarillo en su interior, con una tendencia hacia la acumulación del producto en el centro de la pastilla del polímero. Con las muestras que fueron hinchadas en la disolución de menor concentración, se obtuvo visualmente una menor saturación de color amarillo en la muestra y mayor transparencia. Esta apariencia fue interpretada como evidencia de la

acumulación del 4-MBA sólido en la red polimérica. En una sección posterior se discutirá el desempeño de estos materiales ante la técnica SERS.

10.8.2. Absorción de PFOA

Para la manipulación y trabajo directo con PFOA nos enfrentamos a la necesidad de abordar la toxicidad y los riesgos asociados con altas concentraciones de PFOA, lo que implicó una diferencia del enfoque cualitativo usado para evaluar la absorción de 4-MBA en nuestros materiales. Por lo tanto, fue necesario desarrollar un método experimental que garantizara el uso de concentraciones de este contaminante dentro del rango de ppm.

En este punto es importante resaltar que el objetivo principal de la investigación es determinar la afinidad de los materiales propuestos con las moléculas de PFOA y, en consecuencia, estimar la cantidad de PFOA absorbida. Para lograr esto, se ideó un método indirecto de cuantificación utilizando el colorante cristal violeta (CV). Este colorante tiene una propiedad interesante: forma un complejo de coordinación con el PFOA (Bai S. et al., 2022), lo que resulta en una reducción en la absorbancia del CV en el rango del UV-vis. Aprovechando esta característica, se prepararon disoluciones acuosas de CV para estimar indirectamente si se presenta una disminución en la concentración de PFOA cuando los materiales se colocan a hinchar en el medio líquido que contiene a este contaminante. Aunque se trata de un método impreciso para determinar la concentración real de PFOA en muestras líquidas, fue utilizado para estimar de forma cualitativa si realmente el PFOA presenta afinidad con el polímero, y, en consecuencia, tiene la capacidad de difundir hacia el interior de la red polimérica. Con esto se logró evitar el uso de tecnologías robustas, de alto costo y baja accesibilidad para realizar este tipo de determinaciones o análisis.

El proceso propuesto involucró entonces la realización de una curva de calibración inicial con los resultados de absorción de CV en función de la concentración de dicho colorante (**Figura 23**). Esto permitió establecer el rango de trabajo, donde una concentración específica de CV se redujo como consecuencia de la interacción con PFOA, mostrando una respuesta lineal mediante la exploración con la espectroscopía UV-vis. Así, la referencia encontrada fue de 7×10^{-6} M.

Con esta concentración de referencia de CV, se construyó una nueva curva de calibración a partir de los resultados de absorción del CV en función de su interacción con diversas concentraciones de PFOA (**Figura 24**). La observación comprobó el comportamiento lineal en todo el rango evaluado, demostrando la relación inversamente proporcional entre la absorbancia del CV y la concentración de PFOA.

Finalmente, con los ensayos realizados para lograr la absorción de PFOA en el material P(N-V)-Au_A, se confirmó que la migración de las moléculas de este contaminante hacia el interior

de la matriz polimérica del nanocomposito, se llevó a cabo, determinando que la concentración de PFOA absorbido por los polímeros fue de aproximadamente 120 ppm. Por lo tanto, este nanocomposito fue usado para realizar los ensayos preliminares con el análisis SERS.

En resumen, el uso del colorante cristal violeta como un método indirecto de cuantificación ofrece una forma recursiva pero eficiente de evaluar cualitativamente la concentración de PFOA absorbida, garantizando al mismo tiempo la seguridad y minimizando los riesgos asociados con altas concentraciones de este contaminante en nuestros experimentos.

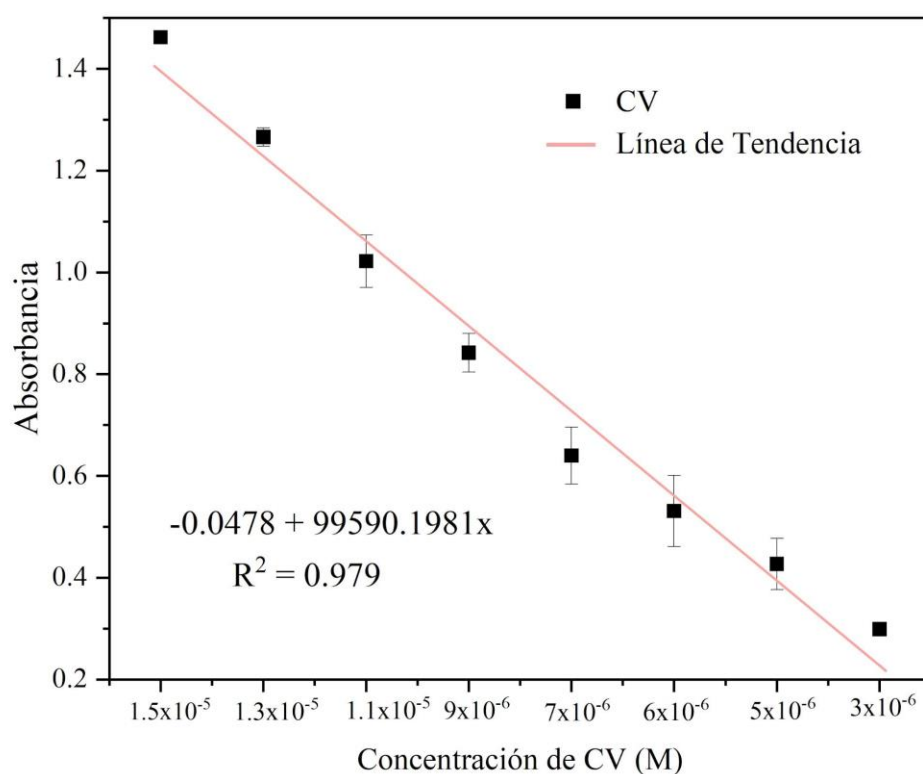


Figura 23. Figura 21. Curva de calibración de la absorbancia de CV a diferentes concentraciones.

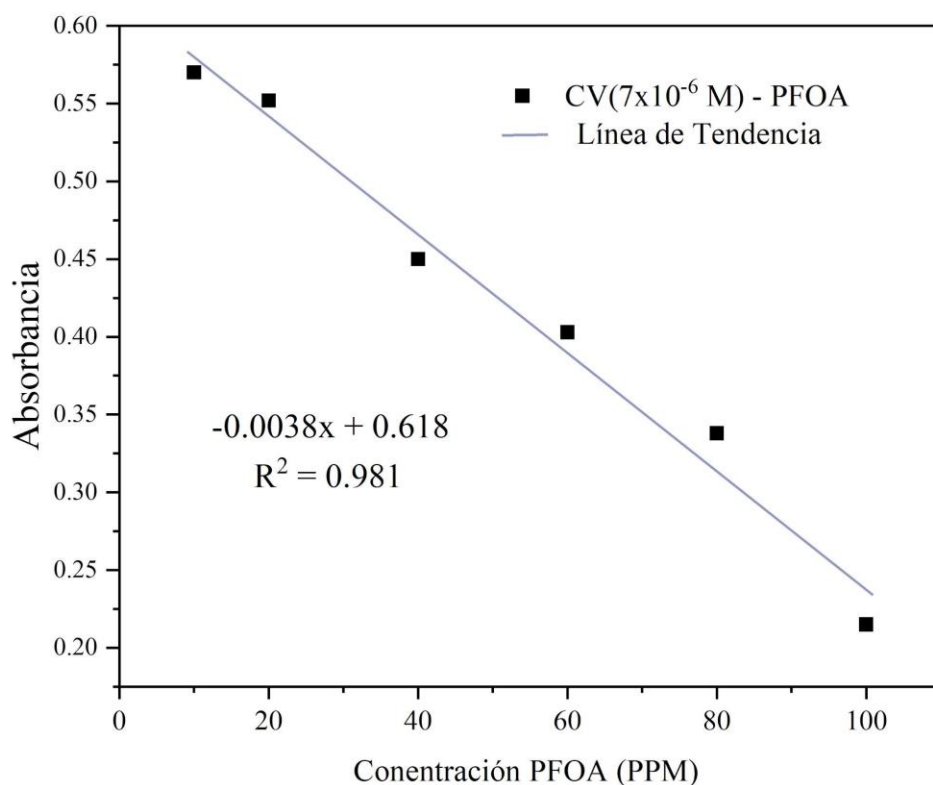


Figura 24. Curva de calibración de la absorbancia de CV a una concentración fija de 7×10^{-6} M, en función de su interacción con diferentes concentraciones de PFOA.

10.9. Señal Raman y potencial efecto SERS.

10.9.1. Respuesta Raman y SERS de los polímeros y nanocompositos al 4-MBA

Se utilizó la molécula 4-MBA como muestra de prueba, al ser una molécula analizada anteriormente por diversos autores, los cuales han identificado y reportado el espectro Raman y SERS que han obtenido con las principales señales atribuidas a la molécula (Jiang et al., 2013, Capocefalo et al., 2019 y Wang & Li., 2021).

Se llevaron a cabo dos diferentes experimentos tal como se describe en la **Sección 9.6**. En el primero las muestras se colocaron a hinchar en la presencia de una solución acuosa de 4-MBA a 10mM. Esto con el propósito de que el 4-MBA quede absorbido en el interior de las redes poliméricas, incluso después del proceso de secado. En el segundo experimento, fueron puestas a 0.1 mM de 4-MBA. Las dos disoluciones fueron preparadas en un medio amortiguador

(buffer pH = 10) para favorecer la solvatación. Esto indica que el medio utilizado presentó un alto contenido de fosfatos.

Para el primer experimento, una de las dos muestras seleccionadas para absorber el 4-MBA a 10 mM fue el copolímero P(N-V), para que al analizar la muestra por la técnica Raman se lograra identificar el aporte de señales desde la matriz (P(N-V)). De forma similar, también se analizó en Raman la muestra P(N-V) sin 4-MBA, con el fin de obtener el espectro de la matriz polimérica en ausencia de la molécula como referencia. Por lo tanto, al sustraer al espectro de P(N-V) con 4MBA las señales de la matriz P(N-V), se obtienen las señales correspondientes a la molécula 4-MBA presente en la muestra. La segunda muestra que se sometió al proceso de hinchamiento fue la P(N-V)-Au_M, con el objetivo de obtener un potencial efecto SERS para el espectro del 4-MBA, al contener NPs en la matriz polimérica..

En la **Figura 25** se muestran los espectros obtenidos de las tres muestras analizadas en el primer experimento. En estos es posible observar algunas similitudes entre las muestras que contenían 4-MBA, identificando los dos principales picos (de mayor intensidad) correspondientes al espectro Raman de la molécula 4-MBA.

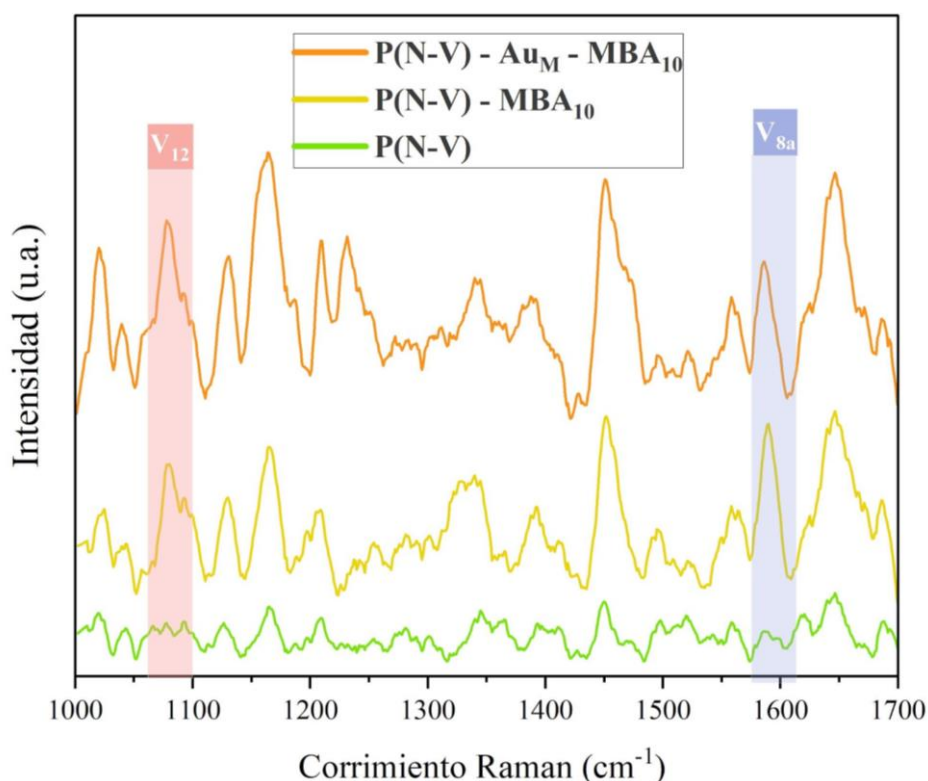


Figura 25. Espectros Raman de las muestras analizadas en el primer experimento.

Para una mejor visualización e identificación de las señales presentes en los espectros, se realizó el procesamiento de los datos, incluyendo restas de espectros, con el fin de obtener solo las señales provenientes del 4-MBA. En la **Figura 26** se pueden observar los resultados, junto con el espectro (amarillo) obtenido al medir directamente el polvo de 4-MBA como referencia.

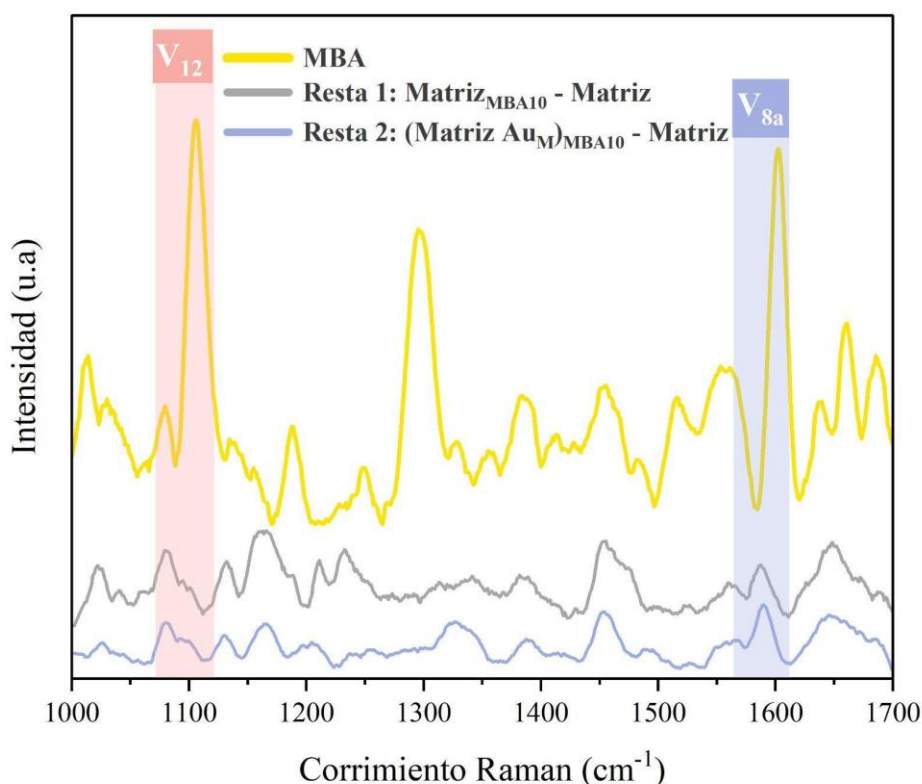


Figura 26. Espectros Raman de 4-MBA en polvo (espectro amarillo) y de las restas realizadas entre los espectros.

En la **Tabla 6** se pueden observar los códigos utilizados para las muestras analizadas en Raman y las restas realizadas en el tratamiento de los datos obtenidos de los espectros.

Para conocer si alguna de las señales presentes en el espectro obtenido pertenece al 4-MBA se realizó una tabla comparativa (**Tabla 7**), en la cual se colocaron como referencia las señales de 4-MBA obtenidas en un trabajo ya reportado por Capocefalo y colaboradores (2019). En estas se establecen las bandas características de la molécula, las cuales se ubican en el pico V_{8a} presente en 1594 cm^{-1} y el pico V_{12} localizado alrededor de 1098 cm^{-1} los cuales se atribuyen a los anillos de modo vibracional de respiración del anillo bencénico de la molécula 4-MBA. No obstante, al hacer una recopilación de los reactivos y sustancias utilizadas durante la síntesis e hinchamiento de los hidrogeles, con el fin de descartar que alguno de estos pudiera interferir en las señales de la molécula 4-MBA, se encontró que para llevar a cabo el proceso de absorción del 4-MBA fue necesario lograr disolverlo en agua, lo cual requirió el uso de una disolución tampón ajustada a pH 10.0. Se conoce que esta sustancia contiene $K_2PO_4/KHPO_4$, que en otras

palabras significa que presenta un contenido alto de iones fosfatos (Franchini & Carstensen, 1996). Estos fosfatos presentan una banda en SERS justo en donde se presenta la banda del pico V_{12} del espectro típico del 4-MBA, por lo que no es posible considerar o asignar con certeza que esa banda se debe a la presencia del 4-MBA. Al considerar lo anterior, en la **Tabla 7** solo se usa de referencia el pico V_{8a} , con su rango de aparición tanto en Raman como en efecto SERS y los picos obtenidos en nuestros espectros, con el objetivo de discernir si se trata de las mismas bandas características del 4-MBA. Como se observa en la Tabla 7, en los espectros obtenidos en este trabajo se puede identificar que en las tres muestras analizadas presentan un pico alrededor de 1600 cm^{-1} , sin embargo, de acuerdo con lo reportado por Capocefalo y colaboradores (2019), se observa un desplazamiento de este pico a menores valores de corrimiento Raman, al comparar un efecto Raman y un efecto SERS, de aproximadamente 8 cm^{-1} . Al analizar el pico V_{8a} obtenido de la muestra 4-MBA y el obtenido en la muestra (Matriz Au_M) MBA - Matriz, es posible observar un desplazamiento hacia la izquierda de la muestra con AuNPs, siendo coherente con lo reportado en el artículo de referencia. Sin embargo, la banda del pico V_{8a} en la resta de la Matriz MBA_{10} - Matriz, muestra el pico en 1587.5 cm^{-1} , lo cual es confuso, ya que al no tener AuNPs se esperaba que arrojara este pico alrededor de 1594 cm^{-1} . Esto se podría atribuir a que al estar la molécula dentro de la matriz polimérica su respuesta vibracional se ve modificada.

Tabla 6. Hidrogel y Nanocomposito sometidos a absorción de solución con 4-MBA y el tipo de espectro esperado al analizarlos mediante el equipo Raman.

Muestra	Código
Matriz polimérica	P(N-V)
Muestra 1	P(N-V) - MBA_{10}
Muestra 2	P(N-V) - Au_M - MBA_{10}
4-MBA en polvo	MBA
Resta 1	Matriz MBA_{10} - Matriz
Resta 2	(Matriz Au_M) MBA - Matriz

Tabla 7. Hidrogel y Nanocomposito sometidos a absorción de 4-MBA a 10 mM y las señales esperadas en el espectro Raman.

	Tipo de señal obtenida	V_{8a}
<u>Capocefalo et al., 2019</u> 4-MBA	Raman	1594 cm^{-1}
<u>Capocefalo et al., 2019</u> 4-MBA	SERS	1586 cm^{-1}
MBA	Raman	1603 cm^{-1}
Matriz _{MBA10} – Matriz	Raman	1588 cm^{-1}
(Matriz Au _M) _{MBA} - Matriz	SERS	1589 cm^{-1}

Para el segundo experimento, se disminuyó la concentración de 4-MBA utilizada en el proceso de absorción de la molécula (de 10 mM a 0.1 mM) y se aumentó la concentración de AuNPs utilizando la muestra P(N-V)-Au_A en lugar del sistema de concentración media utilizado en el primer experimento. Estas modificaciones se hicieron con el objetivo de prevenir una saturación de la molécula dentro de la matriz polimérica y a su vez que se obtuviera un mayor número de AuNPs entre las redes, por lo que se promovieron más puntos de encuentro entre las nanopartículas y las moléculas de 4-MBA, buscando observar el efecto SERS del 4-MBA con mayor claridad. Como se puede observar en la **Figura 27**, se encuentran las dos muestras analizadas en Raman junto con el espectro de la matriz. De igual forma, en el tratamiento de los datos se realizó una resta de la Matriz-AuM_{MBA} menos la Matriz Au_M, logrando atribuir así que la señal obtenida proviene de la presencia de 4-MBA (**Figura 28**).

En la **Tabla 8** se muestra el pico V_{8a} en cada espectro de las muestras analizadas en el segundo experimento. Se puede observar que la aparición del pico en la muestra: (Matriz Au_M)_{MBA0.1} se encuentra en 1595 cm^{-1} . Sin embargo, se esperaba que apareciera alrededor de 1586 cm^{-1} , ya que al estar presentes las AuNPs se esperaría una señal SERS, pero al analizar con detenimiento el pico del polvo de 4-MBA, este se encuentra a 1603 cm^{-1} , por lo que se estaría frente al desplazamiento de -8 cm^{-1} a menores valores de corrimiento Raman, que se puede atribuir a la presencia del efecto SERS. Debe mencionarse que en ambas señales (MBA de referencia y resta) se observa un “offset” con respecto a los valores reportados por Capocefalo et al., (2019), lo cual puede provenir ya sea de una cierta interacción con las cadenas poliméricas, o bien, de algún error de medición del equipo.

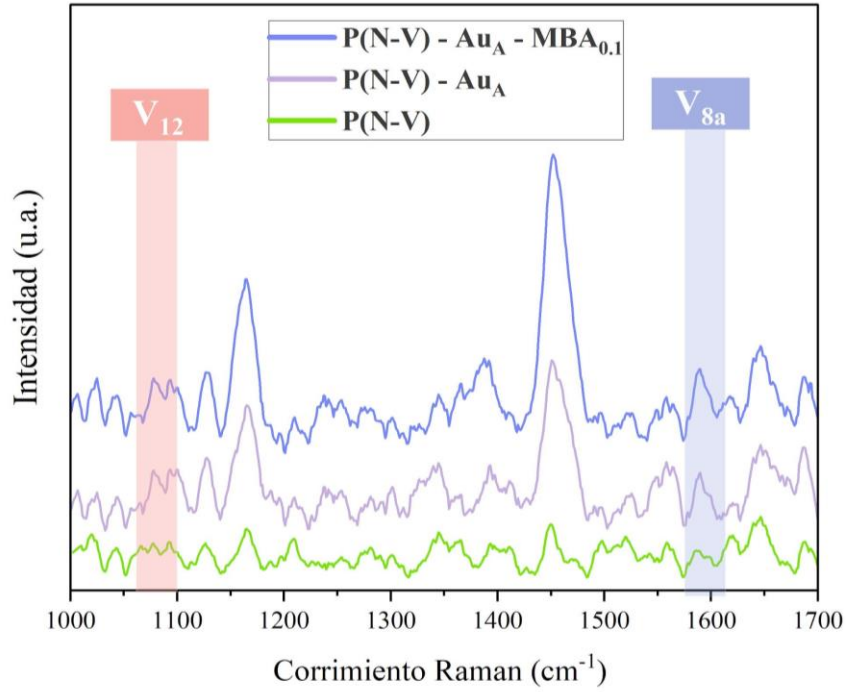


Figura 27. Espectros Raman de las muestras analizadas en el segundo experimento.

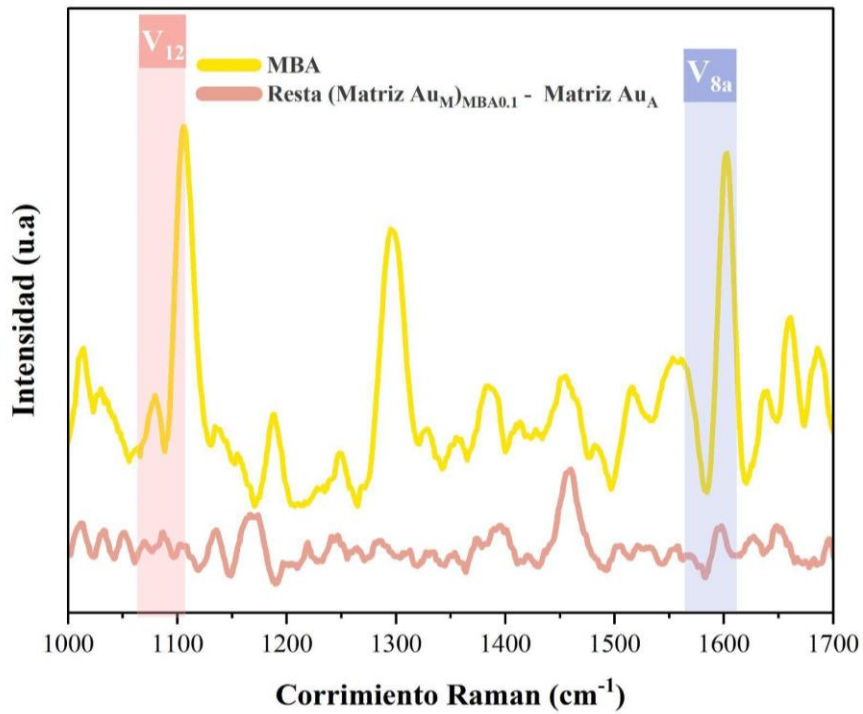


Figura 28. Espectros Raman de 4-MBA en polvo (espectro amarillo) y de la resta de la señal obtenida del nanocomposito P(N-V)-AuA-4-MBA_{0.1} menos P(N-V)-AuA (especto rosa).

Tabla 8. Hidrogel y Nanocomposito sometidos a absorción de solución 4-MBA a 0.1 mM y el tipo de espectro esperado al analizarlos en el equipo Raman.

Muestra	Tipo de señal obtenida	V_{8a}
<u>Capocefalo et al., 2019</u>	Raman	1594 cm^{-1}
<u>Capocefalo et al., 2019</u>	SERS	1586 cm^{-1}
MBA	Raman	1603 cm^{-1}
(Matriz Au_M) $\text{MBA}_{0.1}$ - Matriz Au_A	SERS	1595 cm^{-1}

10.9.2. *Evaluación de la respuesta Raman y SERS de los polímeros y nanocompositos con PFOA.*

Los espectros Raman de los hidrogeles P(N-V)Au_A se muestran en la **Figura 29**, junto con el espectro Raman de PFOA, usado como referencia, el cual se encuentra ubicado en la parte superior de la gráfica. Para la identificación de los picos característicos del PFOA, se consultó el trabajo reportado por McDonnell y su equipo (2023), en el cual obtuvieron los espectros Raman y SERS de PFOA. En ellos se exhibe una serie de picos intensos, entre los principales se encuentra el modo de estiramiento simétrico CF_3 alrededor de 730 cm^{-1} (**Fig. 29**, banda marcada en amarillo) y el modo de estiramiento CF alrededor de 1350 cm^{-1} (**Fig. 29**, banda marcada en azul). En dicho trabajo se concluye que los espectros tanto Raman como SERS mantenían estos picos principales, cuya diferencia entre ambos análisis indica que en SERS aparecen más picos, de los cuales una gran mayoría no pudieron asignar con certeza a algunas de las especies químicas presentes. Sin embargo, ellos mencionan que su aparición podría atribuirse al efecto SERS, es decir, la mejora de la señal de los modos de vibración que de otro modo no serían observables en las mediciones de espectroscopia Raman normales. Teniendo como referencia lo reportado en dicho trabajo, se identificaron las señales que aparecen en los intervalos reportados, los cuales se pueden observar en la **Fig. 29**. En esta Figura, en color amarillo se puede observar el área donde típicamente aparece el modo de estiramiento CF_3 y se puede observar que en el espectro del PFOA puro, se encuentra el pico característico de dicho estiramiento alrededor de 725 cm^{-1} . También se observa que en la muestra que se mantuvo menor tiempo sumergida en el agua contaminada de PFOA, se presenta un pico alrededor de 742 cm^{-1} . Para el caso de la muestra que tuvo mayor tiempo de contacto con el PFOA, se puede observar que en ese rango se encuentran unidos dos picos, uno en 741 cm^{-1} y el otro en 742 cm^{-1} . Para el modo de estiramiento CF se puede observar que en el espectro del PFOA aparece alrededor de 1365 cm^{-1} , mientras que para las muestras poliméricas con AuNPs, no se presentan un pico destacable en ese rango. Sin embargo, alrededor de 1392 cm^{-1} las dos

muestras exhiben un pico (**Fig. 29**, línea punteada), el cual no aparece en el espectro de la matriz polimérica con AuNPs sin PFOA (espectro de color naranja en la **Fig. 29**), siendo posible deducir que este pico podría ser un ligero desplazamiento del modo de estiramiento CF presente en el PFOA. Se puede atribuir entonces este corrimiento a la presencia de plasmones, al contener AuNPs en la matriz polimérica de las muestras.

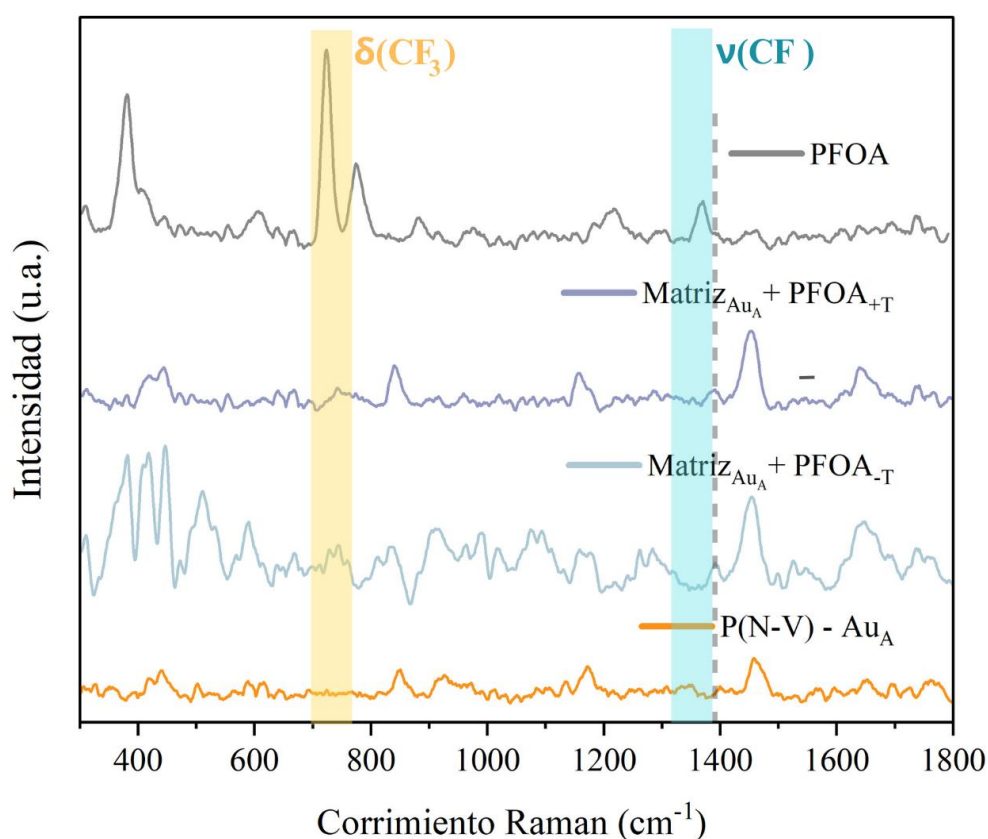


Figura 29. Espectros Raman obtenidos de los nanocompositos cargados con la molécula PFOA y el espectro de el PFOA analizado en estado sólido.

11. CONCLUSIONES

- Se sintetizaron exitosamente AuNPs por medio del método Turkevich y se logró su estabilización llevando a cabo una funcionalización con Tween20 (T20).
- Se comprobó por medio de microscopía TEM un tamaño aproximado de 13 nm para las AuNPs, y por espectroscopía de UV-vis que las propiedades plasmónicas de las nanopartículas se ven afectadas por la adición de T20 como agente surfactante.
- Se logró sintetizar hidrogeles de PNIPAAm y del copolímero PNIPAAm-co-PVP por medio de polimerización por radicales libres. Los dos materiales presentaron sensibilidad al cambio de temperatura del medio, con LCST entre 32 y 36 °C. En comparación con el hidrogel de puro PNIPAAm, la adición de NVP al copolímero aumentó la capacidad de hinchamiento del material y la LCST.
- Se logró sintetizar nanocompositos mediante la síntesis de los hidrogeles de PNIPAAm y el copolímero PNIPAAm-co-PVP en la presencia de AuNPs. Se sintetizaron materiales con tres diferentes concentraciones de AuNPs: baja, media y alta. Todos los nanocompositos presentaron sensibilidad a la temperatura, con LCST en el intervalo de 34 a 36 °C. Para efectos comparativos, se logró sintetizar un nanocomposito polimerizando PNIPAAm en la presencia de AuNPs a una concentración media. Este polímero presentó menor capacidad de hinchamiento y una LCST a 31.8 °C, lo cual comprobó que NVP y AuNPs mejoran la capacidad de hinchamiento del material, y desplazan la LCST hacia mayores temperaturas.
- Las caracterizaciones por espectroscopía FTIR demostraron la presencia de los grupos funcionales de los monómeros PNIPAAm y NVP. Los análisis por XRD demostraron que las AuNPs afectan la formación de dominios semicristalinos en la matriz polimérica debido a los espacios que ocupan en las redes poliméricas. El análisis térmico por medio de la técnica TGA demostraron que las AuNPs causan un desplazamiento en las temperaturas de descomposición de las matrices poliméricas libres de nanopartículas. La espectroscopía XPS demostró el agente surfactante (T20) influyó en el encapsulamiento de las nanopartículas, por lo tanto, las señales esperadas para el elemento oro (Au) no fueron observadas en el espectro, debido a la interferencia en el análisis superficial de las AuNPs al contener T20. Este resultado fue coherente con algunas observaciones registradas para cada prueba de caracterización.
- Los nanocompositos propuestos presentaron la capacidad para absorber 4-MBA y albergarlo en el interior de la matriz polimérica. El seguimiento de dicha absorción pudo realizarse de forma visual.

- Para los ensayos de detección del 4-MBA absorbido en los nanocompositos, los resultados obtenidos para la espectroscopía Raman demostraron un desplazamiento de los picos típicos de la molécula reportados por otros autores. Sin embargo, el corrimiento que se presenta en el efecto SERS sí coincide con el desplazamiento de las muestras con presencia de AuNPs. Esto es un indicativo de que las AuNPs embebidas en una matriz polimérica promueve un incremento de la sensibilidad de detección de la molécula 4-MBA. De los dos experimentos realizados para el análisis de la presencia de esta molécula, el que mostró una mejor respuesta SERS fue el que utilizó una concentración mayor de AuNPs en el material y una concentración menor de 4-MBA en el medio de absorción. Esto reveló que la saturación del analito en el material causa interferencia en este tipo de cuantificación.
- Para lograr deducir si los nanocompositos propuestos tenían la capacidad para absorber PFOA, se recurrió a un método indirecto para medir la formación de un complejo entre el colorante cristal violeta (CV) y las moléculas de PFOA presentes en medio acuoso. Este método demostró que una fracción del PFOA sí fue absorbida en la matriz polimérica.
- Para la detección SERS de PFOA absorbido en los nanocompositos se encontró que las muestras presentaron dos señales típicas para la presencia de PFOA, que se podrían atribuir al efecto de los plasmones provocados AuNPs en la matriz polimérica, indicando así que el material propuesto presenta un alto potencial para identificar PFOA por medio del método SERS.

12. REFERENCIAS

- 3M (2000). 26-week capsule toxicity study with perfluorooctane sulfonic acid potassium salt (PFOS; T-6295) in cynomolgus monkeys. Administrative Record AR226-0145. URL: <https://www.documentcloud.org/documents/4346742-US00004524.html>
- Abunada, Z., Alazaiza, M. Y. D., & Bashir, M. J. K. (2020). An Overview of Per- and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in the Environment: Source, Fate, Risk and Regulations. *Water*, 12(12), 3590. doi:10.3390/w12123590
- Ahmad, U., Sohail, M., Ahmad, M., Minhas, M. U., Khan, S., Hussain, Z., ... Rashid, H. (2019). Chitosan based thermosensitive injectable hydrogels for controlled delivery of loxoprofen: development, characterization, and in-vivo evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 129, 233–245. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.02.031
- Agencia para Sustancias Tóxicas y Registro de Enfermedades (ATSDR) PFAS en la población estadounidense. URL (2021) <https://www.atsdr.cdc.gov/pfas/health-effects/us-population.html/>
- Akelah A. & Moet A. (1990). Functionalized polymers and their applications. Chapman and Hall, London.
- Albañil, L. (2019) Síntesis y caracterización de hidrogeles nanoestructurados inteligentes activados térmicamente p-(NIPAM-CO-POSS). Universidad autónoma del estado de Morelos Instituto de investigación en ciencias básicas y aplicadas centro de investigación en ingeniería y ciencias aplicadas.
- Alderete, T. L., Jin, R., Walker, D. I., Valvi, D., Chen, Z., Jones, D. P., ... & Chatzi, L. (2019). Perfluoroalkyl substances, metabolomic profiling, and alterations in glucose homeostasis among overweight and obese Hispanic children: A proof-of-concept analysis. *Environment international*, 126, 445-453. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.02.047>
- Araneda Reyes, E. J. (2015). Copolímeros en bloque. Análisis estructural, morfológico y en mezclas con homopolímeros cristalinos.
- Araújo, P. H. H., Sayer, C., Giudici, R., & Poço, J. G. R. (2002). Techniques for reducing residual monomer content in polymers: A review. *Polymer Engineering & Science*, 42(7), 1442–1468. doi:10.1002/pen.11043
- Arrieta Cortés, R. (2017) Propuesta de regulación de perfluoroalquilos de alto riesgo en México: El caso del PFOS.
- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). (2021). Toxicological Profile for Perfluoroalkyls (Draft for Public Comment). <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp200.pdf>

- ATSDR (Agency for Toxic Substances and Disease Registry). Toxicological Profile for Perfluoroalkyls (Draft for Public Comment). Department of Health and Human Services, Public Health Service (2018). <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=1117&tid=237>
- Auffan M., Rose J., Bottero J.Y., Lowry G.V., Jolivet J.P., Wiesner M.R. Towards a definition of inorganic nanoparticles from an environmental, health and safety perspective. *Nat Nanotechnol.* 2009;4(10):634-641
- Bai, S.; Hu, A.; Hu, Y.; Ma, Y.; Obata, K.; Sugioka, K. (2022). Plasmonic Superstructure Arrays Fabricated by Laser Near-Field Reduction for Wide-Range SERS Analysis of Fluorescent Materials. *Nanomaterials (Basel)*. 15;12(6):970. doi: 10.3390/nano12060970. PMID: 35335783; PMCID: PMC8950659.
- Banjabi, A. A., Li, A. J., Kumosani, T. A., Yousef, J. M., & Kannan, K. (2020). Serum concentrations of perfluoroalkyl substances and their association with osteoporosis in a population in Jeddah, Saudi Arabia. *Environmental Research*, 187, 109676. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109676>
- Steenland, K., Calafat, A. M., Lyu, C., Kato, K. & Ryan, P. B. (2009). Rate of Decline in Serum PFOA Concentrations after Granular Activated Carbon Filtration at Two Public Water Systems in Ohio and West Virginia. *Environmental Health Perspectives*, 118(2), 222–228. doi:10.1289/ehp.0901252
- Bartosewicz, B., Bujno, K., Liszewska, M., Budner, B., Bazarnik, P., Płociński, T., & Jankiewicz, B. J. (2018). Effect of citrate substitution by various α -hydroxycarboxylate anions on properties of gold nanoparticles synthesized by Turkevich method. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 549, 25–33. doi:10.1016/j.colsurfa.2018.03.073
- Belisle, J. (1981). Organic fluorine in human serum: Natural versus industrial sources. *Science*, 212(4502), 1509-1510
- Biegel, L. B., Hurtt, M. E., Frame, S. R., O'Connor, J. C., & Cook, J. C. (2001). Mechanisms of Extrahepatic Tumor Induction by Peroxisome Proliferators in Male CD Rats. *Toxicological Sciences*, 60(1), 44–55. doi:10.1093/toxsci/60.1.44
- Bjorke-Monsen, A. L., Varsi, K., Averina, M., Brox, J., & Huber, S. (2020). Perfluoroalkyl substances (PFASs) and mercury in never-pregnant women of fertile age: association with fish consumption and unfavorable lipid profile. *BMJ Nutrition, Prevention & Health*, 3(2), 277. doi: 10.1136/bmjnph-2020-000131
- Blake, B. E., & Fenton, S. E. (2020). Early life exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and latent health outcomes: A review including the placenta as a target tissue and possible driver of peri- and postnatal effects. *Toxicology*, 152565. doi:10.1016/j.tox.2020.152565
- Bremauntz, A. F., Ramírez, M. Y., & Castro Díaz, J. (2005). Las sustancias tóxicas persistentes en México (No. 363.738 S9). Secretaría del Medio Ambiente y

- Brusseau, ML (2018). Evaluar las contribuciones potenciales de procesos de retención adicionales al retardo de PFAS en el subsuelo. *Ciencia del Medio Ambiente Total*, 613, 176-185. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2017.09.065>
- Buck, R. C., Franklin, J., Berger, U., Conder, J. M., Cousins, I. T., de Voogt, P., ... van Leeuwen, S. P. (2011). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in the environment: Terminology, classification, and origins. *Integrated Environmental Assessment and Management*, 7(4), 513–541. doi:10.1002/ieam.258
- Butt, C. M., Muir, D. C. G., & Mabury, S. A. (2013). Biotransformation pathways of fluorotelomer-based polyfluoroalkyl substances: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(2), 243–267. doi:10.1002/etc.2407
- Canal Noval, I. (2016). Obtención y caracterización de partículas coloidales a partir de proteínas vegetales hidrofóbicas ricas en prolina.
- Capocefalo, A., Mammucari, D., Brasili, F., Fasolato, C., Bordini, F., Postorino, P., & Domenici, F. (2019). Exploring the Potentiality of a SERS-Active pH Nano-Biosensor. *Frontiers in Chemistry*, 7. doi:10.3389/fchem.2019.00413
- Chang, C. J., Barr, D. B., Zhang, Q., Dunlop, A. L., Smarr, M. M., Kannan, K., ... & Ryan, P. B. (2021). Associations of single and multiple per-and polyfluoroalkyl substance (PFAS) exposure with vitamin D biomarkers in African American women during pregnancy. *Environmental Research*, 202, 111713. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.111713>
- Chatterjee, S., Motkuri, R. K., Truex, M. J., Barpaga, D., Shutthanandan, V., Han, K. S., ... & Wilson, R. (2020). Advances in PFAS Monitoring and Remediation Using a Functionalized Material Approach– (No. PNNL-SA-149064). Pacific Northwest National Lab. (PNNL), Richland, WA (United States).
- Cordner, A., Goldenman, G., Birnbaum, L. S., Brown, P., Miller, M. F., Mueller, R., Patton, S., Salvatore, D. H., Trasande, L. (2021). The True Cost of PFAS and the Benefits of Acting Now. *Environmental Science & Technology*, 55(14), 9630–9633. doi:10.1021/acs.est.1c03565
- Cortés, J.A., Puig, J.E., Morales, J.A., & Mendizábal, E. (2011). Hidrogeles nanoestructurados termosensibles sintetizados mediante polimerización en microemulsión inversa. *Revista mexicana de ingeniería química*, 10(3), 513-520. Recuperado en 22 de junio de 2023, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1665-27382011000300016&lng=es&tlng=es.
- Cui, Q., Pan, Y., Wang, J., Liu, H., Yao, B., & Dai, J. (2020). Exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFASs) in serum versus semen and their association with male reproductive hormones. *Environmental Pollution*, 266, 115330. doi:10.1016/j.envpol.2020.1153

- Davis, K. L., Aucoin, M. D., Larsen, B. S., Kaiser, M. A., & Hartten, A. S. (2007). Transport of ammonium perfluorooctanoate in environmental media near a fluoropolymer manufacturing facility. *Chemosphere*, 67(10), 2011–2019. doi:10.1016/j.chemosphere.2006.11.049
- Ekicibil, A.; Ozkendir, O.; Farha, A.; Ufuktepe, Y. (2015). Study of the electronic properties of $\text{Zn}_{0.8-4}\text{HoxOy}$ ($0.05 \leq x \leq 0.09$) by X-ray absorption and photoemission spectroscopy *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 202, 56-61, <https://doi.org/10.1016/j.elspec.2015.03.004>.
- Environmental Working Group (EWG). 2019. For 50 years, polluters knew pfas chemicals were dangerous but hid risks from the public. Environmental Working Group. URL: https://static.ewg.org/reports/2019/pfa-timeline/3M-DuPont-Timeline_sm.pdf
- EPA, US. (2005). Draft risk assessment of the potential human health effects associated with exposure to perfluorooctanoic acid and its salts. US EPA Office of Pollution Prevention and Toxics. Risk Assessment Division.
- Espartero, L. J. L., Yamada, M., Ford, J., Owens, G., Prow, T., & Juhasz, A. (2022). Health-related toxicity of emerging per-and polyfluoroalkyl substances: Comparison to legacy PFOS and PFOA. *Environmental Research*, 212, 113431. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113431>
- Fan, X., Gu, S., Wu, L., & Yang, L. (2020). Preparation and characterization of thermoresponsive poly(N-isopropylacrylamide) copolymers with enhanced hydrophilicity. *e-Polymers*, 20(1), 561–570. doi:10.1515/epoly-2020-0061
- Faraday, M. (1857). The Bakerian Lecture: Experimental Relations of Gold (and Other Metals) to Light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 147(0), 145–181. doi:10.1098/rstl.1857.0011
- Franchini, M. K., & Carstensen, J. T. (1996). Confirmation of the Mukerjee Term in an Extended Corrin-Harkins Relation Using an Anionic Amphiphilic Drug †. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 85(2), 220–227. doi:10.1021/js950138t
- Fromme, H., Tittlemier, S. A., Völkel, W., Wilhelm, M., & Twardella, D. (2009). Perfluorinated compounds–exposure assessment for the general population in Western countries. *International journal of hygiene and environmental health*, 212(3), 239-270.
- Gad, S. E. Polymers, Editor(s): Philip Wexler, *Encyclopedia of Toxicology* (Third Edition), Academic Press, 2014, Pages 1045-1050, ISBN 9780123864550, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386454-3.00912-X>.
- Gallo R., & Piazza, N. (2011) Chapter 17 - Emerging Diagnostic Procedures for the Vulnerable Plaque, Editor(s): Pierre Thérault, *Acute Coronary Syndromes: A Companion to Braunwald's Heart Disease* (Second Edition), W.B. Saunders, Pages 172-180, ISBN 9781416049272, <https://doi.org/10.1016/B978-1-4160-4927-2.00017-7>.

- García, D., Escobedo, J. L., Bada, N., & Casqueda, J. (2003). ESTUDIO DE LA TRANSICIÓN CRÍTICA A TEMPERATURAS BAJAS (LCST) EN HIDROGELES TERMOSENSIBLES DE POLI (N-ISOPROPILACRILAMIDA-CO-N, N-DIMETILACRILAMIDA). In Congreso de la Sociedad Cubana de Bioingeniería. Memoria (Vol. 2003).
- García-Ramos, J. V., & Sánchez-Cortés, S. (2006). Espectroscopía vibracional sobre nanoestructuras metálicas (SERS y SEIR): nuevos sustratos y aplicaciones.
- Garg, S., Kumar, P., Greene, G. W., Mishra, V., Avisar, D., Sharma, R. S., & Dumée, L. F. (2022). Nano-enabled sensing of per-/poly-fluoroalkyl substances (PFAS) from aqueous systems – A review. *Journal of Environmental Management*, 308, 114655. <https://doi.org/10.1016/J.JENVMAN.2022.114655>
- Geever, L. M., Mínguez, C. M., Devine, D. M., Nugent, M. J. D., Kennedy, J. E., Lyons, J. G., ... Higginbotham, C. L. (2007). The synthesis, swelling behaviour and rheological properties of chemically crosslinked thermosensitive copolymers based on N-isopropylacrylamide. *Journal of Materials Science*, 42(12), 4136–4148. doi:10.1007/s10853-006-0912-z
- Giesy, J. P., & Kannan, K. (2001). Global Distribution of Perfluorooctane Sulfonate in Wildlife. *Environmental Science & Technology*, 35(7), 1339–1342. doi:10.1021/es001834k
- Godoy, R. T. M. (2017). Desarrollo de un sensor químico basado en nanopartículas de oro para la detección colorimétrica de serotonina. Universitat Politècnica de València. <http://hdl.handle.net/10251/79917>
- Goldenman, G., Fernandes, M., Holland, M., Tugran, T., Nordin, A., Schoumacher, C., & McNeill, A. (2019). The cost of inaction: A socioeconomic analysis of environmental and health impacts linked to exposure to PFAS. Nordic Council of Ministers.
- Gomez L. F., Caballero, Pichardo M., Basurto G., (2022). Cellulose dialysis membrane tubing doped with gold nanoparticles as SERS substrate, *Materials Letters*, Volume 313, 131718, ISSN 0167-577X, <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2022.131718>.
- Gong, X., Yang, C., Hong, Y., Chung, A. C. K., & Cai, Z. (2019). PFOA and PFOS promote diabetic renal injury in vitro by impairing the metabolisms of amino acids and purines. *Science of The Total Environment*. doi:10.1016/j.scitotenv.2019.04.208
- Gonzales C. A. (2023) Síntesis de un nanocomposito con nanopartículas de oro dispersas en un hidrogel termosensible de poli(N-isopropilacrilamida-co-acrilamida), para la detección de PFOA por medio de la técnica SERS. Universidad Autónoma de Baja California.
- Goss, K.-U., & Arp, H. P. H. (2009). Comment on “Experimental pKaDetermination for Perfluorooctanoic Acid (PFOA) and the Potential Impact of pKaConcentration Dependence on Laboratory-Measured Partitioning

- Phenomena and Environmental Modeling.” *Environmental Science & Technology*, 43(13), 5150–5151. doi:10.1021/es900451s
- Gremmel, C., Frömel, T., & Knepper, T. P. (2016). HPLC–MS/MS methods for the determination of 52 perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances in aqueous samples. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 409(6), 1643–1655. doi:10.1007/s00216-016-0110-z
- Guelfo, J. L., & Higgins, C. P. (2013). Subsurface Transport Potential of Perfluoroalkyl Acids at Aqueous Film-Forming Foam (AFFF)-Impacted Sites. *Environmental Science & Technology*, 47(9), 4164–4171. doi:10.1021/es3048043
- Gutierrez, A. (2008) Relación entre los espectros UV-VIS y el tamaño y morfología de nanopartículas de oro y plata. <http://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1025/343>
- Gutarra, J., Rueda J. C. & Corzo A. (2017) Elaboración de nanopartículas de oro en hidrogeles termosensitivos. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 83(1), 78-90. Recuperado en 17 de junio de 2023, de http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1810-634X2017000100008&lng=es&tlng=es.
- Han, X., Snow, T. A., Kemper, R. A., & Jepson, G. W. (2003). Binding of perfluorooctanoic acid to rat and human plasma proteins. *Chemical research in toxicology*, 16(6), 775-781.
- Hansen, K. J., Clemen, L. A., Ellefson, M. E., & Johnson, H. O. (2001). Compound-specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices. *Environmental science & technology*, 35(4), 766-770.
- Ho, C.-H., & Lee, S. (2015). SERS and DFT investigation of the adsorption behavior of 4-mercaptobenzoic acid on silver colloids. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 474, 29–35. doi:10.1016/j.colsurfa.2015.03.004
- Holmes-Hampton, G. P., Tong W., Rouault T. A. Chapter Fifteen (2014) - Biochemical and Biophysical Methods for Studying Mitochondrial Iron Metabolism, Editor(s): Anne N. Murphy, David C. Chan, *Methods in Enzymology*, Academic Press, Volume 547, Pages 275-307, ISSN 0076-6879, ISBN 9780128014158, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-801415-8.00015-1>.
- Hu, X., Li, S., Cirillo, P. M., Krigbaum, N. Y., Tran, V., Jones, D. P., & Cohn, B. A. (2019). Metabolome wide association study of serum poly and perfluoroalkyl substances (PFASs) in pregnancy and early postpartum. *Reproductive Toxicology*, 87, 70-78. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2019.05.058>
- Jahnke, A., & Berger, U. (2009). Trace analysis of per- and polyfluorinated alkyl substances in various matrices—How do current methods perform? *Journal of Chromatography A*, 1216(3), 410–421. doi:10.1016/j.chroma.2008.08.098
- Jauegui, M. (2021). Nanopartículas plasmónicas embebidas en hidrogeles para la

evaluación de moléculas inorgánicas en aguas costeras. Centro de Nanociencias y Nanotecnología, UNAM. Recuperado de <https://repositorio.unam.mx/contenidos/3549882>

- Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., & Schatz, G. C. (2003). The Optical Properties of Metal Nanoparticles: The Influence of Size, Shape, and Dielectric Environment. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107(3), 668–677. doi:10.1021/jp026731y
- Kennedy, G. L., Butenhoff, J. L., Olsen, G. W., O'Connor, J. C., Seacat, A. M., Perkins, R. G., ... Farrar, D. G. (2004). The Toxicology of Perfluorooctanoate. *Critical Reviews in Toxicology*, 34(4), 351–384. doi:10.1080/10408440490464705
- Kennedy, G. L., Hall, G. T., Brittelli, M. R., Barnes, J. R., & Chen, H. C. (1986). Inhalation toxicity of ammonium perfluorooctanoate. *Food and Chemical Toxicology*, 24(12), 1325–1329. doi:10.1016/0278-6915(86)90066-9
- Kim, Y. R., White, N., Bräunig, J., Vijayasarathy, S., Mueller, J. F., Knox, C. L., ... & Toms, L. M. L. (2020). Per- and poly-fluoroalkyl substances (PFASs) in follicular fluid from women experiencing infertility in Australia. *Environmental Research*, 190, 109963. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.109963>
- Kim, Y., Zhu, J., Yeom, B., Di Prima, M., Su, X., Kim, J.-G., ... Kotov, N. A. (2013). Stretchable nanoparticle conductors with self-organized conductive pathways. *Nature*, 500(7460), 59–63. doi:10.1038/nature12401
- Kirk M, Smurthwaite K, Bräunig J, Trevenar S, D'Este C, Lucas R, Lal A, Korda R, Clements A, Mueller J, Armstrong B. (2018). The PFAS Health Study: Systematic Literature Review. Canberra: The Australian National University. <http://hdl.handle.net/1885/241032>
- Kovač, J. (2011). Surface characterization of polymers by XPS and SIMS techniques. *Materiali in Tehnologije*. 45. 191-197.
- Lau, C., Anitole, K., Hodes, C., Lai, D., Pfahles-Hutchens, A., & Seed, J. (2007). Perfluoroalkyl Acids: A Review of Monitoring and Toxicological Findings. *Toxicological Sciences*, 99(2), 366–394. doi:10.1093/toxsci/kfm128
- Li, D., He, Q., & Li, J. (2009). Smart core/shell nanocomposites: Intelligent polymers modified gold nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 149(1-2), 28–38. doi:10.1016/j.cis.2008.12.007
- Lindstrom, A. B., Strynar, M. J., & Libelo, E. L. (2011). Polyfluorinated compounds: past, present, and future. *Environmental science & technology*, 45(19), 7954-7961
- Liu, Q., Huang, A., Wang, N., Zheng, G., & Zhu, L. (2015). Rapid fluorometric determination of perfluorooctanoic acid by its quenching effect on the fluorescence of quantum dots. *Journal of Luminescence*, 161, 374–381. doi:10.1016/j.jlumin.2015.01.045
- López Carrasquero, F. (2004). Fundamentos de polímeros. Escuela Venezolana para la

enseñanza de la Química. Mérida, 49-51.

Masaaki Okubo, Mitsuru Tahara, Noboru Saeki, Toshiaki Yamamoto, Thin Solid Films 516 (2008) 6592.

Maheswari, B.; Jagadeesh Babu, P.E.; Agarwal, Mayank (2014). Role of N-vinyl-2-pyrrolidinone on the thermoresponsive behavior of PNIPAm hydrogel and its release kinetics using dye and vitamin-B12 as model drug. Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 25(3), 269–286. doi:10.1080/09205063.2013.854149

Mak, Y. L., Taniyasu, S., Yeung, L. W. Y., Lu, G., Jin, L., Yang, Y., ... Yamashita, N. (2009). Perfluorinated Compounds in Tap Water from China and Several Other Countries. Environmental Science & Technology, 43(13), 4824–4829. doi:10.1021/es900637a

Marques, F., Siqueira R., Pereira D., Andrade G. (2022) Surface-enhanced Raman spectroscopy of one and a few molecules of acid 4-mercaptobenzoic in AgNP enabled by hot spots generated by hydrogen bonding. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 24 (44) , 27449-27458. <https://doi.org/10.1039/D2CP03375E>

Martín Sánchez, C. (2017). Efecto del sustrato en la resonancia plasmónica de nanopartículas de oro.

Martín, A. J. (2018). Microcontaminantes emergentes: PFOS y PFOA. Cuadernos del Tomás, (10), 215-228

Martínez-Zuñiga, E.C., Torres-Gómez, N., Camacho-López, M., López-Téllez, G., & Vilchis-Nestor, A.R.. (2020). Desarrollo de un sustrato flexible y activo para SERS basado en nanoestructuras de metales nobles (Au y Ag)/poliestireno. *Superficies y vacío*, 33, e601. Epub 10 de febrero de 2021. https://doi.org/10.47566/2020_syv33_1-200601

Mateo, D., Morales, P., Ávalos, A., & Haza, A. I. (2013). Nanopartículas de oro: aplicaciones y citotoxicidad in vitro. *Acta toxicológica argentina*, 21(2), 102-109.

McDonnell, C., Albarghouthi, F., Selhorst, R., Kelley-Loughnane, N., Franklin, A. and Rao, R. (2023). Aerosol Jet Printed Surface-Enhanced Raman Substrates: Application for High-Sensitivity Detection of Perfluoroalkyl Substances Colleen McDonnell, Faris M. Albarghouthi, Ryan Selhorst, Nancy Kelley-Loughnane, Aaron D. Franklin, and Rahul Rao. *ACS Omega* 8 (1), 1597-1605. DOI: 10.1021/acsomega.2c07134

Mohan, Y. M., Premkumar, T., Lee, K., & Geckeler, K. E. (2006). Fabrication of Silver Nanoparticles in Hydrogel Networks. *Macromolecular Rapid Communications*, 27(16), 1346–1354. doi:10.1002/marc.200600297

Montaño Hurtado, D. (2019). Desarrollo de geles conductoras a base de quitosano. Efecto del agente entrecruzante <http://hdl.handle.net/10893/14599>.

- Moose, B. (2020) Per and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in groundwater and soil: A review. Soil and Water Sciences Department. University of Florida.
- Moskovits, M. (1982). Surface selection rules. *The Journal of Chemical Physics*, 77(9), 4408–4416. doi:10.1063/1.444442
- Mueller, R., & Yingling, V. (2017). Naming conventions and physical and chemical properties of per-and polyfluoroalkyl substances (PFAS). Interstate Technology Regulatory Council, 1-15. A
- Mueller, R., & Yingling, V. (2020). Interstate Technology Regulatory Council (ITRC).2020. PFAS Technical and Regulatory Guidance Document and Fact Sheets PFAS-1. Washington, D.C.: Interstate Technology & Regulatory
- Nam, I., Bae, J. W., Jee, K. S., Lee, J. W., Park, K. D., & Yuk, S. H. (2002). Poly(N-isopropylacrylamide-co-N-vinylpyrrolidone) as a novel implant material: Preparation and thermo-gelling behavior. *Macromolecular Research*, 10(2), 115–121. doi:10.1007/bf03218300
- Naranjo Acosta, J., & Bejarano Rosado, S. (2019). Síntesis y caracterización de copolímeros de HEMA y NVP.
- National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 95738, 4-Mercaptobenzoic acid. Retrieved June 13, 2023 from <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/4-Mercaptobenzoic-acid>.
- Neel T. L., Bayle, M., & Bertoncini, P. (2022) Functionalized gold nanoparticles and nanoplatelets synthesized using plant extract and their potential for surface-enhanced Raman spectroscopy, *Nano-Structures & Nano-Objects*, Volume 30, 100855, ISSN 2352-507X, <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2022.100855>.
- Nguyen, H. H., Payré, B., Fitremann, J., Lauth-de Viguerie, N., & Marty, J.-D. (2015). Thermoresponsive Properties of PNIPAM-Based Hydrogels: Effect of Molecular Architecture and Embedded Gold Nanoparticles. *Langmuir*, 31(16), 4761–4768. doi:10.1021/acs.langmuir.5b00008
- Notarianni, M., Vernon, K., Chou, A., Aljada, M., Liu, J., & Motta, N. (2014). Plasmonic effect of gold nanoparticles in organic solar cells. *Solar Energy*, 106, 23–37. doi:10.1016/j.solener.2013.09.026
- Ojo, A. F., Xia, Q., Peng, C., & Ng, J. C. (2021). Evaluation of the individual and combined toxicity of perfluoroalkyl substances to human liver cells using biomarkers of oxidative stress. *Chemosphere*, 281, 130808. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130808>
- Olsen, G. W., Burris, J. M., Ehresman, D. J., Froehlich, J. W., Seacat, A. M., Butenhoff, J. L., & Zobel, L. R. (2007). Half-life of serum elimination of perfluorooctanesulfonate, perfluorohexanesulfonate, and perfluorooctanoate in retired fluorochemical production workers. *Environmental health perspectives*, 115(9), 1298-1305.
- Ozbek, N., & Akman, S. (2018). Application of Solid Sampling for the Determination

- of Total Fluorine in Fish and Seafood by High-Resolution Continuum Source Graphite Furnace Molecular Absorption Spectrometry. *Analytical Letters*, 51(17), 2776–2789. doi:10.1080/00032719.2018.1450880
- P.C. Rumsby, C.L. McLaughlin, T. Hall. Perfluorooctane sulphonate and perfluorooctanoic acid in drinking and environmental waters. *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*, 367 (1904) (2009), pp. 4119-4136
- Pachés Giner, M. A. V. (2020). Contaminantes emergentes. Universidad politécnica de Valencia, Departamento de Ingeniería Hidráulica y Medio Ambiente .
- Patra, R., Ghosal, K., Saha, R., Sarkar, P., Chattopadhyay, S., & Sarkar, K. Advances in the Development of Biodegradable Polymeric Materials for Biomedical Applications with respect to their synthesis procedures, degradation properties, toxicity, stability and applications, Editor(s): M.S.J. Hashmi, *Encyclopedia of Materials: Plastics and Polymers*, Elsevier, 2022, Pages 567-592, ISBN 9780128232910, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-820352-1.00252-2>.
- Pei, Y., Chen, J., Yang, L., Shi, L., Tao, Q., Hui, B., & Li, J. (2004). The effect of pH on the LCST of poly(N-isopropylacrylamide) and poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid). *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 15(5), 585–594. doi:10.1163/156856204323046852
- Pelch, K. E., Reade, A., Wolffe, T. A. M., & Kwiatkowski, C. F. (2019). PFAS health effects database: Protocol for a systematic evidence map. *Environment International*, 130, 104851. doi:10.1016/j.envint.2019.05.0
- Peppas, N. A., & Hoffman A. S. - Hydrogels, Editor(s): William R. Wagner, Shelly E. Sakiyama-Elbert, Guigen Zhang, Michael J. Yaszemski, *Biomaterials Science* (Fourth Edition), Academic Press, 2020, Pages 153-166, ISBN 9780128161371, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816137-1.00014-3>.
- Pérez, F., Nadal, M., Navarro-Ortega, A., Fàbrega, F., Domingo, J. L., Barceló, D., & Farré, M. (2013). Accumulation of perfluoroalkyl substances in human tissues. *Environment international*, 59, 354-362.
- Pérez-Jiménez, Ana Isabel; Lyu, Danya; Lu, Zhixuan; Liu, Guokun; Ren, Bin (2020). Surface-enhanced Raman spectroscopy: benefits, trade-offs and future developments. *Chemical Science*, (), 10.1039.D0SC00809E-. doi:10.1039/D0SC00809E
- Post, G. B., Cohn, P. D., & Cooper, K. R. (2012). Perfluorooctanoic acid (PFOA), an emerging drinking water contaminant: A critical review of recent literature. *Environmental Research*, 116, 93–117. doi:10.1016/j.envres.2012.03.007
- Prado, A. (2016) Aminated polyvinylpyrrolidones: synthesis, characterization and applications in biomedical and technological fields. Instituto de Ciencia y Tecnología de Polímeros.
- Prusty, K., Barik, S., & Swain, S. K. (2019). A Corelation Between the Graphene Surface Area, Functional Groups, Defects, and Porosity on the Performance of

- the Nanocomposites. *Functionalized Graphene Nanocomposites and Their Derivatives*, 265–283. doi:10.1016/b978-0-12-814548-7.00013-1 .
- Raman, C. V. (1928). A change of wave-length in light scattering. *Nature*, 121(3051), 619-619.
- Ren, B., Pérez-Jiménez, A. I., Lyu, D., Lu, Z., & Liu, G. (2020). Surface-enhanced Raman spectroscopy: benefits, trade-offs and future developments. *Chemical Science*. doi:10.1039/d0sc00809e
- Rich, N. 2016. The lawyer who became Dupont's worst nightmare. *The New York Times*. URL:https://www.nytimes.com/2016/01/10/magazine/the-lawyer-who-became-duponts-worst-nightmare.html
- Ritchie, R. H. (1973). Surface plasmons in solids. *Surface Science*, 34(1), 1–19. doi:10.1016/0039-6028(73)90183-0
- Rodriguez, K. L., Hwang, J. H., Esfahani, A. R., Sadmani, A. H. M., & Lee, W. H. (2020). Recent developments of PFAS-detecting sensors and future direction: a review. *Micromachines*, 11(7), 667. DOI: 10.3390/mi11070667
- Rodríguez, G. S. (2011) Técnicas de análisis para evaluación de materiales nanoestructurados y su aplicación en nanomedicina. Centro de investigación en química aplicada.
- Romo, M.; Juarez, K.; Guerrini, L.; Kang, Y.; Feliu N.; Parak W.; Alvarez, R. (2021). Paper-based plasmonic substrates as surface-enhanced Raman scattering spectroscopy platforms for cell culture applications. *Materials Today Bio* 11, 100125. https://doi.org/10.1016/j.mtbio.2021.100125.
- Rumsby, P. C., McLaughlin, C. L., & Hall, T. (2009). Perfluorooctane sulphonate and perfluorooctanoic acid in drinking and environmental waters. *Philosophical Transactions of the Royal Society A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences*, 367(1904), 4119–4136. doi:10.1098/rsta.2009.0109
- Sánchez-Cortés, S. (2004). SERS en coloides. Instituto de Estructura de la Materia, CSIC. Serrano, 121. 28006-Madrid. España.
- Saruchi, & Kumar, V. (2019). Effective degradation of rhodamine B and Congo red dyes over biosynthesized silver nanoparticles-imbibed carboxymethyl cellulose hydrogel. *Polymer Bulletin*, 77(7), 3349–3365. doi:10.1007/s00289-019-02920-x
- Scarabelli, L., Sánchez-Iglesias, A., Pérez-Juste, J., & Liz-Marzán, L. M. (2015). A “Tips and Tricks” Practical Guide to the Synthesis of Gold Nanorods. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 6(21), 4270–4279. doi:10.1021/acs.jpcllett.5b02123.
- Scarpitti, B. T., Morrison, A. M., Buyanova, M., & Schultz, Z. (2020). EXPRESS: Comparison of 4-Mercaptobenzoic Acid Surface-Enhanced Raman Spectroscopy-Based Methods for pH Determination in Cells. *Applied Spectroscopy*, 000370282095076. doi:10.1177/0003702820950768

- Selvan, G. A., Rachel, S., & Gajendran T. (2021). Chapter 13 - Several assorted characterization methods of nanoparticles, Editor(s): R. Praveen Kumar, B. Bharathiraja, Nanomaterials, Academic Press, Pages 301-308, ISBN 9780128224014, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822401-4.00040-4>.
- Sett, A., Gadewar, M., Sharma, P., Deka, M., & Bora, U. (2016). Green synthesis of gold nanoparticles using aqueous extract of *Dillenia indica*. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 7(2), 025005. doi:10.1088/2043-6262/7/2/025005
- Sievers, Jan; Sperlich, Karsten; Stahnke, Thomas; Kreiner, Christine; Eickner, Thomas; Martin, Heiner; Guthoff, Rudolf F.; SchÄ¼nemann, Melanie; Bohn, Sebastian; Stachs, Oliver (2020). Determination of hydrogel swelling factors by two established and a novel non-contact continuous method. *Journal of Applied Polymer Science*, (), 50326–. doi:10.1002/app.50326
- Söregård, M., Bergström, S., McCleaf, P., Wiberg K., Ahrens L (2022). Long-distance transport of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in a Swedish drinking water aquifer, *Environmental Pollution*, Volume 311, 119981, ISSN 0269-7491, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119981>.
- Soroush, M., Grady, M. C. (2019) Chapter 1 - Polymers, Polymerization Reactions, and Computational Quantum Chemistry, Editor(s): Masoud Soroush, Computational Quantum Chemistry, Elsevier, Pages 1-16, ISBN 9780128159835, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815983-5.00001-5>.
- Sousa, R. G., Magalhães, W. F., & Freitas, R. F. S. (1998). Glass transition and thermal stability of poly(N-isopropylacrylamide) gels and some of their copolymers with acrylamide. *Polymer Degradation and Stability*, 61(2), 275–281. doi:10.1016/s0141-3910(97)00209-7
- Sosnik, A., Imperiale, J. C., Vázquez-González, B., Raskin, M. M., Muñoz-Muñoz, F., Burillo, G., ... Bucio, E. (2015). Mucoadhesive thermo-responsive chitosan- g - poly(N -isopropylacrylamide) polymeric micelles via a one-pot gamma-radiation-assisted pathway. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 136, 900–907. doi:10.1016/j.colsurfb.2015.10.036
- Tang, S., Floy, M., Bhandari, R., Sunkara, M., Morris, A. J., Dziubla, T. D., & Hilt, J. Z. (2017). Synthesis and Characterization of Thermoresponsive Hydrogels Based on N-Isopropylacrylamide Crosslinked with 4,4'-Dihydroxybiphenyl Diacrylate. *ACS Omega*, 2(12), 8723–8729. doi:10.1021/acsomega.7b01247
- Tang, Z.; Akiyama, Y.; Okano, T. (2012). Superficie modificada con polímero sensible a la temperatura para ingeniería de láminas celulares. *Polímeros* , 4 , 1478-1498. <https://doi.org/10.3390/polym4031478>
- Taves, D. R. (1968). Evidence that there are two forms of fluoride in human serum. *Nature*, 217(5133), 1050-1051.
- Thomas, A. Some Key Features to Consider When Studying acrylamide based polymers for chemical enhanced oil recovery, oil and Gas. *Science and Technology*

(2013).

- Torres-Rivero, K., Bastos-Arrieta, J., Fiol, N., & Florido, A. (2021) Chapter Ten - Metal and metal oxide nanoparticles: An integrated perspective of the green synthesis methods by natural products and waste valorization: applications and challenges, Editor(s): Sandeep Kumar Verma, Ashok Kumar Das, Comprehensive Analytical Chemistry, Elsevier, Volume 94, Pages 433-469, ISSN 0166-526X, ISBN 9780323898812, <https://doi.org/10.1016/bs.coac.2020.12.001>.
- Ubel, F. A., Sorenson, S. D., & Roach, D. E. (1980). Health status of plant workers exposed to fluorochemicals-a preliminary report. American Industrial Hygiene Association Journal, 41(8), 584-589.
- United States Department of Defense (US DOD). 2000. Minutes of the DOD AFFF environmental meeting. URL: <https://www.documentcloud.org/documents/4341546-DOC-605.html>
- Urošević, M. Z., Nikolić, L. B., Ilić-Stojanović, S., Zdravković, A., & Nikolić, V. D. (2020). Synthesis and characterization of poly (N-isopropylmethacrylamide-co-N-isopropylacrylamide) copolymers. *Hemijska industrija*, 74(2), 103-117.
- USEPA (United States Environmental Protection Agency) 1974. Title XIV of The Public Health Service Act: Safety of Public Water Systems (Safe Drinking Water Act). <https://www.gpo.gov/fdsys/pkg/USCODE-2010-title42/pdf/USCODE-2010-title42-chap6AsubchapXI.pdf>
- USEPA. 2016a. Drinking Water Health Advisory for Perfluorooctanoic Acid (PFOA). Office of Water (4304T). Health and Ecological Criteria Division, Washington, DC 20460. EPA Document Number: 822-R-16-005. https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-05/documents/pfoa_health_advisory_final_508.pdf
- USEPA. 2016b. Drinking Water Health Advisory for Perfluorooctane Sulfonate (PFOS). Office of Water (4304T). Health and Ecological Criteria Division, Washington, DC 20460. EPA Document Number: 822-R-16-004. May. https://www.epa.gov/sites/default/files/2016-05/documents/pfos_health_advisory_final_508.pdf
- Van Leeuwen, S. P. J., & de Boer, J. (2007). Extraction and clean-up strategies for the analysis of poly- and perfluoroalkyl substances in environmental and human matrices. *Journal of Chromatography A*, 1153(1-2), 172-185. doi:10.1016/j.chroma.2007.02.069
- Verduzco, L. (2012) Bioconjugación de Papaína y L-lactato deshidrogenasa con Poli (N-vinil-pirrolidona) Sintetizado vía Polimerización Radicálica Controlada. Centro de Investigación en Química Aplicada.
- Wang, K., & Li, J. (2021). Reliable SERS detection of pesticides with a large-scale self-assembled Au@4-MBA@Ag nanoparticle array. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 263, 120218.

doi:10.1016/j.saa.2021.120218

- Wang, W., Narain, R., & Zeng, H. (2020). Chapter 10 - Hydrogels. Editor(s): Ravin Narain, Polymer Science and Nanotechnology, Elsevier, Pages 203-244, ISBN 9780128168066, <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816806-6.00010-8>.
- Wang, Y., Hu, L., Liu, T., Zhao J., Yang, Y., Liu, Y., Ying G. (2022). Per- and polyfluoralkyl substances (PFAS) in drinking water system: Target and non-target screening and removal assessment, *Environment International*, Volume 163, 107219, ISSN 0160-4120, <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107219>.
- Warsi, M. F., Adams, R. W., Duckett, S. B., & Chechik, V. (2010). Gd-functionalised Au nanoparticles as targeted contrast agents in MRI: relaxivity enhancement by polyelectrolyte coating. *Chemical communications*, 46(3), 451-453.
- Yang, B., Mao, J., Zhao, J., Shao, Y., Zhang, Y., Zhang, Z., & Lu, Q. (2019). Improving the Thermal Stability of Hydrophobic Associative Polymer Aqueous Solution Using a “Triple-Protection” Strategy. *Polymers*, 11(6), 949. doi:10.3390/polym11060949
- Yoshida, R., Okano, T., 2010. Stimuli-responsive hydrogels and their application to functional materials. In: Ottenbrite, R.M., Park, K., Okano, T. (Eds.), *Biomedical Applications of Hydrogels Handbook*. Springer, New York, NY, pp. 19–44.
- Zhu, S., Fan, C., Wang, J., He, J., Liang, E., & Chao, M. (2015). Realization of high sensitive SERS substrates with one-pot fabrication of Ag–Fe₃O₄ nanocomposites. *Journal of Colloid and Interface Science*, 438, 116–121. doi:10.1016/j.jcis.2014.09.015

“Por la realización plena del ser”