



UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño



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

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

INGENIERO EN NANOTECNOLOGÍA

Presenta

ABRYL GONZALEZ CASTRO

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, junio 2023.

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño

“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”

Tesis

para cubrir parcialmente los requisitos necesarios para obtener el grado de

INGENIERA EN NANOTECNOLOGÍA

Presenta

Abryl Gonzalez Castro

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



Dra. Dayanira Sheira Paniagua Meza

Miembro del comité



Dr. David Cervantes Vásquez

Miembro del comité

MIEMBROS DEL COMITÉ TUTOR:

Dr. FRANKLIN DAVID MUÑOZ MUÑOZ

Dr. JOSÉ MANUEL ROMO HERRERA

MIEMBROS DEL COMITÉ JURADO DE TESIS

Dr. GABRIEL ALONSO NUÑEZ

Dr. DAVID CERVANTES VÁSQUEZ

Dra. DAYANIRA SHEIRA PANIAGUA MEZA

Dedicado a:

Mis padres, hermanos, por su apoyo incondicional, paciencia, e impulso para lograr todas mis metas.

A mis abuelitas que siempre han deseado lo mejor para mí, a la memoria de mis abuelitos, Ignacio y Néstor, que, aunque ya se me fueron, siempre seguirán en mi corazón y recuerdos.

A Mihael Gradilla, por querer verme crecer, por siempre confiar, y estar para mí en los momentos más difíciles a lo largo de mi carrera.

Los amo a todos.

AGRADECIMIENTOS

El día de hoy marca el momento en que finalmente esta tesis se ha completado y se hace pública. A lo largo del camino, he experimentado altibajos, pero en este punto, me gustaría expresar mi más profundo agradecimiento a todos aquellos que me han brindado su apoyo, ánimo, ayuda, y que han contribuido enriqueciendo esta aventura y haciéndola agradable.

A la FIAD-UABC, mi alma mater, por el invaluable aporte de conocimiento, instalaciones y personal que hicieron posible la realización de mi sueño profesional.

Al CNyN-UNAM por el apoyo y la orientación que recibí de parte del personal, quienes me brindaron la asistencia necesaria para realizar mi trabajo de manera efectiva. Además de su generosidad y disposición para compartir su experiencia y conocimiento conmigo.

A mi director de tesis el Dr. Franklin David Muñoz Muñoz; por ser mi guía en todo momento e impulsarme a tomar retos y dar lo mejor de mí, con su paciencia, orientación, confianza y apoyo, en cada etapa de este proyecto. Le agradezco especialmente por su contribución invaluable en la revisión y dirección de este proyecto, sus comentarios y sugerencias me han ayudado a mejorar y hacerlo más sólido. Sin duda alguna, trabajar con él ha sido una experiencia enriquecedora y motivadora.

A mi codirector, el Dr. José Manuel Romo Herrera; por su apoyo y compromiso durante la codirección de este proyecto. Su confianza en mi trabajo, su paciencia y su interés han sido fundamentales en la culminación exitosa de esta propuesta.

Al Dr. Gabriel Alonso Nuñez; por su apoyo y disposición para ayudarme en todo momento. Su valioso tiempo y paciencia al explicarme las cosas, han sido de gran ayuda y me han permitido avanzar en mi camino profesional.

A cada uno de los integrantes del comité evaluador, Dr. Gabriel Alonso Nuñez, Dr. David Cervantes Vásquez, y la Dra. Dayanira Sheira Paniagua Meza, por su tiempo y disposición para la revisión de esta tesis.

A la Dra. Eunice Vargas Viveros por su significativa aportación en la evaluación de los materiales mediante la técnica XRD, y asimismo, por haber sido una fuente de gran inspiración en el transcurso de mi trayectoria profesional.

Al Dr. David Domínguez; por su contribución en la evaluación de los materiales propuestos por

medio de espectroscopía XPS.

Al Dr. Hugo J. Tiznado Vázquez por su importante contribución en la caracterización de los nanocompuestos mediante la técnica de espectroscopía FTIR.

A la Dra. Yasmin Esqueda Barron por su valiosa colaboración en la evaluación de los materiales utilizados en este proyecto por espectroscopía SERS. Y también por haber compartido su conocimiento y demostrado su calidad humana.

A mi buen amigo Eduardo Andre Pesqueira, por siempre apoyarme, escucharme y entenderme, espero que esta bonita amistad perdure mucho tiempo. A mi amigo José Luis Zamora por apoyarme a lo largo de mi carrera y ser de mis primeros amigos, gracias por tu ayuda, tus consejos y los buenos recuerdos. A Irma Santiago y familia por su apoyo incondicional, cariño y sus consejos. Los quiero mucho.

A mi gran amigo y mentor M.C Martin Ysidro Jauregui, que fue un apoyo incondicional y un gran aliento esos días de estrés y desmotivación, gracias por siempre guiarme, animarme y compartir tu conocimiento.

A mi amiga Maria Angelica Ortiz Ortiz, no tengo palabras suficientes para agradecerte por hacer este recorrido tan ameno, somos las únicas que sabemos todo lo que nos hemos esforzado, que nunca nos rendimos y dimos lo mejor de nosotras.

A mis abuelitas, a las que en primer lugar tengo que pedir disculpas por tantas ausencias, gracias por desear todo lo bonito para mí. A mi madre, gracias por darme la vida y por estar orgullosa de mí. A mis hermanos que son el tesoro más grande que tengo. A mi papá, eres el mejor papá del mundo y le agradezco a la vida por permitirme ser tu hija. Los amo.

Y finalmente, a Mihael Gradilla, no tengo las palabras para decirte lo mucho que te agradezco por apoyarme todo este tiempo, y le doy gracias a la vida por permitirme conocerte. Te amo.

“Por la realización plena del ser”

RESUMEN

La presencia de contaminantes en el ambiente es cada vez mayor y, por lo tanto, es un tema urgente y prioritario. Una gran mayoría de estos requieren técnicas robustas y costosas para su detección, como es el caso del ácido perfluorooctanoico (PFOA), uno de los compuestos que pertenece a los contaminantes sintéticos denominados “compuestos perfluoroalquilados” (PFAs). En este trabajo se realizó la síntesis de un nanocomposito basado en hidrogeles termosensibles con nanopartículas plasmónicas de oro (AuNPs, por sus siglas en inglés) embebidas en la matriz polimérica, con la finalidad de formar un material capaz de detectar la presencia de PFOA en agua mediante la espectroscopía Raman con superficie mejorada (SERS, por sus siglas en inglés). La síntesis de AuNPs esféricas se realizó a partir de HAuCl_4 , siguiendo el método de Turkevich. La síntesis de hidrogeles se realizó “*in situ*” sobre las AuNPs, usando una dispersión estabilizada de las nanopartículas en agua como medio de reacción. Para el proceso de polimerización, los compuestos no ionizables, N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y acrilamida (AAm), fueron usados como monómeros, mientras que N, N'-metileno-bisacrilamida (MBAAm) fue usado como agente entrecruzante. La reacción de polimerización fue estimulada por radicales libres. Las AuNPs fueron analizadas por espectroscopía de UV-vis y los nanocompositos fueron caracterizados por espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS), y espectroscopia de difracción de rayos X (XRD). Los estudios de hinchamiento de los hidrogeles fueron evaluados por el método gravimétrico. La temperatura crítica de disolución (LCST, por sus siglas en inglés) se estimó desde la respuesta de hinchamiento de cada material a diferentes temperaturas. Se encontró una LCST a 31 °C para los materiales con PNIPAAm, mientras que para los materiales de P(NIPAAm-co-AAm) se encontró a 33°C. El análisis SERS fue realizado usando los materiales en estado deshidratado.

Con esta investigación se pretende iniciar el desarrollo de materiales con la capacidad de establecer diferentes modos de interacción con la molécula de PFOA, en dependencia de la temperatura del medio, para así generar un sistema portable de respuesta selectiva para el PFOA y cada compuesto que hace parte de la familia de los PFAs. De esta forma se pretende generar herramientas que permitan identificar la presencia de estos contaminantes en el ambiente, así como realizar estudios de trazabilidad.

Palabras clave: Nanopartícula de oro; Hidrogel termosensible; poli(N-isopropilacrilamida-co-acrilamida); PFOA.

ABSTRACT

The presence of contaminants in the environment is becoming increasingly significant and, therefore, is an urgent and high-priority issue. A large majority of these require robust and expensive techniques for detection, such as perfluorooctanoic acid (PFOA), one of the compounds belonging to the synthetic contaminants called "perfluoroalkylated compounds" (PFAs). In this work, a nanocomposite based on thermosensitive hydrogels with plasmonic gold nanoparticles (AuNPs) embedded in the polymeric matrix was synthesized to create a material capable of detecting the presence of PFOA in water using surface-enhanced Raman spectroscopy (SERS). The synthesis of spherical AuNPs was performed using HAuCl₄ following the Turkevich method. The hydrogel synthesis was performed "in situ" on the AuNPs using a stabilized dispersion of the nanoparticles in water as a reaction medium. For the polymerization process, non-ionizable compounds, N-isopropylacrylamide (NIPAAm) and acrylamide (AAm), were used as monomers, while N, N-methylenebisacrylamide (MBAAm) was used as a cross-linking agent. The polymerization reaction was stimulated by free radicals. The AuNPs were analyzed by UV-vis spectroscopy, and the nanocomposites were characterized by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), X-ray photoelectron spectroscopy (XPS), and X-ray diffraction spectroscopy (XRD). Swelling studies of the hydrogels were evaluated by the gravimetric method. The lower critical solution temperature (LCST) was estimated from the swelling response of each material at different temperatures. A LCST of 31 °C was found for the materials with PNIPAAm, while for the materials of P(NIPAAm-co-AAm), it was found to be 33 °C. The SERS analysis was performed using the materials in a dehydrated state.

This research aims to initiate the development of materials with the ability to establish different modes of interaction with the PFOA molecule, depending on the temperature of the medium, to generate a portable system of selective response for PFOA and every compound belonging to the family of PFAs. In this way, tools are expected to be generated that allow for the identification of the presence of these contaminants in the environment and for studies of their traceability.

Keywords: Gold nanoparticle; thermosensitive hydrogel; poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylamide); PFOA.

TABLA DE CONTENIDOS

	Pág.
Miembros del comité	1
Dedicatoria	2
Agradecimientos	3 - 4
Resumen	5
Abstract	6
Tabla de contenidos	7 - 10
Lista de Figuras	11-13
Lista de Tablas	14
<i>CAPÍTULO 1</i>	
- Introducción	15 - 16
<i>CAPÍTULO 2</i>	
- Marco Teórico y Antecedentes	17 - 45
- 2.1 Sustancias perfluoroalquiladas (PFAs)	17
- 2.1.1 Clasificación de sustancias per y polifluoroalquiladas (PFAS)	17
- 2.1.1.1 Clasificación basada en las propiedades físicas y químicas	17
- 2.1.1.2 Clasificación basada en el número de átomos de carbono en la cadena	18
- 2.1.2 Historia y Origen	19
- 2.1.3 PFAS en los seres humanos	20
- 2.1.3.1 Vías de exposición	20
- 2.1.3.2 Efectos Adversos para la salud	20
- 2.1.4 Regulaciones Ambientales	22
- 2.1.5 Técnicas de detección de PFAS	24

- 2.2 PFOA	24
- 2.2.1 Aplicaciones del PFOA	25
- 2.2.2 Exposición y niveles permisivos de PFOA	25
- 2.2.3 Determinación del PFOA en SERS	28
- 2.3 Nanopartículas metálicas	29
- 2.3.1 Nanopartículas de oro	30
- 2.3.2 Métodos de síntesis	30
- 2.3.3 Método Turkevich	31
- 2.4 Espectroscopia Raman mejorada de superficie	32
- 2.4.1 Historia	32
- 2.4.2 Fundamento de la técnica	33
- 2.5 Polímeros	34
- 2.5.1 poli(N-isopropilacrilamida)	35
- 2.5.2 Poliacrilamida	37
- 2.6 Mecanismo de Reacción en cadena estimulado por radicales libres	39
- 2.7 Hidrogeles	41
- 2.7.1 Mecanismo de hinchamiento y secado	44
- 2.7.2 El rol del agua en un hidrogel	44
- 2.8 Antecedentes Recientes sobre la detección de PFAS	45
<i>CAPÍTULO 3</i>	
- <i>Justificación</i>	47 - 48
<i>CAPÍTULO 4</i>	
- <i>Hipótesis</i>	49
<i>CAPÍTULO 5</i>	
- 5.1 Objetivo General	50
- 5.2 Objetivo Específico	50
<i>CAPÍTULO 6</i>	
- <i>Metodología</i>	51 - 56

- 6.1 Materiales de síntesis	51
- 6.2 Síntesis de las nanopartículas de oro	51
- 6.2.1 Estabilización de AuNPs con Tween 20	52
- 6.2.2 Concentración de las nanopartículas de oro	52
- 6.3 Purificación de NIPAAm	52
- 6.4 Síntesis de hidrogeles de (NIPAAm/AAm) con nanopartículas metálicas embebidas (nanocompositos)	52
- 6.5 Estudios de hinchamiento de los hidrogeles	54
- 6.6 Determinación de LCST por hinchamiento de los hidrogeles	54
- 6.7 Proceso de absorción de 4-MBA en los materiales	54
- 6.8 Proceso de absorción de PFOA	55
- 6.9 Caracterizaciones	55
- 6.9.1 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier	55
- 6.9.2 Difracción de rayos X	55
- 6.9.3 Análisis termogravimétrico	56
- 6.9.4 Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X	56
- 6.9.5 Espectroscopía Raman	56

CAPÍTULO 7

- <i>Resultados y Discusión</i>	57 - 91
- 7.1 Síntesis y funcionalización de AuNPs	57
- 7.1.1 Caracterización TEM de AuNPs	57
- 7.1.2 Caracterización por UV-Vis de AuNPs	58
- 7.2 Síntesis de hidrogeles y nanocompositos	60
- 7.3 Resultados FTIR	62
- 7.4 Difracción de rayos X	65
- 7.5 Estudios de hinchamiento	67
- 7.5.1 Hinchamiento a 25°C	67
- 7.5.2 Determinación de LCST	69

- 7.6 Análisis térmico de hidrogeles y nanocompositos	74
- 7.7 Evaluación de composición elemental por espectroscopía XPS	78
- 7.8 Absorción de 4-MBA y PFOA	82
- 7.8.1. Absorción de 4-MBA	82
- 7.8.2. Absorción de PFOA	82
- 7.9 Análisis de la señal Raman del nanocomposito diseñado y la potencial aplicación generación del efecto SERS	84
- 7.9.1 Respuesta Raman del nanocomposito diseñado y validación de la generación del efecto SERS	84
- 7.9.2 Respuesta Raman del nanocomposito habiendo sido expuesto a la molécula PFOA	90
 <i>CAPÍTULO 8</i>	
- <i>Conclusiones</i>	92 - 93
 <i>CAPÍTULO 9</i>	
- <i>Referencias</i>	94 - 110

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1. Reparto de la familia PFAS. Obtenida de Mueller & Jinglan, 2017.	... 18
Figura 2. Efectos de las sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas en la salud humana. Adaptado de Fenton S. et al., 2020.	... 21
Figura 3. La concientización emergente y énfasis en la presencia de las PFAS en el ambiente. Obtenida de ITRC 2022.	... 23
Figura 4. Niveles en sangre en personas que estuvieron expuestas al ácido perfluorooctanoico (PFOA, panel superior). Adaptada de Pontius, 2019.	... 27
Figura 5. Resonancia del Plasmón de superficie localizado. Adaptada de Hong et al., 2012.	... 29
Figura 6. Modelo estructural de la nanopartícula de oro. Adaptada de Canal Noval 2016.	... 31
Figura 7. Creciente popularidad de la técnica Raman de superficie mejorada. Obtenida de Sharma et al., 2012.	... 32
Figura 8. Creciente popularidad de la técnica Raman de superficie mejorada de 2007 a 2017. Obtenida de Jiang et al., 2018.	... 33
Figura 9. Representación de las unidades repetitivas en un copolímero: 1) alternado, 2) al azar, 3) en bloque y 4) ramificado.	... 34
Figura 10. Representación esquemática de los diferentes ordenamientos en las cadenas de polímeros a) lineales; b) ramificados y c) reticulados. Obtenida de Coreño et al., 2010.	... 35
Figura 11. Representación esquemática del monómero (NIPAAm) y del polímero (PNIPAAm).	... 36
Figura 12. Representación gráfica del comportamiento termosensible de PNIPAAm y de variación volumétrica alrededor de la LCST. Adaptada de Doberenz et al., 2020.	... 36
Figura 13. (A) Evolución de los artículos de investigación publicados sobre PNIPAAm y su aplicación en medicina y otros campos por año; (B) Porcentaje de artículos de investigación publicados sobre PNIPAAm en el ámbito biomédico, clasificados según sus aplicaciones. Adaptada de Lanzalaco et al., 2017.	... 37
Figura 14. Unidad fundamental de la acrilamida (AAM). (a). Unidad fundamental de	

	poliacrilamida (PAAm). (b).	... 38
Figura 15.	Simulación de nanopilares NIPAAm y NIPAAm-co-AAm en cada una de las temperaturas consideradas. Obtenida de Benejam 2022.	... 39
Figura 16.	Ilustración esquemática de las cadenas de un polímero y la formación de redes tridimensionales por la acción de un agente entrecruzante para formar un hidrogel. Obtenida de Estrada, 2019.	... 42
Figura 17.	Estructura química de MBAAm. Obtenida de Sigma Aldrich.	... 43
Figura 18.	Micrografías TEM de AuNPs a diferentes magnificaciones: acercamiento con barra de referencia de tamaño de 20 nm (a), y panorámica con barra de referencia de tamaño de 50 nm (b); e histogramas de distribución de tamaño de AuNPs (c y d) determinados desde (a y b), respectivamente.	... 58
Figura 19.	Ilustración del proceso de síntesis de AuNPs intermediada por ácido cítrico y de la estabilización de la partícula con el surfactante Tween 20 (Adaptada de Yeh et al., 2012).	... 58
Figura 20.	Dispersión coloidal de las AuNPs (a), precipitación de las AuNPs por centrifugación (b), y espectro UV-Visible de las AuNPs con y sin tratamiento con Tween 20 (c).	... 59
Figura 21.	Espectros FTIR a) NIPAAm-Monómero, b) AAmm-Monómero, c) PN, d) P(N-A), e)P(N-A)-AuB, f) P(N-A)-AuM, g) P(N-A)-AuA, h) PN-AuM.	... 65
Figura 22.	Patrones XRD de los nanocompositos de los hidrogeles de PNIPAAm (PN), de P(PNIPAAm-co-AAm) (P(N-A)), y de los nanocompositos sintetizados con el copolímero P(N-A) a diferentes concentraciones de AuNPs: baja, media y alta.	... 67
Figura 23.	Estudios de hinchamiento como función del tiempo, a 25 °C, de los hidrogeles y nanocompositos sintetizados.	... 69
Figura 24.	Evaluación del hinchamiento de los materiales propuestos en esta investigación, como función de la temperatura, siguiendo la estrategia 1 (cambios de temperatura: cada 30 min; temperatura de inicio: 5°C).	... 71
Figura 25.	Evaluación del hinchamiento de los materiales propuestos en esta investigación, como función de la temperatura, siguiendo la estrategia 2 (cambios de temperatura: cada 3 h; temperatura de inicio: 50 °C).	... 72
Figura 26.	Termogramas TGA de los diferentes nanocompositos (a), vista ampliada de los termogramas TGA a 300-450 °C (b), y derivada del TGA (DTG).	... 75
Figura 27.	Termograma DSC de los materiales propuestos en esta investigación	... 77
Figura 28.	Espectro XPS de baja resolución para los hidrogeles y nanocompositos propuestos en esta investigación.	... 79
	Espectros XPS de alta resolución para las señales de carbono (a), oxígeno	

Figura 29.	(b), nitrógeno (c) y oro (d) presentes en los materiales propuestos en esta investigación.	... 79
Figura 30.	Fotografía del nanocomposito P(N-A)-Au _M antes (a) y después de la absorción de 4-MBA (b).	... 82
Figura 31.	Curva de calibración con los resultados de absorción de CV en función de la concentración de CV (a). Curva de calibración registrando los resultados de absorción del CV a una concentración fija de 7×10^{-6} M, en función de su interacción con diferentes concentraciones de PFOA (b).	... 83
Figura 32.	Fotografías de una pastilla de xerogel de P(N-A)(a), del nanocomposito P(N-A)-4-MBA (habiendo sido expuesto a 4-MBA) (b), del nanocomposito P(N-A)-Au _M (c) y del nanocomposito P(N-A)-Au _M - 4-MBA (previamente expuesto a 4 - MBA en alta concentración).	... 84
Figura 33.	Espectros Raman obtenidos de las señales provenientes de los xerogeles P(N-A) , P(N-A)- 4-MBA (10 mM) y del nanocomposito P(N-A)-Au _M - 4-MBA (10 mM).	... 86
Figura 34.	Espectros Raman obtenidos a partir de los xerogeles P(N-A)-4-MBA (10 mM) y P(N-A)-Au _M -4-MBA (10mM), habiéndosele restado la señal proveniente de la matriz polimérica para mostrar con mayor claridad la señal proveniente de las moléculas a detectar.	... 87
Figura 35.	Espectros Raman obtenidos de las señales provenientes del xerogel P(N-A), y del nanocomposito P(N-A)-Au _A - 4 MBA (0.1 mM).	... 88
Figura 36.	Espectros Raman del polvo con contenido de 4-MBA utilizado en la solución de hinchamiento (curva gris) y del xerogel P(N-A)-Au _A -4-MBA (0.1 mM) (curva verde), habiéndosele restado la señal proveniente de la matriz polimérica para mostrar con mayor claridad la señal proveniente de las moléculas a detectar. La concentración de 4-MBA en la solución utilizada para el hinchamiento del hidrogel fue de 0.1 mM.	... 89
Figura 37.	Espectros Raman obtenidos de las señales provenientes de los nanocompositos expuestos a una solución con contenido de PFOA para su hinchamiento.	... 91

LISTA DE TABLAS

	Página
Tabla 1. Proporciones de NIPAAm/AAm y volumen de la dispersión de AuNPs usadas para la síntesis de los hidrogeles (Volumen total = 15 mL). El código de muestra es de la forma PX-Auy donde P significa que el monómero fue polimerizado. X puede ser: N, que corresponde al monómero NIPAAm; o P(N-A), que indica al copolímero de P(NIPAAm-co-AAm). Au denota que el polímero contiene nanopartículas de oro, mientras que el subíndice y corresponde a las concentraciones de las dispersiones de nanopartículas: alta (A), media (M) y baja (B).	... 53
Tabla 2. Resumen cualitativo de la composición de los hidrogeles y nanocompositos sintetizados en este trabajo, así como la asignación del color resultante de cada material. Los códigos son como los asignados en la Tabla 1 . El círculo indica la presencia de ese componente en el material.	... 61
Tabla 3. Resultados de LCST y valores de S_T estimados desde los estudios de hinchamiento vs. temperatura, para los hidrogeles y nanocompositos sintetizados en este trabajo.	... 73
Tabla 4. Resultados de transiciones térmicas y generación de residuos en determinaciones TGA de los materiales propuestos en esta investigación.	... 76
Tabla 5. Resultados de transiciones térmicas y generación de residuos en determinaciones DSC.	... 78
Tabla 6. Principales parámetros del espectro Raman correspondientes a los picos relacionados con la señal proveniente de la molécula 4-MBA (molécula prueba).	... 87
Tabla 7. Posiciones de los picos ν_{8a} y ν_{12} de los espectros Raman en Figura 36, correspondientes a los modos de vibración del anillo bencénico de la molécula 4-MBA (molécula prueba).	... 89

CAPÍTULO 1

Introducción

A través de la historia, la sociedad se ha venido enfrentando a diversos acontecimientos que han dado lugar a riesgos de diferente índole, que amenazan cada vez más el bienestar de todos los seres vivos. Entre ellos, la contaminación del ambiente con sustancias químicas tóxicas y persistentes, se reconoce como uno de los principales problemas ocasionados por la actividad humana. La mayoría de estas sustancias han sido sintetizadas por el hombre, para mejorar su calidad de vida. Sin embargo, con el paso del tiempo la ciencia ha comprobado que una gran mayoría de estas sustancias han venido afectando a los individuos que están expuestos de forma prolongada a las mismas, ya sea por estar involucrados en su proceso de fabricación, por la ingesta y absorción de agua o alimentos que concentran altas cantidades de dichas sustancias, o el uso habitual de productos que tienen la capacidad de liberar tóxicos en ambientes locales (ATSDR 2021).

En los últimos años, varios sectores científicos y médicos se han enfocado en evaluar el efecto de la exposición a sustancias tóxicas, como lo son los compuestos perfluoroalquilados (PFAS). Los PFAS están conformados por una extensa familia de sustancias químicas antropogénicas y altamente persistentes, que ya se encuentran diseminadas a nivel mundial y, por consiguiente, despiertan gran preocupación por su carácter tóxico y la relación ya comprobada con diversas enfermedades en los humanos, y los efectos adversos en la vida de los mares, ríos y de todos los animales que dependen de estas fuentes de agua (Domingo *et al.*, 2019). Los PFAS también entran en la clasificación de contaminantes orgánicos persistentes (COP) (ATSDR 2005).

El ácido perfluorooctanoico (PFOA, por sus siglas en inglés), es uno de los integrantes de la familia PFAS y se considera como uno de sus referentes, por los altos niveles de consumo reportados a nivel industrial en el mundo. Como el resto de PFAS, esta sustancia ha despertado gran preocupación por su estabilidad química y su persistencia. Esto significa que el PFOA permanece intacto en el ambiente durante largos períodos, puesto que es altamente resistente a la degradación química o bacteriana. Esta resistencia es generada por la alta cantidad de enlaces entre carbono y flúor que componen la molécula. A esta estabilidad química se le suma su capacidad para bioacumularse, ya que debido a que no es eliminado por los organismos que lo consumen, los niveles de estas sustancias pueden acumularse de un consumidor a otro, afectando incluso a toda una cadena alimenticia (EPA 2005). La preferencia del uso de PFOA como materia prima en procesos industriales se debe a la capacidad para actuar como agente surfactante que le proporciona su estructura química. Aunque su solubilidad en agua es limitada, concentraciones al nivel de partes por millón, son consideradas como altamente tóxicas. Esto ha despertado las alarmas de organizaciones ambientales a nivel mundial y, en consecuencia, que exista una necesidad urgente de identificar la presencia de PFAs en fuentes hídricas, así como determinar las concentraciones de estos compuestos y su procedencia (Hallgren *et al.*, 2015).

Para determinar la presencia de PFOA en agua, la cromatografía líquida (HPLC, por sus siglas en inglés) acoplada con espectroscopia de masas en tándem (LC/MS/MS) es la técnica más utilizada. Sin embargo, esta presenta limitaciones relacionadas con los costos, debido a su robustez (baja portabilidad), tiempos prolongados de análisis, y complejidad en los procesos de preparación de muestras. Los equipos HPLC, por lo general, requieren de accesorios específicos para la detección de un determinado analito, como es el caso de las columnas que contienen la fase estacionaria por donde circula la muestra disuelta en una fase móvil. En este caso, para promover la separación de PFOA de los demás componentes de una mezcla, requiere de columnas específicas para este tipo de compuestos, lo que implica que la adaptación de la técnica para la detección exclusiva de una familia de sustancias requiere de alta inversión económica tanto para la adquisición de accesorios, como para los servicios de mantenimiento. A esto se le suma otros costos por servicios de operación, la compra de disolventes con grado de pureza HPLC, y la logística compleja que se requeriría para la toma, almacenamiento y traslado de muestras desde fuentes de agua distantes a la ubicación del equipo, entre otros. En adición, estas tecnologías son relativamente escasas en América Latina, o su función está limitada a la atención de demandas académicas. En cuanto a los equipos de HPLC de propiedad privada, por lo general están adaptados exclusivamente para la detección de analíticos dentro de una línea de producción de cada fábrica, lo que reduce su acceso o disponibilidad para la evaluación masiva de contaminantes en agua (EPA 2020).

Todo lo anterior se relaciona con la escasa o nula información reportada con relación a la detección de PFOA u otros PFAS en las fuentes de agua de esta extensa parte del planeta. Contrario a países como Estados Unidos, China y otros países europeos, a nivel de América Latina no existen mapas de detección ni programas enfocados en la acción de identificar la presencia de estos contaminantes en ríos y mares, o de detectar las posibles fuentes de contaminación con estas sustancias peligrosas (Hu et al., 2016; Jin et al., 2009; Dallaire et al., 2009). Para el caso de México, existe una norma basada en los referentes internacionales, que indica los límites permitidos para PFAS en cuerpos de agua. Pero, infortunadamente, hasta el momento no hay entes vigilantes que se aseguren de la evaluación, seguimiento y cumplimiento de dichas disposiciones (Houde et al., 2011).

Todo esto genera una necesidad de desarrollar metodologías analíticas alternativas que faciliten la detección de este tipo de sustancias en el ambiente (Savage et al., 2021). Por consiguiente, en este trabajo se propone el uso de materiales poliméricos termosensibles que junto a la acción sinérgica de sistemas nanoestructurados embebidos, faciliten la detección de PFOA. Este material proyecta su adaptación hacia el desarrollo de dispositivos portables y económicos, que contribuyan a determinar la gravedad de un problema ambiental que ya ha encendido las alarmas a nivel internacional, y permita identificar las fuentes de contaminación, así como promover la generación de acciones correctivas inmediatas.

CAPÍTULO 2

Marco Teórico y Antecedentes

2.1 Sustancias perfluoroalquiladas (PFAs)

Las sustancias PFAS y polifluoroalquiladas poli(PFAS) representan a una familia muy compleja de sustancias químicas antropogénicas en las que todos los hidrógenos en al menos uno (polifluoroalquilo) o todos los carbonos (perfluoroalquilo) han sido reemplazados por flúor (*Wang et al., 2022; Buck et al., 2011*). La Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económicos (OCDE) actualizó en 2019 una lista completa de más de 4700 productos químicos relacionados con PFAS en el mercado mundial según los números del servicio de resumen químico (CAS) (*Pontius, 2019*). Estas sustancias se componen de una cadena carbonada (parte no polar e hidrofóbica) y un grupo polar. En términos de estructura, los PFAs pueden tener una longitud muy variada, que suele ser de 4 a 16 átomos de carbono, aunque comúnmente se usan de 8 átomos de carbono. En los PFAs el grupo polar se puede presentar como ácido carboxílico, ácido sulfónico o un grupo amina, entre otros, dando como resultado que el producto obtenido sea catiónico, aniónico o no iónico, dependiendo de la naturaleza de este grupo sustituyente. Al presentar un carácter anfifílico, son sustancias con elevada estabilidad química y térmica, además de una actividad superficial elevada. Se pueden presentar de forma gaseosa, líquida o como acompañantes de polímeros sólidos de alto peso molecular (*Buck et al., 2011; USEPA, 2009*).

2.1.1 Clasificación de sustancias per y polifluoroalquiladas (PFAS)

La cantidad de compuestos PFAS oscila entre 5,600 y 7,800, exhibiendo propiedades físicas y químicas variables, lo que les permite adoptar una variedad de estados físicos, desde gaseosos, líquidos hasta sólidos y polímeros de elevado peso molecular. En consecuencia, se hace necesario proceder a su clasificación, de acuerdo con los criterios que se abordan en el presente análisis (*Bansal et al., 2022*).

2.1.1.1 Clasificación basada en las propiedades físicas y químicas

En la **Figura 1**, se observa el reparto de la familia de PFAS, la cual se pueden dividir en dos principales: poliméricas y no poliméricas. Las PFAS no poliméricas se dividen en dos grupos principales: las sustancias perfluoroalquiladas y las polifluoroalquiladas. Las moléculas perfluoroalquiladas están completamente fluoradas y tienen una estructura básica de cadena de carbono con un grupo funcional cargado en un extremo. El grupo funcional suele ser carboxílico o ácido sulfónico, aunque existen otras formas que también se encuentran en el ambiente. Los átomos de flúor están unidos a todos los enlaces de carbono a lo largo de la cadena, excepto uno en el último carbono, donde se encuentra el grupo funcional. Por otro lado, las sustancias polifluoroalquiladas tienen al menos un átomo de carbono que no está unido a un átomo de flúor, mientras que los últimos dos o más carbonos de la cadena están totalmente fluorados. Estas sustancias pueden convertirse en sustancias perfluoroalquiladas de manera biótica o abiótica (*Bansal et al., 2022, Mueller & Yingling,*

2017).

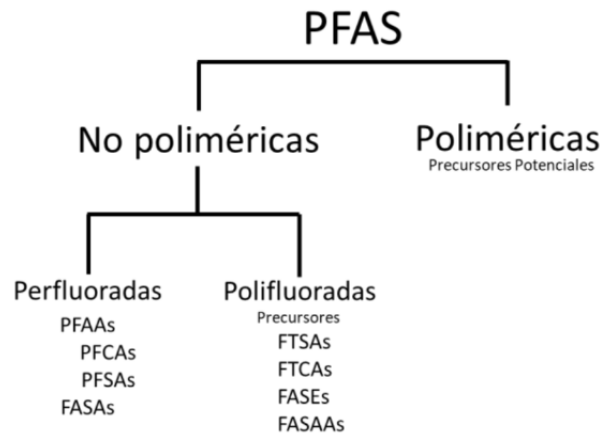


Figura 1. Reparto de la familia PFAS. Obtenida de Mueller & Yingling, 2017.

En términos generales, los PFAAs son sustancias prácticamente no degradables y actualmente son la clase de PFAS que se estudia con mayor frecuencia en el ambiente. La degradación de los PFAS puede producir PFAAs, como ocurre en el caso de la descomposición del $C_nF_{2n+1}SO_2NHCH_2CH_2OH$, que produce $C_nF_{2n+1}SO_3H$ (Buck *et al.*, 2011). El PFOA y el ácido perfluorooctano sulfónico (PFOS) son los PFAS que se han estudiado en mayor medida debido a que tienen múltiples fuentes y son productos de degradación terminal de muchos compuestos precursores (Brusseau, 2018).

Los PFAS poliméricos son compuestos de gran tamaño que se forman por la unión de múltiples monómeros idénticos. Estos compuestos se clasifican en tres categorías principales: los fluoropolímeros, los polímeros fluorados de cadena lateral y los perfluoropoliéteres (PFPE). Los fluoropolímeros son aquellos en los que la mayoría de los átomos de hidrógeno se reemplazan por átomos de flúor en el monómero. Ejemplos comunes incluyen el politetrafluoroetileno (PTFE) y el fluoruro de polivinilideno (PVDF). Los polímeros fluorados de cadena lateral contienen cadenas de carbono no fluoradas con una cadena lateral de grupo poli/perfluoroalquílico, como los uretanos fluorados y los acrilatos fluorados. Los perfluoropoliéteres (PFPE) son aquellos compuestos en los que los átomos de carbono están unidos al oxígeno además del flúor, como el perfluoropoliéter-benzofenona (PFPE-BP) (Bansal *et al.*, 2022).

Según Butt *et al.*, (2013), se considera que los PFAS poliméricos presentan un riesgo menor para la salud humana y el ambiente en comparación con los PFAS con cadenas más cortas. Sin embargo, la producción de polímeros PFAS contribuye a la liberación de PFAS no poliméricos en el ambiente como subproductos, tal como lo reportó Mueller & Yingling, (2017).

2.1.1.2 Clasificación basada en el número de átomos de carbono en la cadena

Los PFAS (sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas) pueden clasificarse en dos grupos principales: los PFAS de cadena larga y los PFAS de cadena corta. Los PFAS de cadena larga están compuestos por seis o más átomos de carbono completamente fluorados, y ejemplos de ellos son los

PFASs y PFCAs. Por otro lado, los PFAS de cadena corta son aquellos PFASs que tienen seis o menos átomos de carbono y se denominan PFAS de cadena corta. Entre ellos se encuentran el ácido perfluorobutanoico y el ácido perfluorobutano sulfónico. Cabe destacar que los PFAS de cadena corta son de mayor preocupación debido a su mayor movilidad en el ambiente y a su mayor potencial de bioacumulación en los seres vivos (*Bansal et al., 2022*).

2.1.2 Historia y Origen de los PFAS

En 1938, el Dr. Roy J. Plunkett descubrió accidentalmente el politetrafluoroetileno (PTFE), también conocido como Teflón, mientras trabajaba con gases relacionados con refrigerantes a partir del TFE. Él y sus colegas descubrieron que una muestra congelada y comprimida de tetrafluoroetileno se había polimerizado espontáneamente hasta formar un sólido blanco y ceroso (*Panieri et al., 2022*). En 1941, el PTFE fue patentado y registrado como marca registrada de Teflón por la compañía Kinetic Chemicals. DuPont introdujo Teflón en la década de 1940 para el recubrimiento de válvulas y como sellador en tubos que contenían hexafluoruro de uranio (*Fenton S. et al., 2020*). Desde la década de 1950, los PFOS y el PFOA se comenzaron a utilizar para fabricar productos resistentes a las manchas y al agua, así como revestimientos protectores. En 1961, se aplicó Teflón a los utensilios de cocina comerciales. A partir de 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 (*3M, 2000; US DOD, 2000*).

Las primeras preocupaciones documentadas con respecto a las afecciones a la salud de las PFAS se mencionaron en un memorando interno de DuPont, de la toxicóloga Dorothy Hood, en 1961. En 1980, se midieron los PFAS 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; Buck et al., 2011*). En 1988, Wilbur Tennant, un ganadero cuya propiedad se ubicaba río abajo y lindaba con un vertedero utilizado por la planta DuPont Washington Works en las cercanías de Parkersburg, WV, solicitó el asesoramiento legal de Rob Bilott. Tennant había observado un fenómeno inusual que consistía en agua espumosa y sin color en el arroyo que suministraba agua potable a su ganado. Además, había notado comportamientos atípicos y anomalías en su ganado, como dientes negros, lesiones en la piel y tumores, órganos descoloridos, pezuñas malformadas y terneros nacidos con defectos congénitos graves. La mayoría de su ganado murió debido a estas condiciones. Tennant creía que la contaminación liberada por DuPont en el río, que atravesaba por su propiedad, estaba directamente relacionada con lo que estaba sucediendo a su ganado.

En 1988, un ciudadano privado inició un caso legal que resultó en una demanda colectiva en nombre de más de 70,000 ciudadanos en Mid-Ohio Valley. La planta de DuPont había contaminado las fuentes de agua potable de la zona con PFOA, lo que condujo a problemas de salud graves, como aumento del colesterol, cáncer de riñón, cáncer testicular, colitis ulcerosa, enfermedad tiroidea y hipertensión inducida por el embarazo. En 2001, se demostró por primera vez el alcance mundial de la contaminación con PFOS en la vida silvestre gracias a un estudio realizado por Giesy y Kannan (*Giesy y Kannan, 2001*). Un estudio adicional llevado a cabo por Hansen y otros investigadores en

2001, descubrió que el PFOS y otros compuestos perfluoroalquilos (PFAS) estaban presentes en múltiples muestras de sangre humana tomadas de empresas de suministros biológicos. Este estudio sugirió que los PFAS fueron responsables de una parte importante del flúor detectado en el suero humano de personas no expuestas ocupacionalmente a los PFAS. Ya en 1980, se había descubierto que la sangre de un grupo de empleados de la industria fluoro química contiene PFOA (*Ubel et al., 1980*).

En consecuencia, la presencia de varias de estas sustancias de cadena larga (PFOA y PFOS) ha alcanzado recientemente niveles bajos en partes por billón (ppb) correspondientes a nanogramos por mililitro (ng/ml) en suero de la mayoría de la población de los Estados Unidos y los países industrializados (*Yu et al., 2019; Wu et al., 2015*). Por lo tanto, se ha demostrado que los PFAS están presentes en el organismo de trabajadores, estén o no expuestos en el lugar de trabajo, debido al uso generalizado de PFAS en los productos de consumo diario y en la industria (*ATSDR, 2021*). Estudios en animales de laboratorio y estudios epidemiológicos de población indican que la exposición a algunos PFAS está asociada con efectos adversos para la salud en humanos (*ATSDR, 2021; Worley et al., 2017*).

2.1.3 PFAS en los seres humanos

2.1.3.1 Vías de exposición

Los seres humanos están expuestos a sustancias per y perfluoroalquiladas (PFAS) tanto por exposición directa como indirecta. Una de las principales vías de contaminación a las que estamos expuestos es la ingestión (exposición directa), que ocurre a través de la vía gastrointestinal, es decir, mediante la ingesta de alimentos contaminados y el consumo de agua o bebidas contaminadas. Otra vía es la exposición dérmica (a través de la membrana permeable, siendo esta exposición indirecta), que se produce por la absorción a través de la piel. Las cremas y cosméticos son algunos ejemplos de este tipo de exposición. La inhalación es otra vía de exposición indirecta que ocurre mediante la inhalación de aire contaminado como polvo, humo o vapores contaminados. Asimismo, los productos de limpieza, el pulido de coches, la madera, la piedra y el suelo son otras vías a considerar para estar expuestos a los PFAS. (*Bansal et al., 2022, ATSDR, 2021*)

Las sustancias per y polifluoroalquilos presentes en los sedimentos se bioacumulan en los pequeños organismos acuáticos. Estos compuestos tóxicos se vuelven disponibles para los animales silvestres y los seres humanos que consumen estos organismos acuáticos como alimento (*Bansal et al., 2022*).

2.1.3.2 Efectos Adversos para la salud

En los últimos años, ha habido un notable interés en la persistencia ambiental de los PFAS, su biomagnificación en las redes alimentarias y su potencial acumulación y toxicidad, lo que se ha reflejado en el considerable número de publicaciones sobre el tema. Los PFAS se han asociado con varios efectos adversos sobre la salud, incluyendo alteración de la función inmune y tiroidea, enfermedad hepática, desregulación de lípidos e insulina, enfermedad renal, resultados adversos en

la reproducción, el desarrollo, cáncer, entre otros (Domingo *et al.*, 2019). A diferencia de otros contaminantes ambientales comunes, como los pesticidas organoclorados, los 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 (Pereiro y Lafuente, 2012).

Las sustancias químicas conocidas como PFAS pueden producir una amplia gama de efectos adversos para la salud, dependiendo de las circunstancias de la exposición, como la magnitud, duración y vía de exposición, y de los factores asociados con las personas expuestas, como la edad, sexo, origen étnico, estado de salud y predisposición genética. Para establecer los efectos sobre la salud de mayor preocupación, se deben considerar los efectos para los cuales la evidencia es más fuerte, como la consistencia del efecto entre estudios, la fuerza de las asociaciones de efectos en estudios epidemiológicos y la concordancia de especies, así como los efectos para los cuales el impacto potencial es mayor, como la gravedad del efecto, el deterioro funcional, la persistencia y los grupos de edad específicos que son susceptibles. La **Figura 2** se observa que la exposición a los PFAS está relacionada con resultados adversos del embarazo, como un mayor tiempo de gestación, trastornos hipertensivos, hipertensión inducida por el embarazo, preeclampsia, diabetes gestacional, exceso de aumento de peso gestacional y bajo peso al nacer del bebé. Varios estudios también han demostrado que la exposición a los PFAS altera varias vías relacionadas con la enfermedad renal, daño hepático, cáncer testicular, etc. (Fenton S. *et al.*, 2020)

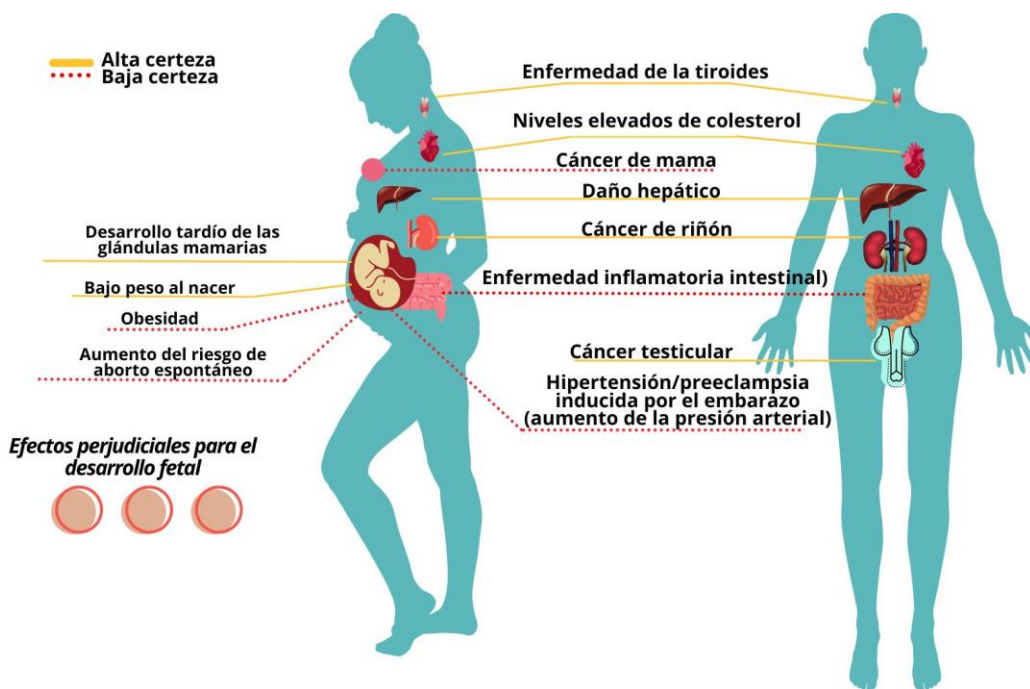


Figura 2. Efectos de las sustancias perfluoroalquiladas y polifluoroalquiladas en la salud humana. Adaptado de Fenton S. *et al.*, (2020).

Los PFAS tienen la capacidad de acumularse en el cuerpo una vez que son absorbidos en la corriente sanguínea a través de diferentes vías, como la digestiva y la respiratoria, debido a su estabilidad química. La distribución de los PFAS en los tejidos no solo está relacionada con la especie y el género, sino también con las características de la estructura química, como la carga eléctrica de la "cabeza" y la longitud de la cadena de perfluoroalquilo, así como la cantidad de exposición que recibe el individuo (*Kirk et al., 2018*). La carga eléctrica de la "cabeza" de los PFAS determina cómo se unirán los compuestos químicos, lo que afecta la bioacumulación en distintas partes del cuerpo. Generalmente, los PFAS tienden a acumularse en los órganos con alta vascularización, como el hígado, los riñones y los pulmones (*Pérez et al., 2013*).

Según estudios científicos, se ha determinado que la vida media biológica de los PFAS en el suero humano varía de acuerdo al tipo de compuesto. En este sentido, se ha estimado que la vida media del PFOA es de 3,8 años, mientras que para el PFOS es de 5,4 años. Por otro lado, el sulfonato de perfluorohexano (PFHxS) tiene una vida media biológica en el suero humano de 8,5 años. (*Li et al., 2018*)

Estos datos han sido obtenidos a partir de diversas investigaciones llevadas a cabo por expertos en la materia, entre los que se destacan Flores, (2015) y Olsen, (2007). Cabe destacar que la vida media biológica es un indicador importante para evaluar la exposición y los posibles efectos de los PFAS en la salud humana, ya que permite conocer cuánto tiempo permanecen estos compuestos en el cuerpo y, por ende, cuánto tiempo pueden afectar al organismo.

2.1.4 Regulaciones Ambientales

Dado que los PFAs se produjeron hace más de 50 años, se han utilizado en muchos productos, pero no fueron ampliamente reconocidos en muestras ambientales hasta principios del siglo XXI, cuando se pudieron estudiar los detalles sobre los efectos de los PFAs. Desde esa década, se han estado fabricando y desarrollando métodos con límites de detección más bajos en el agua que son proporcionales a los niveles que afectan la salud humana. Inicialmente, la investigación se enfocó principalmente en las grandes emisiones de las fuentes de producción y uso de estos contaminantes, como lo son los sitios de extinción de incendios con espuma. Sin embargo, desde principios del siglo XXI, la presencia de PFAs en el ambiente se ha convertido en un área de investigación muy interesante y diligente, y se ha informado sobre la presencia de diferentes tipos de PFAs (*Boyer et al., 2021; Kannan et al., 2004*). Los PFAs se han estado estudiando recientemente, de esta manera han sido ampliamente detectados en todo el mundo. Las encuestas realizadas en Estados Unidos en el 2012 de las fuentes de agua potable bajo la Tercera Regla de Monitoreo de Contaminantes No Regulados (UCMR3) llamaron la atención sobre 4 PFAs adicionales como lo son el ácido perfluoroheptanoico (PFHpA), ácido perfluorononanoico (PFNA), ácido sulfónico de perfluorobutano (PFBS), y ácido sulfónico de perfluorohexano (PFHxS). La muestra UCMR3 detectó PFAs en el 4% de las fuentes de agua potable en los Estados Unidos. La Agencia de Protección Ambiental de EE. UU., dio a conocer los Avisos de salud de por vida (LHA por sus siglas en inglés) en el 2016, para los dos tipos de PFAs detectados con mayor frecuencia, PFOA y PFOS. Los niveles de LHA se establecen en 70 nanogramos/litro (ng/L, es decir, partes por trillón (ppt)) en agua potable

y son aplicables a PFOS y PFOA solos o en combinación (USEPA, 2009). Después de UCMR3 y LHA, se ha prestado más atención a las sustancias de polifluoroalquilo, y muchos reguladores gubernamentales exigen pruebas para una lista ampliada de PFAS de cadena larga y corta, así como algunos precursores de PFAS como los fluorotelómeros, como se muestra en la **Figura 3**.



Figura 3. La concientización emergente y énfasis en la presencia de las PFAS en el ambiente. Obtenida de ITRC 2022.

En el 2017, la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC) clasificó al PFOA como probable carcinógeno humano. La división de epidemiología y genética del cáncer (DCEG) ha lanzado una serie de estudios para identificar cánceres específicos asociados con PFAS a niveles de exposición comúnmente observados en la población general. Estos son estudios pioneros destinados a evaluar directamente la exposición a PFOA y otras PFAS en muestras de suero almacenadas, y evaluar su riesgo en exposiciones comparables a las de la población general (DCEG, 2017).

En la actualidad, la regulación de PFAS en México es muy pobre y se necesitan documentos que muestren cómo controlar y eliminar el riesgo que estas sustancias pueden representar para la población. Se requiere un análisis de riesgos para comprender qué medidas tomar y cómo aplicarlas. La falta de evidencia y relación entre los impactos adversos para la salud pública y el nivel de PFAS promueve que la regulación sobre estas sustancias sea un proceso lento e indefinido. Todavía no se sabe con certeza los niveles exactos de PFAS que representan un riesgo para la salud humana, debido a los datos limitados que aún existen sobre las formas en que las personas pueden estar expuestas a PFAS y durante cuánto tiempo (Arrieta, 2017). A pesar de los casos ya registrados en otras partes del mundo, algunos autores afirman que los niveles de exposición y sus consecuencias aún son poco conocidos, debido precisamente a esa diversidad de opciones de exposición hacia la sustancia (Abunada et al., 2020).

2.1.5 Técnicas de detección de PFAS

Detectar los PFAS presenta múltiples desafíos, ya que no tienen ningún grupo cromóforo en su estructura, lo que dificulta la identificación temprana basada en colorimetría. Además, su resistencia química a las reacciones de derivatización limita la capacidad de realizar la mayoría de las evaluaciones analíticas que se realizan con otros contaminantes orgánicos persistentes (COP). Además, los PFAS se comportan como tensioactivos en el agua y tienen propiedades electrostáticas sobresalientes, lo que significa que pueden acumularse como micelas laminares en las interfaces entre el agua y los materiales (*Guelfo y Higgins, 2013*).

Existen varias técnicas de detección que se utilizan para analizar PFAS, siendo las técnicas cromatográficas las más utilizadas, tales como HPLC-MS, GC-MS y UHPLC. Los métodos convencionales ofrecen un límite de detección (LOD) de 0,0001 µg/L, lo que permite 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, tal y como lo exige la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos (USEPA) (*USEPA, 2020*).

Otras técnicas que se utilizan incluyen la medición de tetrafluoruro de carbono (CF₄) que es un producto de la degradación 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*). También se han utilizado análisis de precursores oxidables totales (TOP) realizados mediante HPLC-MS, obteniendo LOD entre 0,0001 y 0,0005 µg/L. Además, se han utilizado análisis de flúor orgánico total (TOF) 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 (*Garg et al., 2022; Özbek y Akman, 2018*). Estas técnicas permiten la detección selectiva de los PFAS y brindan información valiosa sobre su presencia y cantidad en muestras ambientales.

2.2 PFOA

El PFOA, representado por la fórmula química CF₃(CF₂)₆COOH, es una sustancia que pertenece a la familia de los PFAS, debido a que su cadena de carbono está completamente fluorada y posee un grupo funcional de ácido carboxílico en uno de sus extremos. Debido a su estabilidad química, el PFOA es una sustancia no degradable y puede ser generado a partir de la degradación de otras PFAS más largas, tanto por procesos bióticos como abióticos (*Buck et al., 2011*). Específicamente, el PFOA es un ácido perfluoroalquilado (PFAA), que a su vez pertenece a los ácidos perfluoroalquilcarboxílicos (PFCA), también conocidos como perfluoroalquilcarboxilatos. Estos compuestos son productos de degradación terminal de precursores específicos de PFAS, como los alcoholes fluoroteloméricos (FTOHs). Es importante destacar que el PFOA y otras PFAS no son producidas de manera natural, sino que son sintetizadas por el hombre, y han sido utilizadas en una variedad de productos comerciales e industriales durante más de seis décadas (*Lindstrom et al., 2011*).

El PFOA, al tratarse de un compuesto ácido, posee un valor de pKa que se sitúa alrededor de 3.8 ± 0.1. Este valor influye en su capacidad de disolución y en su transporte a través de los distintos niveles

tróficos (*Goss, 2008*). El PFOA se encuentra principalmente en forma de anión en el ambiente, lo que le permite migrar con facilidad desde el suelo hacia las aguas subterráneas. Además, este compuesto es altamente soluble en agua (*Davis et al., 2007*). En presencia de agua, el ácido se disocia y se encuentra en forma disuelta. Dado que la cadena carbonada es altamente apolar, las moléculas no se distribuyen al azar en la solución acuosa, sino que la cadena carbonada se sitúa en la superficie mientras que el grupo carboxilo se orienta hacia la disolución. Este comportamiento explica por qué el PFOA puede actuar como tensioactivo y permitir la formación de micelas. (*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*). Se ha encontrado que el PFOA no se puede eliminar de manera efectiva del agua potable mediante procesos de tratamiento convencionales como la coagulación, la filtración con arena, la sedimentación, la ozonización o la cloración. Sin embargo, se han llevado a cabo investigaciones para determinar la eficacia del carbón activado como método para la eliminación del PFOA del agua potable. (*Bartell et al., 2010*).

2.2.1 Aplicaciones del PFOA

El PFOA es una molécula químicamente estable debido a su estructura molecular y los enlaces químicos presentes entre sus átomos. Esta estabilidad química lo hace persistente en el ambiente y difícil de degradar. Debido a estas características, el PFOA ha sido utilizado en una variedad de aplicaciones, incluyendo revestimientos resistentes al agua, la suciedad y las manchas en ropa, cuero, tapicería y alfombras. También se ha utilizado como revestimiento resistente al aceite en papel en contacto con alimentos, fluidos hidráulicos de aviación, espumas contra incendios, pinturas, adhesivos, ceras, abrillantadores y otros productos industriales, como tensioactivos, emulsionantes, agentes humectantes, aditivos y recubrimientos.

En la producción de politetrafluoroetileno (PTFE), un polímero fluorado utilizado para crear recubrimientos antiadherentes en utensilios de cocina y otros productos, el PFOA se utiliza como emulsionante. Además, se utiliza como precursor para la producción de otros fluoropolímeros y fluoroelastómeros (*Barzen et al., 2017; Lindstrom et al., 2011; Lau et al., 2007*).

2.2.2 Exposición y niveles permisivos de PFOA

Se ha prestado considerable atención a la investigación para identificar el efecto de la exposición al PFOA en la salud humana. El nivel de aviso de salud de PFOA es de 0.07 µg/L para cada uno y la suma de los dos se basan en la evaluación de la información sobre los efectos en la salud disponible en ese momento. Las evaluaciones de los efectos sobre la salud se realizan de acuerdo con las pautas de la USEPA para la evaluación de riesgos para la salud humana (*USEPA, 2014*). Los efectos adversos observados después de la exposición a PFOA incluyen efectos en humanos sobre los lípidos séricos, el peso al nacer y los anticuerpos séricos (*USEPA, 2016*). Algunos estudios en animales observaron efectos en el hígado, el desarrollo de los recién nacidos y las respuestas a los desafíos

inmunológicos. Ambos compuestos se asociaron con tumores en estudios con animales a largo plazo, así como también malformaciones (*ATSDR, 2021*). Se han publicado revisiones detalladas de los problemas toxicológicos y epidemiológicos asociados con el PFOA (*Dong et al., 2017; Post et al., 2017*). Las decisiones clave de evaluación de riesgos que afectan la regulación de PFOA se analizan a continuación.

Es necesario un análisis experto para evaluar los riesgos para la salud humana asociados con la exposición a un contaminante presente en el agua potable. Para ello, se debe considerar la aplicabilidad de estudios realizados en animales y humanos a las exposiciones en el agua potable. El PFOA es eliminado del cuerpo a una velocidad muy lenta, y su vida media ha sido estimada entre 2,3 y 3,94 años en seres humanos. (*Li et al., 2018*). Se recurre al monitoreo biológico de los niveles de PFOA en la sangre para evaluar tanto la exposición como la carga corporal del compuesto. Posteriormente, estos niveles sanguíneos son sometidos a análisis utilizando un modelo farmacocinético de un solo compartimento para obtener una estimación de la concentración del PFOA presente en el agua potable. (*Loccisano et al., 2011*).

Los niveles de suero sanguíneo dependen en gran medida de la cantidad de PFOA que ingresa al cuerpo. El agua potable es una fuente importante de exposición que contribuye al aumento de los niveles séricos (*Zhang et al., 2019*). La **Figura 4** ilustra el efecto de la exposición a PFOA en los niveles de suero sanguíneo de varios estudios en diferentes entornos (*ATSDR, 2021*). Las exposiciones ocupacionales (p. ej., trabajadores de 3M y trabajadores de Dupont). La concentración del contaminante en el agua potable, la edad de la población expuesta (como en el caso de la comunidad de Pease, NH), el tiempo que ha pasado desde que se interrumpió la exposición (como en la comunidad del norte de Alabama) y si se ha implementado algún tipo de tratamiento del agua. La **Figura 4** muestra los niveles de suero sanguíneo en sitios previamente contaminados, los cuales fueron más elevados en comparación con los niveles actuales en la población general, tal como se ha registrado en estudios como el NHANES. (*CDC, 2019; Daly et al., 2018; Olsen et al., 2017; Worley et al., 2017; Steenland et al., 2009; Emmett, et al., 2006; 3M, 2000*).

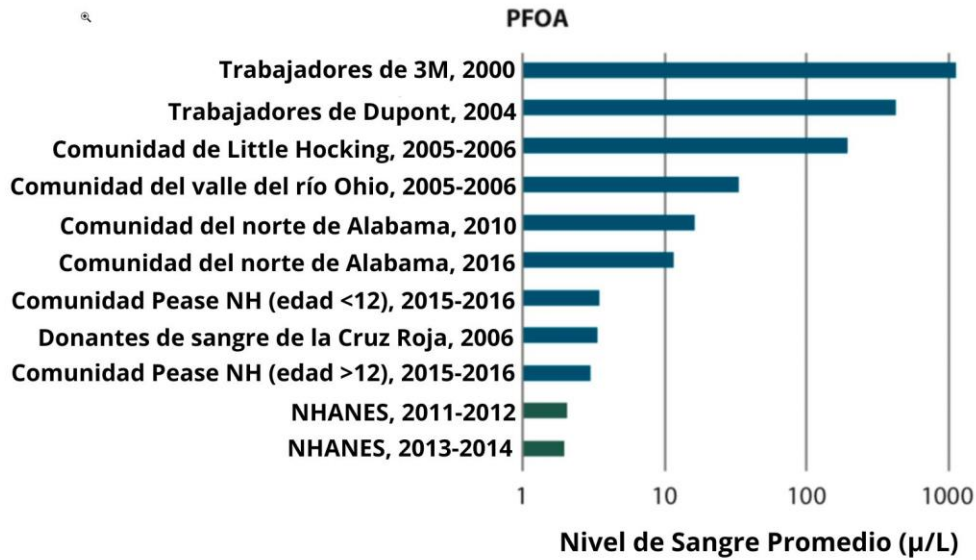


Figura 4. Niveles en sangre en personas que estuvieron expuestas a PFOA. Adaptada de Pontius, (2019).

Se pueden identificar varias fuentes que pueden exponer a las personas al PFOA, incluyendo alimentos, envases de alimentos, productos de consumo, polvo doméstico y agua potable. Este compuesto también puede encontrarse en aguas subterráneas y superficiales contaminadas por descargas de instalaciones industriales, así como en aguas que no presentan una fuente puntual conocida de contaminación (*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 (*Post et al., 2012; Kennedy et al., 1986*). Según investigaciones en animales, la distribución del PFOA se concentra mayormente en el hígado y en el suero, seguido por el riñón, mientras que se encuentran concentraciones menores en otros órganos. Asimismo, en el suero sanguíneo, el PFOA se une de manera prácticamente total a la albúmina y otras proteínas (*Post et al., 2012*). Los estudios realizados en animales han demostrado una serie de efectos tóxicos, algunos de los cuales ocurren después de la exposición a dosis bajas durante el desarrollo, sin que se haya identificado un umbral claro. Algunos de estos efectos incluyen cambios duraderos en la glándula mamaria, alteraciones histopatológicas en el aparato reproductor femenino, efectos neuroconductuales persistentes, obesidad y cambios metabólicos en la edad adulta, entre otros (*Post et al., 2012*).

2.2.3 Determinación del PFOA en SERS

Aunque se han publicado asignaciones de bandas Raman para varios PFAS comunes (*Amorim da Costa y Santos, 1983*), estos solo se han informado utilizando espectroscopía Raman convencional, pero no SERS. Además, esta publicación tiene casi 40 años y no cubre todos los compuestos perfluorados modernos y comunes, como el PFOA y PFOS. Sin embargo, los enlaces carbono-flúor únicos y abundantes generan varias bandas Raman de huella digital distintas que indican la presencia de un compuesto perfluorado, como la banda CF_3 ($725\text{-}782\text{ cm}^{-1}$), la banda CF_2 (691 cm^{-1}) y la banda CF aromática ($569\text{-}589\text{ cm}^{-1}$), que probablemente seguirán siendo útiles para futuros estudios de detección SERS de este grupo (*Ong et al., 2020*).

En la actualidad, existe una notable escasez de estudios SERS en la literatura que aborden la detección de PFAS a concentraciones ambientalmente relevantes. Fang et al., (2016) emplearon un sustrato doble compuesto por nanopartículas de plata sobre una superficie de óxido de grafeno para detectar el PFOA con éxito en comparación con un colorante Raman, a un límite de detección de $50\text{ }\mu\text{g/L}$. No obstante, para lograr esto, los autores tuvieron que ionizar la muestra de PFOA a un colorante activo en Raman, en lugar de absorber directamente el PFOA al sustrato SERS. Esta ionización produjo una señal de colorante mucho más intensa, que opacó la señal de PFOA. Por lo tanto, los autores emplearon la señal del colorante en lugar de la señal del PFOA para la cuantificación, lo que implica que los resultados son ambiguos, tal como lo indica Ong et al., (2020).

En 2022, Bai et al., publicaron que la limitación para detectar PFOA por SERS consiste en su fuerte fluorescencia, por lo que la fluorescencia inducida por el láser de excitación Raman puede ocultar las señales Raman. Las longitudes de onda de excitación Raman más largas, por ejemplo, 633 nm , pueden suprimir la fluorescencia; sin embargo, esto también puede reducir la intensidad de Raman debido a la menor energía de los fotones cuando se utilizan nanopartículas de plata comunes. Por consiguiente, se aplican matrices de superestructura plasmónica de plata con LSPR sintonizado para la longitud de onda más larga mediante reducción de campo cercano con láser para el análisis de amplio rango de PFOA con un límite de detección determinado tan bajo como 10^{-9} M (*Bai S. et al., 2022*).

En 2016, Zhang y su equipo de investigación desarrollaron un método altamente sensible de dispersión de luz de resonancia (RLS) para la detección del PFOA utilizando la interacción con violeta de cristal (CV). Se descubrió que el PFOA puede formar complejos con CV en un medio ácido, lo que resulta en una mejora notable en la intensidad de RLS del sistema. Las intensidades de RLS mejoradas están en proporción a la concentración de PFOA en el rango de $0.1\text{-}25.0\text{ }\mu\text{mol/L}$ ($R_2 = 0.9998$), con un límite de detección de 11.0 nmol/L ($S/N = 3$). Además, se investigaron las condiciones óptimas de reacción y las interferencias de sustancias extrañas en el mismo estudio. También se examinó el mecanismo de reacción entre CV y PFOA utilizando espectroscopía de absorción y microscopio electrónico de barrido (SEM). Este método se utilizó con éxito para la detección de PFOA en muestras de agua del grifo y del río Jialing con $\text{RSD} \leq 4.04\%$ (*Zhang et al., 2016*).

En el futuro, existe la posibilidad de detectar PFOA mediante SERS sin necesidad de utilizar un tinte. Es viable utilizar sensores ópticos basados en nanopartículas para detectar ciertos contaminantes aniónicos, como muchos PFAS, que presentan potencial para su uso en la detección ambiental (*Ong et al., 2020*). Sin embargo, un desafío significativo en la detección individual de aniones es la interferencia de otros aniones coexistentes, lo que puede generar falsos positivos, debido a que los espectrómetros Raman portátiles aún no tienen la misma capacidad de selectividad y sensibilidad que los instrumentos de laboratorio. Para superar esta limitación, se pueden implementar soluciones como la modificación de nanopartículas de oro para permitir la unión selectiva de un analito objetivo a la superficie de la nanopartícula mediante química de tiol, o el uso de aptámeros unidos a tiol conjugados a nanopartículas de oro (*Mena et al., 2010*). Además, se pueden reducir los resultados de detección de falsos positivos mediante una combinación de técnicas estadísticas que permitan una medición más precisa de los analitos importantes (*Chuong et al., 2017*).

2.3 Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas (NPs) son partículas cuyas dimensiones se encuentran en un tamaño menor de 100 nm. Tienen propiedades fisicoquímicas, electrónicas y catalíticas muy diferentes a las de su equivalente en bulto (*Zhang et al., 2022*). A medida que el tamaño de las partículas se acerca a la nanoescala, la proporción de átomos presentes en su superficie aumenta drásticamente, lo que genera energías superficiales elevadas y limitaciones espaciales de sus electrones (*Sovizi y Aliannezhadi, 2022*). Cuando la radiación electromagnética (luz) choca con nanopartículas metálicas (oro y plata), surge un fenómeno con gran potencial para aplicaciones en optoelectrónica y detección bioquímica: el plasmón de superficie local de resonancia (LSPR). La excitación del modo LSPR tiene dos consecuencias principales: la absorción selectiva y la dispersión de la radiación electromagnética resonante, así como a generación de campos electromagnéticos intensos en la superficie de las nanopartículas (*Zhang et al., 2022*). La excitación del LSPR corresponde a la oscilación coherente y colectiva de los electrones de las nanopartículas debido a la perturbación provocada por el fotón incidente de la longitud de onda correcta (**Figura 5**) (*Yeh et al., 2012*).

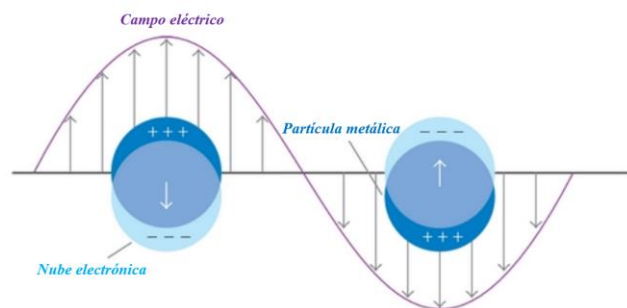


Figura 5. Resonancia del Plasmón de superficie localizado. Adaptada de Hong et al., 2012.

2.3.1 Nanopartículas de oro

Las nanopartículas de oro (AuNP), debido a sus propiedades físicas y químicas, han demostrado ser relevantes para el avance de la investigación basada en nanotecnología y son muy versátiles en diversos campos de aplicación. Por lo tanto, la resonancia de plasmones de superficie localizada de AuNP permite un mayor desarrollo terapéutico de las nanopartículas de diferentes maneras, como sondas indicadoras en el ensayo de flujo lateral (LFA), nanoestructuras para dispersión Raman mejorada en superficie y nano sondas para la terapia fototérmica del cáncer, entre otras (*Zhang et al., 2022*).

La síntesis de AuNP se basa en la reducción de iones de Au (III) por moléculas pequeñas, entre las cuales se encuentran los ácidos cítricos, ascórbico y tartárico. De esta forma, los productos monodispersos que se obtienen con esta combinación, ofrecen grupos funcionales específicos en la superficie. Esto permite al sistema unirse o conjugarse fácilmente con otras moléculas funcionales a través del enlace oro-tiol (Au-S). Debido a estas ventajas, las AuNP ahora se utilizan con frecuencia como materiales de referencia o marcados para su seguimiento y detección, así como transportadores biocompatibles para sistemas de administración de fármacos dirigidos (*Naz et al., 2019*). Como era de esperar, en las últimas dos décadas, ha habido una creciente demanda de las nanopartículas de oro para fines industriales y comerciales (*Yeh et al., 2012*).

2.3.2 Métodos de síntesis de AuNP

Existen diferentes técnicas para la síntesis de nanopartículas de oro, y por esta razón, ha sido posible la generación de una amplia gama de distintos tamaños, formas y funcionalidades. La síntesis que ha sido más utilizada a lo largo de estos años es conocida como “método de Turkevich”, la cual involucra la reducción de iones oro que están presentes en una disolución acuosa con citrato de sodio. Este método consta de dos partes fundamentales, siendo la primera parte, la reducción de un precursor de oro utilizando agentes reductores adecuados, como citrato sódico o borohidruro, obteniéndose de ello se obtiene oro elemental. De esta forma tenemos la segunda parte que es la estabilización de las nanopartículas obtenidas, por medio de agentes estabilizantes, como lo es el citrato sódico, previniendo la agregación de las nanopartículas y de esta forma evitando la formación de un precipitado metálico (*Agunloye et al., 2017*).

Debido a la naturaleza hidrofóbica, las nanopartículas metálicas tienden a agregarse en complejos mayores mediante fuerzas de Van der Waals. Es por ello que el agente estabilizante actúa aportando cargas negativas que inducen fuerzas de repulsión entre las partículas (*Yeh et al., 2012*). Se pueden distinguir tres fases en la estructura típica de la AuNP sintetizada por reducción química (**Figura 6**): una agrupación cristalina interior de átomos de oro empaquetados (átomos centrales), capas exteriores de átomos expuestos en la superficie (átomos superficiales) y moléculas o ligandos de tipo orgánico o tensioactivos ligados a la superficie más externa de la nanopartícula. Las distintas propiedades características de los distintos tipos de AuNPs residen, además del tamaño, en la variedad molecular superficial. (*Canal, 2016*).

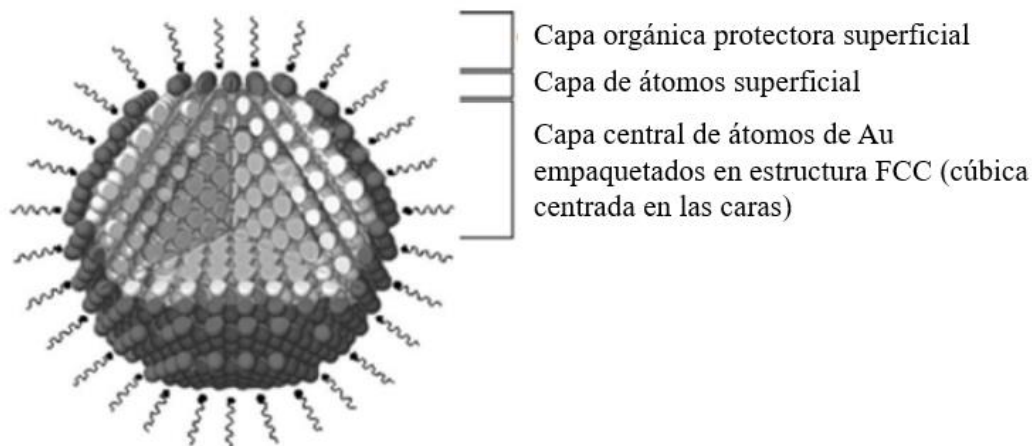


Figura 6: Modelo estructural de la nanopartícula de oro. Adaptada de Canal, 2016.

La preparación de AuNPs de alta calidad requiere de un control adecuado del tamaño y la forma de la nanopartícula, así como de una estabilización efectiva y un control de la funcionalización superficial.

2.3.3 Método Turkevich

El método de Turkevich consiste en calentar hasta llegar a ebullición una disolución acuosa de HAuCl_4 y añadir una solución de citrato de sodio mediante una agitación vigorosa. Tras unos minutos, se obtiene una suspensión coloidal de oro de color rojiza con un tamaño aproximado de 20 nm. En este método, los iones de oro (III) son reducidos por los iones citrato para producir oro elemental y, además, los iones citrato actúan también como un agente estabilizante que permite cubrir la superficie de las nanopartículas de oro producidas y evitar así su posible agregación (Yeh *et al.*, 2012).

La relación citrato/ Au^{3+} permite controlar el tamaño de las nanopartículas de oro sintetizadas. Por ello, como resultado de las propiedades estabilizadoras del citrato, al aumentar la concentración relativa del agente reductor de citrato, se reduce el tamaño de las nanopartículas de oro sintetizadas. Por otro lado, la baja concentración de citrato conduce a un recubrimiento incompleto de AuNP y desencadena un proceso de agregación para formar nanopartículas más grandes (Turkevich *et al.*, 1951).

Aunque el tamaño es importante en la síntesis de AuNP, este no es el único factor a considerar al usarlos en aplicaciones prácticas. Las condiciones del proceso deben ser controladas para obtener nanopartículas y deben cumplir con ciertas propiedades. Es decir, todas las partículas deben ser de tamaño similar para obtener una muestra monodispersa, idéntica en forma o morfología, idéntica en estructura cristalina y libre de fenómenos de aglomeración (Yeh *et al.*, 2012).

2.4 Espectroscopia Raman mejorada de superficie

2.4.1 Historia

La espectroscopia Raman mejorada de superficie (SERS) fue inicialmente descubierta por Fleischmann et al 1974, quien contempló una intensa dispersión Raman de piridina adsorbida en plata que fue endurecida electroquímicamente. El estímulo de este trabajo fue desarrollar una sonda espectroscópica químicamente específica que pudiera utilizarse para estudiar procesos electroquímicos en el lugar. El enfoque de Fleischmann fue hacer rugoso el electrodo para aumentar su área superficial y de esta manera el número de moléculas adsorbidas disponibles para el estudio. Jeanmaire, Van Duyne, Albrecht y Creighton identificaron de forma independiente que las grandes intensidades observadas no podían explicarse simplemente por el aumento en el número de dispersores presentes, y propusieron que se producía un aumento de la intensidad dispersada en el estado adsorbido (*Campion y Kambhampati, 1998*). Esto predijo un debate sobre el mecanismo de SERS que funcionó eficazmente durante casi una década y sobre el cual aún se están realizando investigaciones. Jeanmaire y Van Duyne propusieron tentativamente un mecanismo de mejora del campo eléctrico, mientras que Albrecht y Creighton supusieron que la dispersión de resonancia Raman de los estados electrónicos moleculares, ampliada por su interacción con la superficie del metal, podría ser la responsable. De esta manera el uso de SERS ha crecido considerablemente desde la década de 1977, con contribuciones de químicos, físicos e ingenieros de todo el mundo. En la **Figura 7 y 8** se observa la creciente popularidad de la técnica Raman de superficie mejorada, en donde se muestran los datos de citas en Web of Science para el término “Raman mejorado en superficie”, desde 1979 hasta 2017 (*Jiang et al., 2018; Sharma et al., 2012*)

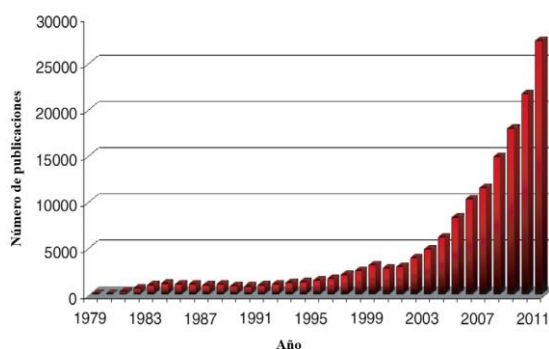


Figura 7. Creciente popularidad de la técnica Raman de superficie mejorada. Obtenida de Sharma et al., (2012).

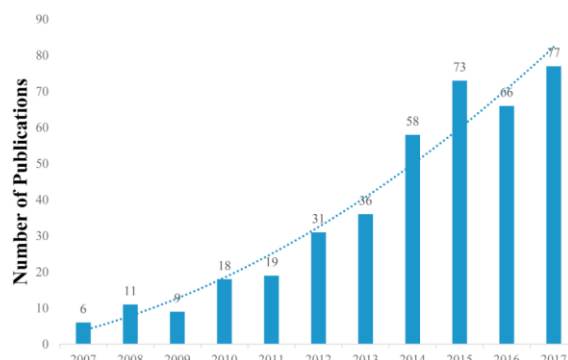


Figura 8. Creciente popularidad de la técnica Raman de superficie mejorada de 2007 a 2017. Obtenida de Jiang et al., (2018).

2.4.2 Fundamento de la técnica

Tras décadas de debate, ahora se acepta, de forma general, que el principal contribuyente a la mayoría de los procesos SERS es el mecanismo de mejora electromagnética. La mejora resulta de la amplificación de la luz por la excitación de LSPR. Esta concentración de luz ocurre preferentemente en los huecos, grietas o características afiladas de los materiales plasmónicos, que son tradicionalmente metales nobles y acuñados (p. ej., plata, oro y cobre) con características a nanoescala. (Li et al., 2017; Campion y Kambhampati, 1998) Estructuras reproducibles y robustas que mejoran fuertemente el campo electromagnético son las más deseables para SERS. Dependiendo de la estructura del material plasmónico de soporte, la mejora electromagnética para SERS se calcula teóricamente para alcanzar factores de $\sim 10^{10} - 10^{11}$. En la mayoría de las circunstancias, el factor de mejora se puede aproximar bien por la magnitud del campo electromagnético localizado elevado a la cuarta potencia (Li et al., 2017).

Otro mecanismo que participa en la amplificación de la señal es la amplificación química, que implica principalmente mecanismos de transferencia de carga en los que la longitud de onda de excitación resuena con los estados de transferencia de carga electrónica de las moléculas metálicas (Jensen et al., 2008). Teóricamente, los factores de mejora química de hasta 10^3 se calcularon utilizando la teoría funcional de la densidad dependiente del tiempo para la piridina sustituida en la posición para y meta del anillo aromático, que interactúa con un grupo de plata. Los autores encontraron que las magnitudes de la mejora, a través de las transiciones de transferencia de carga son altamente específicas de moléculas.

El factor de mejora SERS total es el producto de mecanismos de mejora electromagnéticos y químicos. Además, los efectos de resonancia Raman juegan tradicionalmente un papel importante en los experimentos SERS, ya que las moléculas de tinte con secciones transversales de resonancia Raman muy grandes se utilizan a menudo en SERS. El desarrollo de sustratos SERS con alto factor de ganancia sigue siendo un área activa de investigación en esta área (Jensen et al., 2008). El éxito de SERS depende en gran medida de la interacción entre las moléculas adsorbidas y la superficie de

las nanoestructuras plasmónicas. Los sustratos más utilizados en SERS son: oro (Au), plata (Ag) o cobre (Cu) (Yang et al., 2020; Sharma et al., 2012).

2.5 Polímeros

Los polímeros son moléculas grandes, comúnmente denominadas macromoléculas, que están formadas por moléculas más pequeñas, unidades repetitivas unidas entre sí por ciertos enlaces covalentes. Estos eslabones pueden disponerse linealmente como los eslabones de una cadena, ramificándose donde hay una cadena central con cadenas laterales, o enlazados para formar una red tridimensional; La unidad repetitiva del polímero es el monómero, y la longitud de la cadena está determinada por el número de unidades repetitivas en la misma, llamado grado de polimerización (DP). La masa molecular de un polímero es el producto de la masa molecular de la unidad repetitiva y el DP. La elevada masa molar del polímero confiere al material excelentes propiedades finales como resistencia, estabilidad dimensional y otras propiedades mecánicas (Krevelen et al., 2009). Los materiales poliméricos se pueden dividir en dos grandes grupos en función de su composición monomérica:

- Homopolímeros: todas las unidades repetitivas son iguales.
- Copolímeros: cuando se pueden encontrar dos o más unidades repetitivas diferentes en la cadena del polímero.

La polimerización simultánea de dos o más monómeros diferentes o el acoplamiento de una cadena de polímero a otra cadena en un sitio de reacción particular permite alterar las propiedades finales de estos materiales. Como resultado de estos procesos de síntesis se obtienen copolímeros cuya principal ventaja es la obtención de materiales con mejores propiedades finales debido a la compartición de cada componente (De Sousa et al., 2015). A su vez, los copolímeros se pueden clasificar según el orden y disposición de los monómeros en la cadena. Según este criterio, se pueden encontrar diferentes tipos de copolímeros, que se describen a continuación (**Figura 9**) (Krevelen et al., 2009).



Figura 9. Representación de las unidades repetitivas en un copolímero: 1) alternado, 2) al azar, 3) en bloque y 4) ramificado.

- Copolímeros alternados: los monómeros están organizados de manera secuencial respetando un orden.
- Copolímeros al azar: los monómeros no presentan ningún orden.
- Copolímeros en bloque: los monómeros de igual naturaleza química se encuentran agrupados en bloques, formando entonces dominios constituidos sólo por uno de los monómeros que forman el copolímero.
- Copolímeros ramificados: presentan una cadena principal de uno de los monómeros a la cual se enlazan covalentemente cadenas laterales de monómeros de distinta naturaleza a la de la cadena principal (Coreño *et al.*, 2010).

Como se destaca en la **Figura 10**, los polímeros lineales pueden reconocerse como polímeros en los que los monómeros están unidos en una longitud continua para formar cadenas poliméricas (**Figura 10a**). Por otro lado, un polímero ramificado sería un polímero con una cadena secundaria unida a la cadena primaria (**Figura 10b**), mientras que un polímero reticulado sería un polímero con dos o más cadenas unidas a la cadena secundaria (**Figura 10c**). La reticulación se puede lograr mediante reacciones químicas o mediante el uso de fotones o radiación de alta energía (Coreño *et al.*, 2010).

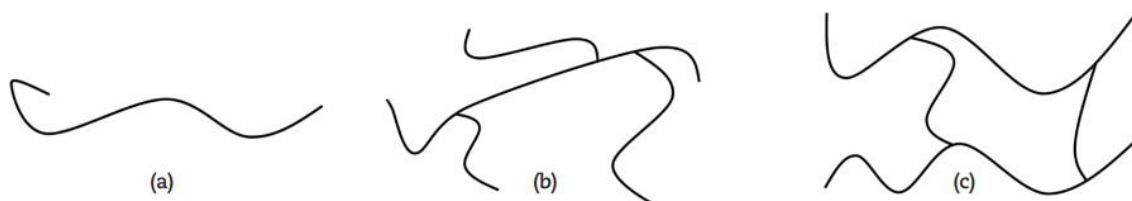


Figura 10. Representación esquemática de los diferentes ordenamientos en las cadenas de polímeros a) lineales; b) ramificados y c) reticulados. Obtenida de Coreño *et al.*, 2010.

Cuando los polímeros contienen grupos hidrofílicos, es decir, grupos químicos que interactúan con el agua, el polímero se caracteriza por una alta solubilidad o un aumento de tamaño debido a la absorción de una gran cantidad de dicho solvente. La capacidad de absorber agua dependerá de si la estructura del polímero es lineal, ramificada o entrecruzada.

2.5.1 poli(N-isopropilacrilamida)

El monómero N-isopropilacrilamida (NIPAAm) ha sido de particular interés en las últimas décadas, ya que debido a su carácter vinílico es posible obtener por distintos métodos el polímero de cadena principal saturada, denominado poli(N-isopropilacrilamida) (PNIPAAm) (Saraydın y Işıkver, 2022). La **Figura 11** muestra las estructuras de NIPAAm y PNIPAAm.

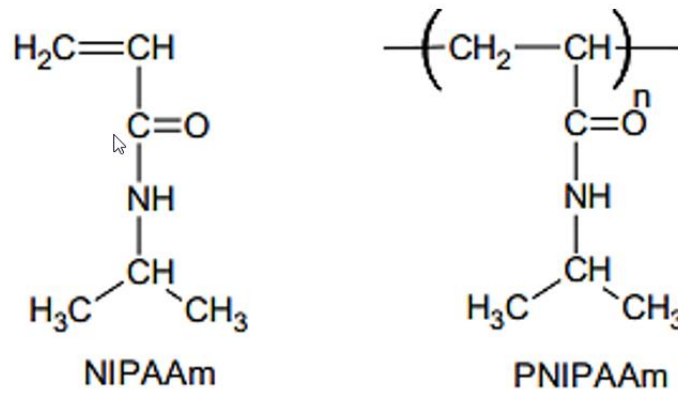


Figura 11. Representación esquemática del monómero (NIPAAm) y del polímero (PNIPAAm).

Los polímeros sensibles al estímulo tienen propiedades reversibles y cambios repetitivos en las propiedades químicas y físicas de respuesta a estímulos externos, como la luz, temperatura y pH. En particular, los polímeros termosensibles (sensibles a la temperatura) que utilizan la temperatura como fuente de estímulo exhiben una reacción sol-gel reversible. Esto quiere decir que tienen una transición de fase de volumen en un punto específico con respecto a la temperatura. (Doberenz et al., 2020; Pei et al., 2004). Esta temperatura se denomina temperatura de solución crítica inferior (LCST) como se muestra en la **Figura 12**. Los polímeros termosensibles son utilizados en una variedad de aplicaciones, incluidos sensores, membranas y sistemas de administración de fármacos. PNIPAAm se caracteriza por ser uno de los polímeros reversibles más estudiados (Doberenz et al., 2020; Jang et al., 2020).

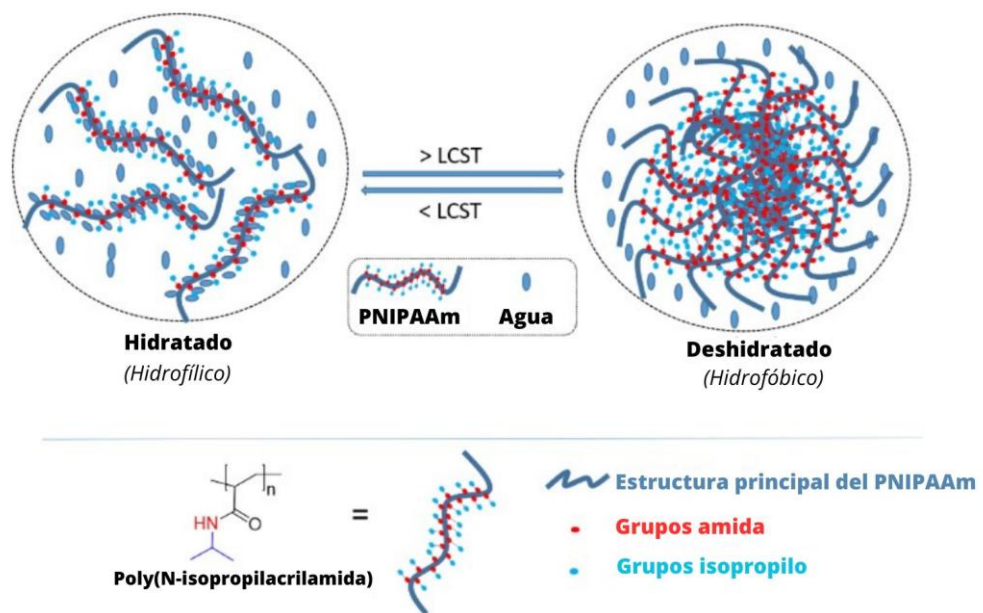


Figura 12. Representación gráfica del comportamiento termosensible de PNIPAAm y de variación volumétrica alrededor de la LCST. Adaptada de Doberenz et al., 2020.

En los últimos años ha habido un aumento en las investigaciones sobre las aplicaciones biomédicas del hidrogel PNIPAAm, especialmente desde finales de los años noventa. Esto se puede observar en la **Figura 13A**, donde las barras azules representan los estudios publicados sobre PNIPAAm y las barras verdes indican los estudios de aplicaciones biomédicas del hidrogel (un total de 3,190 desde 1986 de los 8,900 publicados en total). La **Figura 13B** muestra las áreas más exploradas en los estudios con fines biomédicos de PNIPAAm: administración de fármacos: 49%, ingeniería de tejidos: 29%, células madre: 9%, dispositivos microfluídicos: 7%, biosensores: 5% y bioimagen: 1% (Lanzalaco et al., 2017).

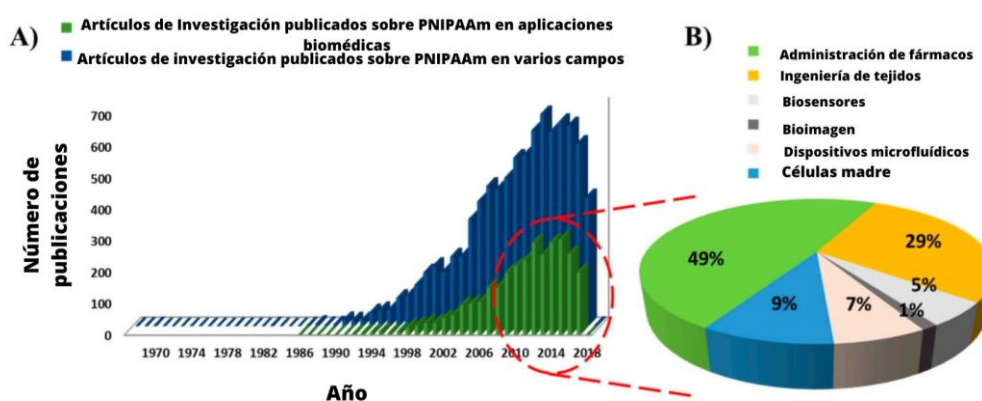


Figura 13. (A) Evolución de los artículos de investigación publicados sobre PNIPAAm y su aplicación en medicina y otros campos por año; (B) Porcentaje de artículos de investigación publicados sobre PNIPAAm en el ámbito biomédico, clasificados según sus aplicaciones. Adaptada de Lanzalaco et al., (2017).

2.5.2 Poliacrilamida

La acrilamida (AAM) es un monómero sólido cristalino blanco e inodoro, que es capaz de disolverse a temperatura ambiente y presión estándar, siendo estas condiciones de igual manera utilizadas para su proceso de polimerización (Dihua, 2010). Tiene un punto de fusión de 84.5°C. Es soluble en muchos solventes polares como acetona, acetonitrilo y agua. Como se muestra en la **Figura 14a.**, AAM contiene dos grupos funcionales principales: un doble enlace vinílico carbono-carbono y un grupo amida.

Usualmente AAM se forma cuando el acrilonitrilo se hidrata con ácido sulfúrico a una temperatura de 90 a 100 °C o superior. Recientemente se ha producido por hidratación catalítica del acrilonitrilo utilizando cobre como catalizador. La capacidad de producción total en el mundo es de más de 300,000 toneladas por año. AAM es polimerizado por iniciadores de radicales libres que incluyen compuestos azo, catalizadores redox, luz y radiación. Este monómero es único entre los monómeros vinílicos y acrílicos porque puede polimerizarse con un peso molecular muy alto. Esta característica única de la polimerización de AAM se debe en parte a la fácil purificación del monómero y la tasa de

propagación. La poliacrilamida PAAM se puede obtener como solución, emulsión o precipitado. La unidad básica de PAAM se muestra en la **Figura 14b**. (Rodríguez, 2006).

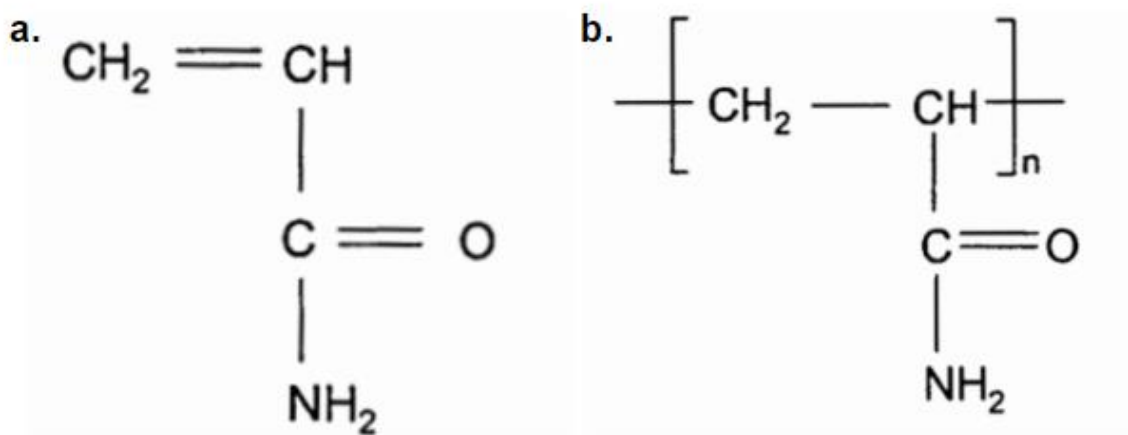


Figura 14. Unidad fundamental de la acrilamida (AAM). (a). Unidad fundamental de poliacrilamida (PAAM). (b).

Las notables diferencias entre la estructura de un monómero y su correspondiente polímero, hace que las propiedades químicas y biológicas sean muy diferentes entre estas dos especies químicas. Como todos los monómeros acrílicos y vinílicos, AAM es una especie químicamente reactiva debido a su doble enlace rico en electrones. Sin embargo, presenta una inercia química considerable en condiciones normales porque los dobles enlaces se eliminan durante el proceso de polimerización para formar PAAM (Rodríguez, 2006). A diferencia de las acrilamidas, las poliacrilamidas no tienden a agregar un esqueleto nucleófilo porque solo tienen un enlace C-C. El grupo amida de la PAAM puede sufrir hidrólisis, deshidratación y otras reacciones. PAAM suele tener un peso molecular inusualmente alto. Es fácilmente soluble en agua y aumenta mucho su viscosidad (Benejam, 2022). El gel de PAAM es una red polimérica entrecruzada de muy alto peso molecular que puede absorber disolventes, principalmente agua, pero es insoluble en ella. Las interacciones responsables de la absorción de disolventes incluyen, entre otras, interacciones moleculares capilares, osmóticas y polímero-disolvente. La estructura interna de un gel depende de las cantidades relativas de sus componentes; monómeros y entrecruzantes. Cuando se preparan hidrogeles a base de PAAM, es necesario determinar de antemano la cantidad de solvente presente en la polimerización o, en su defecto, la concentración inicial total de monómeros; ya que no puede ser producido en masa. La concentración de monómero inicial total se puede alterar para cambiar la estructura del hidrogel y, por lo tanto, variar las propiedades del mismo (Benejam, 2022).

En temperaturas por debajo de la LCST el hidrogel presenta una distribución aleatoria de monómeros en la red, pero cuando la temperatura aumenta, la agregación de PNIPAAm en los puntos centrales desplaza a las unidades hidrofílicas de AAM hacia la superficie. El principal efecto de esto es la disminución de la rigidez cuando la temperatura aumenta por encima de la LCST (al contrario del hidrogel formado únicamente por PNIPAAm). Benejam, y su equipo de investigación realizaron una

simulación en donde se usaron diferentes temperaturas (T_1 , T_2 y T_3 ; $T_3 > T_2 > T_1$) siendo la primera por debajo de la LCST de la NIPAAm y los otros dos superiores. La **Figura 15** muestra conformaciones de red típicas de nanopilares de PNIPAAm y P(NIPAAm-co-AAm) en cada una de las temperaturas consideradas. Mientras que la estructura pura de PNIPAAm colapsa en $T_2 > LCST$, el colapso del nanopilar de copolímero requiere una temperatura más alta, $T_3 > T_2$. La presencia del monómero AAm aumentó la temperatura de colapso del nanopilar (LCST), con respecto a la de una red PNIPAAm pura (*Benejam, 2022*).

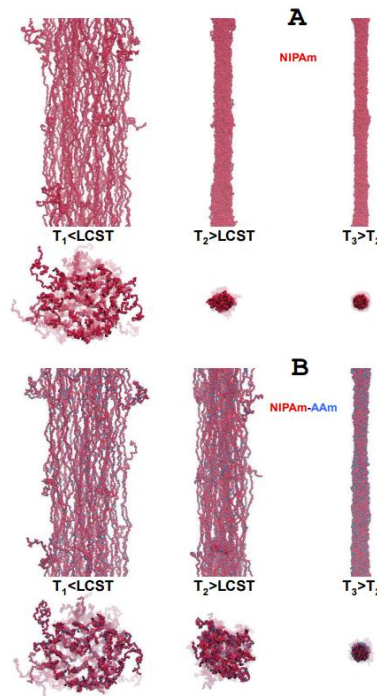


Figura 15. Simulación de nanopilares NIPAAm y NIPAAm-co-AAm en cada una de las temperaturas consideradas. Obtenida de Sanz et al., (2017).

En la misma simulación, se midieron los ángulos de contacto en temperaturas por debajo y encima de la LCST permitiendo confirmar el desplazamiento de las unidades de acrilamida hacia la superficie causando un incremento en la hidrofiliidad.

2.6 Mecanismo de Reacción en cadena estimulado por radicales libres

La polimerización por radicales libres es una técnica muy versátil para sintetizar polímeros, que se logra mediante la adición de bloques de construcción de radicales libres. Este proceso puede ocurrir mediante diferentes mecanismos y con la ayuda de varias moléculas iniciadoras. Después de la iniciación, los radicales libres reaccionan con las unidades de monómero, aumentando la longitud de la cadena del polímero. Debido a la naturaleza no específica de los radicales libres, esta técnica es muy útil para sintetizar una gran variedad de compuestos poliméricos. La polimerización por radicales libres consta de tres etapas: iniciación, propagación y terminación. La iniciación crea el centro activo del radical libre, la propagación implica la adición de moléculas de monómero, el

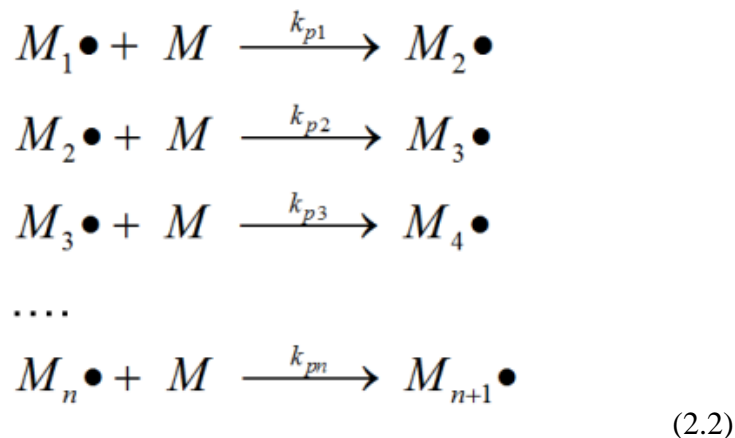
monómero radical formado en la etapa de la iniciación, y la cadena del polímero va creciendo. Finalmente, la terminación se produce cuando el crecimiento de la cadena del polímero llega a su fin. Los dos mecanismos más comunes de terminación son la combinación de dos cadenas crecientes para formar una molécula de polímero única (López Carrasquero, 2004).

El mecanismo de esta reacción es el siguiente:

Iniciación: La etapa de iniciación consiste en dos reacciones secuenciales. La primera es la generación de radicales libres, los cuales pueden ser formados mediante diferentes tipos de reacciones. Como ejemplo se puede presentar la generación de radicales mediante una disociación homolítica de un compuesto (iniciador), que da como resultado dos fragmentos en el que cada uno tiene un electrón no apareado. En la ecuación (1) se muestra como el iniciador (I) se descompone en dos radicales (R*) con una constante de descomposición k_d (Valencia, 2014).



Propagación: La segunda etapa es la propagación, la cual consiste en la adición sucesiva de monómeros. Cada adición transforma al radical en otro radical, pero con un tamaño mayor por una unidad (radical polimérico) (Valencia, 2014). Las reacciones de propagación se muestran a continuación en la ecuación (1).



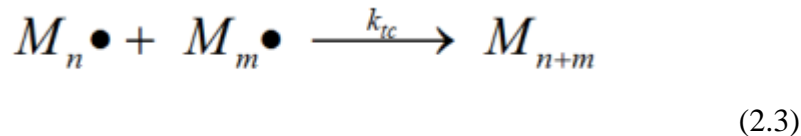
donde k_{pi} es la constante de velocidad de reacción del radical de tamaño i .

Terminación: La tercera etapa de la reacción por radicales libres es la terminación del crecimiento de las cadenas.

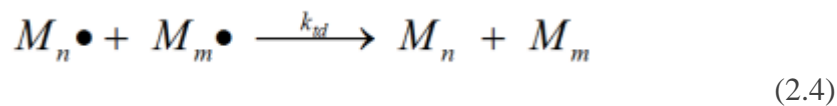
Existen varias formas de terminación del crecimiento de cadena (transferencia al monómero, a iniciador, etc.) pero la forma más común de terminación es cuando se encuentran dos radicales poliméricos (Valencia, 2014). Esta reacción bimolecular de terminación puede seguir dos caminos:

a) **Terminación por combinación**, la cual da como resultado la formación de un polímero (muerto) con un tamaño igual a la suma de las unidades monoméricas de que constaba cada radical. Este mecanismo es representado en la ecuación (2).

b)



c) **Terminación por desproporción** que da como resultado dos moléculas de polímero (muerto), una saturada y otra insaturada. Esto se presenta en las ecuaciones (3).



El persulfato de amonio es comúnmente usado como iniciador de polimerización, ya que a través de su descomposición pueden formar radicales libres (Lanzalaco et al., 2017). Para el caso de los iniciadores radicalarios, la tetrametiletilendiamina (TEMED) suele usarse como catalizador, para aumentar la velocidad de la reacción.

Evidentemente, la combinación de NIPAAm con AAm, y la adición de un iniciador radicalario a la mezcla, típicamente conduce a la formación de un copolímero, cumpliendo con las etapas de iniciación, propagación y terminación ya descritas. Sin embargo, para producir polímeros entrecruzados que se hinchan absorbiendo el agua del medio circundante, además de los compuestos iniciadores, se deben incorporar otras especies que resultan también imprescindibles, como son los agentes entrecruzantes. Un posible agente entrecruzante para formar hidrogeles es la N, N'-Metilbisacrilamida (MBAAm). Debido a los dos dobles enlaces en cada extremo de la molécula, esta especie actúa uniendo las cadenas principales del polímero, generando así una red tridimensional.

2.7 Hidrogeles

Se les denomina hidrogeles a las redes poliméricas tridimensionales, compuestas de polímeros hidrofílicos, con cierta capacidad de absorber grandes cantidades de agua o fluidos biológicos, con la característica de que estos no se disuelven bajo condiciones fisiológicas (Benejam, 2022) (**Figura 16**). Estos polímeros tienen unas características bien definidas, como ser hidrófilos, blandos,

elásticos, insolubles en agua y sobre todo se hinchan en presencia de ella, de esta manera aumenta significativamente su volumen manteniendo su forma hasta alcanzar el equilibrio físico químico (Singh et al., 2017; Benejam, 2022). Asimismo, tienen una gran resistencia mecánica según el método por el cual se obtengan. Su conformación tridimensional ocurre en soluciones acuosas concentradas cuando el polímero inicial es capaz de gelificar con la consecuente formación de redes espaciales no covalentes (Dunne, 2016). El carácter hidrófilo se debe a la presencia de grupos funcionales hidrófilos como son: -OH, -COOH, -CONH-, -CONH₂, -SO₃H, entre otros (Escobar et al., 2000). En un ambiente acuoso estos grupos hidrófilos se hidratan sin que se disuelva el hidrogel, debido al entrecruzamiento entre cadenas de polímero (Martínez, 2016).

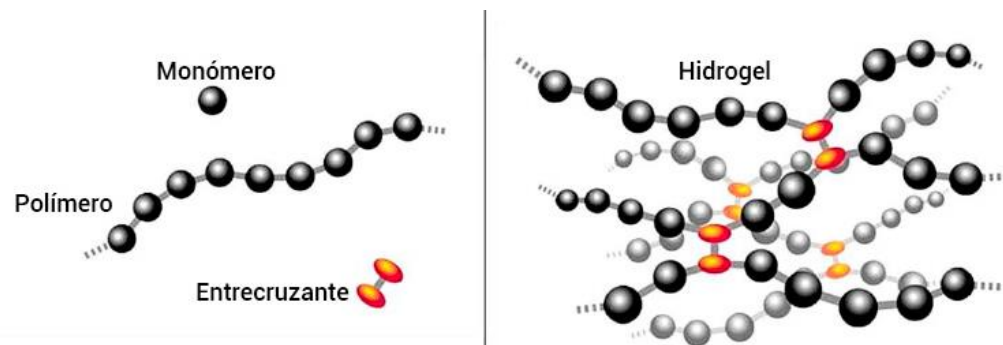


Figura 16. Ilustración esquemática de las cadenas de un polímero y la formación de redes tridimensionales por la acción de un agente entrecruzante para formar un hidrogel. Obtenida de Estrada, (2019).

El método de reacción química es un tipo de síntesis en donde se presenta una reacción de copolimerización y entrecruzamiento entre uno o más monómeros y un monómero multifuncional, el cual está presente en muy pequeñas cantidades. A este último se denomina agente entrecruzante y presenta una masa molecular pequeña. Este compuesto se puede unir a cadenas de peso molecular grande a través de sus grupos multifuncionales (Benejam, 2022).

En la síntesis de un hidrogel, además de un monómero, se precisa de un sistema iniciador, que será el responsable de la formación de los radicales libres monoméricos que van a permitir el crecimiento de las cadenas macromoleculares, y un agente entrecruzante, generalmente la MBAAm (**Figura 17**), ya que una característica de cualquier hidrogel es su estructura entrecruzada, la cual se consigue con la ayuda de dicho agente. La elección del agente entrecruzante y de otros monómeros modificadores de propiedades depende del tipo de monómero base elegido y, resulta fundamental para optimizar las propiedades del hidrogel a sintetizar. El grado de entrecruzamiento determina la solubilidad, el grado de hinchamiento, el tamaño de poro del material, el área total superficial y la resistencia mecánica del polímero.

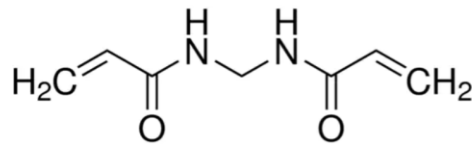


Figura 17. Estructura química de MBAAm. Obtenida de Sigma Aldrich.

Wichterlie y Lim informaron sobre los primeros hidrogeles sintéticos con control de propiedades como el grado de hinchamiento y la contracción en varios órdenes de magnitud. Este descubrimiento inicial sentó las bases para los sistemas de respuesta a estímulos. La red de polímeros entrecruzados fue altamente sensible a estímulos como la composición del solvente, los solutos, el pH, la temperatura, el campo eléctrico y la luz (*Wichterle y Lim, 1960*).

Actualmente se han estado desarrollando hidrogeles a base de NIPAAm/AAm, basados en la sensibilidad a la temperatura, para conferirles diferentes propiedades de hinchamiento. Debido a la agregación de AAm, dicha combinación exhibió una LCST de 35 °C (*Işıkver y Saraydın, 2021*).

En otro trabajo se reportó la síntesis de P(NIPAAm-co-AAm) mediante copolimerización en disolución acuosa estimulada por radicales libres, usando la pareja de iniciadores persulfato de amonio (APS)/N', N'-tetrametiletilendiamina (TEMED) como sistema redox, y en la presencia del MBAAm como agente entrecruzante. Los productos de dicha investigación presentaron carácter termosensible (*Seddiki, 2013*). También se ha reportado el efecto de las variaciones en la composición de la matriz polimérica sobre las propiedades de adsorción de agua de P(NIPAAm-co-AAm). En ese sentido, han encontrado que el contenido de agua del copolímero aumenta al aumentar la proporción del monómero más hidrofílico (el AAm), lo que se debe a un aumento del denominado contenido de agua libre. En el caso del PNIPAAm, son principalmente interacciones hidrofóbicas de asociación las que dominan la interacción entre la matriz polimérica y las laminillas del relleno. Por el contrario, las interacciones hidrofílicas resultan dominantes en los segmentos PAAm (*Janovák, 2009*).

Willner reportó la inmovilización de nanopartículas de oro en PAAm (*Pardo et al., 2001*). El método que utilizó fue el de hinchar el gel deshidratado en presencia de una solución acuosa de Au-NP, lo que resultó en una distribución uniforme de las Au-NPs en la matriz del gel. En consecuencia, varios enfoques para realizar estas dispersiones estructuralmente únicas han sido informados por investigadores para aplicaciones potenciales en biomedicina, óptica, etc. Se obtuvieron nano dispersiones estructuralmente similares de Au en hidrogeles PAAm mediante la reducción *in situ* de cloruro de oro (III) en la red de hidrogel (*Wang et al., 2004*).

El grupo de Langer desarrolló un enfoque que consiste en cargar precursores de nanopartículas en un gel, en lugar de nanopartículas preformadas (*Wang et al., 2004*). En un procedimiento típico, el entrecruzamiento de NIPAAm y comonómeros que contienen grupos tiol formaron una red de

hidrogel que contenía iones de Au (III) incrustados. La matriz de hidrogel funcionalizado con tiol permitió la modulación de la formación de Au-NP cuando se agregó un agente reductor como el borohidruro de sodio (*Thoniyot et al., 2015*). El hidrogel resultante contenía nanopartículas no agregadas en toda la matriz. Saravanan et al., 2007 informaron sobre un procedimiento mejorado de formación de nanopartículas dentro de un gel sin el uso de monómeros que contienen tiol o fenol.

2.7.1 Mecanismo de hinchamiento y secado

Xerogel es el nombre que reciben los hidrogeles en su estado deshidratado. En otras palabras, el xerogel estaría compuesto de material sólido, que cuenta con poca agua enlazada y aire presente en sus poros (*Escobar et al., 2002*). Comparado con su estado hidratado, se considera que la parte sólida del hidrogel le provee resistencia mecánica, mientras que la parte líquida y gaseosa de este, debilitan las propiedades al reducir la interacción intermolecular de las cadenas de polímeros, que son la única fuente de resistencia mecánica. Cuando el hidrogel se encuentra en su estado seco y entra en contacto con agua, ésta se une a la superficie polimérica del hidrogel, hidratando los grupos polares, y formando así la capa de agua enlazada (*Singh et al., 2017*). Una vez que los grupos polares se hidratan, la red comienza a hincharse, permitiendo que otras moléculas de disolvente penetre dentro de la red del hidrogel.

Las cadenas de polímeros cambian su conformación, y dan un aumento a la movilidad del agua dentro del gel, sin embargo, los grupos hidrofóbicos empiezan a agregarse entre ellos. Una vez realizado este proceso, donde se encuentran grupos polares no hidratados, la red absorbe más cantidad de agua en función a la presión osmótica buscando diluir las cadenas poliméricas (*Li et al., 2022*). A este proceso de hinchamiento se le oponen enlaces covalentes y entrecruzamientos físicos, dando lugar de esta manera a la fuerza elástica del gel. El agua intersticial pone tanto al agua como al hidrogel en contacto con el entorno exterior porque une el agua libre, la cual mantiene las características del agua en bulto. En consecuencia, en el punto donde la elasticidad y las fuerzas osmóticas están equilibradas, no hay hinchamiento adicional (*Singh et al., 2017*). Sin embargo, el aumento del número de grupos iónicos en el esqueleto del polímero aumenta la capacidad de hinchamiento del hidrogel, debido al aumento simultáneo del número de contra-iones dentro del mismo, lo que produce una presión osmótica adicional que hincha el gel. *Li* y colaboradores (2022) reportaron que los grupos funcionales, los iones, la cantidad y el tipo de agente entrecruzante determinan de forma crítica el hinchamiento de un hidrogel.

2.7.2 El rol del agua en un hidrogel

Es bien sabido que un gel puede absorber y retener grandes cantidades de agua, incluso casi el 99%. El comportamiento global y el rendimiento de los hidrogeles están determinados, en gran medida, por la cantidad, la estructura y las propiedades del agua, así como por las características que asume cuando está en contacto e interaccionando con la red polimérica sólida (*Singh et al., 2017*). El agua se puede considerar como una estructura en la que la amplia conectividad se establece mediante los enlaces de hidrógeno, y en presencia de una red polimérica, presenta una perturbación importante de la misma sobre los enlaces de hidrógeno que se establecen cerca de la superficie. Así, la movilidad

de las moléculas adsorbidas directamente sobre la superficie hidrofílica es reducida, mientras que las moléculas de agua completamente hidratadas a una distancia mayor de la superficie presentan coeficientes de difusión similares a los del agua libre (*Escobar et al., 2002*). Del mismo modo, la orientación de las moléculas de agua sobre superficies o segmentos hidrofóbicos se ven afectadas por los grupos de enlaces de hidrógeno, evitando la dirección de las moléculas hacia el material no polar. No solo las cadenas poliméricas que forman el esqueleto del hidrogel sino también los brazos que enlazan dichas cadenas, determinan las características de la red del hidrogel. Estos brazos formados por los agentes entrecruzantes pueden mostrar un carácter hidrofílico/hidrofóbico. Por lo tanto, la densidad y naturaleza de entrecruzantes debe ser también considerada para obtener la representación completa del hidrogel. El grado de hinchamiento del hidrogel se verá reducido al aumentar la cantidad de entrecruzamientos. En otras palabras, la red polimérica será distinta dependiendo de la cantidad de entrecruzantes, aunque se utilice el mismo tipo de polímero y agente (*Singh et al., 2017*). Las propiedades de los hidrogeles dependen tanto de la cantidad de agua unida e intersticial como de la naturaleza de las interacciones entre ellos y con la red polimérica. A medida que se hincha el hidrogel, la fracción de agua libre aumenta significativamente, pero no afecta sus propiedades.

2.8 Antecedentes Recientes sobre la detección de PFAS

Existen varios métodos basados en instrumentos para la determinación sensible y selectiva de PFAS en diversas matrices, pero estos son costosos, requieren un uso intensivo de laboratorio y personal altamente capacitado. Por esta razón, existe una gran necesidad de métodos rápidos, económicos y portátiles para la detección de PFAS en el campo. Esto permitirá que los laboratorios ambientales y diversas agencias realicen inspecciones más frecuentes para garantizar de esta manera el cumplimiento de las regulaciones. Además, el público se beneficiará de una forma rápida de detectar agua potable contaminada con PFAS en sus hogares (*Menger et al., 2021*).

Dicho esto, existen varios trabajos documentados en los últimos 8 años en los que se realizan diferentes dispositivos nanoestructurados enfocados en lograr la detección de PFAS “*in situ*”. En uno de estos estudios utilizan los polímeros impresos molecularmente (MIP) los cuales han sido muy prometedores con respecto a la detección de PFAS. Tienen los beneficios de una buena sensibilidad y selectividad además de ser estables en un rango de valores de pH, temperatura y presión. Se pueden reutilizar sin pérdida de actividad. También son relativamente sencillos y económicos de sintetizar con propiedades de superficie y morfología ajustables (*Menger et al., 2021*). Fang y colaboradores desarrollaron un MIP en el cual depositaron polipirrol (Py) electrolíticamente en una superficie de electrodo económica formada en la mina de un lápiz, de tal manera que permitiera la detección potenciométrica de PFOA (*Fang et al., 2016*). Este tipo de detección logró un límite de detección (por sus siglas en inglés, LOD) de 441 ppb para PFOA. En otro estudio utilizaron la electrodeposición de Py como matriz polimérica para un MIP en nanoláminas de nitruro de carbono (C₃N₄) ultrafinas como superficie del electrodo. En este usaron la electroquimioluminiscencia como método de detección, debido a los beneficios de bajo costo, instrumentación simple, bajo ruido de fondo y buena estabilidad contra el fotoblanqueo. Durante la fotólisis del correactante peroxidisulfato (S₂O₈²⁻), oxidantes de radicales sulfatos (SO₄⁻) provocaron la oxidación del PFOA y una reducción de la señal lógica acoplada al emisor (por sus siglas en inglés, ECL) (*Chen et al., 2015*). Los autores informan un límite de detección de 10 ppt, que es uno de los más bajos presentados en esta revisión y comparable a los

métodos tradicionales de LC/MS (*Shoemaker et al., 2018*). Aquí es importante resaltar que la estrategia MIP implica realizar un moldeo de las especies a detectar, en este caso del PFOA. Una vez realizado el molde, el PFOA deberá eliminarse del sistema, para dejar el espacio que será utilizado por la nueva molécula de PFOA a detectar. En consecuencia, la reproducción masiva de esta estrategia produciría como desecho PFOA, lo que podría llegar a aumentar el problema de contaminación con esta sustancia. Es por ello que se busca con este trabajo de tesis, explorar una ruta que, en contraste, promueva la reducción del consumo y fabricación de estas sustancias, y no su uso como materia prima.

Por otro lado, al buscar más opciones de métodos económicos y portátiles para la detección de PFOA, Law y su equipo de investigación (*Law et al., 2022*) realizaron un sistema óptico que integra interferómetros de alúmina anódica nanoporosa funcionalizada con perfluorosilano (NAA) con espectroscopía de interferencia reflectométrica (RIFS) para lograr la detección en tiempo real, sin etiquetas de monocapas autoensambladas (SAM) de PFOA como un modelo de PFAS. En este demuestran que es posible realizar la detección y cuantificación de la formación de PFOA-SAM. Este parámetro óptico crítico ha permitido evaluar la idoneidad de las superficies de perfluorosilano para acomodar y unir moléculas de PFOA en solución en tiempo real e “*in situ*”. En una investigación diferente reportaron una herramienta de monitoreo basada en una aplicación para teléfonos inteligentes para la detección de tensioactivos aniónicos. En la que se reportó la detección de PFOA/PFOS enriquecidos en agua del grifo/agua subterránea en un rango de 10 a 1000 ppb, con un límite de detección (LOD) de 10 ppb, y posiblemente un LOD más bajo de 0.5 ppb, lo que sugiere que esta aplicación puede funcionar como una herramienta de preselección en el laboratorio común e incluso para pruebas *in situ* (*Fang et al., 2018*).

CAPÍTULO 3

Descripción del problema y justificación

Investigaciones recientes confirman que toda la familia de PFAS son altamente persistentes en el ambiente. Se sabe que estos compuestos persisten en el medio mucho más tiempo que cualquier otra sustancia artificial. Como consecuencia de esto, mientras más se sigan liberando PFAS al ambiente, los seres humanos y otras especies estarán cada vez más expuestos a estas sustancias. Es decir, si todas las emisiones de PFAS se detuvieran el día de mañana, aún seguiría estando presente en el ambiente y en los seres humanos durante generaciones futuras. Su liberación y movilidad en el agua y el aire provoca una alta contaminación de aguas subterráneas y el agua potable, lo que es difícil y costoso de evitar. Estos compuestos se acumulan en los cuerpos de los seres vivos y causan efectos adversos para la salud (*Ding et al., 2020; Suja et al., 2009*). Algunos de estos compuestos son tóxicos para la reproducción y pueden dañar el desarrollo de los fetos. De igual manera se ha demostrado que varios PFAS causan cáncer. También se tienen indicios de que algunos de ellos interfieren con el sistema endocrino (hormonal) humano (*Domingo et al., 2019*).

Los PFAS se liberan al ambiente desde fuentes directas e indirectas, por ejemplo, desde instalaciones profesionales e industriales que los utilizan como materia prima; y también durante el uso de productos de consumo como cosméticos, textiles, tintes, recubrimientos, utensilio de cocina, etc., o de materiales que permanecen en contacto con alimentos. En consecuencia, los seres humanos pueden estar expuestos a estas sustancias todos los días en el hogar, en su lugar de trabajo y a través del ambiente por medio de actividades cotidianas como el consumo alimentos y bebidas (*Shabaniyan et al., 2020; Houde et al., 2011*).

Un problema actual con estas sustancias es que los PFAS son muy utilizados debido a las propiedades que aportan, y en muchas ocasiones, los fabricantes, proveedores e incluso los clientes que consumen productos que los contienen, no están enterados de la presencia de estos, o desconocen los daños o consecuencias que estos puedan causar. Afortunadamente, hoy en día algunas empresas ya están mostrando preocupación por determinar si sus productos contienen PFAS, y si estos pueden liberar este contenido hacia al medio (*Bonefeld et al., 2011*). En este aspecto, se reconoce que entre las instituciones que podrían llegar a presentar mayor interés, estarían aquellas industrias que buscan que sus productos sean resistentes a la temperatura o que presenten propiedades hidrofóbicas, ya que puede ser que hayan utilizado este tipo de compuesto para otorgarle a sus materiales estas características, como por ejemplo las industrias de alimentos, paneles solares, textiles, entre otras. Afortunadamente, hoy en día se están investigando este tipo de contaminantes, lo que abre una brecha muy amplia a la oportunidad de solucionar diferentes problemas relacionados con los PFAS. No obstante, existe un inconveniente adicional, ya que las técnicas para la detección de estos contaminantes son muy robustas y costosas. Por esta razón, se pretende desarrollar un material capaz de facilitar la detección de estos compuestos de una manera más factible y económica, para que pueda ser incluido en sistemas de detección portables. Esto facilita que en México y América Latina se

realicen los estudios de trazabilidad de PFAs, iniciando con el PFOA. Esto debido a que, en contraste con Estados Unidos, una gran parte de países europeos y asiáticos, en esta región no se cuenta con un estudio sistemático frente a un problema considerado ya de alta gravedad. Y, desde otra perspectiva, se prevé que no habría solución eficiente de descontaminación de recursos hídricos, si antes no se identifican y determinan cuáles son las fuentes que agregan ese contaminante, para que se promuevan acciones legales que eviten la fabricación o comercialización de los productos identificados como liberadores de PFAs.

Por todo lo anterior, con este proyecto se pretende sintetizar copolímeros P(NIPAAm-co-AAm) entrecruzados con MBAAm para formar hidrogeles termosensibles en la presencia de nanopartículas plasmónicas, generando así un sistema capaz de generar una respuesta SERS al entrar en contacto con la molécula de PFOA. Con los resultados obtenidos en esta investigación se espera que el copolímero demuestre la capacidad para absorber buenas cantidades de agua, un porcentaje de hinchamiento elevado y de igual modo la retención de PFAS dentro de la matriz. Así, el material compuesto que se propone en esta investigación se proyecta como un sistema que puede ser integrado a futuro en el desarrollo de dispositivos portables que resulten sensibles a la presencia, en primera instancia, de PFOA. Cabe resaltar que se busca mediante esta estrategia, desarrollar materiales que en un futuro tengan respuesta específica a cada especie de la familia de PFAs. Esto se contempla considerando los diferentes módulos de interacción que puede tener la matriz polimérica termosensible contra las moléculas del analito.

CAPÍTULO 4

Hipótesis

La polimerización radicalaria de una mezcla de N-isopropilacrilamida (NIPAAm) y Acrilamida (AAm) en la presencia del agente entrecruzante N, N'-metilenbisacrilamida (MBAAm) y de nanopartículas plasmónicas de oro, generará un material nanocompuesto que se comportará como un hidrogel con respuesta termosensible capaz de absorber moléculas de ácido perfluorooctanoico (PFOA) disueltas en agua para promover su detección por la técnica SERS.

CAPÍTULO 5

Objetivos

5.1 Objetivo General

Sintetizar un nanocomposito a partir de nanopartículas de oro embebidas en hidrogeles termosensibles constituídas por el copolímero P(NIPAAm-co-AAm), para evaluar su funcionamiento en la detección de ácido perfluorooctanoico (PFOA) en agua.

5.2 Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de oro (NpAu) siguiendo el método de Turkevich, usando ácido tetracloroaurico (HAuCl_4) y citrato de sodio como precursores, y Tween 20 como agente estabilizante.
- Sintetizar hidrogeles por polimerización radicalaria usando como monómeros NIPAAm y AAm, y como agente entrecruzante N, N'-metilenbisacrilamida (MBAAm).
- Sintetizar nanocompositos a partir de la síntesis de hidrogeles en la presencia de una dispersión de NpAu en medio acuoso.
- Realizar los estudios de hinchamiento en agua de los hidrogeles y los nanocompositos sintetizados, usando para ello el método gravimétrico.
- Estimar la LCST de los hidrogeles y nanocompositos, a partir de los estudios de hinchamiento en agua a diferentes temperaturas.
- Caracterizar los hidrogeles y nanocompositos por medio de espectroscopía infrarroja por transformada de fourier (FTIR), espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS), y espectroscopia de difracción de rayos X (XRD).
- Evaluar el comportamiento térmico de los materiales por medio de la técnica de análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC).
- Evaluar la capacidad de los materiales para absorber ácido mercaptobenzoico (MBA) para determinar la respuesta SERS.
- Absorber ácido perfluorooctanoico (PFOA) en el interior de la matriz polimérica de los materiales propuestos.
- Evaluar la respuesta SERS de los nanocompositos conteniendo la molécula de PFOA en su interior.

CAPÍTULO 6

Metodología

6.1 Materiales de síntesis

Para esta investigación se utilizó: ácido tetracloroaurico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; 99.9%), citrato de sodio ($\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$), surfactante Tween 20 ($\text{C}_{58}\text{H}_{114}\text{O}_{26}$; 1.1 g/mL), hexano (C_6H_{14} ; 95%; grado reactivo), tolueno (C_7H_8 ; 99.5%; grado reactivo), persulfato de amonio (APS; 98%), N,N,N',N'-tetrametiletildiamina (TEMED; 99%), N,N'-metilen-bisacrilamida (MBAAm; 99%), ácido perfluorooctanoico (PFOA; 95%), 4-mercaptobenzoico (4MBA; 99%), N-isopropilacrilamida (NIPAAm; 97%), acrilamida (AAM; 99%) y bromuro de potasio (KBr; 99%). Todos los materiales anteriores se obtuvieron por Sigma Aldrich, México. Como atmósfera inerte se utilizó gas argón de ultra alta pureza de la marca INFRA. Se usó agua Milli Q (18,2 $\text{M}\Omega \cdot \text{cm}$) proporcionada por el Departamento de Bionanotecnología del Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN).

Para el desarrollo de este proyecto se utilizó un horno de secado al vacío, un baño térmico en frío y calor (LINBERG BLUE M), una lámpara de calor (150W), una herramienta rotativa (DREMEL), un equipo de filtración de membrana al vacío y las técnicas caracterización mencionadas en el apartado 6.9.

6.2 Síntesis de las nanopartículas de oro

La síntesis se realizó siguiendo el método de Turkevich, a partir de la reducción de HAuCl_4 con citrato de sodio. Para la realización de la síntesis se preparó una solución madre de HAuCl_4 con una concentración de 10 mM. Posteriormente se extrajo 2.5 mL de dicha solución madre y se mezcló con 47.5 mL de agua desionizada en un matraz Erlenmeyer, para obtener una solución 0.5 mM de HAuCl_4 . Seguido de esto se sometió la mezcla a calentamiento hasta superar los 90 °C durante 5 minutos, tiempo en el cual se alcanzó la temperatura de ebullición. En este punto se agregaron 2.5 mL citrato de sodio (1.6 mM). La mezcla se mantuvo bajo agitación constante hasta tornarse color rojo (el tiempo de reacción fue de aproximadamente 1 minuto). Una vez realizado este paso se retiró la mezcla de la placa calefactora y se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Las AuNPs sintetizadas se sometieron a un proceso de lavado que consistió en aplicar centrifugación a 10000 rpm durante 20 minutos, reemplazando el medio líquido por agua desionizada. A la dispersión obtenida se le agregó el volumen de agua necesario hasta alcanzar una concentración de Au^0 de 0.8 mM en la dispersión de nanopartículas, la cual fue calculada aplicando el método reportado por Scarabelli et al., (2015). Esta dispersión fue etiquetada y almacenada para su uso posterior.

6.2.1 Estabilización de AuNPs con Tween 20

Este proceso se realizó siguiendo el método reportado por Aslan et al., (2002). Para este proceso se utilizaron 50 mL de AuNPs y se adicionaron en 50 mL de agua desionizada conteniendo 90 μ L de Tween 20. La mezcla se dejó bajo agitación moderada durante 30 minutos con el objetivo de fisisorber la molécula Tween 20 sobre las AuNPs. Luego, la mezcla de AuNPs/Tween 20 se centrifugó por 20 minutos a una velocidad de 10000 rpm, con el objetivo de separar el sobrenadante de la fracción sólida y reemplazarlo por agua desionizada.

6.2.2 Concentración de las nanopartículas de oro

Para la obtención de las diferentes concentración de AuNP se distribuyó la dispersión de AuNPs/T20 en tubos eppendorf de 2mL. El contenido se centrifugó a 1000 rpm por 20 minutos. A cada tubo eppendorf se le retiró el sobrenadante equivalente a 1.8 mL, quedando un restante de 0.2 mL de la dispersión de AuNPs/T20 precipitada. El contenido de todos los tubos fue mezclado para generar una dispersión de AuNPs con $[Au^0]$ de 1.8 mM, según los cálculos realizados usando el método reportado Scarabelli et al., (2015). Esta dispersión fue etiquetada como “A” (concentración alta). Para la preparación de una dispersión denominada “M” (concentración media), se mezcló la dispersión de 1.8 mM de Au^0 con agua desionizada en una proporción 1:1. Para la preparación de una dispersión denominada “B” (concentración baja), la mezcla fue en una proporción 1:9, respectivamente. Cada una de estas dispersiones fue etiquetada y almacenada para su posterior uso.

6.3 Purificación de NIPAAm

La purificación de NIPAAm se realizó por el método de recristalización, siguiendo el método realizado por Muñoz, (2012). De esta manera, se preparó una mezcla de hexano/tolueno 50:50 para disolver el NIPAAm en estado impuro. Para disolver 25 gr de NIPAAm se utilizó 175 mL de la solución hexano/tolueno bajo calentamiento a aproximadamente 30°C, para favorecer la disolución del monómero. Posteriormente, se filtró a vacío la disolución conteniendo el NIPAAm, para eliminar impurezas insolubles. Luego, el contenido fue sometido a 0 °C durante 24 horas para promover la cristalización del monómero. Con el fin de separar el NIPAAm sólido de la mezcla de disolventes, se realizó nuevamente la filtración a vacío para retirar impurezas solubilizadas en el medio. Finalmente, el NIPAAm recuperado fue secado a baja presión con la ayuda de una estufa de vacío, por 36 horas. El NIPAAm purificado fue almacenado en un recipiente que evitará el contacto permanente con la luz.

6.4 Síntesis de hidrogeles de (NIPAAm/AAm) con nanopartículas metálicas embebidas (nanocompositos)

Para la síntesis de hidrogeles se combinaron cantidades específicas de los monómeros NIPAAm y

AAM para generar el copolímero: P(NIPAAm-co-AAm). Se usó como agente entrecruzante MBAAM al 1%, con respecto a la cantidad en gramos de la suma de los dos monómeros (NIPAAm y AAam). Para algunos se usó un volumen determinado de las dispersiones de AuNP (concentración alta, media y baja), para generar tres tipos de nanocompositos. Las proporciones de cada componente para lograr la síntesis de los hidrogeles propuestos se resumen en la **Tabla 1**. Para todos los casos, las reacciones de polimerización fueron llevadas a cabo en tubos de ensayo de 15 mL. Cada material se sintetizó por triplicado. Con fines comparativos, se sintetizaron también hidrogeles utilizando sólo el monómero NIPAAm y se sintetizaron nanocompositos de PNIPAAm en una dispersión de AuNPs con $[Au^0]$ media. Las proporciones usadas para estos materiales también se enlistan en la **Tabla 1**.

Tabla 1. Proporciones de NIPAAm/AAm y volumen de la dispersión de AuNPs usadas para la síntesis de los hidrogeles (Volumen total = 15 mL). El código de muestra es de la forma $PX-Au_y$, donde P significa que el monómero fue polimerizado. X puede ser: N , que corresponde al monómero NIPAAm; o $P(N-A)$, que indica al copolímero de P(NIPAAm-co-AAm). Au denota que el polímero contiene nanopartículas de oro, mientras que el subíndice y corresponde a las concentraciones de las dispersiones de nanopartículas: alta (A), media (M) y baja (B).

<i>Código</i>	<i>[NIPAAm] (M)</i>	<i>[AAm] (M)</i>	<i>Volumen (mL) de dispersión de AuNPs con $[Au^0] = 1.8 \text{ mM}$</i>
<i>PN</i>	0.7	0	0
<i>PN-Au_M</i>	0.7	0	1.5
<i>P(N-A)</i>	0.7	0.1	0
<i>P(N-A)-Au_B</i>	0.7	0.1	0.3
<i>P(N-A)-Au_M</i>	0.7	0.1	1.5
<i>P(N-A)-Au_A</i>	0.7	0.1	3.0

Las mezclas fueron burbujeadas con argón durante 10 minutos para reducir la cantidad de oxígeno disuelto en el medio. La polimerización fue estimulada por radicales libres, usando como iniciador el APS (105 μL de una disolución 10%) y TEMED (15 μL) como acelerador. Una vez adicionados el APS y el TEMED a cada tubo de reacción, la mezcla fue desgasificada por 5 segundos, y luego el tubo fue sellado bajo presión usando sellos de caucho. Cada tubo fue colocado en baño maría a 30 °C, durante 16 horas. Finalizado ese tiempo, los polímeros formados fueron extraídos cuidadosamente desde los tubos, y fueron lavados en agua durante 6 días, reemplazando constantemente el medio de líquido (cada 3 horas durante las primeras 12 horas y cada 8 horas durante los 5 días restantes). Estos hidrogeles se colocaron en una lámpara de calor durante 2 días para acelerar el proceso de secado. Una vez que los polímeros alcanzaron un peso constante, fueron secados a presión reducida usando una estufa de vacío por 24 horas a 40°C. Después de este proceso los geles secos fueron lijados con una ayuda de lijas

convencionales.

6.5 Estudios de hinchamiento de los hidrogeles

Los estudios de hinchamiento se realizaron a 25 °C, en agua desionizada. Para el mantenimiento de la temperatura se empleó un baño térmico con agua ajustada a 25 °C. Los xerogeles a analizar fueron introducidos en recipientes de vidrio con aproximadamente 25 mL de agua. Luego, se registró el peso de los xerogeles en intervalos de tiempo de cada 30 minutos, durante las primeras 2 horas. Posteriormente, se tomaron medidas en intervalos de 1 hora durante las siguientes 4 horas, y luego se tomaron medidas a las 18 horas. Durante el segundo día, los hidrogeles se pesaron cada 2 horas. También se tomaron medidas de peso a las 18 horas (3er día). Para detectar cualquier variación significativa, se realizaron mediciones de peso cada 4 horas durante el tercer día. Los porcentajes de hinchamiento fueron evaluados por medio de la siguiente ecuación:

$$\text{Hinchamiento}(\%) = \left(\frac{W_f - W_0}{W_0} \right) \times 100 \quad (6.1)$$

donde W_f es el peso de la pastilla hinchada y W_0 es el peso de la pastilla en su estado seco.

6.6 Determinación de LCST por hinchamiento de los hidrogeles

Para este proceso se colocaron las muestras previamente hinchadas hasta su valor límite en agua desionizada, en un baño térmico estabilizado a 5°C. Cada muestra se mantuvo en este medio durante 30 minutos con incrementos de 5°C cada vez. Después de dicho tiempo se midió el peso del hidrogel hinchado. Todo este procedimiento fue aplicado en igual forma para las siguientes temperaturas: 5, 10, 15, 20, 25, 30°C. Alcanzada esta temperatura, los incrementos fueron de 2°C cada 30 minutos hasta alcanzar los 40°C (temperaturas cercanas a la LCST del PNIPAAm). Así, después se varió el valor de la temperatura en el baño térmico con incrementos de 5°C hasta alcanzar los 50°C. Al procesar los resultados, se tomó como valor LCST el valor promedio del rango de temperatura en el que el grado de hinchamiento del material analizado cambia significativamente. El valor reportado fue calculado con la función sigmoideal estimada con el software Originpro®. En otro estudio se realizó la determinación de LCST por hinchamientos de los materiales siguiendo el mismo protocolo, pero en el orden inverso de temperaturas: de 50°C a 5°C (Se utilizaron los mismos hidrogeles para los dos estudios).

6.7 Proceso de absorción de 4-MBA en los materiales

Para las pruebas de absorción de 4-MBA cada pastilla de hidrogel o nanocomposito fue sumergida en 20 mL de una disolución tampón ajustada a pH 10.0, conteniendo 4-MBA a 10 mM, a una temperatura de 5 °C, durante un período de 72 horas. Después, cada pastilla fue extraída del medio y secada a una temperatura de 40 °C en un horno de vacío, durante un período de 3 días. Para esta prueba se eligieron las siguientes muestras: hidrogel P(N-A) y nanocomposito P(N-A)-Au_M.

Este procedimiento fue repetido para las muestras P(N-A) y P(N-A)-Au_A, utilizando una concentración de 0.1 mM de 4-MBA.

6.8 Proceso de absorción de PFOA

Para llevar a cabo la determinación de los cambios de concentración de PFOA en el material, se recurrió a un método indirecto de medición UV-Vis, usando el colorante cristal violeta (CV) como intermediario. Para ello primero se preparó una disolución madre de CV a una concentración de 1×10^{-3} M. A partir de esta se prepararon diluciones para realizar una curva de calibración de CV en el rango de concentraciones de 1.5×10^{-5} M a 3.0×10^{-6} M, con el fin de evaluar la linealidad y determinar el rango de trabajo. Para ello se registró el valor de cada absorbancia a 590 nm.

En segundo lugar, se preparó una disolución madre de PFOA en agua con una concentración de 200 ppm. De esta disolución se tomaron los volúmenes necesarios para preparar 5 mL de disolución conteniendo CV a 7×10^{-6} M y PFOA a las siguientes concentraciones: 5, 20, 40, 60, 80 y 100 ppm. Las variaciones en la absorbancia a 590 nm fueron registradas después de 24 horas de preparadas las mezclas, para construir la curva de calibración debida al complejo formado entre CV y PFOA.

Para cargar PFOA en los polímeros, cada pastilla seca de la muestra P(N-A)-Au_A se sumergió en 25 ml de una disolución de PFOA a 200 ppm. El tiempo de absorción fue fijado a 22 horas. Después de transcurrido el tiempo, las muestras fueron extraídas del medio líquido y fueron secadas en una estufa a 40 °C y presión reducida. De cada medio de carga se tomó 1 ml de la disolución y se adicionó por separado a 4 mL de cristal violeta con una concentración de 7×10^{-6} M. Después de 24 horas, se midió la absorbancia y se estimó la concentración de PFOA a partir de la curva de calibración del complejo CV-PFOA.

6.9 Caracterizaciones

6.9.1 Espectroscopía infrarroja por transformada de fourier

Para el análisis FTIR se utilizó un espectrómetro óptico bruker GMBH tensor 27. Los xerogeles y nanocompositos fueron molidos en un mortero, previo al análisis. Los monómeros fueron evaluados en su estado natural. Para la medición se prepararon pastillas con aproximadamente 50 mg de KBr y 1 mg de las muestras, prensadas bajo una presión de alrededor de 500 tonMPa. Se registraron los espectros FTIR para todas las muestras en el área de números de onda de 4000^{-1} a 500 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} y un barrido de 100 escaneos.

6.9.2 Difracción de rayos X

La cristalinidad de los geles se analizó mediante difracción de rayos X (XRD) en polvo. Las muestras secas se analizaron en forma de pastilla, en el instrumento Bruker®, modelo: D2 advance, en el rango de 2θ de 10° - 80° con un paso de $0,05^{\circ}$.

6.9.3 Análisis termogravimétrico

El análisis termogravimétrico (TGA, por sus siglas en inglés) y el diferencial de TGA (DTG), se llevó a cabo utilizando un analizador térmico modelo SDT Q600. En el cual se pudo determinar la temperatura de transición vítrea (T_g), utilizando la técnica de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC, por sus siglas en inglés). Los análisis térmicos se realizaron empleando muestras de aproximadamente 5 mg en una bandeja de platino calentando hasta 600 °C bajo una tasa de flujo de gas nitrógeno de 100 mL/min⁻¹, con una tasa de calentamiento de 10 °C/min⁻¹.

6.9.4 Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X

Los análisis de XPS se realizaron en forma de pastilla, utilizando un espectrómetro SPECS® equipado con un analizador de energía hemisférico PHOIBOS® 150 WAL con una resolución angular inferior a 0,5. El aparato XPS también cuenta con un monocromador de rayos-X 500 μFOCUS (línea de excitación de Al). Antes del análisis, las muestras fueron desgasificadas en alto vacío durante 24 horas para lograr eliminar el agua asociada a los materiales.

6.9.5 Espectroscopía Raman

Para llevar a cabo los análisis, se utilizó espectroscopia Raman mediante el método SERS, en un equipo de alta precisión XploRA de HORIBA-Jobin Yvon equipado con un microscopio Olympus BX41. El láser empleado tuvo una longitud de onda de 638 nm, mientras que el tiempo de integración se estableció en 5 segundos. El equipo contaba con un número de rejillas de 1200 y el rango de detección utilizado fue de 700 cm⁻¹ a 1800 cm⁻¹. Las muestras analizadas fueron evaluadas en su estado deshidratado (xerogel) y se procedió a lijarlas para obtener un espesor delgado que permitiera su análisis.

CAPÍTULO 7

Resultados y Discusión

7.1 Síntesis y funcionalización de AuNPs

Se utilizaron dos técnicas complementarias para la caracterización de las AuNPs obtenidas: la espectrometría UV-Vis y la microscopía electrónica de transmisión (TEM). Estas técnicas permiten obtener información detallada acerca del comportamiento óptico y la morfología de las nanopartículas, respectivamente. La espectrometría UV-Vis se utiliza para determinar la presencia de bandas de absorción características de las partículas metálicas y resulta útil para obtener información sobre el tamaño, la forma y la distribución de tamaño de las partículas. Por su parte, la microscopía electrónica de transmisión (TEM) proporciona imágenes detalladas de la morfología y tamaño de las partículas, lo que permite detectar aglomerados y verificar la homogeneidad de las muestras. En resumen, la combinación de estas dos técnicas permite una caracterización completa y precisa de las AuNPs obtenidas en esta investigación.

7.1.1 Caracterización TEM de AuNPs

La **Figura 18** muestra las imágenes TEM de las AuNPs sintetizadas siguiendo el procedimiento descrito en la sección 6.2. En los incisos a) y b) se observan las AuNPs con morfología esférica. Se recuerda que estas nanopartículas fueron obtenidas con la ayuda del citrato de sodio, el cual tiene la capacidad para actuar como reductor, estabilizador y ayudante en la prevención de la aglomeración de las partículas, tal y como se menciona en Ortega N., (2018) y Yeh et al., (2012). Por otro lado, los incisos c) y d) presentan los resultados de la medición de la dispersión del diámetro de las AuNPs, determinados a partir de los resultados TEM a diferentes magnificaciones. Para obtener el diámetro promedio de las AuNPs se trazó una línea desde un extremo de cada nanopartícula hasta el otro extremo. Por ejemplo, el histograma del inciso c) arrojó que el diámetro promedio de las AuNPs observadas en la **Figura 18a**, es de 12.5 nm (con una desviación estándar de 1.07 nm). En el inciso d), se determinó un diámetro promedio de 13 nm (con una desviación estándar de 0.97 nm) para las AuNPs que fueron observadas en la micrografía de la **Figura 18b**. En conjunto, estos resultados muestran la uniformidad y homogeneidad en la morfología y tamaño de las AuNPs obtenidas.

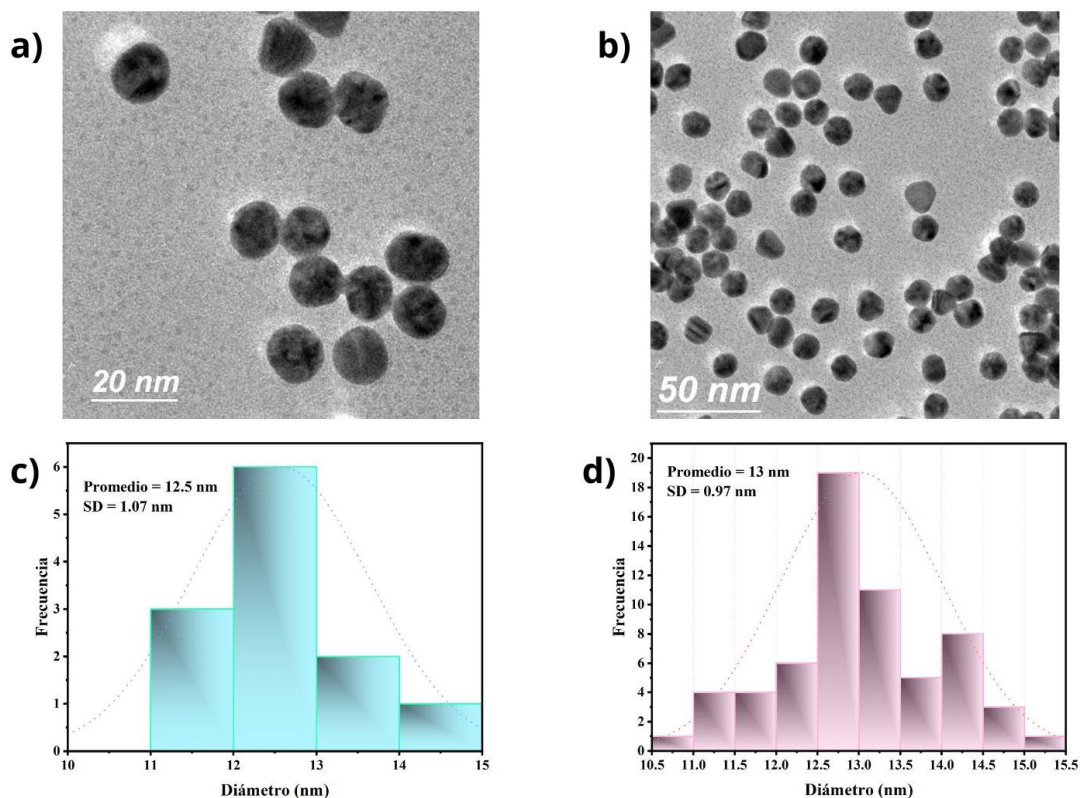


Figura 18. Micrografías TEM de AuNPs a diferentes magnificaciones: acercamiento con barra de referencia de tamaño de 20 nm (a), y panorámica con barra de referencia de tamaño de 50 nm (b); e histogramas de distribución de tamaño de AuNPs (c y d) determinados desde (a y b), respectivamente.

7.1.2 Caracterización por UV-Vis de AuNPs

En este trabajo de investigación, para evitar la agregación de AuNPs se utilizó surfactante Tween 20, tal como lo recomienda la metodología reportada por Aslan et al., (2002). Se conoce que este surfactante actúa confiriendo una mayor estabilidad a las AuNPs, evitando una agregación irreversible. Este proceso se describe como una capa protectora de oligo-(etilenglicol) en la superficie de las nanopartículas, lo que incluso facilita una posterior cobertura o funcionalización con una monocapa de otro compuesto. El proceso de síntesis y de estabilización se ilustra en la **Figura 19**.

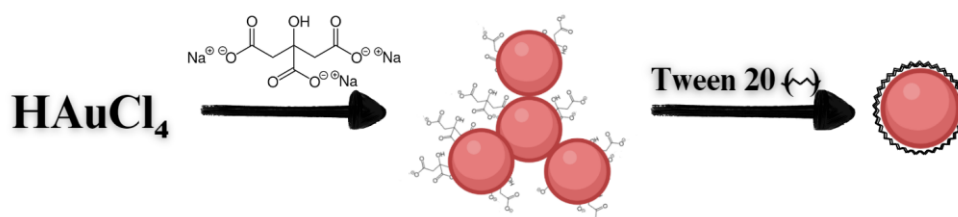


Figura 19. Ilustración del proceso de síntesis de AuNPs intermediada por ácido cítrico y de la estabilización de la partícula con el surfactante Tween 20 (Adaptada de Yeh et al., 2012).

En la **Figura 20a-b** se muestran las observaciones de la dispersión coloidal de AuNPs [Au^0] \sim 0.1 mM) y el cambio que experimenta tras centrifugar dicha dispersión a 10000 rpm durante 20 min, respectivamente. Esta observación confirma que el color rojo de la dispersión corresponde a la presencia de AuNPs en el medio. La variación en la intensidad del color rojo y el aumento en la transparencia de la dispersión se consideran indicativos de un cambio de concentración, mientras que un cambio drástico del color se considera como un indicativo de agregación u afectación de la estabilidad de la dispersión (Zhang *et al.*, 2022).

En la **Figura 20c** se muestra el espectro UV obtenido de las AuNPs antes y después del tratamiento con Tween 20. Aquí se observa que las AuNPs sin tratamiento exhiben una absorción máxima a 520 nm, que corresponde con la resonancia del plasmón superficial característico de las nanopartículas de oro en dispersiones coloidales (**Figura 20c**), tal como lo reporta Ortega N., (2018). Sin embargo, según lo reportado por Yeh *et al.*, (2012), el tratamiento con agentes surfactantes puede generar una variación en el tamaño bajo un rango aproximado de 10 a 20 nm. Esta variación sería entonces congruente con el desplazamiento, hacia mayores longitudes de onda, del pico de absorción observado en la **Fig. 20c** para la muestra tratada con Tween 20. Esto infiere que el tratamiento con Tween 20 condujo a la formación de una capa física de fisisorción sobre la superficie de las AuNPs, lo cual produce un aumento en el radio hidrodinámico, como se ha reportado también por Priyadarshini *et al.*, (2022). El corrimiento observado en nuestros resultados fue de 3 nm (523 nm). Con esto se comprueba que la inclusión de Tween 20 si puede llegar a generar un efecto de encapsulamiento sobre las AuNPs.

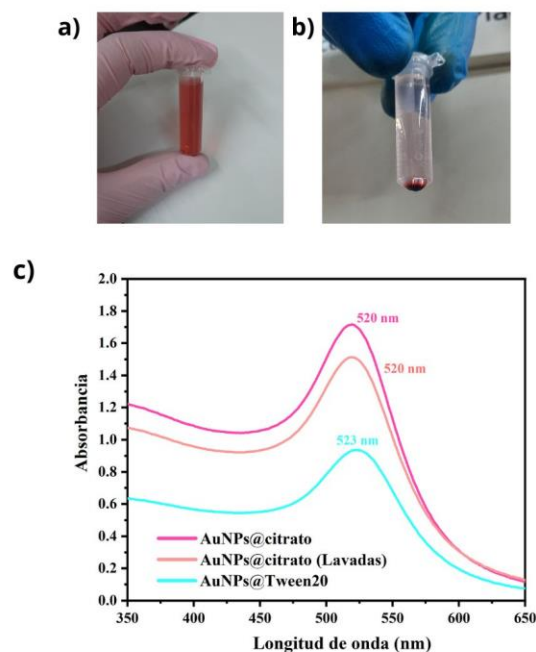


Figura 20. Dispersión coloidal de las AuNPs (a), precipitación de las AuNPs por centrifugación (b), y espectro UV-Visible de las AuNPs con y sin tratamiento con Tween 20 (c).

7.2 Síntesis de hidrogeles y nanocompositos

La elección de NIPAAm y AAm como monómeros para la síntesis de los hidrogeles propuestos en este trabajo se debió principalmente a sus propiedades hidrofílicas y a sus estructuras químicas eléctricamente neutras. Esta última propiedad es una consecuencia de la presencia de grupos funcionales no ionizables. En contraste, los monómeros con carga positiva o negativa suelen competir con sus contrapartes iónicas presentes en el sistema nanoparticulado, conduciendo así a una agregación del coloide y, en consecuencia, a la afectación de la estabilidad de la dispersión. Es por ello que la acción de mezclar nuestra dispersión de nanopartículas con disoluciones acuosas de monómeros ionizables, tales como ácido acrílico, acrilato de sodio, o ácido metacrílico, condujeron a cambios de color en la dispersión (de rojo a violeta) o incluso a la formación de precipitado (resultados no mostrados). Sin embargo, al mezclar la dispersión de AuNPs con disoluciones acuosas de NIPAAm y de AAm, se observó una conservación de la estabilidad de la dispersión, lo que pudo aprovecharse para formar redes poliméricas a su alrededor.

La elección de PNIPAAm como el constituyente de mayor proporción en los materiales propuestos también se basó en el aprovechamiento de la propiedad dual de este polímero para actuar como material hidrofílico e hidrofóbico, dependiendo de la temperatura del medio circundante (termosensibilidad). El punto crítico conocido como LCST, es una transición que está relacionada con el cambio en la estructura del polímero de una conformación hidratada y expandida a una conformación deshidratada y compacta. El ajuste de esta transición permite entonces evaluar diferentes modos de interacción entre una molécula específica y las cadenas del polímero, modificando con ello las capacidades de absorción del material y su selectividad.

Teniendo en cuenta lo anterior, se conoce que cuando se incorpora un monómero más hidrofílico en la cadena de PNIPAAm, la tendencia natural sería que la LCST disminuyera, ya que la hidrofiliidad aumentaría la afinidad del polímero por el agua (Muñoz, 2012). Por el contrario, la adición de un polímero hidrofóbico a las cadenas de PNIPAAm contribuiría a aumentar el valor de la LCST, ya que aumentaría la afinidad de asociación entre las cadenas del polímero. De esta manera, se resalta que la elección de AAm en este trabajo de investigación, tuvo el propósito de aumentar la hidrofiliidad del polímero para lograr una mayor capacidad de absorción de agua y de las sustancias presentes en ella, sin afectar drásticamente la sensibilidad térmica proveniente de las cadenas de PNIPAAm.





Entre las observaciones destacadas sobre la reacción de polimerización, se encontró que a pesar de que los hidrogeles de PNIPAAm y de P(NIPAAm-co-AAm) gelifican en aproximadamente una hora, en este trabajo se decidió utilizar tiempos más largos de reacción (16 horas). Lo anterior con el fin de reducir la proporción de monómero residual que puede quedar en el interior del polímero, lo cual puede conferir toxicidad al material (Maheshwari et al., 2014).

Para reducir la presencia de monómero residual también se suelen realizar lavados exhaustivos del material en agua. En nuestro caso, durante los primeros procesos de lavado se realizó un análisis por medio de espectroscopía UV-vis, con el fin de evaluar la presencia de los monómeros NIPAAm y

AAm, o incluso, del agente entrecruzante, MBAAm, en el medio de lavado. Efectivamente, los resultados arrojaron la presencia de monómero residual, identificada por la formación de un pico ancho de absorción en un rango de 200-300 nm (datos no mostrados). Sin embargo, se logró comprobar con esta misma técnica que estas especies reactivas fueron totalmente eliminadas de los polímeros al sexto día de lavado. De esta manera, se optimizó el proceso de limpieza de los materiales, realizando cambios frecuentes del agua del medio de lavado durante 6 días.

En congruencia con otros reportes relacionados con la síntesis de hidrogeles o de polímeros con AuNPs embebidas (*Rueda et al., 2018, Gonzalez et al., 2018, Jáuregui, 2021*), los hidrogeles de PNIPAAm y P(NIPAAm-co-AAm) sintetizados en la ausencia de AuNPs resultaron transparentes, mientras que aquellos que fueron sintetizados en la presencia de AuNPs se tornaron de color rojo. Como se esperaba, los tonos del color se hicieron menos intensos en la medida que la concentración de AuNPs disminuyó en el medio, lo cual fue en el orden: A, M y B. En la **Tabla 2** se enlistan los hidrogeles y nanocompositos preparados a partir de NIPAAm y AAm. En esta los códigos asignados a las muestras sintetizadas son los mismos a los especificados en la **Tabla 1**, reportada en la sección 6.4. En resumen, las muestras etiquetadas como PN corresponden a los hidrogeles sintetizados usando solamente NIPAAm como monómero, mientras que la muestra PN-Au_M hace referencia al mismo hidrogel sintetizado en la presencia de una concentración media de AuNP. Las muestras etiquetadas como P(N-A) corresponden a los hidrogeles en los que se incluyó AAm como monómero modificador de las cadenas de PNIPAAm, mientras que las muestras P(N-A)-Au_B, P(N-A)-Au_M y P(N-A)-Au_A corresponden al mismo polímero, pero sintetizado en la presencia de las dispersiones de AuNP a concentraciones consideradas como baja, media y alta, respectivamente. En la **Tabla 2** se ilustra la transparencia o el color resultante de cada material sintetizado en este trabajo. La tonalidad de los hidrogeles se determinó mediante el análisis del registro fotográfico de los polímeros a través del software Canva[®].

Tabla 2. Resumen cualitativo de la composición de los hidrogeles y nanocompositos sintetizados en este trabajo, así como la asignación del color resultante de cada material. Los códigos son como los asignados en la **Tabla 1**. El círculo indica la presencia de ese componente en el material.

Código asignado a la muestra	NIPAAm	AAm	AuNPs	Color del hidrogel resultante
PN	○			Incoloro
PN-Au_M	○		○	
P(N-A)	○	○		Incoloro
P(N-A)-Au_B	○	○	○	
P(N-A)-Au_M	○	○	○	
P(N-A)-Au_A	○	○	○	

7.3 Resultados FTIR

Es importante destacar que la espectroscopía FTIR es una técnica analítica ampliamente utilizada en la caracterización de monómeros y polímeros, ya que permite la identificación de los grupos funcionales presentes en las moléculas y su correlación con las propiedades y características de los materiales.

El análisis FTIR presentado en la **Figura 21a** y **21b** muestra los espectros de los monómeros NIPAAm y AAm utilizados en el proyecto. En ellos se pueden identificar grupos funcionales característicos de estos componentes principales. En particular, los espectros del monómero NIPAAm (**Fig. 21a**) presentan bandas características de los grupos funcionales amida, como las de tensión y deformación de N-H en 3288 y 1534 cm^{-1} , respectivamente, y la banda del grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$) en 1637 cm^{-1} , que coinciden con lo reportado por Li et al., (2009) y Seddiki, (2013). Además, se observan bandas correspondientes al grupo vinilo ($\text{C}=\text{C}$) del NIPAAm en 1656 cm^{-1} y las bandas de tensión y deformación del enlace $\text{C}-\text{H}$ a 3074-2969, 1409 y 986-961 cm^{-1} (Santhamoorthy et al., 2022). También se puede detectar la presencia del grupo isopropilo del NIPAAm con una banda doble característica a 1386 y 1366 cm^{-1} , que es común en todas las muestras que contienen este monómero, tal como lo han reportado Muñoz, (2012) y Avadanei et al. (2012). Por otro lado, el espectro FTIR de la acrilamida (AAm) (**Fig. 21b**) también muestra bandas correspondientes al grupo amida, como el N-H en 3300 y 1650 cm^{-1} y el $\text{C}=\text{O}$ en 1652 cm^{-1} . Sin embargo, no se observaron las bandas características del grupo isopropilo en AAm, ya que este grupo funcional no está presente en la estructura química de este monómero. Además, se pueden encontrar en el espectro otras bandas características de AAm, que comparadas con las de NIPAAm, se encuentran desplazadas levemente hacia números de onda inferiores, tales como el $\text{C}=\text{C}$ en 1599 cm^{-1} y el $-\text{CH}_2-$ en 2937 y 2850 cm^{-1} . La diferencia entre estas señales resulta indispensable para identificar a cada componente del copolímero P(N-A).

La **Figura 21c** muestra el espectro del hidrogel constituido exclusivamente con PNIPAAm (muestra PN). Las bandas más intensas en el espectro FTIR de PN corresponden al estiramiento asimétrico (ν_{as}) y simétrico (ν_{s}) del grupo amida, que aparecen en la región de 1650-1630 cm^{-1} y 1550-1520 cm^{-1} , respectivamente (Ziaee et al., 2016; Wei et al., 2018). Por lo general, la banda ν_{as} se solapa con la banda del grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$), pero generalmente es más ancha y menos intensa que la banda ν_{s} . En adición, las bandas de tensión observadas entre 3500-3275 cm^{-1} pueden atribuirse a la contribución del enlace N-H del grupo amida del PNIPAAm, estabilizado por enlace de hidrógeno. Los grupos -OH que causan esa estabilización son aportados por las moléculas de agua asociadas a la red polimérica, conllevando al ensanchamiento de la banda y a su desplazamiento a mayor número de onda. Aquí es importante destacar que las moléculas de agua pueden quedar asociadas en el interior del xerogel aún después del proceso de secado, o pueden ser capturadas desde la humedad del ambiente. Por otro lado, la banda típica del grupo vinilo en el monómero a 1656 cm^{-1} desaparece en el PNIPAAm, lo que se considera como un indicativo de que el proceso de polimerización sí se llevó a cabo, y de que no quedó monómero residual en el material. Finalmente, las dos bandas características del grupo isopropilo del NIPAAm siguen apareciendo en el polímero a 1387 y 1367

cm^{-1} . Esta señal es entonces distintiva a la hora de identificar cambios conformacionales en las cadenas que contienen más unidades de PNIPAAm en los polímeros (Huang *et al.*, 2016).

En la **Figura 21d** se observan las bandas de transmitancia para los hidrogeles conformados por el copolímero P(NIPAAm-co-AAm), es decir, las muestras P(N-A). Como se esperaba, las señales registradas para esta muestra coinciden con la muestra PN, especialmente en la región de $2967\text{-}2856\text{ cm}^{-1}$, que es donde se identifican los grupos metilenos ($-\text{CH}_2$). Otra coincidencia resulta visible a 1647 cm^{-1} , que es la banda atribuida al estiramiento asimétrico del grupo amida y su solapamiento con la banda del grupo carbonilo ($\text{C}=\text{O}$). Sin embargo, las diferencias más sobresalientes con el espectro de PN (**Fig. 21c**) se encuentran en las intensidades de la banda ν_s que corresponde al grupo amida, y a las dos señales asignadas al grupo isopropilo de PNIPAAm, entre $1386\text{-}1360\text{ cm}^{-1}$. En la muestra P(N-A), la banda ν_s a 1544 cm^{-1} presenta menor intensidad, probablemente debido a que la inclusión de más grupos amidas primarias desde PAAm, pueden promover una mayor interacción por enlaces de hidrógeno entre las cadenas de la red polimérica, limitando así los modos de deformación del grupo amida aportados por los segmentos de PNIPAAm. Por otro, el doblete del grupo isopropilo del PNIPAAm esperado sobre $1386\text{-}1360\text{ cm}^{-1}$, se vio afectado por el solapamiento de una banda más intensa, la es atribuida a la vibración de estiramientos de los enlaces C-C y C-N de las fracciones de AAam incluidas en el copolímero. Finalmente, la forma de la banda entre $3600\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$, que corresponde a la vibración del enlace N-H del grupo amida, difiere entre la muestra PN y P(N-A). Por ejemplo, en PN la banda presenta dos hombros a 3500 cm^{-1} y 3300 cm^{-1} , mientras que en P(N-A) se presenta como una sola banda ancha e intensa a los 3470 cm^{-1} . Lo anterior indica que esta banda cambia su forma debido a que el polímero aumenta su capacidad para absorber agua.

Para confirmar lo anterior, en la **Figura 21h** se presenta el espectro del nanocomposito que se compone de AuNPs embebidas en el hidrogel sintetizado exclusivamente con PNIPAAm, es decir, la muestra PN-Au_M. En esta, la banda característica de la vibración del enlace N-H presenta un patrón similar a la de PN (banda con dos hombros). Además, presenta coincidencia exacta con las demás regiones del espectro FTIR de esa muestra (**Fig. 21c**), excepto para la región de $800\text{ a }500\text{ cm}^{-1}$, la cual resulta entonces atribuida a la presencia de AuNPs en la muestra. Lo anterior indica que la presencia de AAam en la muestra afecta principalmente las vibraciones N-H en el polímero, debido al aumento de hidrofiliidad en el material. Por lo tanto, es posible deducir hasta aquí que los polímeros que contienen PAAm presentan una marcada tendencia a formar una sola banda ancha e intensa entre $3500\text{-}3200\text{ cm}^{-1}$, mientras que los materiales que solo contienen PNIPAAm tienen a formar una banda con dos hombros en la misma región del espectro. Además, la incorporación de AAam afectó el doblete característico del grupo isopropilo. En las **Figuras 21e-g**, esa tendencia se hace notoria también en los nanocompositos, cuya matriz se compone del copolímero P(N-A).

Los espectros FTIR de los nanocompositos presentan variaciones mínimas entre sí (ver **Fig. 21e-g**). Aunque las nanopartículas metálicas del Au no generan una señal en el rango evaluado, los compuestos orgánicos que se utilizan para estabilizar estos sistemas sí lo hacen. Por ejemplo, en el estudio reportado por Gurunathan *et al.*, (2014) para la síntesis de AuNPs usando extractos naturales, los espectros FTIR obtenidos arrojaron señales que corresponden a la estructura orgánica que recubre al sistema nanoestructurado. Otros autores como Ravichandran *et al.*, (2018), han reportado que los conjugados moleculares con Tween 20 tienden a aumentar la señal registrada entre $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$,

que corresponden a los enlaces éter C-O-C de los segmentos de polietilenglicol (PEG). En nuestros resultados se observa que esta señal presenta un leve aumento conforme se aumenta la concentración de AuNPs en el copolímero de baja (**Fig. 21e**) a alta (**Fig- 21g**). Cabe resaltar que el aumento en la concentración del sistema nanoestructurado supone también un aumento en el compuesto usado como estabilizador: Tween 20. En adición, las moléculas de Tween 20 tienen la capacidad de aumentar las señales correspondientes a los grupos hidroxilo (-OH) y metilenos (-CH₂-) en los espectros FTIR, cuando se conjugan con otras moléculas o materiales (*Ortiz y Tecante, 2018*). En nuestros resultados, efectivamente sí se observa que con el aumento en la concentración de AuNPs se presenta un leve incremento en la intensidad de las bandas a 3500-3200 cm⁻¹ y 1650 cm⁻¹, y un cambio más notorio a 650 cm⁻¹ (ver **Fig. 21e-g**). Esto puede considerarse como una evidencia adicional de que los nanocompositos presentan un efecto de sinergia entre sus componentes.

Tanto los hidrogeles como los nanocompositos involucran la participación del agente entrecruzante MBAAm y otras especies químicas como iniciador (APS) y acelerador de reacción (TEMED), los cuales se encuentran a bajas concentraciones, comparados con la de los monómeros NIPAAm y AAm. Por su lado, una vez formado el polímero, los grupos funcionales aportados por el MBAAm resultan muy similares a los de PAAm: amidas secundarias. Por lo tanto, aún cuando su concentración es baja, se espera que el MBAAm contribuya con el engrosamiento de las bandas de tensión y vibración de los enlaces N-H y C=O en los espectros FTIR. Para el APS se esperaría una contribución sobre los 3140 cm⁻¹ atribuida a los enlaces N-H del amonio, y sobre la región de 1500 a 1000 cm⁻¹ debido a las vibraciones de los grupos O-S=O. Para el acelerador, TEMED, se esperarían contribuciones sobre los grupos metilenos (-CH₂) y enlaces C-N de la función amina. Sin embargo, tanto para APS como TEMED, la concentración utilizada en la síntesis de los materiales se considera como despreciable y, en consecuencia, con bajo impacto sobre las señales observadas por medio de la espectroscopía FTIR.

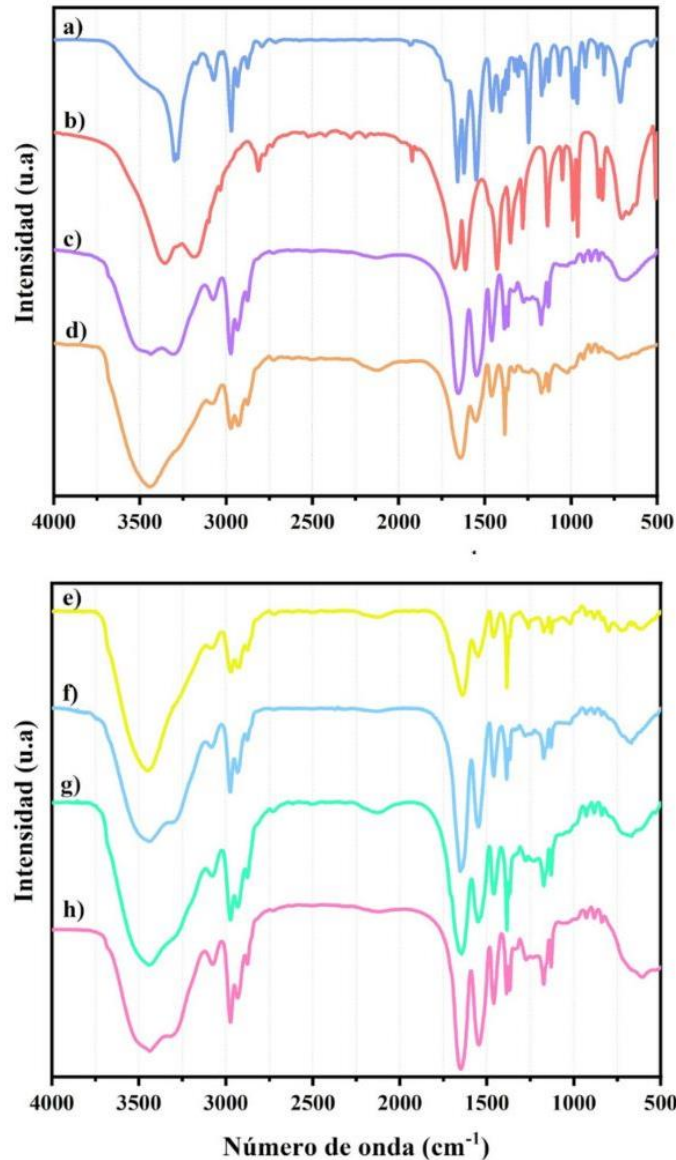


Figura 21: Espectros FTIR de los monómeros: NIPAAm (a) y AAm (b); de los hidrogeles: PN (c) y P(N-A) (d); y de los nanocompositos: P(N-A)-Au_B (e), P(N-A)-Au_M (f), P(N-A)-Au_A (g) y PN-Au_M(h).

7.4 Difracción de rayos X

En la **Figura 22** se muestran los patrones XRD de los hidrogeles y de los nanocompositos P(NIPAAm-co-AAm) con diferentes concentraciones de AuNPs. Para efectos comparativos, también se muestra en esta figura el difractograma del nanocomposito cuya matriz polimérica se compone solamente de PNIPAAm. De manera general, se observa que estos difractogramas presentan una tendencia o patrón similar entre todas las muestras analizadas, con un pico amplio en la región $2\theta = 10-45^\circ$, registrando un máximo a 20° y dos hombros de menor intensidad a 30 y 40° . Cabe resaltar que este tipo de señales indican una baja cristalinidad en todas las muestras analizadas. Resultados

como estos son típicos para muestras de naturaleza polimérica, y como tal, han sido reportados para hidrogeles que contienen PNIPAAm (*Rana et al., 2022; Li et al., 2018; Sosnik et al., 2015*).

Por otro lado, varios autores han coincidido en que las AuNPs, aún sintetizadas por diferentes métodos, se caracterizan por exhibir un pico principal a $2\theta = 38.67^\circ$, el cual es atribuido al plano (111) de la estructura cristalina del Au (*Shi et al., 2015, Bogireddy y Agarwal 2019*). En otro estudio, Zou y colaboradores realizaron la síntesis de AuNPs en un hidrogel a base del copolímero de NIPAAm, metacriloxipropiltrimetoxisilano y ácido acrílico. En el análisis XRD de ese trabajo lograron identificar en los nanocompositos tanto el pico principal del plano (111) como otros picos de menor intensidad para los planos (200) y (220), ubicados a $2\theta = 38.67^\circ, 45.35^\circ$ y 65.23° , respectivamente (*Zuo et al., 2017*).

Para este trabajo de investigación, aunque en la **Figura 22** se observa que uno de los hombros registrado en el patrón XRD se ubica aproximadamente a $2\theta = 38.67^\circ$, se infiere que esta señal no corresponde a la fase cristalina del Au, ya que está presente en todas las muestras, incluyendo las de los hidrogeles que fueron sintetizados en la ausencia de AuNPs: PN y P(N-A). Lo anterior se respalda al tener en cuenta que las señales correspondientes a los planos (200) y (220) tampoco son observadas sobre el rango de $40-70^\circ$, para ninguna de las muestras analizadas en nuestro estudio. Sin embargo, se destaca que la presencia de AuNPs sí afectó la intensidad de la señal, comparada con la de sus respectivos hidrogeles. En efecto, esta reducción se hace más notoria cuando la concentración de AuNPs aumenta en el copolímero (muestra P(N-A)-Au_A), lo cual implica que con la incorporación del sistema nanoestructurado se ocuparon algunos de los espacios entre las redes poliméricas y, en consecuencia, esto impactó en la forma como el polímero se contrae en su estado seco, formando así menos dominios semicristalinos.

En resumen, aunque las señales correspondientes al sistema nanoestructurado no fueron observadas en los estudios XRD, la forma en que resultaron afectadas las señales predominantes del copolímero o el hidrogel, indican claramente que la presencia de AuNPs sí influye en el arreglo estructural de la matriz polimérica. En ese sentido, la funcionalización de AuNPs con Tween 20 pudo haber influido significativamente tanto en la oclusión de las señales provenientes del componente inorgánico, como en el arreglo estructural de las cadenas del polímero.

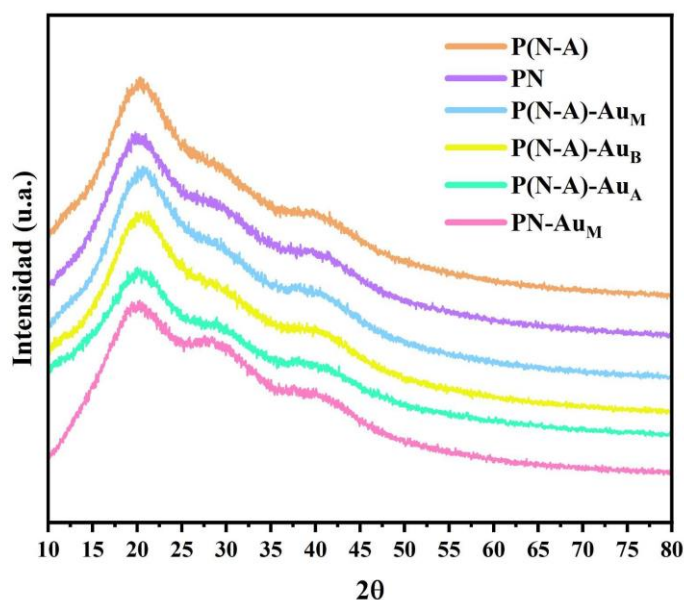


Figura 22. Patrones XRD de los nanocompositos de los hidrogeles de PNIPAAm (PN), de P(PNIPAAm-co-AAm) (P(N-A)), y de los nanocompositos sintetizados con el copolímero P(N-A) a diferentes concentraciones de AuNPs: baja, media y alta.

7.5 Estudios de hinchamiento

7.5.1 Hinchamiento a 25°C

Los estudios de hinchamiento de polímeros absorbentes resultan indispensables para determinar la influencia que ejerce el entrecruzamiento de las cadenas del polímero o la inclusión de otros componentes (monómeros o nanoestructuras) en la matriz polimérica, sobre la capacidad para absorber y retener agua. Esto permite deducir indirectamente los cambios estructurales de una red polimérica. Para nuestros resultados, la **Figura 23** exhibe los resultados obtenidos en los estudios de hinchamiento llevados a cabo a temperatura ambiente en hidrogeles y nanocompuestos de P(NIPAAm-co-AAm) con diferentes concentraciones de AuNPs. Se observa que la muestra que emplea PNIPAAm como componente único de la matriz polimérica (muestra PN), presenta un porcentaje de hinchamiento menor al de las demás muestras. Esto se debe principalmente a que en PNIPAAm, el grupo isopropilo unido directamente a la función amida, hace que presente un carácter hidrofílico menor al del grupo funcional amida primaria del PAAm. En la **Figura 23** se observa que la muestra PN aumenta su porcentaje de hinchamiento, siguiendo una tendencia logarítmica, y alcanzando niveles relativamente constantes cercanos a 1700%, después de las 45 horas de estudio.

Por otra parte, en la **Figura 23** también se detalla que la muestra del hidrogel basado en el copolímero P(NIPAAm-co-AAm) (muestras P(N-A)), presenta una mayor afinidad por el agua, comparado con la muestra PN. En otras palabras, el material se hincha alcanzando porcentajes de hinchamiento alrededor de 1850 % durante las primeras 10 horas, y alcanza un máximo aproximado de 2500 % a las 45 horas. Esa mayor capacidad de la muestra P(N-A) para absorber agua se debe a que las unidades

de AAm introducidas en polímero le confieren mayor hidrofílicidad. Se conoce que el AAm genera polímeros hidrofílicos, debido al grupo funcional amida primario en su estructura (Rodríguez, 2006). No obstante, se destaca que todas las muestras basadas en el copolímero P(N-A) presentaron una tendencia de aumento escalonado del hinchamiento entre las 24 y 28 horas del estudio, lo cual contrasta con el aumento logarítmico presentado por los materiales con matriz de PN. Esto indica que la inclusión de AAm produce cambios en la conformación de las cadenas que afectan las interacciones intramoleculares entre las cadenas del polímero.

Por otro lado, en la evaluación del porcentaje de hinchamiento de hidrogeles que contienen diferentes concentraciones de AuNPs, se observa que la inclusión de estas nanoestructuras puede influir de varias maneras en la capacidad de un hidrogel para absorber agua, ya sea mejorando o reduciendo la difusión de moléculas de agua hacia el interior de la matriz polimérica. Estos factores dependen del tamaño, concentración, distribución e interacción dentro de la matriz polimérica (Gutarra et al., 2017; Nguyen et al., 2015). Por ejemplo, para la muestra PN-Au_M, queda demostrado que la inclusión de AuNPs en la matriz polimérica aumentó su capacidad de absorción, comparada con el hidrogel PN, el cual fue sintetizado en la ausencia del sistema nanoestructurado. En la **Figura 23** se observa como la muestra PN-Au_M alcanzó un porcentaje de hinchamiento máximo de 2500% a las 45 horas. Sin embargo, se resalta que esta muestra presenta un leve decaimiento en su nivel de hinchamiento a partir de las 50 horas de medición, debido a las fragmentaciones típicas que se generan en el material durante los procesos de manipulación necesarios para lograr el secado del agua superficial y el registro del peso en la balanza. A pesar de esto, la tendencia general del hinchamiento de esta muestra indica que las AuNPs influyeron en la generación de redes poliméricas con mayor espacio entre cada entrecruzamiento (mayor tamaño de poro). Este espacio le permite a la estructura extenderse en mayor grado en su estado hidratado.

En cuanto a los nanocompositos cuya matriz polimérica es P(N-A), se observó que la alteración en su hinchamiento está influenciada por la concentración de AuNPs. Por ejemplo, en la muestra P(N-A)-Au_B se detectó un incremento significativo en la absorción de agua, alcanzando un punto máximo de hinchamiento cercano al 2900 % a las 25 horas, disminuyendo posteriormente hasta 2750 % a las 75 horas. Esa reducción del nivel de hinchamiento se debió a una pérdida de masa por la manipulación del material. Por otra parte, las muestras P(N-A)-Au_M presentaron una tendencia de hinchamiento muy similar a la muestra P(N-A), con un aumento súbito en su hinchamiento durante las primeras 10 horas, llegando a un incremento escalonado entre las 24 y 28 horas de análisis, y alcanzando niveles constantes alrededor del 2500 % después de las 30 horas. Finalmente, para la muestra P(N-A)-Au_A se observó una tendencia similar a la descrita anteriormente para el nanocomposito con una concentración media de AuNPs. La capacidad de hinchamiento de esta muestra alcanzó los 2750% después de las 30 horas de análisis. En resumen, las AuNPs pueden mejorar la capacidad de absorción de agua del hidrogel si se distribuyen uniformemente y se mantienen alejadas entre sí, ya que pueden aumentar la movilidad de las cadenas del polímero y permitir una mayor penetración de agua en el hidrogel. Se recuerda en esta sección que la estrategia de síntesis de los materiales involucró la síntesis de las matrices poliméricas en el mismo medio en que se encontraban dispersas las AuNPs, por lo tanto, el espacio ocupado por el sistema nanoestructurado influyó sobre el crecimiento de las cadenas poliméricas y el espacio generado entre cada entrecruzamiento.

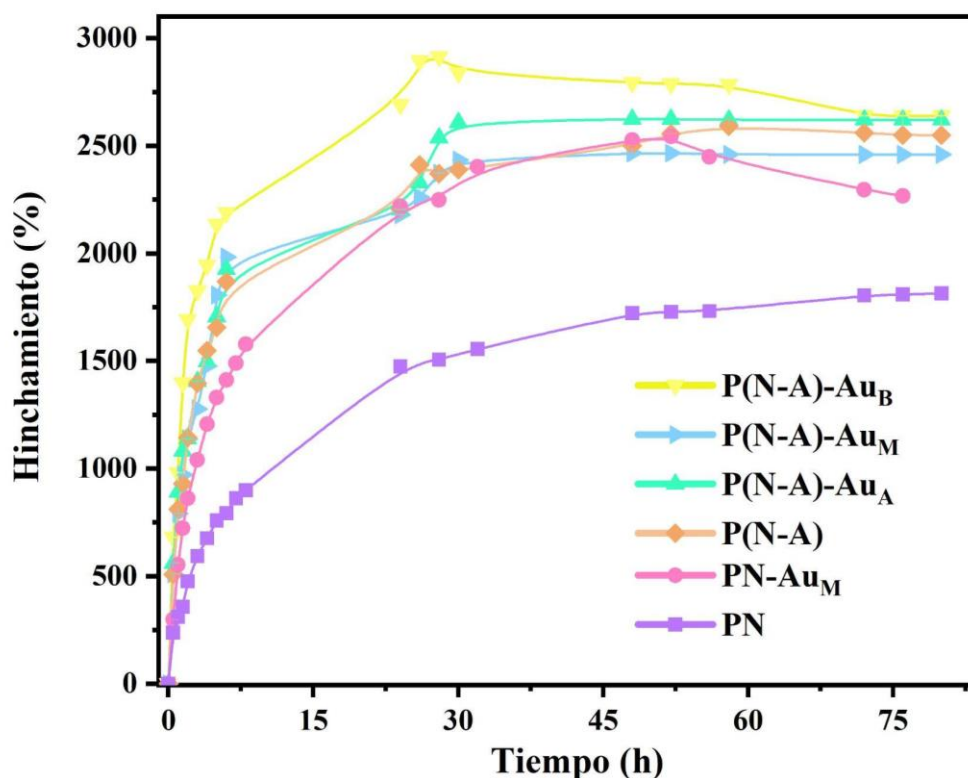


Figura 23: Estudios de hinchamiento como función del tiempo, a 25 °C, de los hidrogeles y nanocompositos sintetizados.

7.5.2 Determinación de LCST

La evaluación de la LCST se realizó midiendo el grado de hinchamiento de los materiales en función del cambio en la temperatura del medio. Este análisis tiene como objetivo evaluar la influencia de la incorporación de AAm y AuNPs sobre la sensibilidad térmica que es típicamente aportada por PNIPAAm. Para nuestro caso, el rango analizado fue entre 5 y 50 °C, el cual abarca los valores de LCST reportados en otros estudios para materiales que contienen PNIPAAm (*Muñoz et al., 2014; Qin et al., 2021*). Para fines comparativos, este análisis se realizó en este rango, usando dos estrategias: la primera una fue variando las temperaturas de forma creciente, ajustando inicialmente el medio a 5 °C (**Figura 24**); y la otra fue variando la temperatura en sentido inverso, es decir, desde la temperatura más alta (50 °C) hacia la más baja (5 °C) (**Figura 25**). Sin embargo, los tiempos entre cada medición fueron diferentes para cada estrategia. Para la primera, las temperaturas del medio se variaron cada 30 min., mientras que para la segunda se hizo cada 3 horas. Con esto se buscó determinar si la sensibilidad térmica del material se observa a tiempos cortos, o si por el contrario, requiere de espacios de tiempo más prolongados para lograr registrar cambios medibles en su hinchamiento en función de la temperatura del medio. Esta información resulta útil para la proyección del uso de estos materiales como sensores.

Como se puede observar en los resultados de estos dos estudios (**Fig. 24 y 25**), todos los materiales presentan una transición de volumen con mayores niveles de hinchamiento hacia los límites de temperaturas bajas ($< 20\text{ }^{\circ}\text{C}$), y con una reducción en los grados de hinchamientos a temperaturas altas ($> 40\text{ }^{\circ}\text{C}$). El valor de la LCST para todas las muestras fue estimado desde las tendencias de hinchamiento de las **Figuras 24 y 25**, por medio de la función sigmoïdal, con la ayuda del software Origin-pro. Los resultados de LCST para los dos estudios realizados se encuentran resumidos en la **Tabla 3**.

En la **Figura 24** se observa que la tendencia de hinchamiento para todos los materiales resulta similar, cuando son expuestos a tiempos cortos de medición, aunque como diferencia se presenta una pendiente de caída (zona exponencial comprendida entre 25 y $40\text{ }^{\circ}\text{C}$) ligeramente mayor para los hidrogeles sintetizados en ausencia de AuNPs. Lo anterior se atribuye a que en estos polímeros, el estado contraído (o de menor hinchamiento) se logra con mayor facilidad cuando su estructura tridimensional interna se encuentra con espacios vacíos. Entre las observaciones, es importante resaltar también que los hidrogeles presentaron una tendencia a mantener constante su hinchamiento por encima de su LCST (arriba de los $40\text{ }^{\circ}\text{C}$), mientras que los nanocompositos presentaron una tendencia a seguir bajando el porcentaje de hinchamiento. En adición, los valores de LCST estimados, variaron en el rango entre 31 y $33\text{ }^{\circ}\text{C}$ (ver **Tabla 3**), lo que se encuentra dentro de los rangos reportados para PNIPAAm. Aunque lo esperado es que la incorporación de un AAm al copolímero conduzca a desplazar la LCST del PNIPAAm hacia menor temperatura, la evaluación a tiempos cortos nos indica que el aumento en la hidrofiliçidad del polímero, dado por la inclusión de AAm, resulta siendo el factor más influyente para alterar ligeramente la fase exponencial de la curva sigmoïdea. Un resultado similar al corrimiento de la LCST a valores de temperatura ligeramente mayores fue reportado por Wu et al., 2018, al adicionar otros componentes hidrofílicos al PNIPAAm. Sin embargo, para nuestro caso se puede concluir que la inclusión de AAm en los materiales no afectó drásticamente la sensibilidad a la temperatura debida a la presencia de PNIPAAm. Aquí es importante destacar que los estudios de hinchamiento como función de la temperatura para lograr estimar el valor de LCST, por lo general, se realizan exponiendo los materiales absorbentes durante tiempos largos, hasta alcanzar el equilibrio de hinchamiento (máximo porcentaje de hinchamiento) en cada temperatura. En nuestro caso, la medición cada 30 minutos reveló que los materiales siguen presentando una sensibilidad térmica aun cuando se encuentran en condiciones o ambientes dinámicos. Este es un factor importante para el desarrollo de dispositivos que requieren actuar como sensores con tiempos de respuesta rápida.

Por otro lado, de la **Figura 24** también se deduce que el nivel de sensibilidad a la temperatura (S_T), definido como la diferencia entre el máximo y el mínimo nivel alcanzado de hinchamiento en el rango de temperaturas evaluado, resulta menor para el hidrogel cuya matriz polimérica contiene únicamente PNIPAAm (muestra PN; $S_T = 3.6$), comparada con los materiales basados en la matriz del copolímero P(N-A). Los valores de S_T también se encuentran resumidos en la **Tabla 3**, para todas las muestras analizadas. En ella se observa que una concentración baja de AuNPs en los nanocompositos influye aumentando la capacidad de absorción de agua en los materiales, lo cual resulta congruente con los resultados de hinchamiento discutidos en la sección 7.5.1.

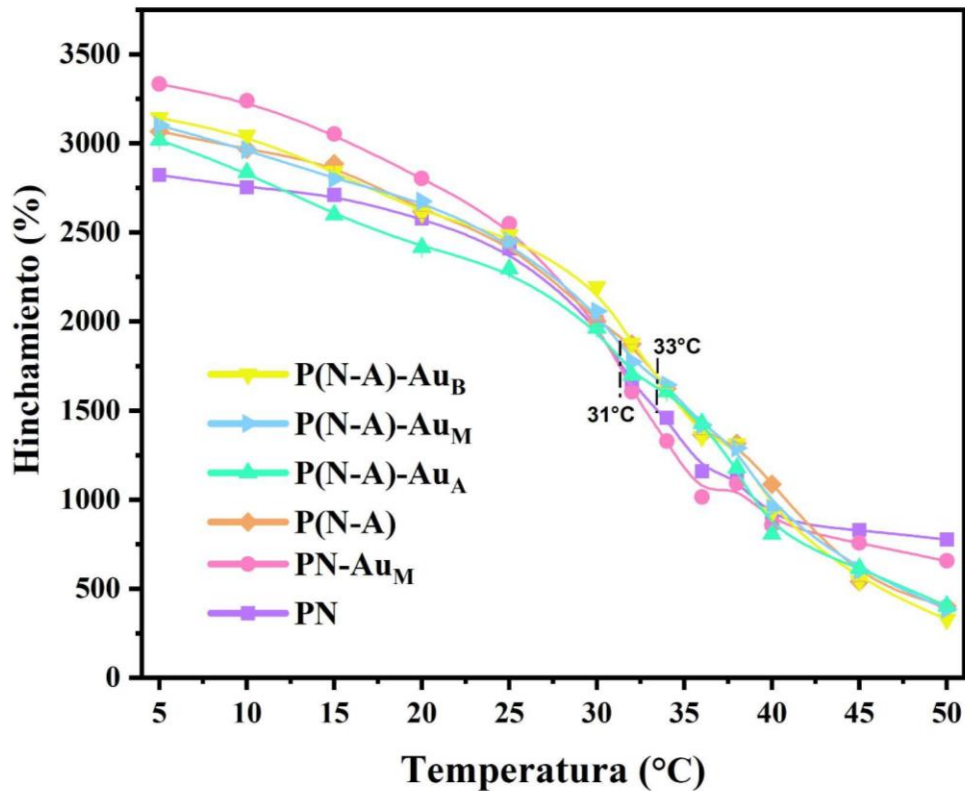


Figura 24. Evaluación del hinchamiento de los materiales propuestos en esta investigación, como función de la temperatura, siguiendo la estrategia 1 (cambios de temperatura: cada 30 min; temperatura de inicio: 5°C).

A partir del estudio de la relación de hinchamiento en función del cambio de la temperatura de 50 a 5 °C (estrategia 2), se observa nuevamente que todos los hidrogeles presentan un hinchamiento moderado a altas temperaturas, es decir, por encima de los 35 °C. Por debajo de dicha temperatura se presentó un aumento en el porcentaje de hinchamiento (**Figura 25**). Este comportamiento es similar al que se muestra en la **Figura 24**. Los valores de LCST y T_T estimados de la **Figura 25** se encuentran reportados en la **Tabla 3**. Sin embargo, para este estudio, los cambios de temperatura en el medio se realizaron cada 3 h. Bajo estas condiciones, al igual que en la estrategia 1, se observó que los materiales PN y PN-Au_M presentaron una respuesta térmica más definida y congruente con las reportadas por otros autores (*Corezzi et al., 2018*), especialmente para el rango de temperatura medido de 50 a 35 °C. En contraste, en el rango de 30 a 5 °C se observa un aumento logarítmico en el hinchamiento de los materiales, alejándose de la tendencia sigmoideal esperada en este estudio. Estos resultados, para las dos estrategias usadas, se atribuye a que en el rango 30-35°C las fuerzas hidrofóbicas entre los grupos isopropilo de PNIPAAm en la red polimérica se vuelven dominantes. En este punto, la proporción de hinchamiento de los hidrogeles disminuye debido al debilitamiento de los enlaces de hidrógeno entre las cadenas de polímeros y el agua. Por lo tanto, las fuerzas de hidratación hidrofílicas disminuyen a temperaturas más altas y las fuerzas hidrofóbicas influyen en las redes de polímeros para formar una estructura globular. Como resultado, las moléculas de agua absorbidas se descargan de los polímeros debido a la contracción y agregación de las cadenas de polímeros. En consecuencia, se observa una gran disminución en la relación de hinchamiento de equilibrio por encima de la LCST, y esto conduce a una tendencia homogénea en las propiedades de

hinchamiento del material cuando se encuentra expuesto a temperaturas superiores a este punto crítico (Rana et al, 2022). Por otro lado, para el rango comprendido entre 5 y 30 °C, al aumentar el tiempo de contacto entre el polímero y las moléculas de agua, se ve favorecida la interacción entre las dos especies, produciendo así un mayor nivel de hinchamiento. Cabe resaltar que los tiempos límites de hinchamiento estimados en la sección 7.5.1., resultaron superiores a las 30 h para todas las muestras sintetizadas en esta investigación. Por lo tanto, los cambios de temperatura cada 30 min (estrategia 1) o cada 3 horas (estrategia 2), aún se encuentran lejanos de las condiciones de equilibrio. No obstante, el que los materiales presenten un mayor hinchamiento entre mayor sea el lapso de tiempo entre cada medición, se considera congruente con los comportamientos típicos de estos hidrogeles.

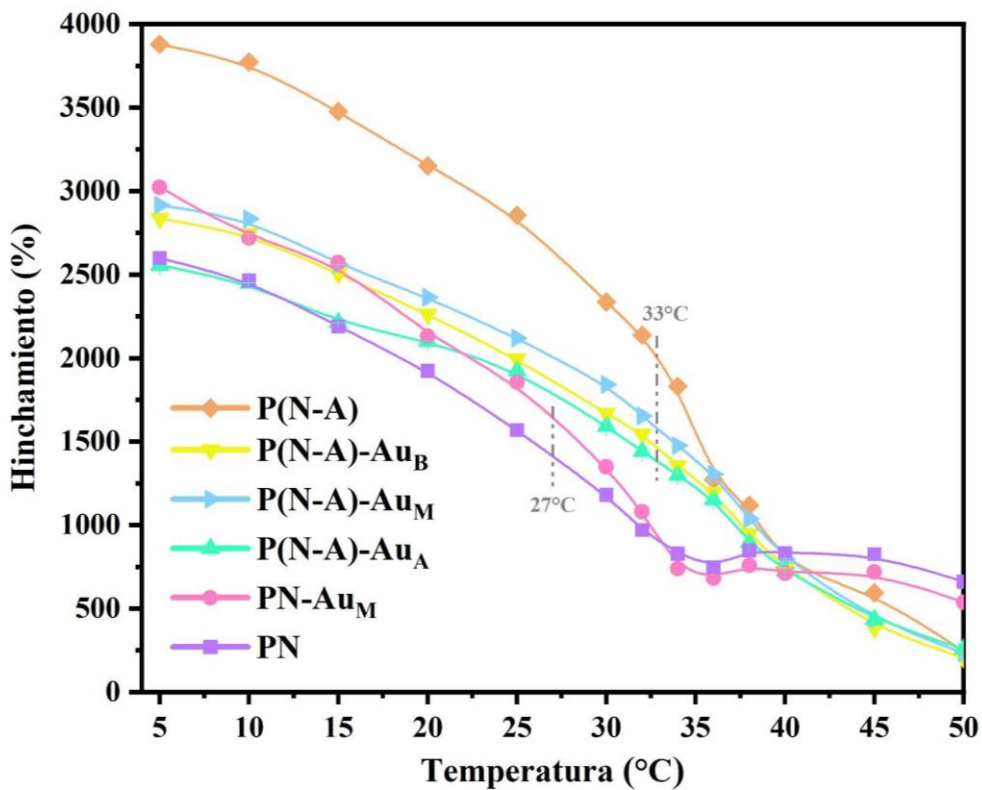


Figura 25. Evaluación del hinchamiento de los materiales propuestos en esta investigación, como función de la temperatura, siguiendo la estrategia 2 (cambios de temperatura: cada 3 h; temperatura de inicio: 50 °C).

Tabla 3. Resultados de LCST y valores de S_T estimados desde los estudios de hinchamiento vs. temperatura, para los hidrogeles y nanocompositos sintetizados en este trabajo.

Muestra	<i>Estrategia 1</i> Cambio de temperatura: cada 30 min Temperatura de inicio: 5 °C		<i>Estrategia 2</i> Cambio de temperatura: cada 3h Temperatura de inicio: 50 °C	
	LCST	S_T	LCST	S_T
PN	31 °C	3.6	27 °C	3.9
PN-Au _M	31 °C	5.1	27 °C	5.6
P(N-A)	33 °C	7.6	33 °C	15.9
P(N-A)-Au _B	33 °C	9.6	33 °C	13.7
P(N-A)-Au _M	33 °C	8	33 °C	12.4
P(N-A)-Au _A	33 °C	7.4	33 °C	9.9

Con el comportamiento observado para las muestras PN y PN-Au_M se deduce que la inclusión de AuNps en la matriz de PNIPAAm, influyó aumentando su capacidad de hinchamiento (S_T de PN = 3.9; S_T de PN-Au_M = 5.6), sin alterar el valor de su LCST (27 °C). Sin embargo, la inclusión de AAm sí representó un aumento considerable en el comportamiento hidrofílico del copolímero P(N-A) (S_T = 15.9) para este estudio. La mayor capacidad de hinchamiento experimentada por la muestra P(N-A) a tiempos moderados de exposición, resulta congruente con las tendencias de hinchamiento evaluadas en la sección 7.5.1. En adición, el aumento en el comportamiento hidrofílico del material tras la incorporación de algunas unidades de AAm para formar el copolímero, hizo que se suavizara la pendiente de caída sobre el rango de evaluación de la LCST, desplazando así su valor estimado hacia mayores temperaturas (ver **Figura 25** y **Tabla 3**). El desplazamiento de la LCST hacia mayor temperatura como consecuencia de incluir AAm en la matriz polimérica, fueron observadas bajo las dos estrategias de medición. En ese aspecto, es importante considerar que la evaluación de la LCST bajo una estrategia que contemple cambiar la temperatura del medio cada 40 horas, establecería una condición de equilibrio que podría conducir a resultados diferentes, en el sentido de lograr desplazar la LCST hacia valores inferiores al de PNIPAAm puro. Sin embargo, las estrategias de medición propuestas en esta investigación se encuentran enfocadas en evaluar las respuestas que presenta el material a tiempos cortos y adaptables a una aplicación como sensores para trabajos de campo.

Tanto en la **Figura 25** como en la **Tabla 3** se observa que todos los nanocompositos basados en el copolímero P(N-A), presentan una tendencia de hinchamiento similar a la de su matriz sintetizada en ausencia del sistema nanoestructurado. Las nanopartículas no afectaron la LCST de los materiales, pero sí influyeron sobre sus capacidades de hinchamiento. Se observa que conforme aumenta la concentración de AuNPs en la matriz polimérica, el material reduce su absorción de agua, debido a

la oclusión de los espacios disponibles en la red polimérica para albergar las moléculas de agua en su interior.

7.6 Análisis térmico de hidrogeles y nanocompositos

El análisis TGA (**Figura 26a**) reveló tres etapas principales en las muestras analizadas en su estado seco o deshidratado. La primera, que tuvo lugar desde los 50 hasta por debajo de los 150 °C, indica en una pérdida inicial de masa del material de entre el 5% y el 7% en peso. Por lo general, esta pérdida es asignada a la eliminación de agua asociada en el material (*Contreras et al., 2015*), generando una primera transición térmica alrededor de los 100 °C para todas las muestras analizadas, tal como se muestra en la **Figura 26.c**. La segunda etapa, que abarcó un rango de temperatura aproximado entre 200 °C y 300 °C, marca una zona de estabilidad térmica del material, en la que se presenta una resistencia de las muestras a perder peso conforme se aumenta la temperatura. La tercera etapa, que va desde los 350 °C y los 450 °C, se asocia con la degradación térmica del material. Para este caso, esa degradación implica la afectación de las fracciones orgánicas del material, y está fuertemente influenciada por las unidades de PNIPAAm, que es el componente mayoritario de los hidrogeles y nanocompositos. Un estudio reportado por Rana y colaboradores para microgeles de PNIPAAm, presentaron esta etapa de degradación sobre el mismo rango de temperatura (*Rana et al., 2022*). En nuestro caso, durante esta tercera etapa las muestras experimentaron una pérdida de masa de aproximadamente del 92%. En la **Tabla 4** se resumen los valores de la transición térmica (T_2), los cuales corresponden al máximo estimado desde la **Figura 26c**. En esta Tabla también se encuentran reportados los valores del porcentaje de residuo estimados desde la **Figura 26.a**. En estos se observa que la presencia de AuNPs y el aumento de su concentración en la matriz polimérica conducen a un porcentaje de residuo menor, comparados con los encontrados para los hidrogeles. Aunque en un nanocomposito se espera que el componente inorgánico sea quien aporte en mayor proporción sobre el residuo que se genera tras la descomposición térmica del componente orgánico, en los resultados de los estudios de hinchamiento discutidos en la sección 7.5 se encontró que el sistema nanoestructurado influyó sobre las características del entrecruzamiento de las cadenas poliméricas, afectando así los niveles de hinchamiento en los materiales. En consecuencia, la cantidad de residuos en los materiales que fueron sintetizados en ausencia de AuNPs resultó mayor que en sus correspondientes nanocompositos, lo cual indica que las cadenas poliméricas con mayor entrecruzamiento presentaron una tendencia a carbonizarse a temperaturas superiores a 400 °C. Esto quiere decir que las redes poliméricas con AuNPs en su interior, aparentemente no pueden compactarse en su estado seco, al nivel que sí lo hacen los hidrogeles PN y P(N-A). Ese mayor grado de entrecruzamiento y compactación es lo que conduce a la formación de estructuras estables, después de ser expuestos a altas temperaturas. La producción de residuos sólidos después de la descomposición térmica de hidrogeles, evaluada por TGA, ha sido reportada por Zhang et al., 2018; García et al., 2010.

La **Figura 26b** muestra una vista ampliada del área de análisis de 300 a 450 °C. A partir de esta se estimó el valor de la temperatura (T_3), la cual representa la temperatura a la cual se genera una pérdida del 25 % de peso en cada material. Así, con todas estas variables se infiere que la incorporación de fracciones de PAAm al material condujo a una reducción en la temperatura de degradación T_2 y T_3 de los materiales. Este comportamiento es típico cuando se incluyen monómeros hidrofílicos en una

matriz polimérica. Por ejemplo, en los estudios reportados por Zhang y colaboradores encontraron que el PNIPAAm se degradó a una temperatura mayor que un copolímero de NIPAAm/ácido acrílico, siendo el ácido acrílico un monómero altamente hidrofílico por contener la función ácido carboxílico en su estructura (Zhang *et al.*, 2018). Por otro lado, la comparación directa entre el copolímero P(N-A) y sus respectivos nanocompositos, indican que la incorporación de AuNPs aumenta levemente la temperatura T_3 . 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 se aumentan la proporción de cadenas alifáticas provenientes de este agente surfactante.

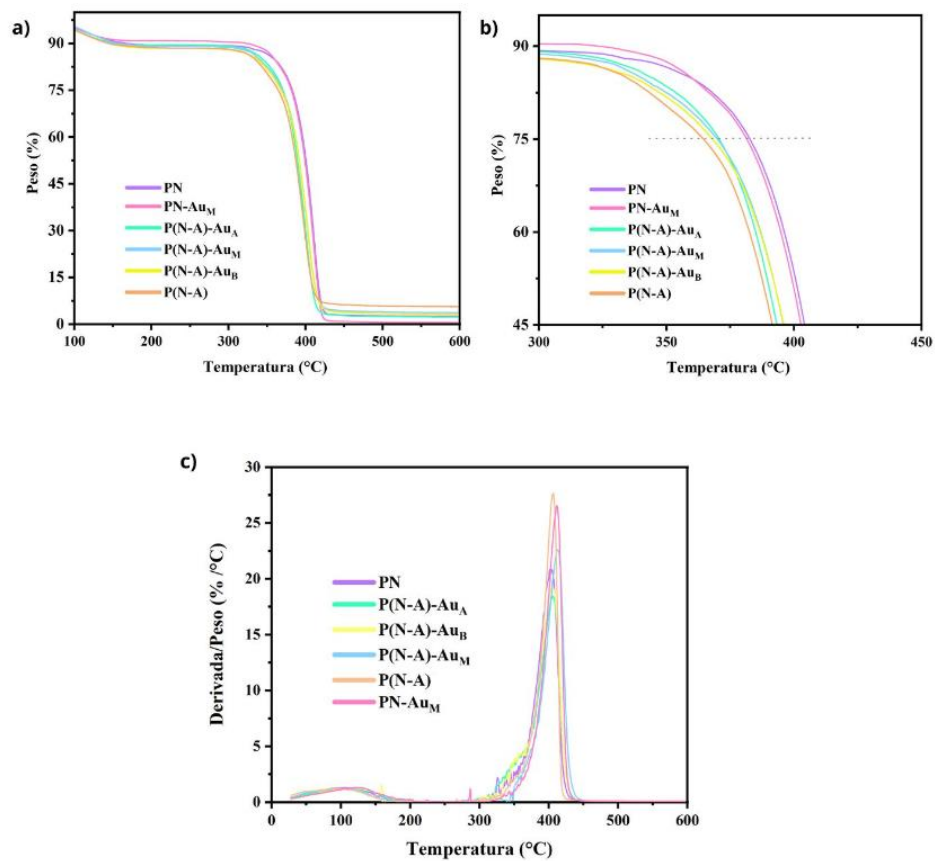


Figura 26: Termogramas TGA de los diferentes nanocompositos (a), vista ampliada de los termogramas TGA a 300-450 °C (b), y derivada del TGA (DTG).

Tabla 4. Resultados de transiciones térmicas y generación de residuos en determinaciones TGA de los materiales propuestos en esta investigación.

<i>Código asignado a la muestra</i>	<i>T₂ (°C)</i>	<i>T₃ (°C)</i>	<i>Residuo (%)</i>
<i>PN</i>	403	383	2.5
<i>PN-Au_M</i>	412	381	0.5
<i>P(N-A)</i>	408	364	5.0
<i>P(N-A)-Au_B</i>	405	367	3.0
<i>P(N-A)-Au_M</i>	413	368	3.7
<i>P(N-A)-Au_A</i>	406	371	2.3

La determinación de la temperatura de transición vítrea (T_g) se realizó mediante la técnica de Calorimetría Diferencial de Barrido (DSC). Esta técnica mide los cambios de calor en una muestra en función de la temperatura o el tiempo, cuando se somete a un programa controlado de calentamiento o enfriamiento. La técnica se basa en la comparación del flujo de calor que atraviesa la muestra con el que atraviesa una muestra de referencia en las mismas condiciones térmicas. DSC es una técnica muy útil para el estudio de los polímeros, ya que permite detectar transiciones térmicas como la transición vítrea, la fusión, la cristalización y la descomposición (Mahmoud y Tan, 2018 ; Schindler et al., 2017). En general, la T_g representa un cambio reversible en la estructura molecular del polímero que ocurre cuando se calienta o se enfría la muestra. En un termograma DSC, la T_g se puede detectar como un cambio en la capacidad calorífica específica (C_p) del polímero. Cuando un polímero se calienta, su C_p aumenta en la transición vítrea debido a un aumento en la movilidad de las cadenas moleculares. Por otro lado, cuando el polímero se enfría a través de la transición vítrea, su C_p disminuye debido a una disminución en la movilidad de las cadenas moleculares. La T_g se determina en un termograma DSC mediante la identificación del punto de inflexión en la curva de C_p vs temperatura. Este punto se conoce como la temperatura de transición vítrea (T_g). La T_g es una propiedad importante de los polímeros, ya que está relacionada con la rigidez del material y su capacidad para deformarse plásticamente. Por lo tanto, la determinación precisa de la T_g es esencial para el diseño y la selección de materiales poliméricos adecuados para aplicaciones específicas.

Los termogramas DSC para todos los materiales sintetizados en esta investigación, evaluados desde su estado deshidratado, se muestran en la **Figura 27**, mientras que los valores de T_g estimados se enlistan en la **Tabla 5**. Las transiciones térmicas observadas en el rango de 330 a 356 °C corresponden a la presencia de T_g en los polímeros, mientras que las presentadas aproximadamente entre 400-450 °C, en forma de pozo, son asignadas a la descomposición térmica de los materiales, lo cual ya fue discutido con los termogramas TGA (**Figura 26**).

En primera instancia, se observa en la **Figura 27** que la inflexión a 356 °C es muy mínima en PN. Esto indica que, aunque se identifica a este punto como una Tg en el polímero, el grado de movilidad entre las cadenas de PN estaría más limitado que en el copolímero P(N-A), quien presenta un punto de inflexión más definido a 331 °C. Tanto la diferencia en el nivel de la inflexión como el desplazamiento de la Tg a valores menores, confirma que la red de PNIPAAm presenta mayor nivel de entrecruzamiento, y que la inclusión de AAm para conformar el copolímero, induce mayor desorden en la estructura. Lo anterior resulta coherente con las evidencias encontradas hasta el momento mediante las caracterizaciones XRD y los estudios de hinchamiento de los materiales propuestos.

El análisis DSC de los nanocompositos nos confirma que la inclusión de AuNPs en la matriz polimérica reduce el nivel de movilidad de los segmentos de cadena entre cada punto de entrecruzamiento, debido a la ocupación de los espacios de la red por parte de este sistema nanoestructurado. Lo anterior se hace notorio al observar que la inflexión en todos los nanocompositos se reduce, comparadas con las presentadas por su correspondiente hidrogel. Como consecuencia, los valores de Tg también aumentan conforme se restringe la movilidad de los segmentos de cadena.

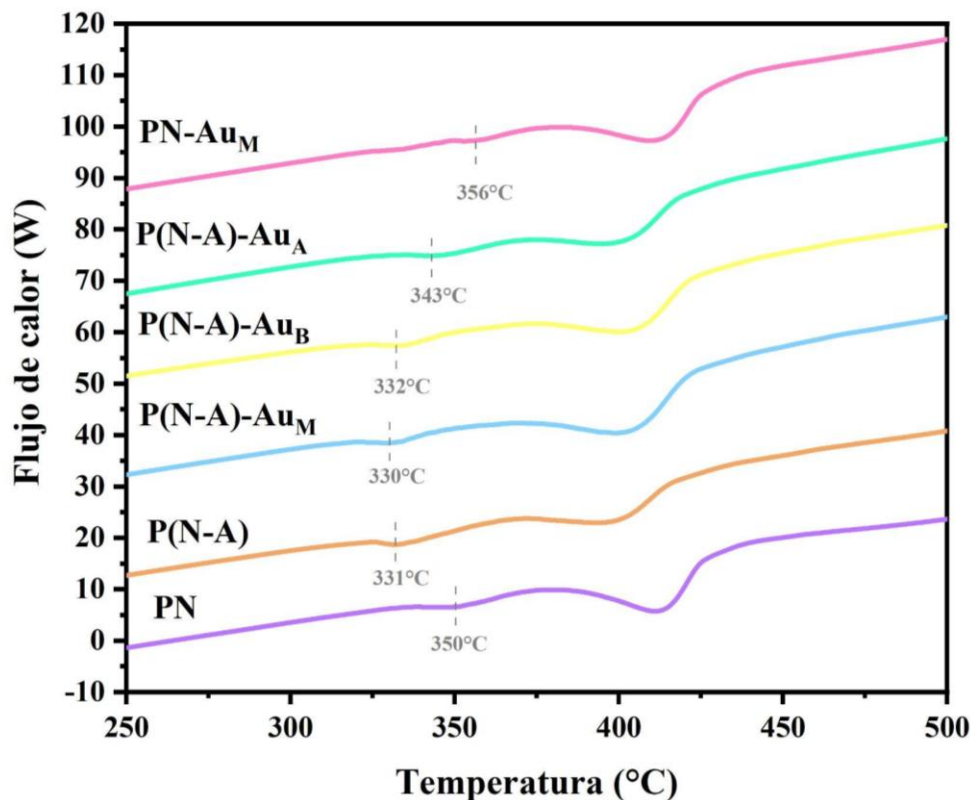


Figura 27. Termograma DSC de los materiales propuestos en esta investigación.

Tabla 5. Resultados de transiciones térmicas y generación de residuos en determinaciones DSC.

<i>Muestra</i>	<i>Tg (°C)</i>
<i>PN</i>	350
<i>PN-Au_M</i>	356
<i>P(N-A)</i>	331
<i>P(N-A)-Au_B</i>	332
<i>P(N-A)-Au_M</i>	330
<i>P(N-A)-Au_A</i>	343

7.7 Evaluación de composición elemental por espectroscopía XPS

La **Figura 28** muestra el espectro XPS de baja resolución para los hidrogeles y nanocompositos, los cuales fueron analizados en su estado seco o deshidratado. En todos ellos se observa la contribución general de elementos como el carbono (C 1s) a 245 eV, Nitrógeno (N 1s) a 400 eV y oxígeno (O 1s) a 531 eV. Estas señales se atribuyen principalmente a la matriz polimérica de los materiales. En general, al considerar individualmente los componentes mayoritarios de los polímeros, se encuentra que cada molécula de NIPAAm aporta 6 átomos de carbono al polímero, un átomo de oxígeno y uno de nitrógeno. Por su lado, cada molécula de AAm aporta 3 átomos de carbono, uno de oxígeno y uno de nitrógeno. Finalmente, el agente entrecruzante, MBAAm, aporta con 7 carbonos, 2 oxígenos y 2 nitrógenos. Por lo tanto, aún cuando la composición de estas tres especies en el polímero difiere, en el espectro XPS se observa una mayor intensidad en el pico de carbono (C 1s), lo cual coincide con el aporte mayoritario de carbono en la estructura. No obstante, también se observa en el espectro una contribución mayor en el oxígeno (O 1s), comparado con la intensidad del nitrógeno (N 1s). Este excedente podría provenir de las especies coadyuvantes de la reacción, como el iniciador APS, que aporta 8 átomos de oxígeno por cada molécula. Sin embargo, APS también aporta azufre (S) en su estructura, lo cual podría identificarse en el espectro XPS con una señal alrededor de los 164 eV, para S (2p). En nuestro caso, esta señal no se observa. Por otro lado, el sistema nanoestructurado también puede contribuir con la señal de C y O, debido a la presencia de Tween-20 como agente estabilizante de las AuNPs. En adición, la contribución individual de Au es esperada sobre los 90-100 eV. Sobre esta zona, en el espectro de la Figura 28, se observan contribuciones anómalas y de baja intensidad. Por consiguiente, se recurrió al análisis de alta resolución de XPS para confirmar con mayor certeza su presencia. Los espectros se muestran en la **Figura 29**.

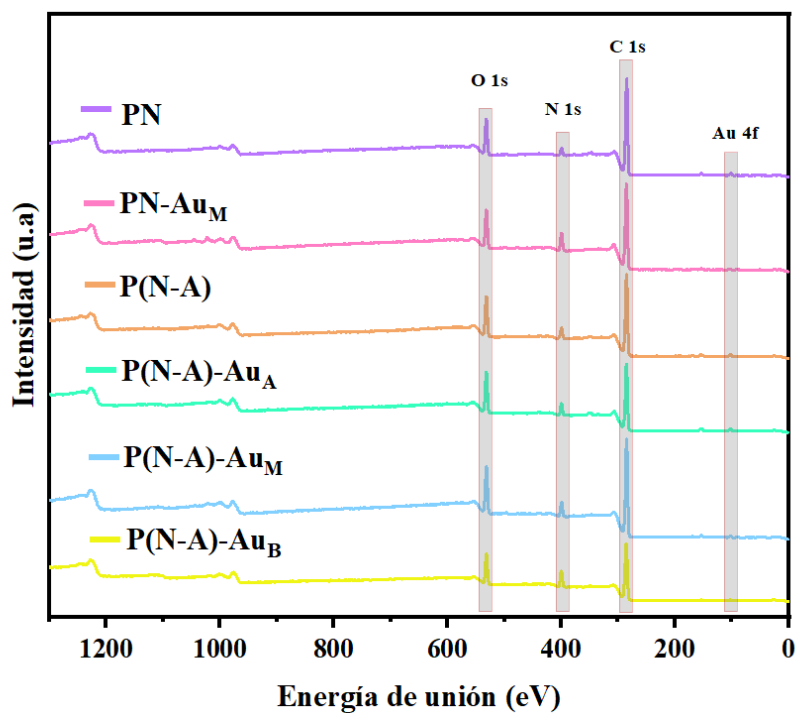


Figura 28. Espectro XPS de baja resolución para los hidrogeles y nanocompuestos propuestos en esta investigación.

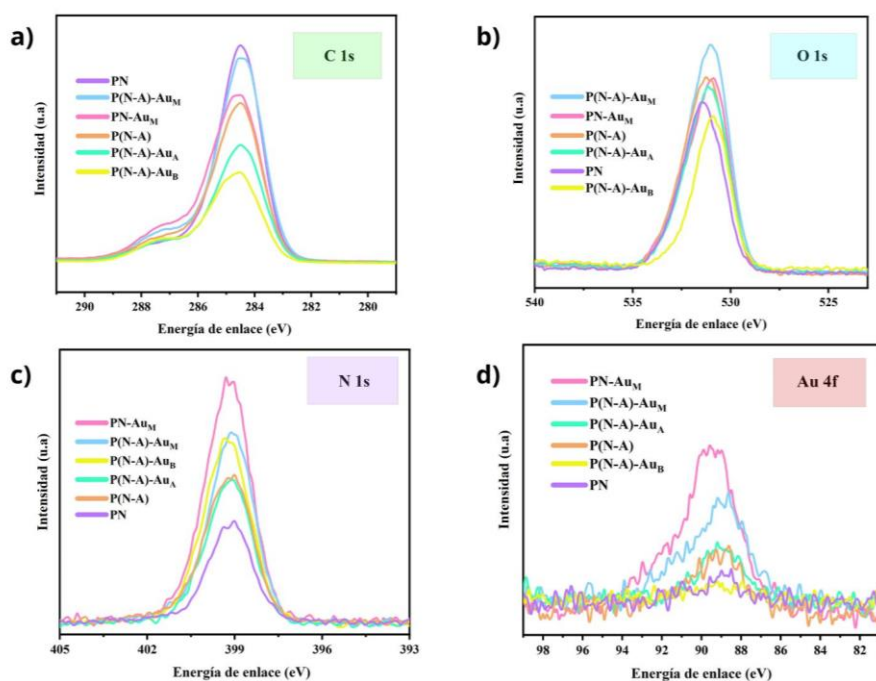


Figura 29. Espectros XPS de alta resolución para las señales de carbono (a), oxígeno (b), nitrógeno (c) y oro (d) presentes en los materiales propuestos en esta investigación.

En la **Figura 29a** se observa la señal correspondiente a C (1s) para todas las muestras, en la cual aportan los enlaces C-C provenientes de las cadenas principales de la matriz polimérica a 284.5 eV; los enlaces C-N de los grupos amida provenientes de las unidades de PNIPAAm y PAAm, así como el agente entrecruzante, MBAAm, a 286 eV; y los enlaces C=O propios de la función carbonilo en las amidas a 288.8 eV (Wang *et al.*, 2005). Aunque sobre todas las muestras se observa una contribución en el rango 289-283 eV, la mayor intensidad es observada para el hidrogel sintetizado exclusivamente con PNIPAAm (muestra PN). Sin embargo, la intensidad del enlace C-C (284.5 eV) es la que se reduce, en mayor proporción, tanto con la incorporación de AuNPs, tal como se observa en la muestra PN-Au_M, como con la inclusión de AAm para formar el copolímero (muestra P(N-A)). Esto indica que, a pesar de que las muestras fueron analizadas en su estado contraído, todo factor que influya hacia la generación de redes poliméricas con menor grado de entrecruzamiento, conlleva a un menor nivel de empaquetamiento de las cadenas poliméricas, y como consecuencia, la cantidad de átomos de C presentes por unidad de área o volumen se verá también reducida. Cabe resaltar que las evidencias sobre la influencia de AAm y AuNPs sobre el ordenamiento y entrecruzamiento de las cadenas en los nanocompositos, ya fueron expuestas en las secciones correspondientes a los estudios de hinchamiento y análisis XRD y térmico de los materiales propuestos en esta investigación. También es importante destacar que las intensidades de los picos van a variar conforme vayan apareciendo otros átomos diferentes en la muestra.

En la **Figura 29b** se observa la señal XPS del pico de O (1s) de todas las muestras. La muestra PN presenta un pico definido a 532 eV, que corresponde a los enlaces C=O de la función carbonilo de los grupos amida. En general, para los nanocompositos, se observa un desplazamiento del máximo de esta señal hacia menor energía para todas las muestras, y un aumento muy leve en la intensidad, excepto para la muestra con menor concentración de AuNPs (muestra P(N-A)-Au_B). Esto es un indicativo de que la aportación atómica de O puede verse afectada por la inclusión del sistema nanoestructurado. Es importante resaltar que en este sistema, el componente que puede aportar a esta señal es el agente estabilizador Tween-20, el cual contiene varios enlaces C-O- en su estructura, propios de la función hidroxilo. En adición, para los nanocompositos con concentraciones media y alta de AuNPs, se observa una contribución combinada de los dos tipos de enlace (-C-O- y -C=O) en la única señal observada a 531 eV, mientras que en el nanocomposito con concentración baja de AuNPs, esta contribución aparentemente está más influenciada por el enlace -C-O- que por el grupo carbonilo propio de las amidas. Esto se puede explicar considerando que, para los polímeros en estado deshidratado, un aumento de los grupos hidroxilo de la superficie del sistema nanoestructurado, conlleva a una mayor asociación entre el sistema nanoestructurado y los grupos carbonilo del polímero por la formación de enlaces de hidrógeno. Por consiguiente, a menor concentración de AuNPs, y, por tanto, menor cantidad de Tween-20 en la muestra, se esperaría que las cadenas del polímero hayan crecido con sus grupos carbonilos orientados predominantemente hacia las regiones más cristalinas del material, en las cuales la técnica XPS presenta la limitación típica sobre el nivel de profundidad (10 nm) a la que puede obtener información de la superficie a analizar. Es por ello que la mayor proporción de la señal O (1s) para la muestra P(N-A)-Au_B se puede atribuir a la presencia del sistema nanoestructurado.

En la **Figura 29c** se muestran las señales correspondientes a N (1s) para todas las muestras. De forma general, se observa en este espectro que la contribución de nitrógeno a 399 eV proviene exclusivamente de los grupos amida aportados tanto por PNIPAAm como por PAAm (*Wang et al., 2005*). La diferencia entre los dos consiste en que PNIPAAm contienen grupos amida secundaria en su estructura, mientras que PAAm contiene amidas primarias. No obstante, para el análisis XPS de muestras poliméricas frecuentemente se dificulta resolver con precisión diferencias de este tipo, debido a la diversidad en el ambiente químico que rodea a cada uno de estos grupos en una macromolécula. Sin embargo, a partir de este resultado sí se puede descartar la presencia de otro tipo de enlace con átomos de N, y se puede atribuir la diferencia en la intensidad de los picos a la influencia que puede ejercer la incorporación del sistema nanoestructurado sobre la orientación de los enlaces C-N del polímero en su estado deshidratado (colapsado).

Finalmente, en la **Figura 29d** se presentan los espectros XPS de todas las muestras, para el rango de energía de 82-98 eV. Sobre esta región se pretende identificar la presencia de átomos de Au sobre los materiales, ya que las muestras nanoestructuradas típicamente presenta la contribución de un doblete con una señal de Au 4f_{7/2} a 84 eV y otra de Au 4f_{5/2} a 88 eV, tal como lo reportan otros autores (*Majeed et al., 2005; Pramanik et al., 2018*). Sin embargo, la señal observada sobre el rango evaluado no presenta estas características. En contraste, se encontró un pico ancho, de baja intensidad y alta incidencia de ruido con máximos entre 89-91 eV, para algunas muestras. Por lo tanto, esta señal coincide con la presencia de Zn en los materiales, ya que presenta un máximo a 89 eV correspondiente Zn 3p_{3/2}, con un hombro a 91 eV correspondiente a Zn 3p_{1/2}, tal como lo ha reportado *Ekicibil et al (2015)*. Además, la presencia de Zn también se puede corroborar con el espectro XPS de baja resolución (ver Figura 28), ya que presenta un pico a 1021 eV y otro a 1044 eV, asignados a Zn 2p_{3/2} y 2p_{1/2}, respectivamente (*Xu et al., 2013*). No obstante, las intensidades de estas señales observadas en los espectros XPS (baja y alta resolución) indican que este elemento se encuentra en muy baja proporción en los materiales analizados y, por lo tanto, la presencia de Zn se puede considerar como contaminación de la muestra, la cual puede provenir del papel lija utilizado para pulir las superficies de los polímeros antes de ser introducidos a la cámara de análisis del equipo XPS. Desde su fabricación, el papel lija puede contener minerales como óxidos de aluminio y de zinc.

La ruta metodológica y el seguimiento colorimétrico usados para la síntesis de los nanocompositos condujo a la certeza de que las AuNPs sí quedaron efectivamente embebidas en el interior de la matriz polimérica. Por lo tanto, la ausencia de señales correspondientes a Au en los espectros XPS se pueden atribuir a dos causas principales: 1) todas las concentraciones de AuNPs usadas como medio de dispersión para la síntesis del polímero están aún por debajo del límite de detección del instrumento XPS utilizado; o 2) la matriz polimérica y el agente estabilizante, Tween 20, el cual quedó en la superficie como recubrimiento de las AuNPs, conforman juntos una barrera con espesor superior a 10 nm, que limita los límites de profundidad de la técnica XPS. En la sección 7.9 se discutirá si estos factores limitan también la respuesta de detección de los materiales ante la presencia de 4-MBA y PFOA.

7.8 Absorción de 4-MBA y PFOA

7.8.1. Absorción de 4-MBA

Los materiales propuestos fueron sumergidos en disoluciones acuosas de 4-MBA para lograr absorber este compuesto en el interior de las matrices poliméricas por hinchamiento y difusión, y lograr así, generar una respuesta medible por la técnica SERS. Se espera que esta respuesta se genere como producto de la interacción entre las AuNPs y las moléculas de 4-MBA, mediada por las cadenas hinchadas del copolímero P(N-A). El 4-MBA fue entonces utilizado en esta investigación como una molécula referente para el análisis del fenómeno SERS. Esto se encuentra basado y sustentado por los diferentes resultados ya publicados por el grupo de investigación que lidera este proyecto, entre los que se destacan: Jáuregui et al., 2021, Romo et al., 2021, Romo et al., 2011.

Para esta parte de la investigación, se corroboró, a simple vista, que el 4-MBA sí resultara absorbido en el interior de los materiales. Esto se logró después de interrumpir el contacto entre los materiales y la disolución de 4-MBA, y de exponer los materiales al proceso de secado. Una vez fue alcanzado su estado deshidratado, los materiales se tornaron de color blanco en su interior. Dicho apariencia fue interpretada como el resultado de la acumulación del 4-MBA sólido, dentro del hidrogel (Ver **Figura 30**).

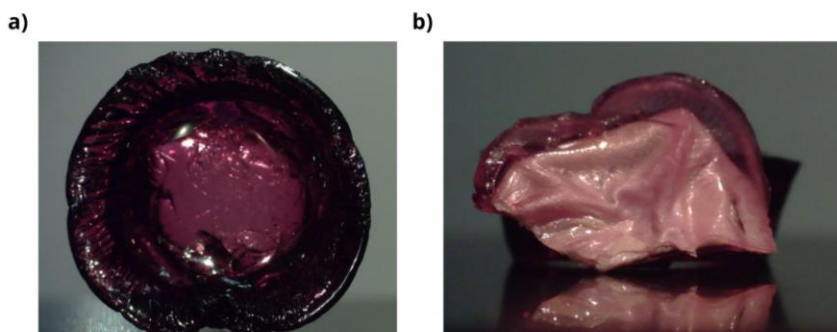


Figura 30. Fotografía del nanocomposito P(N-A)-Au_M antes (a) y después de la absorción de 4-MBA (b).

7.8.2. Absorción de PFOA

Contrario a como se evaluó cualitativamente la absorción de 4-MBA en nuestros materiales, la toxicidad y los peligros asociados al uso de concentraciones altas de PFOA, hizo que se diseñara un método experimental en el que no se superaran concentraciones de este contaminante en el orden de ppm. Entonces, para lograr determinar la afinidad de los materiales propuestos por las moléculas de PFOA y, subsecuentemente, lograr estimar la concentración de PFOA absorbida, se recurrió a diseñar un método indirecto de cuantificación, usando para ello el colorante cristal violeta (CV). Este colorante tiene la ventaja de que puede formar un complejo de coordinación con el PFOA (Bai S. et al., 2022), reduciendo así el porcentaje de absorción del CV en el rango del UV-vis. Esta cualidad fue aprovechada para estimar indirectamente si efectivamente se presentaba una disminución en la concentración de PFOA en el medio acuoso usado para promover el hinchamiento de los materiales.

Para ello, se realizó una curva de calibración con los resultados de absorción de CV en función de la concentración de dicho colorante (**Figura 31a**). El rango de absorbancia evaluado facilitó la determinación del rango de trabajo, en el cual una concentración específica de CV pudo usarse como referente para interactuar con diferentes concentraciones de disolución acuosa de PFOA, generando una respuesta medible por espectroscopía UV-vis. La concentración referente encontrada fue 7×10^{-6} M. Por lo tanto, a partir de esta concentración, se construyó una nueva curva de calibración registrando los resultados de absorción del CV en función de su interacción con diferentes concentraciones de PFOA. Este resultado se muestra en la **Figura 31.b**. En esta se observa un comportamiento lineal para todo el rango evaluado, y se visualiza como la absorbancia de CV en el espectro UV-vis, se reduce con el aumento de la concentración de PFOA.

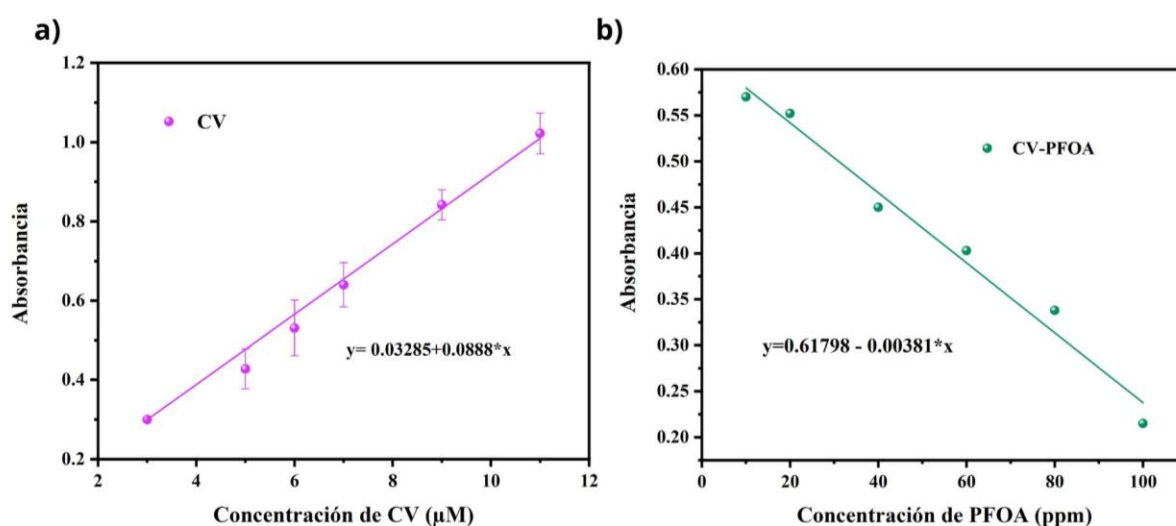


Figura 31. Curva de calibración con los resultados de absorción de CV en función de la concentración de CV (a). Curva de calibración registrando los resultados de absorción del CV a una concentración fija de 7×10^{-6} M, en función de su interacción con diferentes concentraciones de PFOA (b).

Para esta parte de la investigación, el método indirecto de medición fue diseñado procurando que el uso de PFOA se limite a lo mínimo posible, usando para ello las concentraciones de este contaminante consideradas dentro de los límites permisibles y de detección reportadas en otros trabajos. Se recuerda que el PFOA ofrece la limitación de que no es medible directamente por los métodos espectroscópicos convencionales. Sin embargo, por medio del método propuesto se pudo confirmar que una fracción del PFOA si fue absorbida en el nanocomposito utilizado para la prueba. Se determinó que la concentración de PFOA absorbida en el nanocomposito P(N-A)-Au_A fue de 105 ppm. Este material cargado con PFOA fue utilizado para las pruebas de validación de la respuesta SERS.

7.9 Análisis de la señal Raman obtenida del nanocomposito diseñado y la potencial generación del efecto SERS.

7.9.1 Respuesta Raman del nanocomposito diseñado y validación de la generación del efecto SERS.

En la **Figura 32** se aprecian fotografías de los materiales utilizados, obtenidas con una cámara de alta resolución de 30 fps. Las imágenes en la **Figura 32 a y c**, muestran los xerogeles P(N-A) y P(N-A)-Au_M respectivamente, antes de ser hinchados en presencia de la molécula prueba 4-MBA (ácido mercaptobenzoico). Las **Figuras 32 b y d** muestran la apariencia de los mismos dos materiales, previamente hinchados en presencia a en xerogeles. Estas muestras fueron etiquetadas como P(N-A)-4-MBA y P(N-A)-Au_M-4-MBA. Consistente con observaciones anteriores, el xerogel P(N-A) se caracteriza por presentar una marcada transparencia, mientras que el nanocomposito P(N-A) - Au_M, presenta un color rojizo-transparente, debido a las AuNPs inmobilizadas en la matriz polimérica. Por su parte, los xerogeles que fueron expuestos a la presencia de 4 - MBA en alta concentración, muestran un cambio del color y la forma que toma el material en su estado deshidratado. La muestra P(N-A)-4 - MBA presenta una coloración blanquecina sin transparencia, mientras que la muestra P(N-A)-Au_M- 4 - MBA despliega una coloración rojiza - blanquecina sin transparencia. Este cambio de apariencia sugiere que los materiales absorbieron 4-MBA actuando como reservorios de dicha molécula prueba a detectarse.

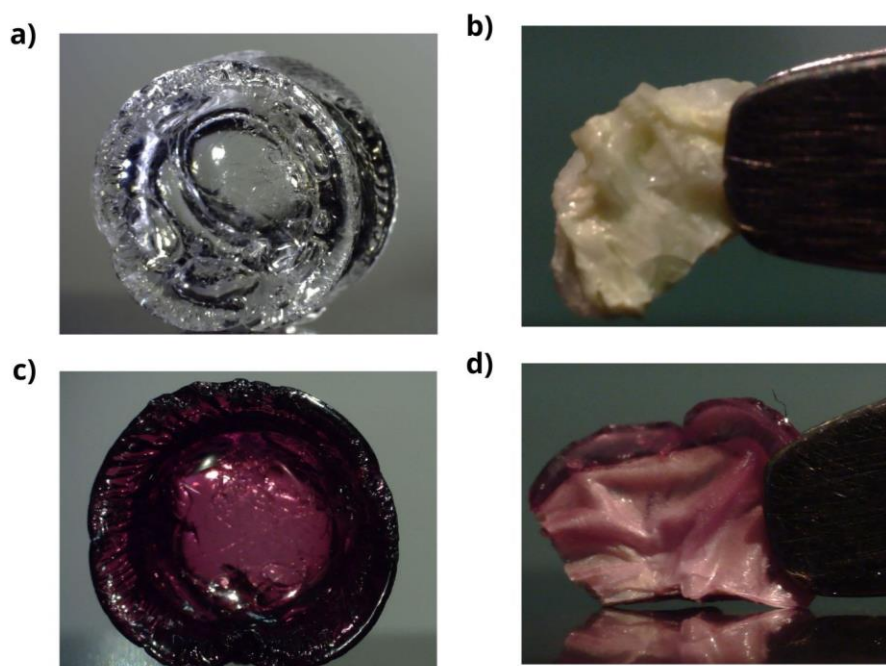


Figura 32. Fotografías de una pastilla de xerogel de P(N-A) (a), del nanocomposito P(N-A) - 4 -MBA (habiendo sido expuesto a 4 - MBA) (b) , del nanocomposito P(N-A)-Au_M (c) y del nanocomposito P(N-A) - Au_M - 4-MBA (previamente expuesto a 4 - MBA en alta concentración).

Se eligió una molécula estándar bien conocida por su sección transversal SERS y cuyo espectro típico tanto Raman como en presencia de efecto SERS fuera bien conocido; para ello, se escogió y utilizó la molécula 4-MBA. Se comenzó realizando pruebas de hinchamiento del hidrogel en una solución con alta concentración de 4-MBA (10mM), para poder probar la presencia del analito en el interior de los hidrogeles una vez secados a temperatura ambiente (xerogeles). Además, se llevó a cabo el hinchamiento de un hidrogel con AuNPs inmovilizadas en su matriz polimérica (P(N-A)-Au_M).

La señal Raman de las muestras P(N-A), P(N-A)-4-MBA y P(N-A) - Au_M - 4-MBA, se presenta en la **Figura 33**. En estos primeros resultados, se puede comenzar a ver la aparición de un par de picos debido a la acumulación de mayor señal Raman en la región de $\sim 1080 \text{ cm}^{-1}$ - $\sim 1100 \text{ cm}^{-1}$ y ~ 15809 - ~ 1600 con respecto a lo obtenido para la muestra P(NA); resaltados con rectángulos verticales naranja y rojo.

Con la finalidad de poder determinar la señal proveniente de las moléculas analito (4-MBA) con mayor claridad, se llevó a cabo una cierta metodología de procesamiento de los datos, para poder restar (eliminar) la señal proveniente de la matriz polimérica. La **Figura 34** presenta los espectros con la señal Raman proveniente de moléculas presentes en el xerogel con AuNPs inmovilizadas en su interior (P(N-A)-Au_M-4-MBA) y del xerogel sin AuNPs (P(N-A)-4-MBA), espectros etiquetados como “4-MBA-Au_M (nanocomposito)” y “4-MBA (hidrogel)” respectivamente. Además, se observa el espectro correspondiente a la muestra en polvo utilizada para ser disuelta en el agua utilizada en el proceso de hinchamiento de los hidrogeles, a manera de referencia, la cual fue etiquetada como “4-MBA”. La Tabla 6 contiene los valores numéricos de las posiciones de los picos bajo análisis. Los primeros dos renglones de la **Tabla 6** muestran a las posiciones de los dos picos principales del espectro Raman y espectro SERS (espectro Raman generado en presencia del efecto SERS) correspondientes a la señal generada por la molécula 4-MBA (modos de vibración ν_{8a} y ν_{12} correspondientes a respiración del anillo bencénico) de acuerdo a lo reportado por *Capocefalo et al. (2019)*. Guiados por esta información, se pudo identificar de los espectros en la **Figura 34** las siguientes regiones: (i) ν_{8a} , ubicado a 1595, 1588 y 1591 cm^{-1} para las muestras 4-MBA, 4-MBA (hidrogel) y 4-MBA-Au_M (nanocomposito), respectivamente; Y; (ii) ν_{12} , con picos en 1096, 1079 y 1077 cm^{-1} para las muestras 4-MBA, 4-MBA (hidrogel) y 4-MBA-Au_M (nanocomposito), respectivamente. La presencia de ambos picos principales nos permite identificar la presencia de la molécula 4-MBA en ambos xerogeles a partir de sus espectros Raman.

Más aún, buscando poder identificar evidencia experimental para discernir si la señal registrada corresponde a señal Raman convencional o señal SERS, se pudo observar que la información guía previamente reportada por *Capocefalo et al. (2019)*, muestra un desplazamiento de $\sim 10 \text{ cm}^{-1}$ para el pico de ν_{8a} y de $\sim 20 \text{ cm}^{-1}$ para el pico ν_{12} hacia valores de corrimiento Raman menores cuando proviene de señal debido al efecto SERS. Al analizar ambos picos (ν_{8a} y ν_{12}) en nuestros espectros experimentales obtenidos de las mediciones en los dos xerogeles (**Figura 34**) y sus respectivas posiciones (**Tabla 6**), puede observarse que los picos ν_{8a} no sufren desplazamiento significativo hacia valores de corrimiento Raman menores con respecto a la posición del pico correspondiente a señal Raman convencional (1er renglón de **Tabla 6**). No obstante, los picos ν_{12} muestran un desplazamiento significativo hacia valores de corrimiento Raman menores (ver **Figura 34** y renglones 4 y 5 de **Tabla 6**) con respecto a la señal Raman convencional esperada (1er renglón en **Tabla 6**), lo cual resulta

confuso (al sólo tener desplazamiento en uno de los dos picos (i.e. ν_{12}) y no en ambos (i.e. ν_{12} y ν_{8a})) y en el caso del espectro 4-MBA (hidrogel) hasta contradictorio (al esperarse señal Raman convencional por la ausencia de AuNPs en el xerogel). Al consultar la literatura con respecto a posibles moléculas que arrojarán señal Raman en la región de interés, se encontró que iones tipo fosfato presentan una banda prominente de señal Raman entre ~ 1080 y ~ 1095 cm^{-1} , justo en la región de interés para el pico ν_{12} proveniente del 4-MBA; más aún, para lograr la disolución homogénea de la molécula prueba 4-MBA en agua, se utilizó una sustancia de amortiguamiento (“buffer”) rica en $\text{K}_2\text{PO}_4/\text{KHPO}_4$, con lo cual es de esperarse la presencia de iones tipo fosfatos junto con las moléculas de 4-MBA en la solución acuosa utilizada para el hinchamiento de los hidrogeles. Debido a lo anterior, el pico observado en 1077 cm^{-1} para ambos espectros (“4-MBA (hidrogel)” y “4-MBA- Au_M (nanocomposito)”) corresponde a una sobreposición del pico ν_{12} del 4-MBA y de la banda proveniente de los iones tipo fosfatos (al encontrarse en una región de traslape), por lo cual su posición no puede ser correlacionada con precisión con la señal única del pico ν_{12} de la molécula prueba 4-MBA. Una vez entendido lo anterior, podemos inferir que al no registrarse desplazamiento significativo del pico ν_{8a} correspondiente a la molécula prueba 4-MBA, estamos obteniendo señal Raman convencional en ambos xerogeles (incluso en el xerogel con AuNPs). Esto resulta consistente con la alta concentración (10 mM) empleada en la solución de hinchamiento y las imágenes mostradas en la **Figura 32**, donde puede observarse una gran saturación de material compuesto por 4-MBA en todo el interior del xerogel.

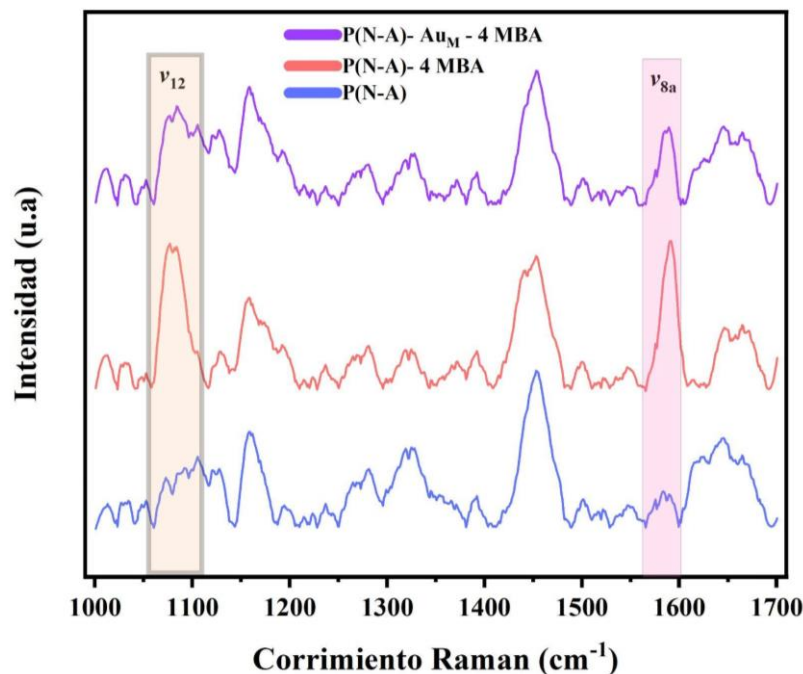


Figura 33. Espectros Raman obtenidos de las señales provenientes de los xerogeles P(N-A), P(N-A)- 4-MBA (10 mM) y del nanocomposito P(N-A)- Au_M - 4-MBA (10 mM).

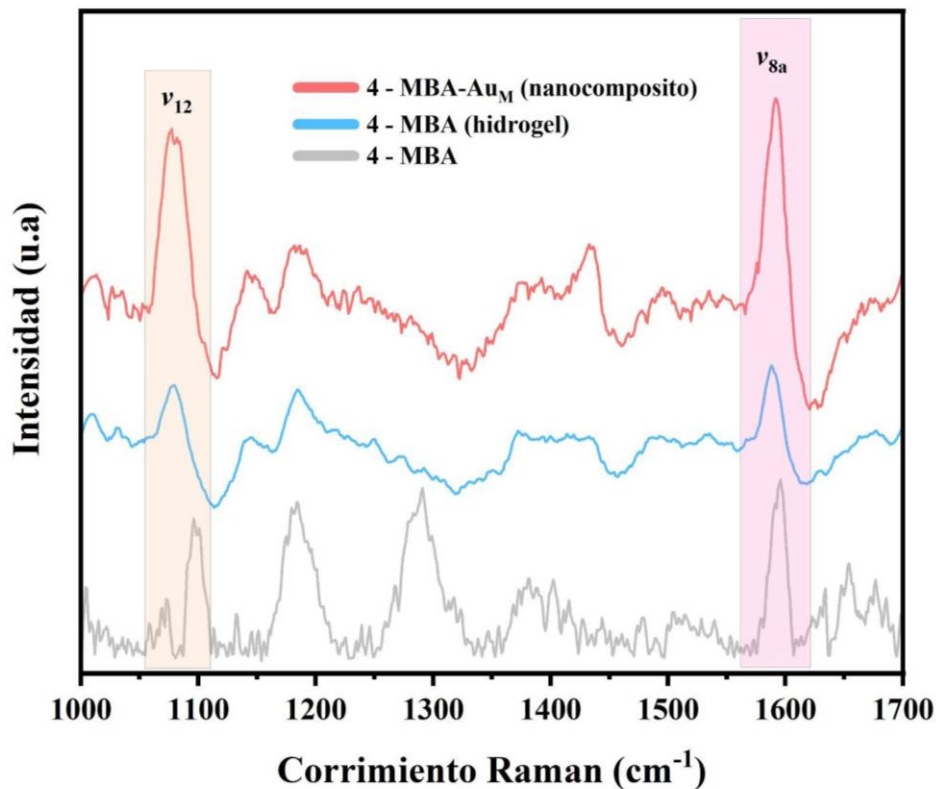


Figura 34. Espectros Raman obtenidos a partir de los xerogeles P(N-A)-4-MBA (10 mM) y P(N-A)-Au_M-4-MBA (10mM), habiéndosele restado la señal proveniente de la matriz polimérica para mostrar con mayor claridad la señal proveniente de las moléculas a detectar.

Tabla 6. Principales parámetros del espectro Raman correspondientes a los picos relacionados con la señal proveniente de la molécula 4-MBA (molécula prueba).

	ν_{8a} – respiración del anillo (cm^{-1})	ν_{12} – respiración del anillo (cm^{-1})
Raman (Capocefalo et al., 2019)	1,594	1,098
SERS (Capocefalo et al., 2019)	1,586	1,076
4 MBA	1,595	1,096
4 MBA (hidrogel)	1,588	1,079
4 MBA- Au_M (nanocomposito)	1,591	1,077

Se llevó a cabo un segundo experimento disminuyendo en dos órdenes de magnitud la concentración de 4-MBA en el agua a utilizarse para el hinchamiento de nuevos hidrogeles. En la **Figura 35** se observa la señal obtenida para las muestras P(N-A) y P(N-A)-Au_A - 4 MBA, habiendo usado una solución acuosa a 0.1 mM de la molécula 4- MBA para su hinchamiento. Se repitió un procesamiento de los datos similar al descrito para los espectros mostrados en la **Figura 34**, para restar (remove) la señal proveniente de la matriz polimérica, obteniéndose el espectro presentado en la **Figura 36** (4-MBA-Au_A (nanocomposito)). Además, se incluye nuevamente el espectro correspondiente a la muestra en polvo utilizada para la disolución acuosa, utilizada en el proceso de hinchamiento de los hidrogeles, a manera de referencia. La **Tabla 7** resume los valores numéricos de las posiciones de los picos bajo análisis.

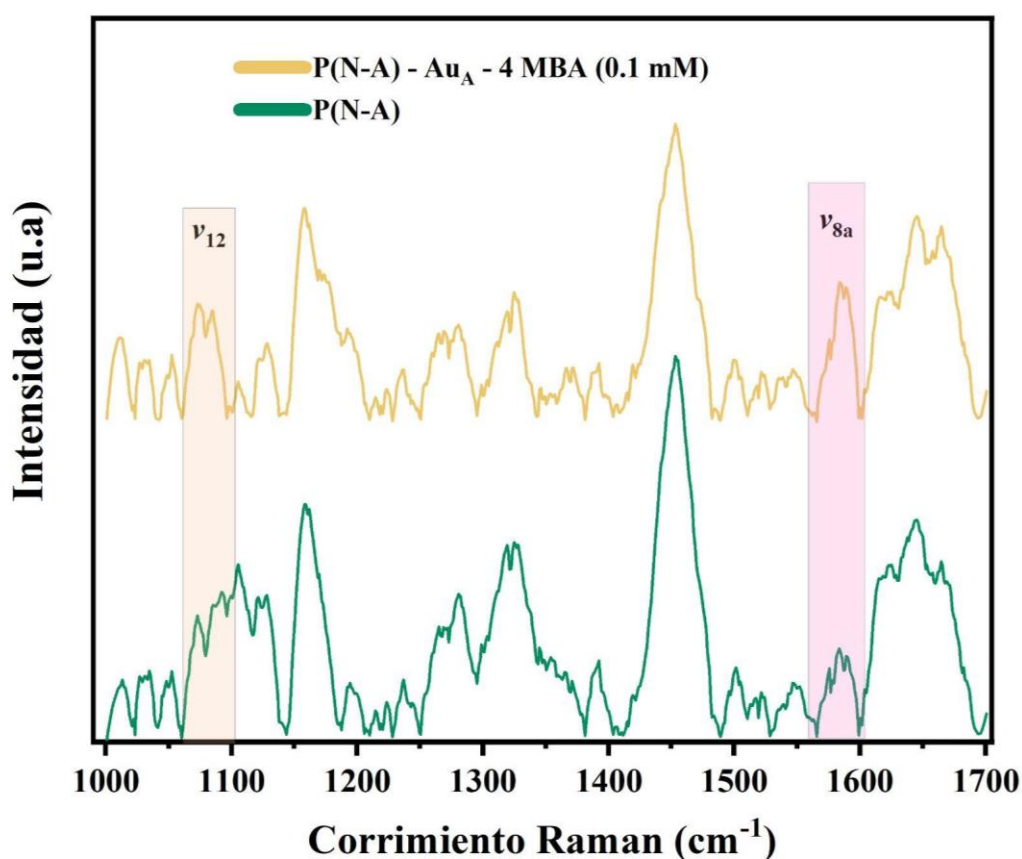


Figura 35. Espectros Raman obtenidos de las señales provenientes del xerogel P(N-A), y del nanocomposito P(N-A)-Au_A - 4 MBA (0.1 mM).

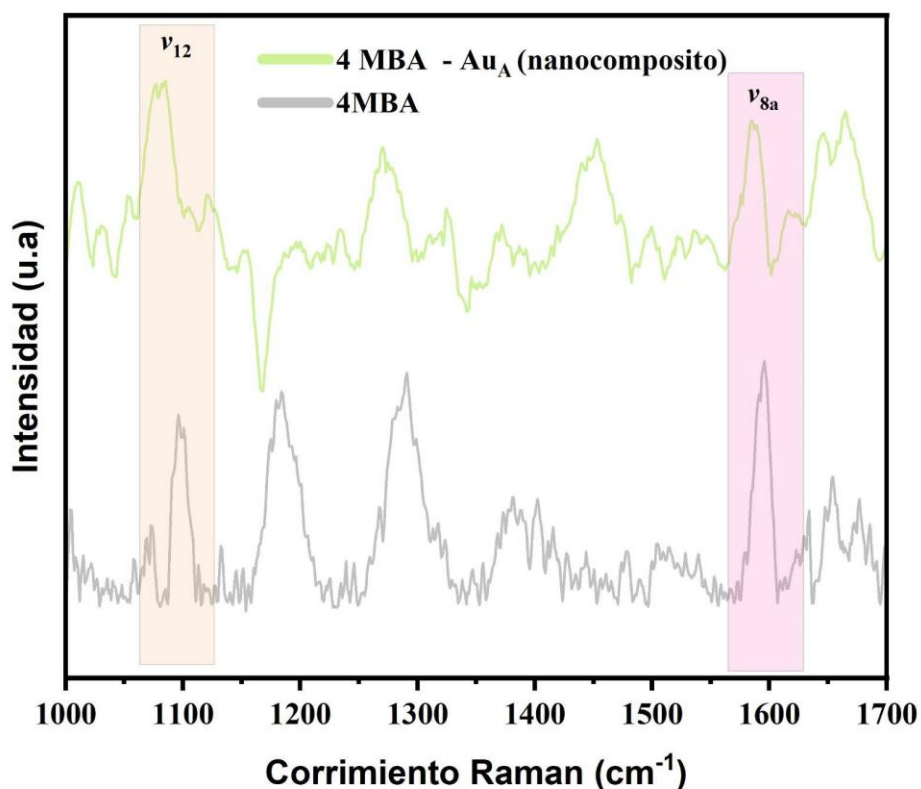


Figura 36. Espectros Raman del polvo con contenido de 4-MBA utilizado en la solución de hinchamiento (curva gris) y del xerogel P(N-A)-Au_A-4-MBA (0.1 mM) (curva verde), habiéndosele restado la señal proveniente de la matriz polimérica para mostrar con mayor claridad la señal proveniente de las moléculas a detectar. La concentración de 4-MBA en la solución utilizada para el hinchamiento del hidrogel fue de 0.1 mM.

Tabla 7. Posiciones de los picos ν_{8a} y ν_{12} de los espectros Raman en **Figura 36**, correspondientes a los modos de vibración del anillo bencénico de la molécula 4-MBA (molécula prueba).

	ν_{8a} – <i>respiración del anillo</i> (cm^{-1})	ν_{12} – <i>respiración del anillo</i> (cm^{-1})
4 MBA	1595	1,095
4 - MBA- Au_A (nanocomposito)	1588	1,084

Buscando encontrar evidencia experimental que nos permitiera discernir si la señal registrada corresponde a efecto SERS, se pudo observar que el pico ν_{8a} (4-MBA-Au_A (nanocomposito)) sufre un desplazamiento significativo de 11 cm^{-1} hacia valores de corrimiento Raman menores con respecto a la posición del mismo pico correspondiente a la muestra 4-MBA (polvo) y a la posición reportada

proveniente de señal Raman convencional por *Capocefalo et al.* (1er. renglón de la **Tabla 6**). Lo cual es consistente con el espectro SERS reportado por el mismo *Capocefalo et al.* (2do. renglón de la **Tabla 6**), debido al efecto SERS presente en su muestra de nanopartículas de Au coloidal. Por tanto, podríamos inferir que, en esta ocasión, al haber disminuido la concentración de 4-MBA a 0.1mM, se pudo identificar la presencia de la molécula prueba y además debido a señal generada por efecto SERS.

7.9.2 Respuesta Raman del nanocomposito habiendo sido expuesto a la molécula PFOA.

La **Figura 37** presenta análisis preliminares, realizados como parte de este proyecto, una vez que se demostró con la molécula prueba 4-MBA que el sistema del hidrogel-xerogel con AuNPs inmovilizadas en su interior, resulta adecuado y eficiente para la detección de moléculas de interés disueltas en agua a bajas concentraciones. Estos resultados se obtuvieron midiendo la señal Raman proveniente de un xerogel con “alta concentración” de NPs inmovilizadas en su interior y el cual fue expuesto a una solución acuosa con moléculas de PFOA para su hinchamiento. Se muestran 3 espectros, el primero corresponde al PFOA sin tratamiento ni purificación (curva azul); el segundo (curva gris), corresponde a la muestra P(N-A); mientras el tercero (curva roja), corresponde al xerogel resultado del secado del hidrogel que se mantuvo previamente en agua contaminada durante 22 horas (P(N-A)-Au_A-PFOA). El espectro del PFOA exhibe múltiples picos con diferentes intensidades provenientes del polvo con contenido de PFOA, incluyendo tres picos de mayor intensidad: alrededor de 399 cm⁻¹, y dos picos entre 730 cm⁻¹ y 800 cm⁻¹. En *McDonnell et al., 2023* se muestra un comportamiento bastante similar en sus resultados con espectroscopia Raman del polvo de PFOA.

Por otro lado, se analizaron los resultados de espectroscopia Raman con los hidrogeles sintetizados en este proyecto. En la **Figura 37**, el espectro del hidrogel (P(N-A)-Au_A-PFOA) muestra picos en la región de 300-550 cm⁻¹. Por su parte, para la muestra P(N-A) no presenta un patrón similar de picos en dicha región de ~300 -550 cm⁻¹. Se pudo demostrar (sección 7.9.1) que el material diseñado y obtenido en el presente proyecto (hidrogel-xerogel con AuNPs inmovilizadas en su interior), permite no sólo absorber moléculas contaminantes disueltas en agua y retenerlas en su interior al ser secado, convirtiéndose en xerogel, sino además detectar su presencia en bajas concentraciones debido a la generación del efecto SERS logrado gracias a las AuNPs inmovilizadas en su interior. Esto demuestra que el material diseñado y la metodología propuesta, corresponde a una sólida primera etapa, contribuyendo para la detección de moléculas contaminantes presentes en el agua. Además, abre la posibilidad para futuros proyectos que continúen en subsecuentes etapas, enfocándose en optimizar los parámetros de medición adecuados para la molécula PFOA en particular.

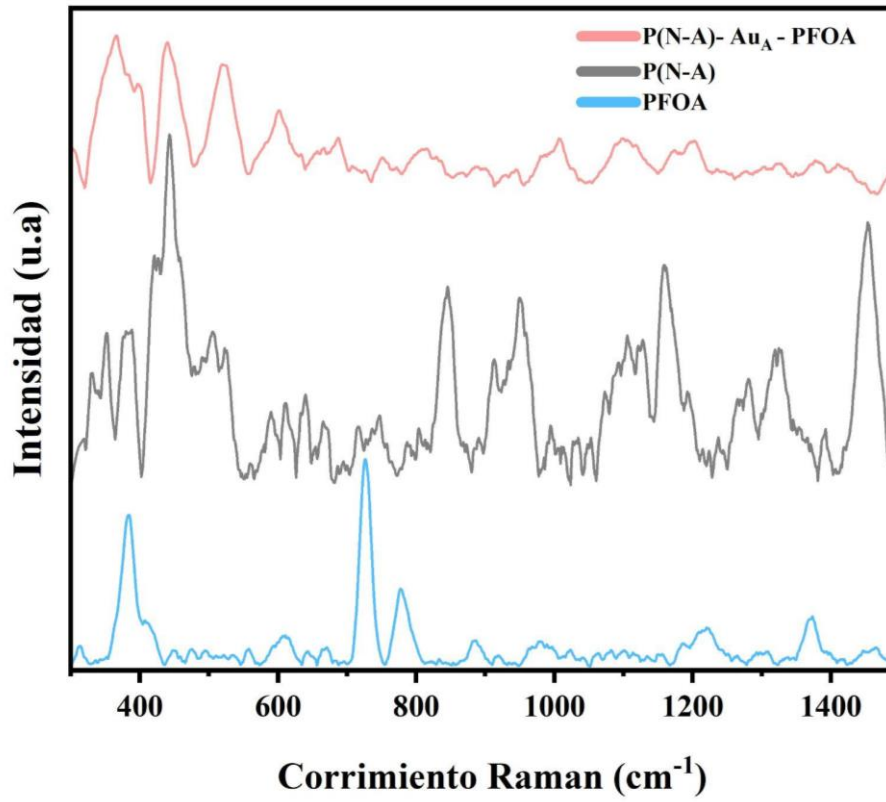


Figura 37. Espectros Raman obtenidos de las señales provenientes de los nanocompositos expuestos a una solución con contenido de PFOA para su hinchamiento.

CAPÍTULO 8

Conclusiones

- Se logró sintetizar AuNPs siguiendo el método de Turkevich, usando HAuCl_4 , citrato de sodio como precursores y Tween 20 como agente estabilizante. La caracterización por microscopía TEM logró demostrar la formación de AuNPs y la espectroscopía UV-vis permitió identificar la influencia del agente estabilizante sobre las propiedades plasmónicas del sistema nanoestructurado.
- Por medio de la reacción de polimerización iniciada por radicales libres y en la presencia del agente entrecruzante, MBAAm, se logró la síntesis de un hidrogel de PNIPAAm y la síntesis de un nanocomposito a partir del crecimiento de redes de PNIPAAm en la presencia de una dispersión de AuNPs. De la misma forma, se adicionó acrilamida (AAm) como monómero modificador de PNIPAAm y, se logró así, la síntesis de un hidrogel en la forma de copolímero de P(NIPAAm-co-AAm). Este copolímero también se logró sintetizar en la presencia de AuNPs. Se sintetizaron tres versiones de este material, usando tres concentraciones diferentes de AuNPs.
- Las caracterizaciones de los materiales por las técnicas XRD, FTIR, TGA, DSC y los estudios de hinchamiento, lograron demostrar la incorporación de AAm en los copolímeros y nanocompositos, y su influencia sobre las regiones cristalinas de la matriz polimérica, la composición química, las propiedades de descomposición térmica, la temperatura de transición vítrea y su capacidad para absorber agua, respectivamente. AAm logró modificar el balance hidrofílico del material, aumentando la capacidad de hinchamiento de los materiales en agua. La molécula de Tween 20, que hace parte también del sistema nanoestructurado, logra influir sobre las propiedades estructurales de los materiales.
- Los estudios de hinchamiento a diferentes temperaturas permitieron demostrar que todos los materiales presentan sensibilidad a la temperatura del medio, a tiempos de medición de 30 minutos y 3 horas. La LCST estimada bajo estas condiciones de tiempo para los materiales basados en PNIPAAm estuvo entre 27-31°C, mientras que los basados en el copolímero P(NIPAAm-co-AAm) fue de 31-33°C.
- La caracterización por espectroscopía XPS permitió identificar al carbono, oxígeno y nitrógeno como elementos principales de la composición química de los materiales propuestos, resultando coherente con la presencia de PNIPAAm y PAAM en todas las muestras. Con esta técnica no se logró determinar la presencia de oro (Au) en las muestras, por lo que se atribuyó la oclusión de las señales a la presencia de Tween-20, ya que puede actuar como recubrimiento de las AuNPs. Esta técnica permitió identificar al Zn como especie contaminante en el material, que pudo haber llegado a la muestra durante su proceso de pulido.

- Se logró absorber 4-MBA y al contaminante PFOA en los materiales propuestos. El 4-MBA se absorbió con fines comparativos para determinar la respuesta SERS de las muestras. Para determinar la efectividad del proceso de absorción y la concentración de PFOA embebida en las matrices poliméricas de los materiales, se utilizó un método indirecto, midiendo los cambios de concentración del colorante Cristal Violeta (CV) en función de su interacción con PFOA.
- En los espectros Raman llevados a cabo, se ha detectado la presencia de la molécula 4 MBA en las muestras presentadas, la cual también ha sido identificada en los resultados de diferentes autores.
- Se realizó solamente un análisis por muestra en los análisis SERS, para los hidrogeles que contienen PFOA, lo que implica que no se puede garantizar la reproducibilidad de los resultados obtenidos. Dado que existe una escasez de información sobre la detección de PFOA mediante SERS, se recomienda llevar a cabo análisis más exhaustivos para obtener resultados más confiables.

CAPÍTULO 9

Referencias

- 3M, (2000). 26-week capsule toxicity study with perfluorooctane sulfonic acid potassium salt (PFOS; T-6295) in cynomolgus monkeys. Administrative Record AR 226-0145. URL: <https://www.documentcloud.org/documents/4346742-US00004524.html>.
- Abunada, Z.; Alazaiza, M.; Bashir, M. (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.
- Agunloye, E.; Gavriilidis, A.; Mazzei, L. (2017). A Mathematical Investigation of the Turkevich Organizer Theory in the Citrate Method for the Synthesis of Gold Nanoparticles. *Chemical Engineering Science*, 173, 275–286., S0009250917304748-. doi: 10.1016/j.ces.2017.07.032.
- Amorim da Costa, M. and Santos, E. (1983). Structure and conformation analysis on perfluorodecanoic acid and its lithium, sodium and ammonium salts as studied by Raman spectroscopy. Department of Chemistry, University of Coimbra, Coimbra, Portugal., *Colloid & Polymer Sci.* 261, 58-63.
- Arrieta, R. (2017) Propuesta de regulación de perfluoroalquilos de alto riesgo en México: El caso del PFOS.
- Aslan, K. and Perez, V. (2002). Surface Modification of Colloidal Gold by Chemisorption of Alkanethiols in the Presence of a Nonionic Surfactant. Illinois Institute of Technology, Department of Chemical and Environmental Engineering, 10 West 33rd Street, Chicago, Illinois 60616.18, 6059-6065.
- ATSDR, (2017). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Perfluoroalkyl and Polyfluoroalkyl Substances (PFAS) in the U.S. Population; Dept. of Health and Human Services: Atlanta, GA, USA.
- ATSDR, (2021). Agency for Toxic Substances and Disease Registry. Toxicological profile for perfluoroalkyls (draft for public comment). US Department of Health and Human Services, Public Health Service, Atlanta, GA.
- ATSDR, (2005). Health consultation. 3M chemolite. Perfluorochemical releases at the 3M-Cottage Grove facility. Atlanta, GA: Agency for Toxic Substances and Disease Registry. http://www.atsdr.cdc.gov/HAC/pha/3M-CGF021805-MN/3M-CGF021805-MN_pt1.pdf.

- ATSDR, (2018). Toxicological Profile for Perfluoroalkyls–Draft for Public Comment; US Dept of Health and Human Services: Atlanta, GA, USA. Available online: <https://www.atsdr.cdc.gov/toxprofiles/tp.asp?id=1117&tid=237>.
- Avadanei, M.; Avadanei, O.; Fundueanua, G. (2012). Effect of comonomer ratio and ionic strength on the thermo-induced conformational changes in N-isopropylacrylamide based copolymers: An ATR-FTIR spectroscopic study. doi: 10.1016/j.vibspec.2012.03.00.
- 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.
- Bansal, O.; Bhardwaj, M.; Gupta, V. (2022). Per And Polyfluoroalkyl Substances (Pfas) In the Environment: A REVIEW. *Journal of Advanced Scientific Research* ISSN 0976-9595 <https://doi.org/10.55218/JASR.202213701>.
- Bartell, S.; Calafat, A.; Lyu, C.; Kato, K.; Ryan, P.; Steenland, K. (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.
- Barzen, K.; Roberts, S.; Choyke, S.; Oetjen, K.; McAlees, A.; Riddell, N.; McCrindle, R.; Ferguson, P.; Higgins, C.P.; Field, J. (2017). Discovery of 40 Classes of Per- and Polyfluoroalkyl Substances in Historical Aqueous Film-Forming Foams (AFFFs) and AFFF-Impacted Groundwater. *Environ. Sci. Technol.* 2017, 51, 2047–2057.
- Begley, T.; White, K.; Honigfort, P.; Twaroski, M.; Neches, R.; Walker, R. (2005). Perfluorochemicals: Potential sources of and migration from food packaging. *Food Additives and Contaminants*, 22(10), 1023–1031. doi:10.1080/02652030500183474.
- Benejam, N. (2022). Estudio De Sensores Poliméricos Basados En Mallas Quirúrgicas Termosensibles Para Detección Por Espectroscopía Sers. Universidad Politécnica de Catalunya. BarcelonaTech.
- Benskin, J.; De Silva, A.; Martin, J. (2010). Isomer Profiling of Perfluorinated Substances as a Tool for Source Tracking: A Review of Early Findings and Future Applications. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 111–160. doi:10.1007/978-1-4419-6880-7_2.
- Billmeyer, F., and Guerra, R. (2020). *Ciencia de los polímeros*. ISBN 978-84-291-7048-1, Páginas 610, Reverté; Edición 1. México.
- Bogireddy, N. and Agarwal, V. (2019). Persea americana seed extract mediated gold nanoparticles for mercury (II)/iron (III) sensing, 4- nitrophenol reduction, and organic dye degradation†. *RSC Adv.*, 2019, 9, 39834. doi: 10.1039/c9ra08233f.

- Boisselier, E. and Astruc, D. (2009). Gold nanoparticles in nanomedicine: preparations, imaging, diagnostics, therapies and toxicity., 38(6), 1759–0. doi:10.1039/b806051g.
- Bonefeld, E.; Long, M.; Bossi, R.; Ayotte, P.; Asmund, G.; Krüger, T.; Dewailly, E. (2011). Perfluorinated compounds are related to breast cancer risk in Greenlandic Inuit: a case control study. *Environmental Health*, 10(1), 1-16.
- Boyer, T.; Fang, Y.; Ellis, A.; Dietz, R.; Choi, Y.; Schaefer, C.; Strathmann, T. (2021). Anion exchange resin removal of per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) from impacted water: A critical review. *Water Research*, 200, 117244. doi: 10.1016/j.watres.2021.117244.
- Brusseau, M. (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.; Franklin, J.; Berger, U.; Conder, J.; Cousins, I.; de Voogt, P.; van Leeuwen, S. (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.; Muir, D.; Mabury, S. (2013). Biotransformation pathways of fluorotelomer based polyfluoroalkyl substances: A review. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 33(2), 243–267. doi:10.1002/etc.2407.
- Campion, A. and Kambhampati, P. (1998). Surface-enhanced Raman scattering., 27(4), 241–0. doi:10.1039/a827241z.
- Canal, I. (2016). Obtención y Caracterización de partículas coloidales a partir de proteínas vegetales hidrofóbicas ricas en prolina. Universidad de Oviedo.
- Capocefalo, A.; Mammucari, D.; Brasili, F.; Fasolato, C.; Bordi, F.; Postorino, P.; Domenici, F. (2019) Exploring the Potentiality of a SERS-Active pH Nano-Biosensor. *Front. Chem.* 7:413. doi: 10.3389/fchem.2019.00413.
- CDC, (2019). Centers for Disease Control and Prevention. Fourth National Report on Human Exposure to Environmental Chemicals; Dept. of Health and Human Services, Atlanta, GA, USA, 2019. Available online: <https://www.cdc.gov/exposurereport/>.
- Chen, S.; Li, A.; Zhang, L.; Gong, J. (2015). Molecularly imprinted ultrathin graphitic carbon nitride nanosheets-Based electrochemiluminescence sensing probe for sensitive detection of perfluorooctanoic acid. *Analytica chimica acta*, 896, 68–77. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.09.022>.
- Chuong, T.; Pallaoro, A.; Chaves, C.; Lic, Z.; Leed, J.; Eisenstein, M.; Stucky, G.; Moskovitsa, M.; Sohe, H. (2017). Dual-reporter SERS-based biomolecular assay with reduced false-positive signals. www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.1700317114.

- Contreras, A.; Claveríe, A.; Sanchez, J.; Aguirre, M.; Angulo, M.; Corrales, L. (2015). *Revista Mexicana de Ingeniería Química*. Vol. 14, No. 2, 415-427.
- Coreño, A. and Méndez M. (2010) *Relación estructura propiedades de polímeros*. Universidad Nacional Autónoma de México, ISSN 0187-893-X.
- Corezzi, S.; Comez, L.; Zanatta, M. (2018). A simple analysis of Brillouin spectra from opaque liquids and its application to aqueous suspensions of poly-N-isopropylacrylamide microgel particles. *Journal of Molecular Liquids*, S0167732218321779. doi: 10.1016/j.molliq.2018.06.072.
- Dallaire, R.; Ayotte, P.; Pereg, D.; Déry, S.; Dumas, P.; Langlois, É.; Dewailly, É. (2009). Determinants of Plasma Concentrations of Perfluorooctanesulfonate and Brominated Organic Compounds in Nunavik Inuit Adults (Canada). *Environmental Science & Technology*, 43(13), 5130–5136. doi:10.1021/es9001604.
- Daly, E.; Chan, B.; Talbot, E.; Nassif, J.; Bean, C.; Cavallo, S.J.; Metcalf, E.; Simone, K.; Woolf, A. (2015). Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) exposure assessment in a community exposed to contaminated drinking water, New Hampshire. *Int. J. Hyg. Envir. Heal.* 2018, 221, 569–577.
- Davis, K.; Aucoin, M.; Larsen, B.; Kaiser, M.; Hartten, A. (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.
- DCEG, (2017). PFAS Exposure and Risk of Cancer was originally published by the National Cancer Institute. Division of Cancer Epidemiology and Genetics. Sitio web: <https://dceg.cancer.gov/research/what-we-study/pfas>.
- De Sousa, C.; Braga, M.; Sosnik, A. (2015). *Biomateriales Aplicados Al Diseño De Sistemas Terapéuticos Avanzados*. ISBN 978-989-26-0880-8. ISBN digital 978-989-26-0881-5., <http://dx.doi.org/10.14195/978-989-26-0881-5>.
- Dihua, W.; Xuesong, L.; Sanchuan, Y.; Meihong, L.; Congjie, G. (2010). Modification of aromatic polyamide thin-film composite reverse osmosis membranes by surface coating of thermo-responsive copolymers P(NIPAM-co-Am). I: Preparation and characterization., 352(1-2), 76–85. doi: 10.1016/j.memsci.2010.01.061.
- Ding, N.; Harlow, S.; Randolph, J.; Loch, R.; Park, S. (2020). Perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFAS) and their effects on the ovary. *Human Reproduction Update*, dmaa018–. doi:10.1093/humupd/dmaa018.
- Doberenz, F.; Zeng, K.; Willems, C.; Zhang, K.; Groth, T. (2020). Thermoresponsive polymers and their biomedical application in tissue engineering. *Journal of Materials Chemistry B*. doi:10.1039/C9TB02052G.

- Domingo, J. and Nadal, M. (2019). Human exposure to per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) through drinking water: A review of the recent scientific literature. *Environmental Research*, 17, 108648. doi: 10.1016/j.envres.2019.108648.
- Dong, Z.; Bahar, M.; Jit, J.; Kennedy, B.; Priestly, B.; Ng, J.; Lamb, D.; Liu, Y.; Duan, L. Naidu, R. (2017). Issues raised by the reference doses for perfluorooctane sulfonate and perfluorooctanoic acid., 105, 86-94.
- Dunne, A.; Delaney, C.; Florea, L.; Diamond, D. (2016). Solvato-morphologically controlled, reversible NIPAAm hydrogel photoactuators. *RSC Adv.*, 6(86), 83296–83302. doi:10.1039/C6RA16807H.
- Ekicibil, A.; Ozkendir, O.; Farha, A.; Ufuktepe, Y. (2015). Study of the electronic properties of $Zn_{0.8-4x}Ho_xO_y$ ($0.05 \leq x \leq 0.09$) 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>.
- Emmett, E.; Zhang, H.; Shofer, F.; Freeman, D.; Rodway, N.; Desai, C.; Shaw, L. (2006). Community exposure to perfluorooctanoate: Relationships between serum levels and certain health parameters. *J. Occup. Environ. Med*, 48, 771–779.
- EPA, (2020). Determination Of Selected Per- And Polyfluorinated Alkyl Substances in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). Method 537.1, EPA/600/R-20/006.
- EPA, (2005). Draft risk assessment of the potential human health effects associated with exposure to perfluorooctanoic acid and its salts. U.S environmental protection agency office of pollution prevention and toxics risk assessment division.
- Escobar, J.; Zaldivar, D.; Agüero, L.; Fernández, S., Katime, I. (2002) Liberación de cefazolina sódica a partir de hidrogeles de copolímeros de poli (acrilamida-co-ácido metacrílico). *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 1-10
- Estrada, C. (2019). Hidrogeles agrícolas - ¿Qué son? • Eficagua. Recuperado 9 de septiembre de 2022, de <https://eficagua.cl/hidrogeles-agricolas-que-son/>
- EWG, (2019). Environmental Working Group. 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.
- Fang, C.; Megharaj, M.; Naidu, R. (2016). Surface-enhanced Raman scattering (SERS) detection of fluorosurfactants in firefighting foams†. *RSC Adv.*, 2016, 6, 11140. DOI: 10.1039/c5ra26114g.
- Fang, C.; Chen, Z.; Megharaj, M.; Naidu, R. (2016). Potentiometric detection of AFFFs based on MIP, *Environmental Technology & Innovation*, Volume 5, Pages 52-59, ISSN 2352-1864, <https://doi.org/10.1016/j.eti.2015.12.003>.

- Fang, C.; Zhang, X.; Dong, Z.; Wang, L.; Megharaj, M.; Naidu, R. (2018). Smartphone app-based/portable sensor for the detection of fluoro-surfactant PFOA, *Chemosphere*, Volume 191, Pages 381-388, ISSN 0045-6535, <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.10.057>.
- Fenton, S.; Ducatman, A.; Boobis, A.; DeWitt, J.; Laur, N.; Smith, S.; Roberts, M. (2020). Per and Polyfluoroalkyl Substance Toxicity and Human Health Review: Current State of Knowledge and Strategies for Informing Future Research. *Environmental Toxicology and Chemistry*. doi:10.1002/etc.4890.
- Flores, C. (2015). Espectrometría de masas de alta resolución y en tándem. Análisis de alto rendimiento de contaminantes orgánicos emergentes en agua. Universidad de Barcelona.
- Garg, S.; Kumar, P.; Greene, G.; Mishra, V.; Avisar, D.; Sharma, R.; and Dumée, L. (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>.
- Giesy, J.; and Kannan, K. (2001). Global Distribution of Perfluorooctane Sulfonate in Wildlife. *Environmental Science & Technology*, 35(7), 1339–1342. doi:10.1021/es001834k.
- Gonzalez, N.; El-Halah, A.; Contreras, J.; Rojas de Gascue, B. (2018). Estudio de la capacidad de absorción en hidrogeles semi-interpenetrados de poli(acrilamida)/poli(hidroxibutirato-co-hidroxivalerato). *Revista Colombiana de Química*, 47(3), 5–12. doi:10.15446/rev.colomb.quim.v47n3.69280.
- Gomez, L.; Pichardo, J.; 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>.
- Goss, K. (2008). The pKa Values of PFOA and Other Highly Fluorinated Carboxylic Acids. *Environmental Science & Technology*, 42(2), 456–458. doi:10.1021/es702192c
- Guelfo, J.; and Higgins, C. (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/es304804.
- Gurunathan, S.; Han, J.; Park, J.; Kim J. (2014). A green chemistry approach for synthesizing biocompatible gold nanoparticles. *Nanoscale Research Letters*, 9(1), 248–. doi:10.1186/1556-276X-9-248.
- Gutarra, J.; Rueda, J.; Corzo, A. (2017). Elaboración de Nanopartículas de oro en hidrogeles termosensitivos. *Rev Soc Quím Perú*. 83(1).
- Hallgren, S.; Fredriksson, A.; Viberg, H. (2015). More signs of neurotoxicity of surfactants and flame retardants - neonatal PFOS and PBDE 99 cause transcriptional alterations in cholinergic genes in the mouse CNS. *Environ Toxicol Pharmacol* 40(2):409-416. 10.1016/j.etap.2015.06.014.

- Hansen, K.; Clemen, L.; Ellefson, M.; and Johnson, H. (2001). Compound-specific, quantitative characterization of organic fluorochemicals in biological matrices. *Environmental science & technology*, 35(4), 766-770.
- Hong, Y.; Huh, Y.; Yoon, D.; and Yang, J. (2012). Nanobiosensors based on localized surface plasmon resonance for biomarker detection. *Journal of Nanomaterials*, 111.
- Houde, M.; De Silva, A.; Muir, D.; Letcher, R.. (2011). Monitoring of Perfluorinated Compounds in Aquatic Biota: An Updated Review. *Environmental Science & Technology*, 45(19), 7962–7973. doi:10.1021/es104326w.
- Hu, X.; Andrews, D.; Lindstrom, M. (2016). Detection of poly-and perfluoroalkyl substances (PFASs) in U.S. drinking water linked to industrial sites, military fire training areas and wastewater treatment plants. *Environ Sci Technol Lett* 3:344-350. DOI: 10.1021/acs.estlett.6b00260.
- Huang, J.; Zhang, P.; Li, M.; Zhang, P.; Ding, L. (2016). Complex of hydrogel with magnetic immobilized GOD for temperature controlling fiber optic glucose sensor, *Biochemical Engineering Journal*, Volume 114, Pages 262-267, ISSN 1369-703X, <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.07.012>.
- Işıkver, Y. and Saraydın, D. (2021). Smart Hydrogels: Preparation, Characterization, and Determination of Transition Points of Crosslinked N-Isopropyl Acrylamide/Acrylamide/Carboxylic Acids Polymers. *Gels*, 7(3), 113. <https://doi.org/10.3390/gels7030113>.
- Işıkver, Y. and Saraydın, D. (2014). Environmentally sensitive hydrogels: N-isopropyl acrylamide/Acrylamide/ Mono-, Di-, Tricarboxylic acid crosslinked polymers. *Polymer Engineering & Science*, 55(4), 843–851. doi:10.1002/pen.23950.
- ITRC, (2022) Per- and Polyfluoroalkyl Substances Technical and Regulatory Guidance. Copyright 2021 Interstate Technology & Regulatory Council 50 F Street, NW, Suite 350, Washington, DC 20001 <https://pfas-1.itrcweb.org/>.
- Jang, J.; Park, J.; Kim, I.; Sim, J.; Yu, S.; Lee, D.; Kim, H. (2020). Preparation and characterization of thermoresponsive poly (N-isopropylacrylamide-co-N -isopropyl meth acrylamide) hydrogel materials for smart windows. *Journal of Applied Polymer Science*, 49788. doi:10.1002/app.49788.
- Janovák, L.; Varga, J.; Kemény, L.; Dékány, I. (2009). The effect of surface modification of layer silicates on the thermoanalytical properties of poly (NIPAAm-co-AAm) based composite hydrogels. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 98(2), 485–493. doi:10.1007/s10973-009-0311-1.

- Jauregui, 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>.
- Jensen, L.; Aikens, C.; Schatz, G. (2008). Electronic structure methods for studying surface-enhanced Raman scattering. *Chemical Society Reviews*, 37(5), 1061–. doi:10.1039/B706023H.
- Jiang, L.; You, T.; Yin, P.; Shang, Y.; Zhang, D.; Guo, L.; Yang, S. (2013). Surface-enhanced Raman scattering spectra of adsorbates on Cu₂O nanospheres: charge-transfer and electromagnetic enhancement. *Nanoscale*, 5(7), 2784. doi:10.1039/C3NR33502J.
- Jiang, Y.; Sun, D.; Pu, H.; and Wei, Q. (2018). Surface enhanced Raman spectroscopy (SERS): A novel reliable technique for rapid detection of common harmful chemical residues. *Trends in Food Science & Technology*, 75, 10–22. doi: 10.1016/j.tifs.2018.02.020.
- Jin, Y.; Liu, W.; Sato, I.; Nakayama, S.; Sasaki, K.; Saito, N; Tsuda, S. (2009). PFOS and PFOA in environmental and tap water in China., 77(5), 0–611. PR China. doi: 10.1016/j.chemosphere.2009.08.058.
- Kannan, K.; Corsolini, S.; Falandys, J.; Fillmann, G.; Kumar, K.; Loganathan, B.; Aldous, K. (2004). Perfluorooctanesulfonate and Related Fluorochemicals in Human Blood from Several Countries. *Environmental Science & Technology*, 38(17), 4489–4495. doi:10.1021/es0493446.
- Katime, D.; Katime, O.; Katime, I. (2004). Los materiales inteligentes de este milenio: los hidrogeles macromoleculares. Síntesis, propiedades y aplicaciones. Servicio editorial de la Universidad del País Vasco. Capítulos 1; 7, 15-20, 121-228.
- Kennedy, G.; Hall, G.; Brittelli, M.; Barnes, J.; and Chen, H. (1986). Inhalation toxicity of ammonium perfluorooctanoate. *Food and Chemical Toxicology*, 24(12), 1325–1329. doi:10.1016/0278-6915(86)90066-9.
- 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>.
- Krevelen, D.; Krevelen, D.; Nijenhuis, K.; van Krevelen, D.; Nijenhuis K. (2009). Properties of Polymers: Their Correlation with Chemical Structure; Their Numerical Estimation and Prediction from Additive Group Contributions. Elsevier Gezondheidszorg. ISBN 978-0-08-054819-7.
- Lanzalaco, S. and E. Armelin, E. (2017). Poly(N-isopropylacrylamide) and copolymers: A review on recent progresses in biomedical applications,” *Gels*, vol. 3, no. 4, doi: 10.3390/gels3040036.
- Lau, C.; Anitole, K.; Hodes, C.; Lai, D.; Pfahles, A.; Seed, J. (2007). Perfluoroalkyl acids: a review of monitoring and toxicological findings. *Toxicological sciences*, 99(2), 366-394.

- Law, C.; Wang J.; Ganenthiran, S.; Lim, S.; Abell, A.; Ahrens, L.; Kumeria, T.; Santos, A.; Voelcker, N. (2022). Real-time detection of per-fluoroalkyl substance (PFAS) self-assembled monolayers in nanoporous interferometers, *Sensors and Actuators B: Chemical*, Volume 355, 131340, ISSN 0925-4005, <https://doi.org/10.1016/j.snb.2021.131340>.
- Li, D.; Zhan, W.; Zuo, W.; Li, L.; Zhang, J.; Cai, G.; Tian, Y. (2022). Elastic, tough, and switchable swelling hydrogels with high entanglements and low crosslinks for water remediation. *Chemical Engineering Journal*, 450, 138417. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138417>.
- Li, H.; Men, D.; Sun, Y.; Liu, D.; Li, X.; Li, L.; Li, Y. (2017). Surface enhanced Raman scattering properties of dynamically tunable nanogaps between Au nanoparticles self-assembled on hydrogel microspheres controlled by pH. *Journal of Colloid and Interface Science*, 505, 467–475. doi: 10.1016/j.jcis.2017.06.034.
- Li, T.; Xu, Y.; Feng, Y.; Zhang, C.; Yang, C.; Sun, Z.; Yang, C. (2017). Self-assembly of the stretchable AuNPs@MoS₂@GF substrate for the SERS application. *Applied Surface Science*, 423, 1072–1079. doi: 10.1016/j.apsusc.2017.06.305.
- Li, L.; Yang, X.; Liu, F.; Shang, J.; Yan, G.; Li, W. (2009). thermosensitive poly(n-isopropylacrylamide)-b-polycaprolactone-b-poly(n-isopropylacrylamide) triblock copolymers prepared via atom transfer radical polymerization for control of cell adhesion and detachment. *Journal of the Chilean chemical society*, 54(4), doi:10.4067/s0717-97072009000400016.
- Li, Y.; Fletcher, T.; Mucs, D.; Scott, K.; Lindh, C.H.; Tallving, P.; Jakobsson, K. (2018). Half-lives of PFOS, PFHxS and PFOA after end of exposure to contaminated drinking water. *Occup. Environ. Med.* 75, 46–51.
- Lindstrom, A.; Strynar, M.; Libelo, E. (2011). Polyfluorinated Compounds: Past, Present, and Future. *Environmental Science & Technology*, 45(19), 7954–7961. doi:10.1021/es2011622.
- Loccisano, A.; Campbell, J.; Andersen, M.; Clewell, H. (2011) Evaluation and prediction of pharmacokinetics of PFOA and PFOS in the monkey and human using a PBPK model. *Regul. Toxicol. Pharm.* 59, 157–175.
- Majeed, I.; Nadeem, M.; Al-Oufi, M.; Nadeem, M.; Waterhouse, G.; Badshah, A.; Metson, J.; Idriss, H. (2016) On the role of metal particle size and surface coverage for photocatalytic hydrogen production: a case study of the Au/CdS system. *Appl Catal B* 182:266–276.
- Mak, Y.; Taniyasu, S.; Yeung, L.; 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.
- Martín, C. (2017). Effect of the substrate on the plasmon resonance of gold nanoparticles. *Universidad de Cantabria. Facultad de Ciencias*.

- Martín, A. (2018). Microcontaminantes emergentes: PFOS y PFOA. Cuadernos del Tomás, (10), 215-228.
- Martínez, M. (2016). Desarrollo y aplicaciones de hidrogeles para la administración y liberación modificada de fármacos. Universidad de Valencia.
- Mahmoud, M. and Tan J. (2018). Comprehensive Composite Materials II. 4.22 Metal–Organic Framework Based Composites. 525–553. doi:10.1016/B978-0-12-803581-8.09974-4.
- McGuire, M.; Schaefer, C.; Richards, T.; Backe, W.; Field, J.; Houtz, E.; Sedlak, D.; Guelfo, J.; Wunsch, A.; Higgins, C. (2014). Evidence of remediation-induced alteration of subsurface poly- and perfluoroalkyl substance distribution at a former firefighter training area. Environ Sci Technol 48(12):6644-6652. <http://doi.org/10.1021/es5006187>.
- Menaa, F.; Menaa, B.; Sharts, O. (2010). Development of carbon-fluorine spectroscopy for pharmaceutical and biomedical applications. Indiana University. DOI: 10.1039/c005252c.
- Menger, R.; Funk, Emily.; Henry, C.; Borch, Thomas. (2021). Sensors for detecting per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS): A critical review of development challenges, current sensors, and commercialization obstacles, Chemical Engineering Journal, Volume 417, 129133, ISSN 1385-8947, <https://doi.org/10.1016/j.cej.2021.129133>.
- Mueller, R. and Yingling, V. (2017). Interstate Technology Regulatory Council. History and use of per and polyfluoroalkyl substances (PFAS), 1-8. B. Nomenclatura y propiedades químicas y físicas de las Sustancias Per-y Polifluoroalquiladas (PFAS).
- Muñoz, F. (2012). Funcionalización De Poliuretano Tecoflex® Con Pnipaam Y Paac, Mediante Radiación Gamma: Aplicación en Implantes estímulo-Sensibles para la liberación local de vancomicina. Universidad Nacional Autónoma De México Programa De Maestría Y Doctorado En Ciencias Químicas.
- Muñoz, F.; Bucio, E.; Magariños, B.; Concheiro, A.; Alvarez, C. (2014). Temperature- and pH-sensitive IPNs grafted onto polyurethane by gamma radiation for antimicrobial drug-eluting insertable devices. Journal of Applied Polymer Science, 131(6). doi:10.1002/app.39992.
- Naz, F.; Kumar, A.; Kumar, A.; Koul, V. (2019). Investigation of ultrafine gold nanoparticles (AuNPs) based nanoformulation as single conjugates target delivery for improved methotrexate chemotherapy in breast cancer. International Journal of Pharmaceutics, 569, 118561. doi: 10.1016/j.ijpharm.2019.118561.
- Nguyen, H.; Payré, B.; Fitremann, J.; Lauth, N.; Marty, J. (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.

- OECD, (2021). Reconciling Terminology of the Universe of Per- and Polyfluoroalkyl Substances: Recommendations and Practical Guidance. OECD Environment, Health, and Safety Publications Series on Risk Management No. 61.
- Olsen, G.; Burriss, J.; Ehresman, D.; Froehlich, J.; Seacat, A.; Butenhoff, J.; Zobel, L. (2007). Half-Life of Serum Elimination of Perfluorooctanesulfonate, Perfluorohexanesulfonate, and Perfluorooctanoate in Retired Fluorochemical Production Workers.
- Olsen, G.; Mair, D.; Lange, C.; Harrington, L.; Church, T.; Goldberg, C.; Herron, R.; Hanna, H.; Nobiletti, J.; Ríos, J. (2017). Per- and polyfluoroalkyl substances (PFAS) in American Red Cross adult blood donors, 2000–2015. *Environ. Res.*, 157, 87–95.
- Ong, T.; Blanch, Ewan, W.; Jones, A. (2020). Surface Enhanced Raman Spectroscopy in environmental analysis, monitoring and assessment, *Science of The Total Environment*, Volume 720, 137601, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137601>.
- Ortega, N. (2018). Autoensamble de nanopartículas de oro, para el desarrollo de un biosensor óptico. Instituto Politécnico Nacional.
- Ortiz, M. and Tecante, A. (2018). Physicochemical characterization of sodium stearyl lactylate (SSL), polyoxyethylene sorbitan monolaurate (Tween 20) and κ -carrageenan. *Data in Brief*, 19, 642–650. doi: 10.1016/j.dib.2018.05.064.
- Özbek, N. and 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. 2776-2789. 10.1080/00032719.2018.1450880.
- Panieri, E.; Baralic, K.; Djukic-Cosic, D.; Buha Djordjevic, A.; Saso, L. (2022). PFAS Molecules: A Major Concern for the Human Health and the Environment. *Toxics*, 10, 44. <https://doi.org/10.3390/toxics10020044>.
- Pardo, V.; Gabai, R.; Shipway, A.; Bourenko, T.; Willner, I. (2001). Gold Nanoparticle/Hydrogel Composites with Solvent-Switchable Electronic Properties., 13(17), 1320–0. doi:10.1002/1521-4095(200109)13:17<1320:aid-adma1320>3.0.co;2-8.
- Pei, Y.; Chen, J.; Yan, L.; Shi, L.; Tao, Q.; Hui, B.; and 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.
- Pereiro, N. and Lafuente A. (2012). Toxicología del sulfonato de perfluorooctano (PFOS) como modelo de compuesto orgánico fluorado *Revista de Toxicología*, vol. 29, núm. 2, pp. 107-116 Asociación Española de Toxicología Pamplona, España.

- Pérez, F.; Nadal, M.; Navarro, A.; Fàbrega, F.; Domingo, J.; Barceló, D. and Farré, M. (2013). Accumulation of perfluoroalkyl substances in human tissues. *Environment international*, 59, 354-362.
- Pontius, (2019). Department of Civil Engineering and Construction Management, Gordon and Jill Bourns College of Engineering, California Baptist University, 8432 Magnolia Ave., Riverside, CA 92503, USA; doi:10.3390/w11102003.
- Post, G.; Cohn, P.; Cooper, K. (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.
- Post, G.; Gleason, J.; Cooper, K. (2017). Key scientific issues in developing drinking water guidelines for perfluoroalkyl acids: Contaminants of emerging concern. *PLoS Biol.* 15, e2002855.
- Pramanik, G.; Humpolickova, J.; Valenta, J.; Kundu, P.; Bals, S.; Bour, P.; Dracinsky, M.; Cigler, P. (2018). Gold Nanoclusters with Bright Near-Infrared Photoluminescence. *Nanoscale*, doi:10.1039/C7NR06050E.
- Priyadarshini, S.; Cousins, B.; Pradhan, N. (2022). Synthesis of Citrate-T20-Ser-Gold Nanoparticles and effect of heavy metal cations on its colloidal stability. *Academy of Scientific and Innovative Research*, CSIR-Institute of Minerals and Materials Technology, Bhubaneswar 751013. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128685>.
- Qin, Z.; Zhang, R.; Xu, Y.; Cao, Y.; Xiao, L. (2021). A one-pot synthesis of thermosensitive PNIPAAm interpenetration polymer networks (IPN) hydrogel. *JCIS Open*. doi: 10.1016/j.jcis.2021.100002. Sousa
- Rana, M.; Natale, G.; Siegler, H.; (2022). A greener route for smart PNIPAm microgel synthesis using a bio-based synthesis-solvent, *European Polymer Journal*, Volume 174, 111311, ISSN 0014-3057, <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2022.111311>.
- Ravichandran, V.; Kesavan, V.; Cojean, S.; Loiseau, M., and Jayakrishnan. A. (2018). Polysorbate Surfactants as Drug Carriers: Tween 20-Amphotericin B Conjugates as Anti-Fungal and Anti-Leishmanial Agents, *Current Drug Delivery*; 15(7). <https://dx.doi.org/10.2174/1567201815666180503122829>.
- Rodríguez, D. (2006). Síntesis y caracterización de hidrogeles de redes semi-interpenetradas basadas en poli (Acrilamida) y poli (Ácido-y-Glutámico). *Centro de investigación en Química Aplicada*.
- Romo, M.; Alvarez, R.; Liz, M. (2011). Controlled assembly of plasmonic colloidal nanoparticle clusters. *Nanoscale*, 3, 1304–1315. doi: 10.1039/c0nr00804d.
- 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>.

- Rueda, J.; Malásquez, M.; Lagos, L.; Komber, H.; Zschoche, S.; Voit, B. (2018). Síntesis De Hidrogeles Conmutables A Partir De N-Isopropilacrilamida, Macromonómeros De 2-Oxazolininas Y Laponita. Pontificia Universidad Católica del Perú.
- Sagar, P.; Fouad, D.; Mehrukh, Z.; Rohit, J.; Harshad, K.; Mahendra, K.; Neha, M.; Mohammed, B.; Prabhanjan, S.; Satish, R.; Faraat, A.; Habibur, R.; Hasi Rani B. (2022). Functional Thermoresponsive Hydrogel Molecule to Material Design for Biomedical Applications. doi: 10.3390/polym14153126.
- Santhamoorthy, M.; Vy Phan, T.T.; Ramkumar, V.; Raorane, C.J.; Thirupathi, K.; Kim, S.-C. (2022). Thermo-Sensitive Poly (N-isopropylacrylamide-co-polyacrylamide) Hydrogel for pH-Responsive Therapeutic Delivery. *Polymers*, 14, 4128. <https://doi.org/10.3390/polym14194128>.
- Sanz, B.; von Bilderling, C.; Tuninetti, J.; Pietrasanta, L.; Mijangos, C.; Longo, Ga.; Azzaroni, O.; Giussi, J. (2017). Thermally-induced softening of PNIPAm-based nanopillar arrays. *Soft Matter*, 13(13), 2453–2464. doi:10.1039/c7sm00206h.
- Saraydın, D. y Işıkver, Y. (2022). Calculations of the magnitude of responsivities in pH-, temperature- and ion- responsive hydrogels. *Materials Today Communications*, 31, 103253. <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2022.103253>.
- Scarabelli, L.; Sánchez, A.; Pérez, J.; Liz, L. (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.jpcclett.5b02123.
- Schindler, A.; Doedt, M.; Gezgin, S.; Menzel J.; Schmolzer S. (2017). Identification of polymers by means of DSC, TG, STA and computer-assisted database search. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*. 129, 833–842 (2017). <https://doi.org/10.1007/s10973-017-6208-5>.
- Seddiki, N.; Aliouche, D. (2013). Synthesis, rheological behavior and swelling properties of copolymer hydrogels based on poly(N-isopropylacrylamide) with hydrophilic monomers. *Bulletin of the Chemical Society of Ethiopia*, 27(3). doi:10.4314/bcse.v27i3.14.
- Shabanian, S.; Khatir, B.; Nisar, A.; Golovin, K. (2020). Rational design of perfluorocarbon-free oleophobic textiles. *Nature Sustainability*, doi:10.1038/s41893-020-0591-9.
- Sharma, B.; Frontiera, R.; Henry, A.; Ringe, E.; Van Duyne, R. (2012). SERS: Materials, applications, and the future. *Materials Today*, 15(1-2), 16–25. doi:10.1016/s1369-7021(12)70017-2.

- Shi, C.; Zhu, N.; Cao, Y.; Wu, P. (2015). Biosynthesis of gold nanoparticles assisted by the intracellular protein extract of *Pycnoporus sanguineus* and its catalysis in degradation of 4-nitroaniline. *Nanoscale research letters*. doi: 10.1186/s11671-015-0856-9.
- Shoemaker, J. and Dan T. (2018). Method 537.1: Determination of Selected Per- and Polyfluorinated Alkyl Substances in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). U.S. Environmental Protection Agency, Office of Research and Development, National Center for Environmental Assessment, Washington, DC.
- Singh, T.; Laverty, G.; Donnelly, R. (2017). Hydrogels Design, Synthesis and Application in Drug Delivery and Regenerative Medicine. In Chapter 1 Microarchitecture of Water Confined in Hydrogels (1st edition, p. 352). CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781315152226>.
- Sosnik, A.; Imperiale, J.; Vázquez B.; Raskin, M.; Muñoz, F.; Burillo, G.; Cedillo, 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.
- Sovizi, M. and Aliannezhadi, M. (2022). Localized surface plasmon resonance (LSPR) of coupled metal nanospheres in longitudinal, transverse, and three-dimensional coupling configurations. *Optik*, 252, 168518. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2021.168518>.
- Steenland, K.; Jin, C.; MacNeil, J.; Lally, C.; Ducatman, A.; Vieira, V.; Fletcher, T. (2009). Predictors of PFOA levels in a community surrounding a chemical plant. *Environ. Health Perspect*, 117, 1083–1088.
- Suja, F.; Pramanik, B.; Zain, S. (2009). Contamination, bioaccumulation, and toxic effects of perfluorinated chemicals (PFCs) in the water environment: a review paper. *Water Science & Technology*, 60(6), 1533–. doi:10.2166/wst.2009.504.
- Thoniyot, P.; Mein, T.; Karim, A.; Young, D.; Loh, J. (2015). Nanoparticle-Hydrogel Composites: Concept, Design, and Applications of These Promising, Multi-Functional Materials. *Advanced Science*, 2(1-2), n/a–n/a. doi:10.1002/advs.201400010.
- Turkevich, J.; Stevenson, P.; Hillier, J. (1951). A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold., 11(0), 55–0. doi:10.1039/df9511100055.
- Ubel, F.; Sorenson, S.; Roach, D. (1980). Health status of plant workers exposed to fluorochemicals—a preliminary report. *American Industrial Hygiene Association Journal*, 41(8), 584-589.
- USEPA, (2016). Health Effects Support Document for Perfluorooctanoic Acid (PFOA); EPA 822-R-16-003; Office of Water: Washington, DC, USA.
- USEPA, (2019). Framework for Human Health Risk Assessment to Inform Decision Making; EPA/100/R-14/001; Risk Assessment Forum: Washington, DC, USA, April 2014. Available

online: <https://www.epa.gov/sites/production/files/2014-12/documents/hhra-framework-final-2014.pdf>.

USEPA, (2009). Determination of Selected Perfluorinated Alkyl Acids in Drinking Water by Solid Phase Extraction and Liquid Chromatography/Tandem Mass Spectrometry (LC/MS/MS). US EPA Method 537, Rev 1.1, EPA 600-R-08-092: USEPA

USEPA, (2009). Long-Chain Perfluorinated Chemicals Action Plan. Environmental Protection Agency, Washington, DC, US Available: https://www.epa.gov/sites/production/files/2016-01/documents/pfcs_action_plan1230_09.pdf.

Van Leeuwen, S. and 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.

Wang, C.; Flynn, N.; Langer, R. (2004). Controlled Structure and Properties of Thermoresponsive Nanoparticles–Hydrogel Composites., 16(13), 1074–1079. doi:10.1002/adma.200306516.

Wang, L.; Zhao, X.; Zhang, Y.; Zhang, W.; Ren, T.; Chen, Z.; Wang, F.; Yang, H. (2015). Fabrication of intelligent poly(N-isopropylacrylamide)/silver nanoparticle composite films with dynamic surface-enhanced Raman scattering effect. *RSC Adv.*, 5(50), 40437–40443. doi:10.1039/c5ra04361a.

Wang, Y.; Yuan, K.; Li, Q.; Wang, L.; Gu, S.; Pei, X. (2005) Preparation and characterization of poly(N-isopropylacrylamide) films on a modified glass surface via surface initiated redox polymerization. *Mater Lett* 59:1736–1740.

Wang, Y.; Hu, L.; Liu, T.; Zhao J.; Yang, Y.; Liu, Y.; Ying G. (2022). Per- and polyfluoroalkyl 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>.

Wang, K. and 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, K.; Yue, Z., Fang, X.; Lin, H.; Wang, L.; Cao, L.; Sui, J.; Ju, L. (2023). SERS detection of thiram using polyacrylamide hydrogel-enclosed gold nanoparticle aggregates, *Science of The Total Environment*, Volume 856, Part 2, 159108, ISSN 0048-9697, <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159108>.

Wei, J.; Yu, H.; Liu, H.; Du, C.; Z., Z.; Huang, Q.; Yao, X. (2018). Facile synthesis of thermo-responsive nanogels less than 50 nm in diameter via soap and heat-free precipitation polymerization. *Journal of Materials Science*, 53(17), 12056–12064. doi:10.1007/s10853-018-2495-x.

- Wichterle, O. and Lim, D. (1960). Hydrophilic Gels for Biological Use., 185(4706), 117–118. doi:10.1038/185117a0.
- Worley, R.; Moore, S.; Tierney, B.; Ye, X.; Calafat, A.; Campbell, S.; Fisher, J. (2017). Per- and polyfluoroalkyl substances in human serum and urine samples from a residentially exposed community. *Environment International*, 106, 135–143. doi: 10.1016/j.envint.2017.06.007.
- Wu, D.; Zhu, J.; Han, H.; Zhang, J.; Wu, F.; Qin, X.; Yu, J. (2018). Synthesis and characterization of arginine-NIPAAm hybrid hydrogel as wound dressing: In vitro and in vivo study. Key Laboratory of Textile Science & Technology, Ministry Education, College of Textiles. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2017.08.048>.
- Wu, X.; Bennett, D.; Calafat, A.; Kato, K.; Strynar, M.; Andersen, E.; Hertz, I. (2015). Serum concentrations of perfluorinated compounds (PFC) among selected populations of children and Adults in California. *Environmental Research*, 136, 264–273. doi: 10.1016/j.envres.2014.09.026.
- Xu, D.; Fan, D.; Shen, W. (2013). Catalyst-free direct vapor-phase growth of $Zn_{1-x}Cu_xO$ micro-cross structures and their optical properties. *Nanoscale Res Lett* 8, 46. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-8-46>.
- Yang, J.; Wang, K.; Lv, Z.; Li, W.; Luo, K.; Cao, Z. (2021). Facile Preparation and Dye Adsorption Performance of Poly (N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid)/Molybdenum Disulfide Composite Hydrogels. *ACS Omega* 6 (42), 28285-28296. doi: 10.1021/acsomega.1c04433.
- Yang, Y.; Li, Y.; Li, X.; Zhang, L.; Kouadio, E.; Han, S. (2020). Controllable in situ fabrication of portable AuNP/mussel-inspired polydopamine molecularly imprinted SERS substrate for selective enrichment and recognition of phthalate plasticizers. *Chemical Engineering Journal*, 125179–. doi: 10.1016/j.cej.2020.125179.
- Yeh, Y.; Creran, B.; Rotello, V. (2012). Gold nanoparticles: preparation, properties, and applications in bionanotechnology., 4(6), 1871–0. doi:10.1039/c1nr11188d.
- Yu, C.; Riker, C.; Lu, S.; and Fan, Z. (2019). Biomonitoring of emerging contaminants, perfluoroalkyl and polyfluoroalkyl substances (PFAS), in New Jersey adults in 2016–2018. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. Doi: 10.1016/j.ijheh.2019.10.008.
- Zhang, F.; Zheng, Y.; Liang, J.; Long, S.; Chen, X.; Tan, K. (2016). A simple and highly sensitive assay of perfluorooctanoic acid based on resonance light scattering technique. <http://dx.doi.org/10.1016/j.saa.2016.01.010>
- Zhang, M.; Tang, L.; Duan, A.; Zhang, Y.; Xiao, F.; Zhu, Y.; Wang, J.; Feng, C. and Yin, N. (2022). Adjusting charge kinetics of conjugated polymers via integration of LSPR effect with homojunction. *Chemical Engineering Journal*, 139068. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139068>.

- Zhang, M.; Li, Y.; Yang, Q.; Huang, L.; Chen, L.; Xiao, H. (2018). Adsorption of methyl violet using pH- and temperature-sensitive cellulose filament/poly (NIPAM-co-AAc) hybrid hydrogels. *Journal of Materials Science*, 53(16), 11837–11854. doi:10.1007/s10853-018-2342-0.
- Zhang, S.; Kang, Q.; Peng, H.; Ding, M.; Zhao, F.; Zhou, Y.; Dong, Z.; Zhang, H.; Yang, M.; Tao, S. (2019). Relationship between perfluorooctanoate and perfluorooctane sulfonate blood concentrations in the general population and routine drinking water exposure. *Environ. Int.* 2019, 126, 54–60.
- Zhang, X.; Wang, L.; Li, X.; Li, X.; (2022). AuNP aggregation-induced quantitative colorimetric aptasensing of sulfadimethoxine with a smartphone, *Chinese Chemical Letters*, Volume 33, Issue 6, Pages 3078-3082, ISSN 1001-8417, <https://doi.org/10.1016/j.cclet.2021.09.061>.
- Ziaee, M.; Zahedi, P.; Abdouss, M.; Zarandi, M.; Manouchehri, S.; Mozdoori, N. (2016). Electrospun poly (N-isopropylacrylamide- co-acrylic acid)/cellulose laurate blend nanofibers containing adapalene: Morphology, drug release, and cell culture studies. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*, 65(9), 477–486. doi:10.1080/00914037.2015.1129961.
- Zuo, Y.; Zhao, J.; Gao, Y.; Zhang, Y. (2017). Controllable synthesis of P(NIPAM-co-MPTMS)/PAA–Au composite materials with tunable LSPR performance. *Journal of Materials Science*, 52(16), 9584–9601. doi:10.1007/s10853-017-1157-8.