

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN, FUNCIONALIZACIÓN Y ESTUDIO DEL
ESCALAMIENTO DE NANOBASTONES DE ORO PARA APLICACIONES
BIOMÉDICAS**

SAMARY ALEJANDRA ESPITIA FAJARDO

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2013

**SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN, FUNCIONALIZACIÓN Y ESTUDIO DEL
ESCALAMIENTO DE NANOBASTONES DE ORO PARA APLICACIONES
BIOMÉDICAS**

SAMARY ALEJANDRA ESPITIA FAJARDO

Trabajo de grado como requisito para obtener el título de:
Ingeniera Química

Directores:

PhD. GILLES HENRI GAUTHIER

PhD. LUIZ ORLANDO LADEIRA

**UNIVERSIDAD INDUSTRIAL DE SANTANDER
FACULTAD DE INGENIERÍAS FISCOQUÍMICAS
ESCUELA DE INGENIERÍA QUÍMICA
BUCARAMANGA**

2013

AGRADECIMIENTOS

Culminando esta etapa de mi vida, tengo que agradecerle a Dios todopoderoso, porque solo caminando de su mano y con su bendición e infinito amor que me acompañan todos los días he logrado todas mis metas propuestas hasta ahora.

A mis padres, Segundo Espitia y Sonia Fajardo por su apoyo absoluto, por los valores y la enseñanza constante; por haberme dado la oportunidad de tener una educación excelente y sobre todo por ser un gran ejemplo de vida. Mi mami, mi gran amor, orgullo y motivación para crecer y ser mejor cada día.

A mis hermanitos y familia en general, porque han compartido mis triunfos y derrotas, por su cariño y confianza que me inspiraron todo este tiempo.

A mi querida Universidad Industrial de Santander a quien le debo no solo mis conocimientos profesionales, si no también valiosas enseñanzas para mi formación como persona. Gracias porque me dio la oportunidad de conocer personas maravillosas, que hicieron parte de mi vida y dejaron huella en mi corazón. A Jair, Eduis, Richar, Carlos, Paola, Liz y Maleja por su amistad, compañía, consejos y apoyo incondicional. A Manu por su cariño y por todos los momentos importantes que ha compartido conmigo.

Al profesor Gilles por su confianza, apoyo y exigencia constante que me permitieron presentar un trabajo de calidad.

A la Universidad Federal de Minas Gerais, en especial al profesor Luiz Orlando Ladeira y a todo mi grupo de compañeros del laboratorio de nanomateriales, por su ayuda incondicional, confianza, cariño, paciencia y aprendizaje al permitirme

formar parte de su grupo de trabajo haciendo de esta, una de las mejores experiencias de mi vida.

Para todos aquellos que hacen parte de mi vida, infinitas gracias y Dios los llene de bendiciones.

CONTENIDO

	Pág.
INTRODUCCIÓN	13
1. DESARROLLO EXPERIMENTAL	19
1.1 MATERIALES Y REACTIVOS	19
1.2 SÍNTESIS DE NANOBASTONES DE ORO	20
1.2.1 Síntesis a partir del método mediado por semilla	20
1.2.1.1 Solución semilla	20
1.2.1.2 Solución de crecimiento	21
1.2.2 Síntesis a partir de radiación gamma	21
1.2.3 Síntesis a partir de radiación ultravioleta	23
1.2.3.1 Efecto de la concentración de AgNO ₃ en la síntesis de NRs de oro a partir de radiación ultravioleta	24
1.2.3.2 Efecto de la potencia de la lámpara ultravioleta	24
1.2.3.3 Efecto del tiempo de irradiación	24
1.3 PURIFICACIÓN DE LOS NANORODS DE ORO	24
1.4 FUNCIONALIZACIÓN DE LOS NANORODS DE ORO	25
1.4.1 Funcionalización con ácido lipoico	25
1.4.2 Funcionalización con cisteamina	25
1.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS NANORODS DE ORO	26
2. RESULTADOS Y ANÁLISIS	27
2.1 SÍNTESIS A PARTIR DEL MÉTODO MEDIADO POR SEMILLA	27
2.2 SÍNTESIS A PARTIR DE RADIACIÓN GAMMA	28
2.2.1 Producción de 50 y 310 mL de NRs en solución acuosa	28
2.2.2 Discusión del mecanismo de síntesis por radiólisis	30

2.3 SÍNTESIS A PARTIR DE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA	31
2.3.1 Efecto de la concentración de AgNO ₃ en la síntesis de NRs de oro a partir de radiación ultravioleta	31
2.3.2 Efecto de la potencia de la lámpara de radiación ultravioleta	33
2.3.3 Efecto del tiempo de radiación	34
2.4 PURIFICACIÓN DE LOS NANORODS DE ORO	36
2.5 FUNCIONALIZACIÓN	37
2.5.1 Funcionalización con ácido lipoico	38
2.5.2 Funcionalización con cisteamina	38
4. CONCLUSIONES	40
5. RECOMENDACIONES	41
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
BIBLIOGRAFIA	49

LISTA DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Esquema de metodología	19
Figura 2 Esquema usado en la síntesis de NRs a partir del método mediado por semilla	20
Figura 3 Esquema usado en la síntesis de NRs a partir de radiación gamma	22
Figura 4 Esquema usado en la síntesis de NRs a partir de radiación ultravioleta	23
Figura 5 Imagen TEM y espectro de absorción UV-vis de 10 mL de AuNRs sintetizados por el método mediado por semilla	27
Figura 6 Espectro de absorción de 100 mL de NRs sintetizados por el método mediado por semilla	28
Figura 8 Espectro de absorción UV-visible e imagen TEM de 310 mL de una solución de NRs sintetizados por el método de radiólisis	29
Figura 7 Espectro de absorción UV-visible e imagen TEM de 50 mL de una solución de NRs sintetizados por el método de radiólisis	30
Figura 9 Espectros de absorción UV- Vis para las soluciones de AuNRs sintetizados mediante radiación ultravioleta con diferentes concentraciones de AgNO ₃ (0,001M y 0,0017M)	32
Figura 10 Imágenes TEM de NRs de oro sintetizados a partir de radiación ultravioleta con dos tamaños diferentes, usando dos concentraciones de AgNO ₃ : a. 0,001 M y b. 0,0017 M	32
Figura 11 Espectros de absorción UV-visible para las soluciones de NRs preparadas con una solución de AgNO ₃ (0,001M) irradiada con lámparas de potencia diferente: Lamp 1 de 4 W y Lamp 2 de 8 W.	33
Figura 12 Imágenes TEM de NRs sintetizados con la lámpara de potencia 8 W y concentración de AgNO ₃ de 0,001 M.	34

Figura 13 Espectro UV-Visible de NRs sintetizados a diferentes tiempos de irradiación 1h (exp 1) y 24h (exp 2)	35
Figura 14 Imágenes TEM de la solución de 40 mL de NRs sintetizados con la lámpara de 8 W mediante radiación ultravioleta	36
Figura 15 a. NRs de oro antes de la purificación, b. impurezas, c. NRs después de la purificación	37
Figura 16 Espectro UV-Vis de los NRs sintetizados con radiación ultravioleta puros y funcionalizados con A. lipoico	38
Figura 17 Espectro UV-Vis de los NRs sintetizados con radiación ultravioleta puros y funcionalizados con diferentes concentraciones de cisteamina	39

RESUMEN

TÍTULO: SÍNTESIS, CARACTERIZACIÓN, FUNCIONALIZACIÓN Y ESTUDIO DEL ESCALAMIENTO DE NANOBASTONES DE ORO PARA APLICACIONES BIOMÉDICAS*

AUTOR: SAMARY ALEJANDRA ESPITIA FAJARDO**

PALABRAS CLAVLES: nanorods de oro, resonancia de plasmon superficial, relación de aspecto, aplicaciones biomédicas **

DESCRIPCIÓN

Los nanobastones de oro (nanorods de oro AuNRs) son materiales prometedores para innovaciones en la biotecnología, que incluyen la entrega fotoasistida de medicamentos, terapia genética, detección no invasiva del cáncer, tratamiento fototérmico de este y biodetección ultrasensible. Estas aplicaciones surgen de sus propiedades ópticas y fototérmicas únicas. A partir del potencial de aplicaciones, encontrar un método de síntesis que no solo garantice su reproducibilidad, monodispersidad, alto rendimiento, facilidad de manipulación de tamaño y forma; sino que también tenga potencial para el escalamiento fue el objetivo de este estudio. En este trabajo se realizó una revisión de tres métodos de síntesis: mediado por semilla, a partir de radiación gama y con radiación ultravioleta, con el fin de discutir las ventajas y desventajas de cada uno y cuál de ellos podría usarse para una producción a gran escala. Los nanobastones sintetizados fueron caracterizados mediante espectroscopia UV-visible y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Se encontró que la síntesis fotoquímica puede ser el método más prometedor para una producción a gran escala. Los efectos de los parámetros de irradiación sobre la morfología de las AuNRs formados fueron investigados; el control de la radiación UV (potencia de irradiación) y el tiempo de irradiación permitieron la preparación de AuNRs con diferentes tamaños.

* Proyecto de grado.

** Facultad de Ingenierías Físicoquímicas. Escuela de Ingeniería Química. Directores: PhD. Gilles Henri Gauthier, PhD. Luiz Orlando Ladeira.

ABSTRACT

TITLE: SYNTHESIS, CHARACTERIZATION, FUNCTIONALIZATION AND STUDY GOLD NANORODS SCALING FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS[†]

AUTHOR: SAMARY ALEJANDRA ESPITIA FAJARDO **

KEYWORDS: gold nanorods, surface plasmon resonance, aspect ratio, biomedical applications

DESCRIPTION

The gold nanorods (AuNRs) are promising materials for biotechnology innovations including photoassisted drug delivery, gene therapy, noninvasive cancer detection, photothermal treatment of this and ultrasensitive biosensing. These applications result from exceptional optical and photothermal properties. As of potential applications, finding a synthesis method that not only ensure their reproducibility, monodispersity, high performance, ease of manipulation of size and shape, but also has the potential for scaling was the aim of this study. In this work, a review of three methods of synthesis: mediated seed, from gamma radiation and ultraviolet radiation, in order to discuss the advantages and disadvantages of each and which of them could be used for a large-scale. The synthesized nanorods were characterized by UV - visible spectroscopy and transmission electron microscopy (TEM). Found that the photochemical synthesis may be the most promising method for large scale production. The effects of irradiation parameters on the morphology of the formed AuNRs were investigated, and the control of the UV radiation (irradiation power) and the irradiation time enabled the preparation of AuNRs with different sizes. The effects of irradiation parameters on the morphology of the formed AuNRs were investigated, and the control of the UV radiation (irradiation power) and the irradiation time enabled the preparation of AuNRs with different sizes.

* Thesis.

** Faculty of Engineering Physic-chemical. School of Chemical Engineering. Directors: PhD. Gilles Henri Gauthier, PhD. Luiz Orlando Ladeira

INTRODUCCIÓN

La Nanociencia en el diseño, desarrollo, caracterización, producción y aplicación de nuevas estructuras a escala atómica y molecular (1-100 nm) se conoce como nanotecnología [1,2]. Su gran interés e investigación de los últimos años se puede atribuir al alto potencial de aplicaciones que ofrecen estos sistemas.

En especial, las pequeñas partículas metálicas presentan propiedades físicas y ópticas complejas; sus tamaños nanométricos causan fuerte confinamiento de los electrones, dando lugar a efectos interesantes no observados en el material a escala macroscópica [1,3]. Celdas solares, catálisis química, sistemas de almacenamiento de energía, superficie mejorada de la espectroscopia raman (efecto SERS), imágenes biológicas, biosensoramiento y nuevas terapias contra el cáncer son algunas de sus aplicaciones [4, 5].

Dentro de las nanopartículas metálicas, las de oro han sido de las más estudiadas debido a su estabilidad, biocompatibilidad y facilidad de síntesis [6]. Sus propiedades físicas, químicas y la interacción con biomoléculas, hacen que de ellas se deriven innumerables aplicaciones a nivel biotecnológico [7].

Las propiedades intrínsecas de una nanoestructura metálica se pueden manipular mediante el control de su forma y tamaño. La gran área de contacto, el efecto de retención y permeabilidad (EPR) aumentadas, además de propiedades ópticas como gran absorción y dispersión de la luz en la región Vis-NIR [8] hacen que nanoestructuras de oro como nanoesferas y nanoesferas huecas, nanocajas, nanocables, nanoanillos, nanocubos, nanoplacas, nanocintas atraigan mucha atención para aplicaciones en la ciencia y la ingeniería [6, 9].

En particular, nanopartículas de oro en forma de bastones, conocidas como nanorods (AuNRs), prometen excelentes resultados en el campo de la biotecnología; su importancia se debe principalmente al fenómeno de resonancia de plasmon superficial (RPS) y al alto rendimiento y monodispersidad de su síntesis comparado con otras formas [10, 11].

El fenómeno de resonancia de plasmon superficial es la característica más importante de las nanopartículas metálicas [12]. Consiste en una oscilación colectiva de los electrones de conducción dentro de las nanopartículas en presencia de un campo electromagnético específico y varía de acuerdo al tamaño y la forma de estas [9, 13, 14].

Los nanorods han despertado especial interés gracias a las dos bandas de absorción óptica que poseen. Una de ellas es causada por la oscilación de electrones a lo largo del eje corto o transversal, y se produce en la región visible, y el segundo es debido a la oscilación de electrones a lo largo del eje largo o longitudinal y se produce en la región del infrarrojo cercano (NIR) [15, 16, 17]. La posición espectral de la banda longitudinal se puede ajustar mediante la variación de la relación de aspecto del nanorod (longitud /anchura) [9, 18, 19]; de esta forma se puede variar la longitud de onda de la absorción de resonancia en la región que va de 500 nm a más de 1100 nm, generando una amplia posibilidad de aplicaciones [20, 21].

Debido a su superficie química de fácil manipulación, estas nanopartículas pueden actuar como anticuerpos artificiales y ser fácilmente funcionalizados con una gran cantidad de ligandos (polímeros, fármacos, material genético, proteínas) [6]. La conversión eficiente de la luz en calor por parte de los AuNRs puede ser usada en la terapia fototérmica de tumores y tejidos enfermos o infectados [17]. Su capacidad de absorber grandes cantidades de radiación de rayos X se puede utilizar para mejorar la radioterapia del cáncer o en el aumento de formación de

imágenes de contraste de diagnóstico, TC (tomografía computarizada). Debido a su multivalencia, estas nanopartículas pueden proteger los agentes fármacos y facilitar su entrega eficiente a las regiones inaccesibles del cuerpo [8]. Con su tamaño comparable respecto a las proteínas, los nanobastones de oro pueden perturbar de forma selectiva y modificar los procesos celulares, lo que les permite actuar como agentes intrínsecos de la droga [12]. El aumento de la señal Raman (efecto SERS) hace que estas nanopartículas puedan ser usadas como sensores químicos [8, 16, 22, 23].

Los numerosos campos de aplicación de los nanobastones impulsaron el desarrollo de varios protocolos de síntesis, que siguen una estrategia similar en la que los iones de oro se reducen en presencia de precursores que impiden la agregación de las partículas. Esta estrategia data de 1857, cuando Michel Faraday descubrió que las “finas partículas” se formaban a partir de la reducción del cloruro de oro, usando fósforo y disulfuro de carbono como agente estabilizador, lo que resultaba en un hermoso fluido “rubí” [12,16]. El tamaño y la forma de la partícula se ajustan variando la relación: ión de oro/agente reductor [24].

Los nanorods de oro son sintetizados en solución acuosa básicamente por tres métodos: químico, electroquímico y fotoquímico, con los que se obtienen AuNRs de un tamaño regular (largo 20-100nm y ancho 10-20nm) y con un alto rendimiento (>90%) [20, 25].

En el método químico, conocido como *seed-mediated* (sin duda el más popular), se comienza con la formación de pequeñas semillas de oro y se promueve su crecimiento mediante la adición de promotores como el surfactante catiónico CTAB (Bromuro de hexadeciltrimetilamonio), iones de plata, ácido ascórbico; además de los iones de oro [25]. La molécula de CTAB es indispensable en el rendimiento y la morfología de las nanopartículas, ya que forma la micela donde estas crecerán, promueve el crecimiento de los bastones y también actúa como

protector y estabilizador para la dispersión en fase acuosa, formando una capa sobre los nanobastones [26]. Adicionalmente, el papel del nitrato de plata es reaccionar con el CTAB para formar el compuesto bromuro de plata que deposita el oro en direcciones preferenciales y, por tanto, direcciona su crecimiento [11]. El ácido ascórbico se usa como agente reductor, que asegura una tasa de reducción y crecimiento lentos [25]. Con este método se producen nanobastones de oro con relación de aspecto entre 2 y 18 [27, 28, 29]. Actualmente es el método más usado debido a su facilidad de síntesis [19].

En el proceso electroquímico, la síntesis se lleva a cabo en una celda electroquímica con dos electrodos [15, 25]; el oro actúa como ánodo, que será reducido por un cátodo de platino, mediante una corriente de 5 mA por 30 minutos. La solución electrolítica contiene acetona y ciclohexano, además de las moléculas de CTAB y los iones de plata [25]. Mientras que los dos últimos productos químicos desempeñan un papel importante en el crecimiento de los nanorods, los dos primeros se usan para aflojar el marco micelar de moléculas de CTAB, y para promover la elongación de las nanopartículas [30].

La síntesis fotoquímica, desarrollada por Yang y colaboradores [30], se lleva a cabo en una solución de CTAB, iones de plata y de oro. La reducción de los iones de oro es inducida por la irradiación de luz ultravioleta [20, 25]. El crecimiento anisotrópico de nanopartículas de oro es controlado por los aditivos acetona y ciclohexano. El ciclohexano es conocido por promover la elongación, se añade para hinchar la parte alifática de las micelas de CTAB [11, 14]. La acetona neutraliza los electrones inducidos por la radiación, encargada de oxidar la molécula, la cual a su vez genera un radical alcohol. Este radical reduce lentamente los iones de oro [14, 31]. Para este método, se puede usar también radiación gama [21]. Esta síntesis es usada para obtener nanobastones relativamente mayores [16, 29].

Es interesante obtener nanobastones de diferente relación de aspecto, aunque para algunas aplicaciones biomédicas se tiene especial interés para que esta relación sea mayor [32]. Por esto, los factores que afectan el crecimiento de los AuNRs han sido ampliamente investigados: la pureza y concentración de los reactivos, el tipo de agente reductor, la velocidad de adición del agente reductor [14, 33], la temperatura, el pH y la agitación de la solución [34] controlan la morfología de los nanorods [16, 35].

Sin duda, una de las características más especiales de los nanobastones de oro es que presentan una elevada área superficial, por lo que pueden ser fácilmente funcionalizados y bioconjugados modificando sus propiedades superficiales [6, 36, 37]. La funcionalización se realiza generalmente mediante enlaces tiol [38], aunque también muestran afinidad por los grupos amino, fosfito y bisulfito. Una amplia versatilidad de modificaciones de la superficie ha sido desarrollada para producir AuNRs que muestran ligandos funcionalizados como anticuerpos, y biomacromoléculas en su superficie [14, 32]. Estas estrategias pueden controlar la carga de la superficie, modificar la biocompatibilidad, y mejorar la estabilidad coloidal de las nanopartículas [27].

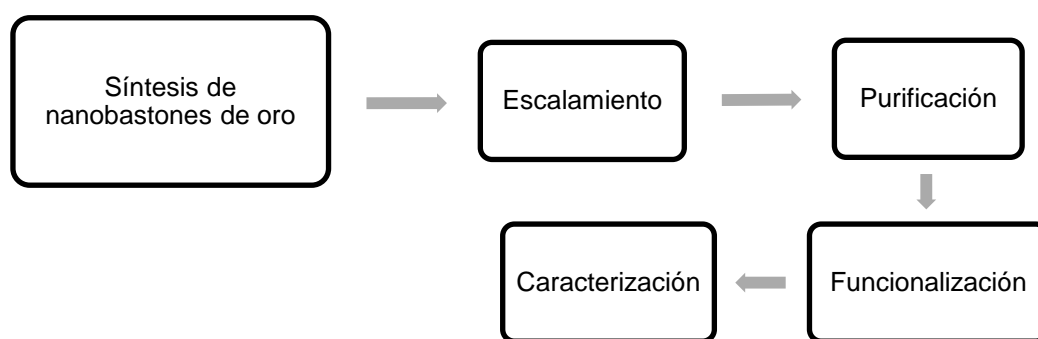
Todas estas propiedades y aplicaciones han llevado a un crecimiento notable en las publicaciones e investigaciones de los nanorods de oro. Una variedad de técnicas para sintetizarlos se encuentran en la literatura. Aun así, los mecanismos que regulan el control de la morfología y de la geometría sobre el crecimiento de las partículas están lejos de ser bien entendidos y la reproducibilidad y posibilidad de escalamiento de la síntesis es pobre [16, 39]. Es por eso que encontrar un método de síntesis que asegure la organización de las partículas individualmente dentro de una estructura macroscópica definida, en la cual se concreten sus propiedades de acuerdo al tamaño, forma y modificación de la superficie y que garantice su reproducibilidad a gran escala, es clave para el éxito en las aplicaciones.

En este trabajo se planea hacer una revisión de tres métodos de síntesis de nanorods, analizando la reproducibilidad, la facilidad de síntesis y la dispersión en solución. Se lleva a cabo una discusión sobre las variables que más influyen en cada método, con el fin de encontrar el que podría ser más prometedor para una producción a gran escala.

1. DESARROLLO EXPERIMENTAL

La metodología empleada en este trabajo se muestra en la Figura 1.

Figura 1 Esquema de metodología



Fuente: Autor

1.1 MATERIALES Y REACTIVOS

Ácido tetracloraurico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), nitrato de plata (AgNO_3 , 99% de pureza), Bromuro de hexadeciltrimetilamonio (CTAB, 98% pureza), bromuro de tetraoctilamonio (TOAB), borohidruro de sodio (NaBH_4), ácido ascórbico, acetona, ciclohexano, se obtuvieron de Sigma-Aldrich y se usaron como se recibieron, a excepción del ácido tetracloraurico, que fue producido en el laboratorio. Toda la vidriería fue lavada con agua regia y enjuagada con agua ultrapura antes de los experimentos. Todas las soluciones se prepararon usando agua desionizada (resistividad de $18\text{M}\Omega$).

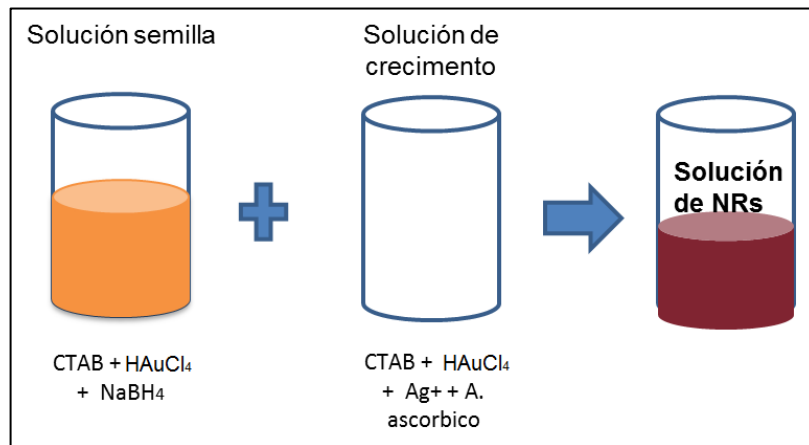
1.2 SÍNTESIS DE NANOBASTONES DE ORO

Se usaron tres métodos de síntesis diferentes: mediado por semilla [40], por radiólisis [14] y con radiación ultravioleta [20, 30], realizando algunas modificaciones en su preparación.

1.2.1 Síntesis a partir del método mediado por semilla En este método se prepara una solución semilla formada por nanopartículas de oro, para ser adicionada a una solución de crecimiento.

En la Figura 2 se presenta el esquema simplificado usado en el proceso.

Figura 2 Esquema usado en la síntesis de NRs a partir del método mediado por semilla



Fuente: Autor

1.2.1.1 Solución semilla Una solución de CTAB (10 mL, 0,03 M), se mezcla con 10µL de HAuCl₄ • 3H₂O 0,1 M. A esta solución calentada (45°C) y agitada magnéticamente se agrega 0,5 mL de NaBH₄ 0,01 M, lo cual resulta en una solución marrón claro que evidencia la reducción del oro. Esta solución se deja en baño maría (30°C) por una hora.

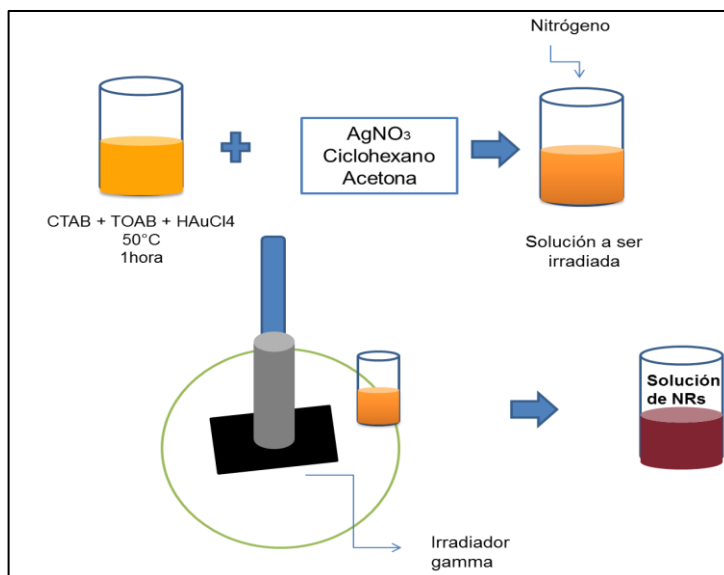
1.2.1.2 Solución de crecimiento A una solución de CTAB (8ml, 0,1M), se agrega 100µL de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ 0,1M. A esta solución calentada (45°C) y agitada magnéticamente se agrega 1mL de una solución de AgNO_3 0,88 mM y una cantidad precisa de una solución de ácido ascórbico 0,1 M, hasta que el color cambie a transparente, con lo que se garantiza la reducción del oro (Au^{III} a Au^{I}). Posteriormente, se agregan 50 µL de la solución semilla. El color de la solución cambia gradualmente entre 10-20 min. Con la adición de la solución semilla el oro se reduce finalmente de Au^{I} a Au^0 [17, 23]

En esta etapa se puede variar la cantidad de solución semilla, de AgNO_3 o de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$; con el fin de obtener nanobastones con diferentes relaciones de aspecto [35]. Sin embargo, como el propósito del trabajo es producir nanobastones en volúmenes mayores, se usaron solo las concentraciones citadas anteriormente.

Usando este protocolo para 10 mL, se hizo el escalamiento para 100 mL de solución, multiplicando por 10 cada volumen usado en la síntesis.

1.2.2 Síntesis a partir de radiación gamma En la Figura 3 se muestra el esquema simplificado usado en este método de síntesis.

Figura 3 Esquema usado en la síntesis de NRs a partir de radiación gamma



Fuente: Autor

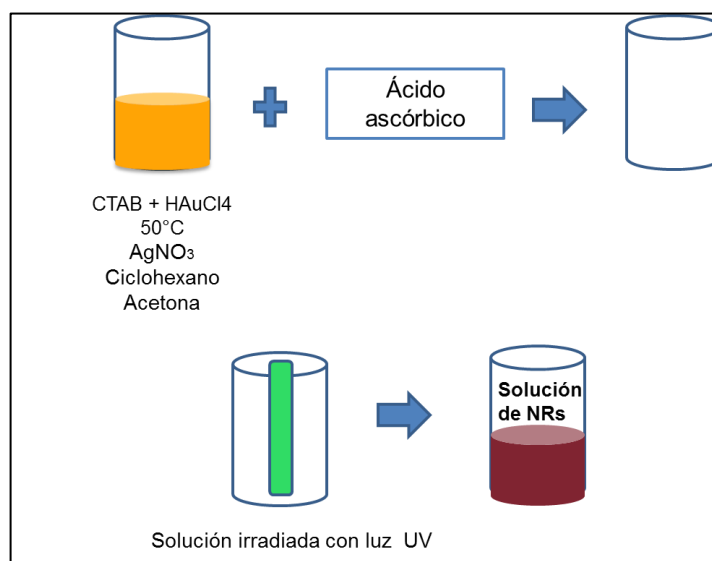
Se prepararon 50 y 310 mL de una solución de nanorods. Brevemente, se añadieron HAuCl₄ y TOAB a una solución acuosa agitada de CTAB, por encima de la concentración micelar crítica (CMC). La solución obtenida se agitó a 50 ° C durante una hora. A continuación, acetona, ciclohexano, y AgNO₃ se añadieron sucesivamente a la solución anterior. Así, la concentración final de la solución fue: 0,082 M de CTAB, 0,75 mM de TOAB, 1,9 mM de HAuCl₄ • 3H₂O, 0,139 M de ciclohexano, 0,266 M de acetona y 0,14 mM de AgNO₃.

Las soluciones preparadas fueron lavadas a continuación con nitrógeno para eliminar el oxígeno presente en la solución y posteriormente irradiada con un irradiador panorámico multipropósito de categoría II, fabricado por MDS Nordion en Canadá, modelo/número de serie IR-214 tipo GB-127, equipado con una fuente de Cobalto-60; con una tasa de dosis de 3,2 kGy/h. Los iones de oro se redujeron por los radicales inducidos por radiólisis, y fue necesario un tiempo de exposición de 14h para reducir todos los iones de oro.

1.2.3 Síntesis a partir de radiación ultravioleta Se produjeron nanorods de oro haciendo una combinación entre el método químico (mediado por semilla) y el fotoquímico (usando radiación ultravioleta), con el fin de acortar el tiempo de reacción y acelerar la formación de nanorods [41].

En la Figura 4 se muestra el esquema simplificado usado en la síntesis.

Figura 4 Esquema usado en la síntesis de NRs a partir de radiación ultravioleta



Fuente: Autor

Se prepararon 20 y 40 mL de una solución de nanorods. Primero se preparó una solución de CTAB (20 mL, 0,082) y HAuCl₄ • 3H₂O (100 µL, 0,1 M). La disolución se llevó a cabo a una temperatura de 45°C con agitación constante. Posteriormente, se adicionó 1mL de una solución de AgNO₃ 1,17 mM, 433 µL de acetona, 300 µL de ciclohexano y finalmente 80 µL de una solución de ácido ascórbico 0,09M como agente reductor (estas cantidades fueron adicionadas para la solución de 20 mL). Con la adición del ácido ascórbico, la solución cambia de color naranja a transparente, lo cual es un indicador de la reducción de Au^{III} a Au^I.

Esta solución precursora es colocada en un recipiente y dentro de él la lámpara ultravioleta, de tal manera que la distancia entre la solución y la lámpara sea mínima. El montaje experimental fue cubierto papel aluminio durante la irradiación para evitar cualquier posible interacción con otras fuentes de luz en el laboratorio. Como se tiene poca información de este método de síntesis en la literatura, se decidió hacer un análisis de las variables más influyentes.

1.2.3.1 Efecto de la concentración de AgNO_3 en la síntesis de NRs de oro a partir de radiación ultravioleta Se estudió el efecto de la concentración de nitrato de plata en el crecimiento y relación de aspecto de los nanorods. Para esto se prepararon dos soluciones con diferentes concentraciones de AgNO_3 (0,001 M y 0,002 M).

1.2.3.2 Efecto de la potencia de la lámpara ultravioleta Se prepararon 20 y 40 mL de solución de nanorods usando dos lámparas ultravioleta de diferente potencia (4 y 8 W). Para observar el efecto de la potencia en el crecimiento de las nanopartículas, dos soluciones idénticas se irradiaron usando las diferentes lámparas.

1.2.3.3 Efecto del tiempo de irradiación Se analizó el efecto del tiempo de irradiación en la formación de los nanorods, mediante esta síntesis. Para esto se toman dos muestras (a 1 y 24 horas de irradiación).

1.3 PURIFICACIÓN DE LOS NANORODS DE ORO

Las soluciones resultantes fueron centrifugadas a 5600G por 10min, con el fin de retirar las impurezas (partículas con otras formas y geometrías) y eliminar el CTAB que no puede estar presente para la posterior utilización en aplicaciones biotecnológicas debido a su toxicidad [4, 6, 19, 42]. Se retiró el líquido

sobrenadante claro que contiene principalmente agentes precursores y, a continuación, se recogió la solución de AuNRs (precipitado) concentrado, la cual se redispersó en agua desionizada; este proceso se repitió dos veces para asegurar la eliminación de CTAB.

Posteriormente, 20 μ l de solución NR dispersos en agua se depositaron sobre una rejilla de cobre recubierta de carbono y se secaron al vacío para el análisis por Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM).

1.4 FUNCIONALIZACIÓN DE LOS NANORODS DE ORO

Para enlazar moléculas químicas de interés biológico en los nanorods, se comenzó con la unión de ácido lipoico y cisteamina a su superficie. Con el ácido lipoico, se obtiene un grupo carboxilo disponible para enlaces covalentes químicos con otras moléculas como proteínas y anticuerpos. Ahora, con cisteamina se obtiene un grupo amina disponible para posteriores uniones con anticuerpos, polímeros, fármacos y material genético [6, 32].

1.4.1 Funcionalización con ácido lipoico Se preparó una solución de ácido lipoico (disuelto en metanol) 20 mM. Se agregaron 200 μ L de esta solución a 1 mL de la solución que contenía los nanobastones. En seguida se sonicó (con el fin de evitar la agregación de las partículas) esta solución durante 30min a una temperatura de 50°C y luego 1 h 30 min más a temperatura ambiente.

1.4.2 Funcionalización con cisteamina Se preparó una solución (disuelta en agua) de cisteamina 10 mM. Se agregaron diferentes cantidades de esta solución de cisteamina (100, 150 y 200 μ L) a 1 mL de la solución que contenía los nanobastones. En seguida se sonicó esta solución durante 30min a una temperatura de 50°C y luego 1h 30 min más a temperatura ambiente.

1.5 CARACTERIZACIÓN DE LOS NANORODS DE ORO

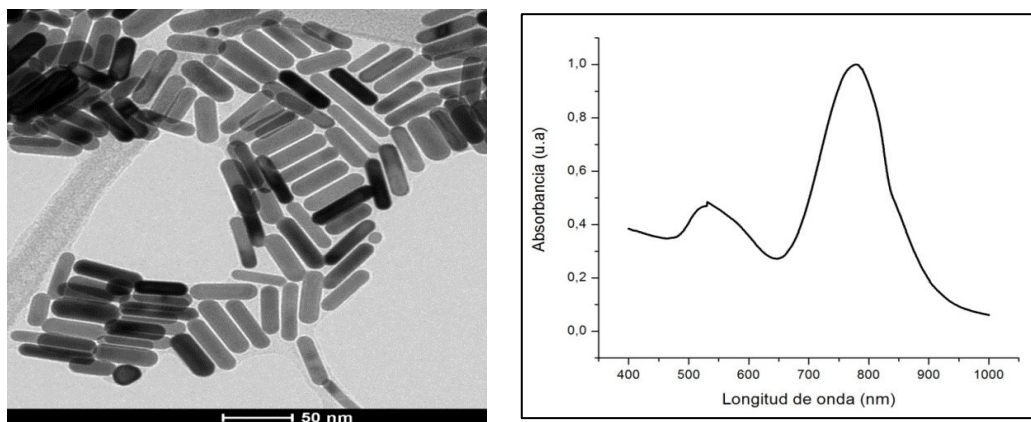
La determinación de la posición de la banda de absorción correspondiente al plasmon de los nanorods de oro fue obtenido mediante espectroscopia UV-Vis-NIR, en un rango espectral entre 400 y 1000nm usando un espectrómetro de modelo UV-3600 de la Shimadzu Scientific Instruments e instalado en el laboratorio de óptica del departamento de física de la Universidad Federal de Minas Gerais (UFMG); la morfología y el tamaño medio de las nanopartículas fueron examinados mediante TEM, usando un Microscopio Electrónico de Transmisión, Tecnai G2-20 - SuperTwin FEI - 200 kV ubicado en el centro de microscopia de la UFMG. Las imágenes obtenidas son de tipo campo claro.

2. RESULTADOS Y ANÁLISIS

2.1 SÍNTESIS A PARTIR DEL MÉTODO MEDIADO POR SEMILLA

El espectro de absorción UV-visible y una imagen de microscopia electrónica de transmisión (TEM) de la solución de 10 mL de nanorods se muestran en la Figura 5. Se obtuvo el espectro de absorción típico de NRs de oro con sus dos picos de absorción SPR (el pico transversal en torno a 510-520 nm y el longitudinal a 780 nm). Según la imagen TEM estos nanorods producidos tienen una longitud aproximada de 45 nm. Entre las ventajas que hacen que este método sea bastante usado está su facilidad de síntesis [20], su buena monodispersidad, las suaves condiciones de reacción y la posibilidad de controlar la relación de aspecto de las nanopartículas [8, 15, 16]. Sin embargo, la reproductibilidad y aún más el escalamiento es complicado, debido a la gran sensibilidad del método a numerosos parámetros experimentales [14] (Temperatura, agitación, pH, pureza de reactivos, cantidad de agente reductor, tamaño de las semillas, etc.).

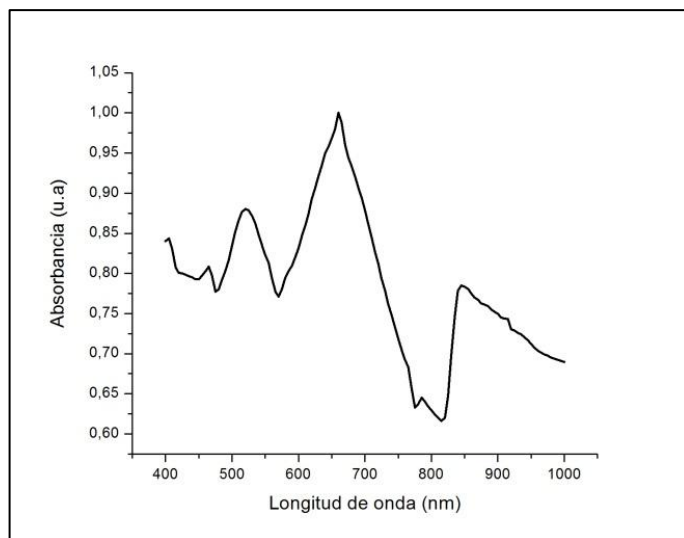
Figura 5 Imagen TEM y espectro de absorción UV-vis de 10 mL de AuNRs sintetizados por el método mediado por semilla



Fuente: Autor

La Figura 6 muestra el espectro de absorción UV-Vis de una solución de 100 mL de AuNRs. Se puede observar que por el método mediado por semilla se tiene una sensibilidad que impide el escalamiento, el espectro no posee los dos picos de absorción típicos de los AuNRs, solo se puede ver el pico transversal (a 520 nm), lo cual indica la presencia de esferas [20]. Otra desventaja de este método es su bajo rendimiento [14, 33], el cual es solo del 15% [33]. Además de ser difícil obtener nanorods de alta pureza con grandes relaciones de aspecto utilizando esta técnica [41, 42], ligeros cambios en las condiciones de reacción conducen a otras formas (impurezas) [23], que dificultan el escalamiento.

Figura 6 Espectro de absorción de 100 mL de NRs sintetizados por el método mediado por semilla



Fuente: Autor

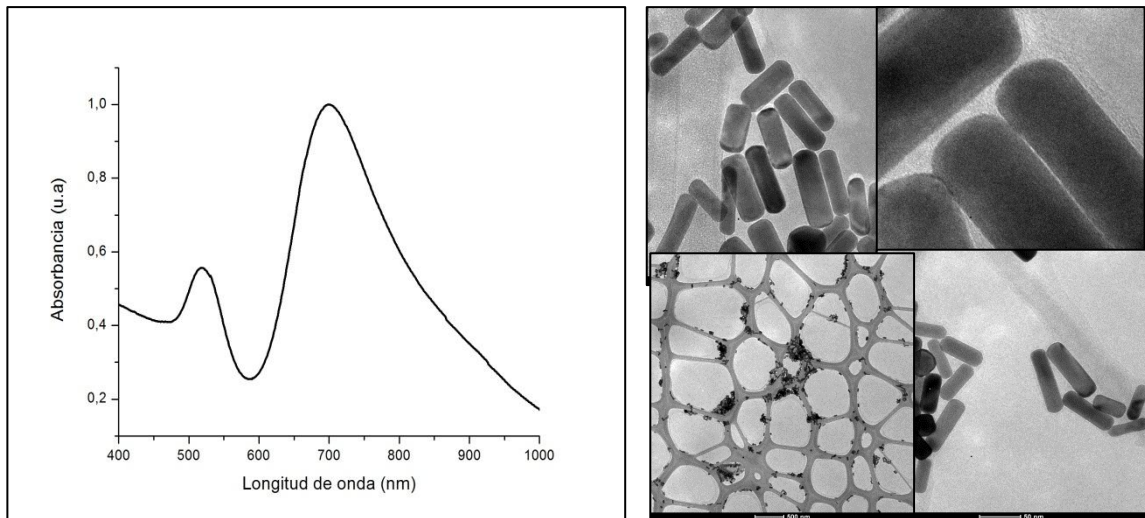
2.2 SÍNTESIS A PARTIR DE RADIACIÓN GAMMA

2.2.1 Producción de 50 y 310 mL de NRs en solución acuosa Las condiciones experimentales para producir los 50 y 310 mL de NRs fueron similares a las reportadas en la literatura [14]. Los respectivos espectros de absorción UV-visible

e imágenes TEM se muestran en las Figuras 7 y 8; aparentemente parecen prometedoras. El espectro UV-Vis presenta las dos bandas de absorción (transversal situada en 520 nm y longitudinal en 680 nm). Usando radiólisis se obtienen nanopartículas de tamaño y forma controlados. Con este proceso se logra una nucleación y reducción homogénea; sin embargo, lograr reproducibilidad en el método no es una tarea fácil. El factor más influyente y por el que se cree que no fue posible su perfecta reproducibilidad, es la tasa de dosis de irradiación; esta debe ser lenta para asegurar la formación de bastones, una tasa alta conduce a la formación de esferas [14].

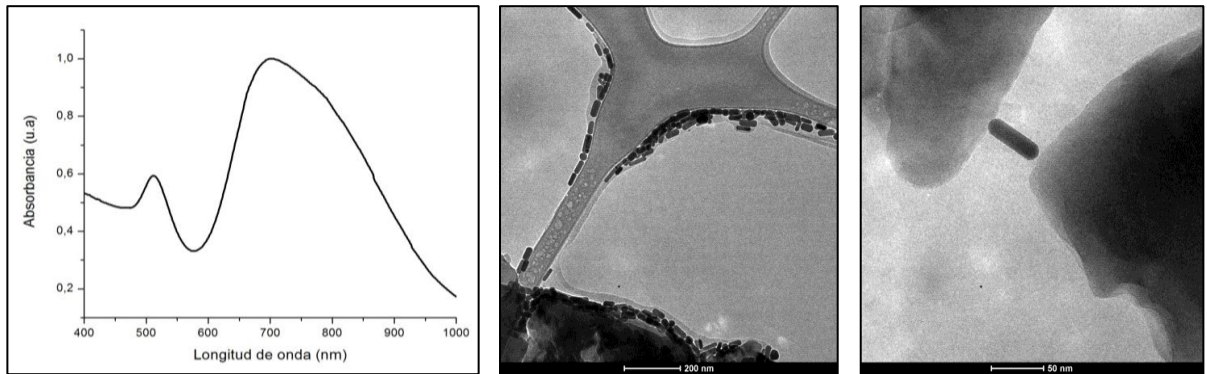
Otra desventaja observada en el método es la dificultad de enlazar las moléculas de interés biotecnológico a la superficie de los nanorods sintetizados por este método. Al parecer altas dosis de radiación gama afectan la superficie de los nanobastones.

Figura 7 Espectro de absorción UV-visible e imagen TEM de 310 mL de una solución de NRs sintetizados por el método de radiólisis



Fuente: Autor

Figura 8 Espectro de absorción UV-visible e imagen TEM de 50 mL de una solución de NRs sintetizados por el método de radiólisis



Fuente: Autor

2.2.2 Discusión del mecanismo de síntesis por radiólisis Los principales efectos de la interacción de radiación de alta energía como rayos gama con una solución de iones metálicos, son la excitación y la ionización del solvente que conduce a la formación de varias especies. Los principales radicales reactivos generados por irradiación son electrones solvatados, radicales hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) y átomos de hidrógeno (H).

Los electrones solvatados y átomos de hidrógeno (H) actúan como agentes reductores fuertes, capaces de reducir los iones metálicos bajando valencias y finalmente en átomos de metal. En contraste, los radicales $\text{OH}\cdot$ tienen buenas propiedades oxidantes que pueden causar la oxidación inversa de átomos metálicos [14].

En este caso, los electrones solvatados reaccionan con la acetona y producen un radical alcohol; estos radicales son tan fuertes reductores como los átomos de hidrogeno (H) [44].

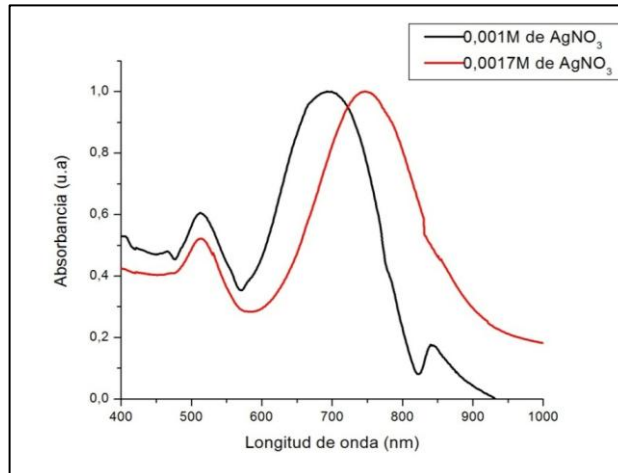
La mayor parte de la irradiación se usa en la reducción de oro Au^{III} a Au^{I} [14].

2.3 SÍNTESIS A PARTIR DE RADIACIÓN ULTRAVIOLETA

Usando radiación ultravioleta se consiguió producir 20 y 40 mL de NRs en solución acuosa. Se estudió el efecto de la variación de la concentración de AgNO_3 , de la potencia de la lámpara ultravioleta y del tiempo de irradiación. Para cada condición de irradiación, la síntesis se repitió tres veces; los resultados encontrados son reproducibles con una desviación en la posición de la banda de absorción longitudinal menor a 5nm.

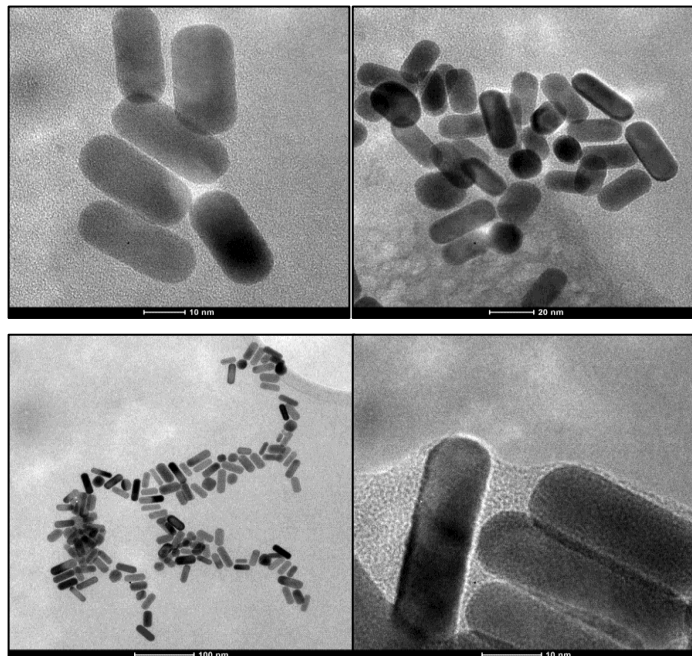
2.3.1 Efecto de la concentración de AgNO_3 en la síntesis de NRs de oro a partir de radiación ultravioleta. Una solución de 20 mL que contenía complejo de Au^{III} (HAuCl_4), CTAB, ácido ascórbico, ciclohexano, acetona, y dos concentraciones de nitrato de plata (0,001 M y 0,0017 M) se sometieron a irradiación ultravioleta. La Figura 9 muestra los espectros de absorción UV-visible registrados después de una dosis de irradiación de 1 hora. Se obtuvieron espectros de absorción típicos de NRs de oro con sus dos picos de absorción. Al aumentar la concentración de plata, el pico longitudinal se desplaza hacia la región del infrarrojo (750 nm). Por consiguiente, el aumento de la cantidad de Ag + conduce a un cambio en el tamaño de los NR y al aumento de su relación de aspecto (R) [24], lo cual se confirmó por imágenes TEM (Figura 10). Para las concentraciones de AgNO_3 de 0,001 M y 0,0017 M la longitud de los AuNRs fue de 25 y 40 nm respectivamente. Para este experimento se usó la lámpara de potencia 4W.

Figura 9 Espectros de absorción UV- Vis para las soluciones de AuNRs sintetizados mediante radiación ultravioleta con diferentes concentraciones de AgNO₃ (0,001M y 0,0017M)



Fuente: Autor

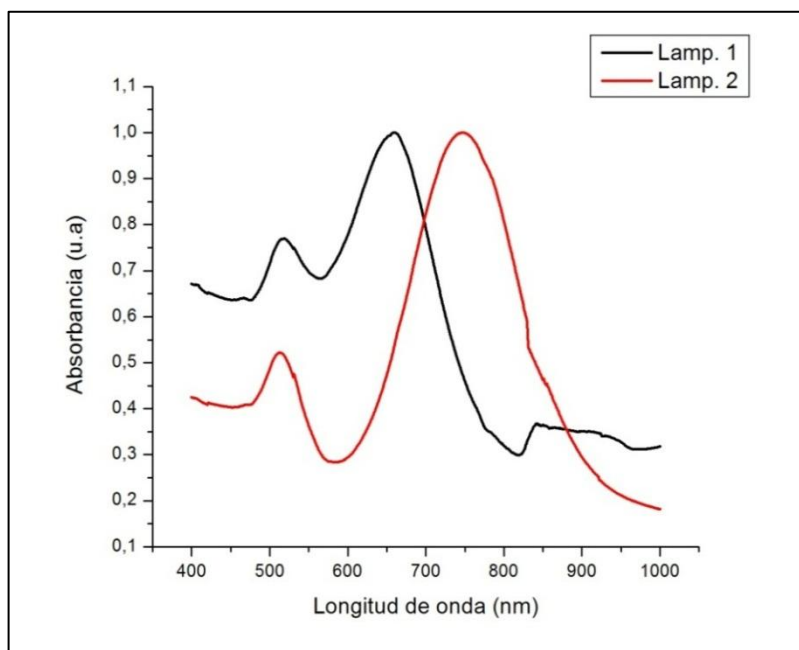
Figura 10 Imágenes TEM de NRs de oro sintetizados a partir de radiación ultravioleta con dos tamaños diferentes, usando dos concentraciones de AgNO₃: a. 0,001 M y b. 0,0017 M



Fuente: Autor

2.3.2 Efecto de la potencia de la lámpara de radiación ultravioleta Para este experimento se usaron dos lámparas con diferentes potencias. La lámpara 1 de potencia 4 W y la lámpara 2 de potencia 8 W. La Figura 11 muestra los espectros de absorción UV-visible de soluciones que contienen complejo de Au^{III} y una misma concentración de AgNO₃ (0,001M), irradiadas con las dos lámparas respectivamente durante el mismo tiempo (30 min).

Figura 11 Espectros de absorción UV-visible para las soluciones de NRs preparadas con una solución de AgNO₃ (0,001M) irradiada con lámparas de potencia diferente: Lamp 1 de 4 W y Lamp 2 de 8 W.



Fuente: Autor

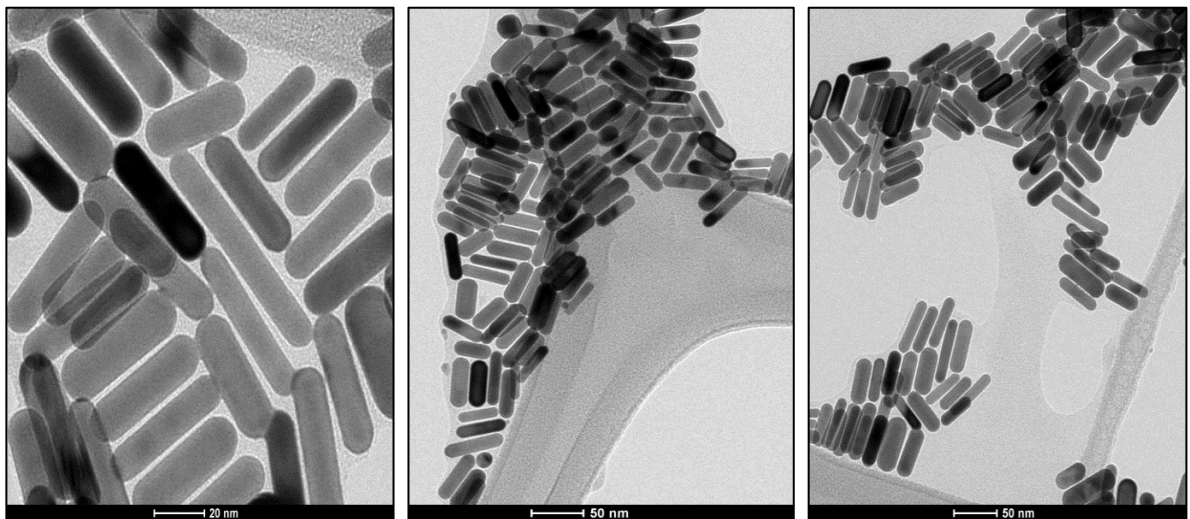
Se puede observar que para una misma concentración de iones de Ag, el tamaño y por tanto la relación de aspecto de los NRs aumenta al usar una lámpara de potencia mayor. Con la lámpara de 4 W de potencia, el pico longitudinal se encuentra en 658,25 nm y cuando se irradia con la lámpara de 8 W de potencia, el pico se desplaza a 747,69 nm. Esto puede ser explicado a través de una

aceleración de la fotorreducción de los iones de oro, intensidades más altas de irradiación inducen a un crecimiento más rápido de los AuNRs [41].

Las imágenes TEM de la Figura 12 demuestran la obtención de nanorods de mayor tamaño usando una potencia de radiación mayor. Se puede ver la diferencia con respecto a los NRs sintetizados con la lámpara de 4 W de potencia (Figura 10, a).

La posición del pico de absorción transversal (TSP) se mantiene constante a 520 nm para el rango de irradiación investigado. Los cambios registrados de la posición del pico longitudinal (LSP) con el aumento de la irradiación indican un aumento gradual de la relación de aspecto.

Figura 12 Imágenes TEM de NRs sintetizados con la lámpara de potencia 8 W y concentración de AgNO₃ de 0,001 M.

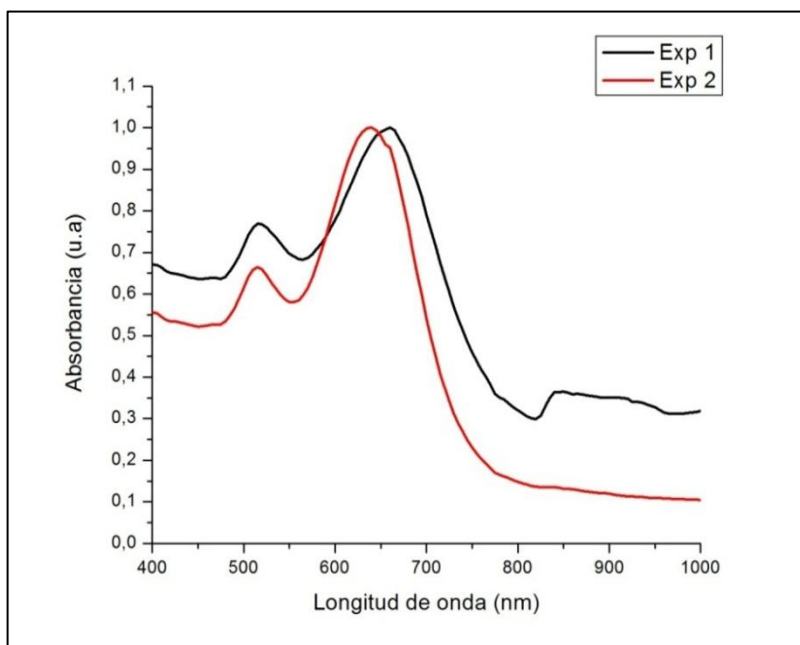


Fuente: Autor

3.3.3 Efecto del tiempo de radiación Se analizó también el efecto del tiempo de irradiación. En un experimento (1) se irradió la solución durante 1 h y en otro experimento (2), una solución igual a la primera se irradió durante toda la noche.

En la Figura 13, se puede observar que el espectro de absorción UV-visible es prácticamente el mismo. Sin embargo, según la literatura, la irradiación de la solución con luz ultravioleta durante un tiempo excesivo produce bastones más cortos para una concentración de iones de plata determinado [30]. Esto posiblemente se debe a la transformación de los bastones en la forma termodinámicamente más estable (esférica) [22, 41].

Figura 13 Espectro UV-Visible de NRs sintetizados a diferentes tiempos de irradiación 1h (exp 1) y 24h (exp 2)



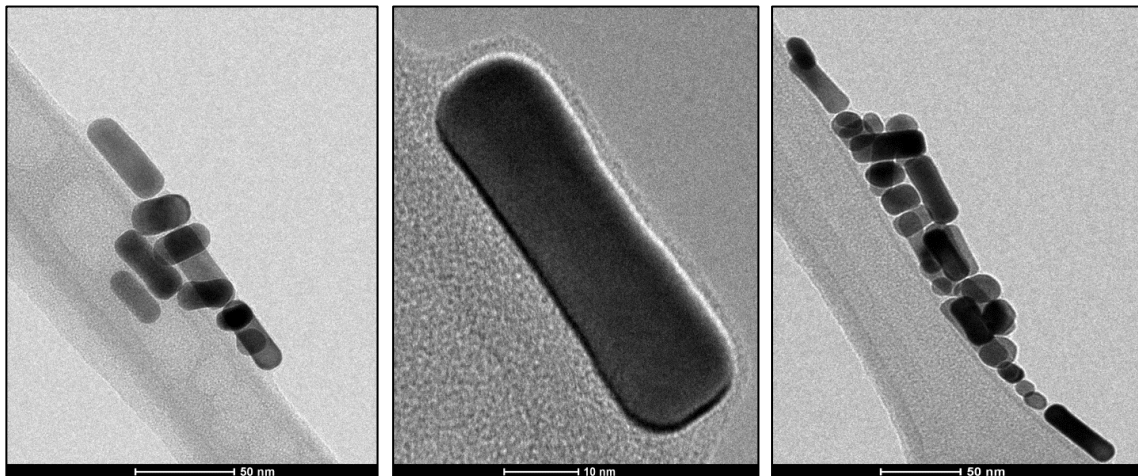
Fuente: Autor

Con este método se obtienen nanobastones de oro con buena monodispersidad ya que al igual que con radiación gama, con este se consigue una reducción homogénea. Es un método prometedor para la producción de nanorods uniformes; la síntesis es relativamente simple y rápida. Se pueden obtener NRs de diferentes tamaños. Es reproducible y lo más importante, se observa gran potencial para el escalamiento.

Con la lámpara de mayor potencia (8 W) se consiguió producir 40 mL de solución acuosa de NRs de oro de 35 nm de longitud aproximadamente. Las imágenes TEM se muestran en la Figura 14. Para producir una cantidad superior a los 40 mL se necesita un reactor de mayor volumen y tal vez lámparas ultravioleta de mayor potencia para agilizar el tiempo de formación de los nanorods.

Sin embargo este método a pesar de mostrar un alto potencial para el escalamiento, presenta algunos inconvenientes que deben ser estudiados con más profundidad. El principal inconveniente del protocolo de síntesis fotoquímica es un control limitado del tamaño de los NRs debido a la simultánea nucleación de las semillas de oro y su crecimiento en bastones [41, 45].

Figura 14 Imágenes TEM de la solución de 40 mL de NRs sintetizados con la lámpara de 8 W mediante radiación ultravioleta



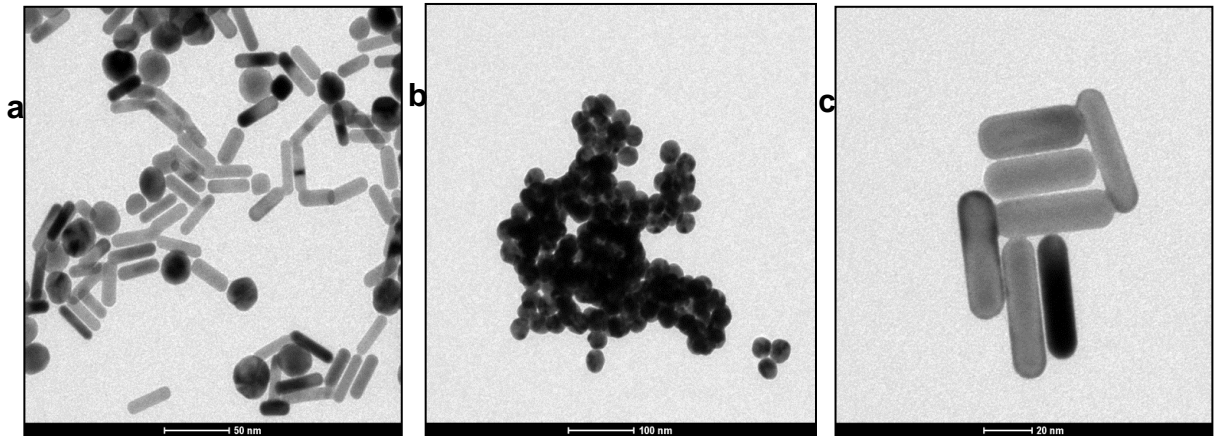
Fuente: Autor

2.4 PURIFICACIÓN DE LOS NANORODS DE ORO

Después de la síntesis, fue necesario remover las partículas indeseadas de otras formas que están presentes en la solución; también fue importante eliminar la

mayor cantidad de CTAB posible [46]. Esto se realizó mediante centrifugación. En la Figura 15, se muestra imágenes TEM de la solución de NRs antes y después de la centrifugación.

Figura 15 a. NRs de oro antes de la purificación, b. impurezas, c. NRs después de la purificación



Fuente: Anderson Caires Laboratorio de nanomateriales Universidad Federal de Minas Gerais

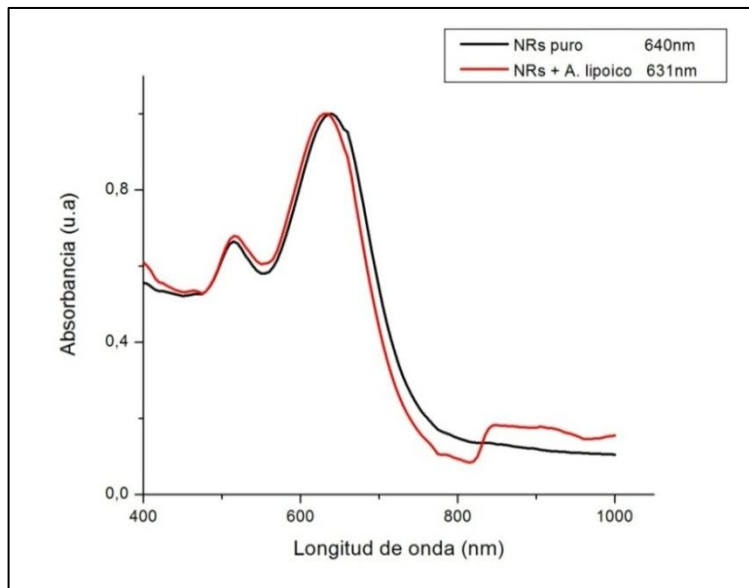
2.5 FUNCIONALIZACIÓN

Para la funcionalización de los nanorods, se usaron los sintetizados por el método de radiación ultravioleta, ya que es el método más prometedor para su escalamiento, y porque en la literatura ya se cuenta con bastante información sobre funcionalización de nanorods sintetizados por el método mediado por semilla [47, 48, 49].

La funcionalización de los compuestos usados (ácido lipico y cisteamina) a los nanobastones de oro, se verifica con la propiedad de desplazamiento de pico del plasmon longitudinal que se da cuando hay un cambio en el medio dieléctrico que los rodea, en este caso un enlace de compuestos químicos en su superficie [5, 8, 47, 50].

2.5.1 Funcionalización con ácido lipoico En la Figura 16 se muestra el espectro UV-visible de la solución de 20 mL de nanorods sintetizados por radiación ultravioleta antes y después de la funcionalización con ácido lipoico.

Figura 16 Espectro UV-Vis de los NRs sintetizados con radiación ultravioleta puros y funcionalizados con A. lipoico



Fuente: Autor

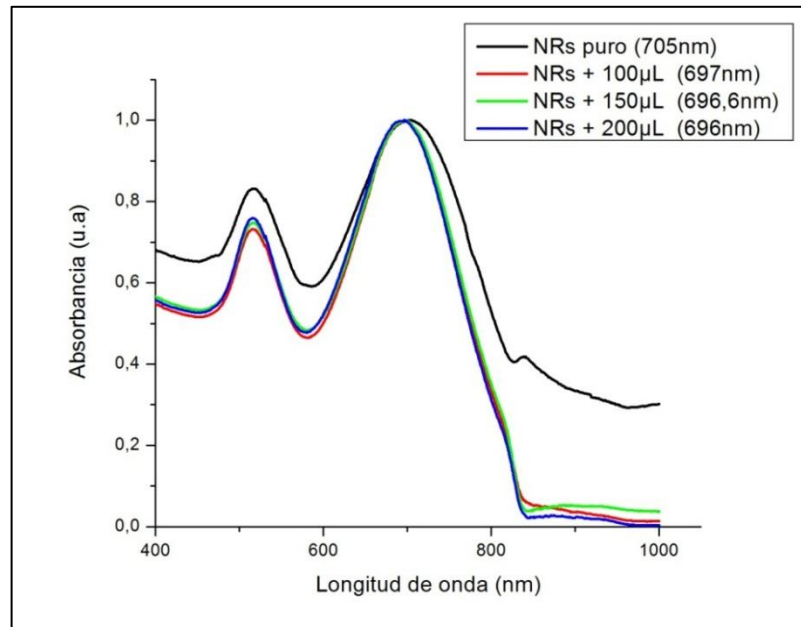
Se puede observar el desplazamiento del pico de absorción longitudinal después de la funcionalización. La solución de NRs puro presenta el pico a 640 nm y luego de ser funcionalizados, este se desplaza a 631 nm.

2.5.2 Funcionalización con cisteamina Para la funcionalización con cisteamina se usaron varias cantidades de esta (100, 150 y 200 μ L) en 1ml de la solución de 40 mL de NRs. En la Figura 17 se presenta el espectro UV-visible de los nanorods antes y después de la funcionalización.

En este caso se puede observar cómo se desplaza el pico de absorción longitudinal a medida que aumenta la concentración de cisteamina. Para la

solución de NRs puros el pico se encuentra en 705 nm y con una cantidad de 200 μL de cisteamina el pico se mueve a 696 nm.

Figura 17 Espectro UV-Vis de los NRs sintetizados con radiación ultravioleta puros y funcionalizados con diferentes concentraciones de cisteamina



Fuente: Autor

En cada caso de funcionalización se puede ver que la radiación ultravioleta no afecta la superficie de los nanobastones y, por tanto, se pueden llevar a cabo los enlaces de las diferentes moléculas de interés, lo cual fue una dificultad cuando los nanorods se sintetizaron con radiación gamma.

4. CONCLUSIONES

- Se realizó un estudio preliminar sobre tres métodos de síntesis de nanobastones que pueden llegar a ser prometedores en el escalamiento y se encontró a partir de parámetros como reproductibilidad, flexibilidad y facilidad de síntesis que el método fotoquímico usando radiación ultravioleta muestra los mejores resultados.
- Se analizó las ventajas y desventajas de cada método estudiado, respaldadas en las dos técnicas de caracterización usadas: espectroscopia UV-visible y Microscopia Electrónica de Transmisión (TEM).
- El hecho de poder controlar la superficie de los nanobastones sintetizados mediante radiación ultravioleta, además de poder escalar, fue el logro más importante ya que de esto depende el éxito de todas las aplicaciones.
- Un buen ajuste de la potencia, el tiempo de irradiación y la concentración de AgNO_3 puede proporcionar una herramienta importante para el control de la relación de aspecto de los nanobastones sintetizados usando radiación ultravioleta

5. RECOMENDACIONES

- A pesar de que no se consiguió reproductibilidad con el método fotoquímico usando radiación gama, los resultados muestran que es un método que debe ser estudiado más a fondo, la tasa de dosis de irradiación es el factor clave en esta síntesis.
- Dada la alta reproductibilidad que ofrece el método de síntesis usando radiación ultravioleta se expone la necesidad de encontrar un reactor de mayor volumen que permita continuar escalando la cantidad de nanorods producidos.
- Se propone el uso de otros agentes reductores con el fin de mejorar el rendimiento en las síntesis.
- Encontrar un método para calcular la concentración de nanorods presentes en la solución es un trabajo importante a la hora de determinar el rendimiento y así tener otro parámetro que evalúe la efectividad de los diferentes métodos usados.
- Teniendo en cuenta la gran cantidad de aplicaciones de estas nanopartículas, el estudio y búsqueda de un método que garantice la reproductibilidad y producción a gran escala debe ir sin duda de la mano con el avance de las diferentes aplicaciones.
- Teniendo en cuenta que se realizó un estudio preliminar, se podría con el método usando radiación ultravioleta que presentó los resultados más prometedores para escalamiento de la síntesis, hacer un diseño de experimentos donde se analice con más detalle las variables y parámetros más influyentes del método.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- [1] Fernandes, I. I. (2009). *Interação de proteínas com superfícies nanoestruturadas e nanopartículas de metais nobres*. Dissertação doutorado em química inorgânica, Universidade nova de Lisboa, Faculdade de ciências e tecnologia , Lisboa.
- [2] Alanazi, F. K., Alsarra, I. A., & Radwan, A. A. (2010). Biopharmaceutical applications of nanogold. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 179-193.
- [3] Zijlstra, P. (2009). *Photothermal properties of gold nanorods and their application to five-dimensional optical recording*. Thesis submitted for the degree of doctor os Philosophy, Swinburne University of Technology, Faculty of Engineering and Industrial Sciences, Melbourne, Australia.
- [4] Becker, R., Liedberg, B., & Kall, P. O. (2010). CTAB promoted synthesis of Au nanorods – Temperature effects. *Journal of Colloid and Interface Science*, 343, 25-30.
- [5] De Moraes, D. A. (2012). *Nanopartículas magnéticas decoradas com nanopartículas metálicas visando aplicações em biomedicina*. Dissertação mestrado em ciências, Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, Brasil.
- [6] Al Qadi, S., & Remuñán López, C. (s.f.). *Nanopartículas metálicas: oro*. Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica.

- [7] Chen, P. C., Mwakwari, S. C., & Oyelere, A. K. (2008). Gold nanoparticles: From nanomedicine to nanosensing. *Nanotechnology, Science and Applications*, 45-66.
- [8] Alkilany, A. M., Thompson, L. B., Boulos, S. P., Sisco, P. N., & Murphy, C. J. (2012). Gold nanorods: Their potential for photothermal therapeutics and drug delivery, tempered by the complexity of their biological interactions. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 190-199.
- [9] Jana, N. R., Gearheart, L., & Murphy, J. (2007). Gold nanorods: Synthesis, optical properties, assembly and bioapplications. En D. M. Sabatini, *Leading Edge nanotechnology research developments* (págs. 139-162). New York.
- [10] Martin, C. R. (1996). Membrane-Based synthesis of nanomaterials. *Chem Mater*, 8, 1739-1746.
- [11] Jana, N. R., Gearheart, L., & Murphy, C. J. (2012). Wet Chemical Synthesis of High Aspect Ratio Cylindrical Gold Nanorods. *J. Phys. Chem. Soc*, 105, 4065-4067.
- [12] Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J., & El-Sayed, M. A. (2012). The golden age: Gold nanoparticles for biomedicine. *Chem. Soc. Rev*, 41, 534-546.
- [13] Choi, W. I., Sahu, A., Kim, Y. H., & Tae, G. (2012). Photothermal Cancer Therapy and Imaging Based on Gold Nanorods. *Annals of Biomedical Engineering*, 40, 534-546.

- [14] Abidi, W., Selvakannan, P. R., Guillet, Y., Lampre, I., Beaunier, P., Pansu, B., y otros. (2010). One-Pot Radiolytic Synthesis of Gold Nanorods and Their Optical Properties. *J. Phys. Chem*, 114, 14794-14803.
- [15] Li, Q., & Cao, Y. (2012). Preparation and Characterization of gold nanorods. En O. Yalcin, *Nanorods* (págs. 159-178). Shanghai.
- [16] Park, K. (2006). *Synthesis, Characterization and self- Assembly of Size Tunable Gold Nanorods*. Dissertation Doctor of Philosophy, Georgia Institute of Technology, School of Polymer, Textile and Fiber Engineering, Georgia.
- [17] Durgadas, C. V., Lakshmi, V. N., Sharma, C. P., & Sreenivasan, K. (2011). Sensing of lead ions using glutathione mediated end to end assembled gold nanorod chains. *Sensors and Actuators*, 156, 791-797.
- [18] Boca, S. C., & Astilean, S. (2010). Detoxification of gold nanorods by conjugation with thiolated poly(ethyleneglycol) and their assessment as SERS-active carriers of Raman tags. *Nanotechnology*, 21, 88.
- [19] Tong, L., Wei, Q., Wei, A., & Cheng, J. X. (2009). Gold Nanorods as Contrast Agents for Biological Imaging: Optical Properties, Surface Conjugation and Photothermal Effects. *Photochemistry and Photobiology*, 23, 21-32.
- [20] Nishioka, K., Niidome, Y., & Yamada, S. (2007). Photochemical Reactions of Ketones to Synthesize Gold Nanorods. *Langmuir*, 23, 10353-10356.
- [21] Hwang, S. Y., & Tao, A. R. (2011). Biofunctionalization of gold nanorods. *Pure Appl. Chem*, 83, 233-241.

[22] Marangoni, V. S. (2012). *Estudo e desenvolvimento de Nanocompósitos contendo Nanopartículas de ouro conjugadas com Biomoléculas: Síntese e aplicações em nanomedicina*. Dissertação para obtenção do título de Mestre em ciências, Universidade de São Paulo, Instituto de Física, São Carlos.

[23] Murphy, C. J., Sau, T. K., Gole, A., Orendorff, C. J., Gao, J., Gou, J., y otros. (2005). Anisotropic Metal Nanoparticles: Synthesis, Assembly, and Optical Applications. *J. Phys. Chem*, 109, 13857-13870.

[24] Perez, J. J., Pastoriza, I., Mazán, L. M., & Mulvaney, P. (2005). Gold nanorods: Synthesis, characterization and applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 249, 1870-1901.

[25] Mitamura, K., & Imae, T. (2009). Functionalization of Gold Nanorods Toward Their Applications. *Plasmonics*, 4, 23-30.

[26] Hubert, F., Testard, F., & Spalla, O. (2008). Cetyltrimethylammonium Bromide Silver Bromide Complex as the Capping Agent of Gold Nanorods. *Langmuir*, 24, 9219-9222.

[27] Alkilany, A. M., Lohse, S. E., & Murphy, C. J. (2013). The Gold Standard: Gold Nanoparticle Libraries To Understand the Nano-Bio Interface. *American Chemical Society*, 46(3), 650-661.

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

[29] Murphy, C. J., Sau, T. K., Gole, A., & Orendorff, C. J. (2005). Surfactant-directed synthesis and optical properties of one-dimensional plasmonic metallic nanostructures. *MRS Bull*, 30, 349-355.

[30] Kim, F., Song, J. H., & Yang, P. (2002). Photochemical Synthesis of Gold Nanorods. *J. AM. Chem. Soc*, 124, 14316-14317.

[31] Selvakannan, P. R., Dumas, E., Dumur, F., P  choux, C., Beaunier, P., Etcheberry, A., y otros. (2010). Coordination chemistry approach for the end-to-end assembly of gold nanorods. *Journal of colloid and Interface Science* , 349, 93-97.

[32] Vigderman, L., & Zubarev, E. R. (2012). Therapeutic platforms based on gold nanoparticles and their covalent conjugates with drug molecules. *Adv. Drug Deliv. Rev.*

[33] Vigderman, L., & Zubarev, E. R. (2013). High-Yield Synthesis of Gold Nanorods with Longitudinal SPR Peak Greater than 1200 nm Using Hydroquinone as a Reducing Agent. *Chem. Mater*, 25, 1450-1457.

[34] Asadollahi, H., Shirvani, M., Nooshirvani , M., Noorafkan, R., & Nabipoor, A. (2005). Investigating the Effects of Some Capping Agents upon Gold Nanocrystals Stability, Size and Surface Plasmon Resonance. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran*, 4, 351-355.

[35] Jiang, X. C., & Pileni, M. P. (2007). Gold nanorods: Influence of various parameters as seeds, solvent, surfactant on shape control. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 295, 228-232.

- [36]** Spadavecchia, J., Casale, S., Boujday, S., & Pradier, C. M. (2012). Bioconjugated gold nanorods to enhance the sensitivity of FT-SPR-based biosensors. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 100, 1-8.
- [37]** Vigderman, L., & Zubarev, E. R. (2012). Therapeutic platforms based on gold nanoparticles and their covalent conjugates with drug molecules. *Adv. Drug Deliv. Rev.*
- [38]** Shimmin, R. G., Schoch, A. B., & Braun, P. V. (2004). Polymer size and concentration effects on the size of gold nanoparticles capped by polymeric thiols. *Langmuir*, 20, 5613-5620.
- [39]** Pérez-Juste, J., Liz-Marzán, L. M., Carnie, S., Chan, D. Y., & Mulvaney, P. (2004). Electric-Field-Directed Growth of Gold Nanorods in Aqueous Surfactant Solutions. *Adv. Funct. Mater*, 14(6).
- [40]** Nikoobakht, B., & El-Sayed, M. A. (2003). Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method. *Chem. Mater*, 15, 1957-1962.
- [41]** Abdelrasoul, G. N., Cingolani, R., Diaspro, A., Athanassiou, A., & Pignatelli, F. (2013). Photochemical synthesis: effect of UV irradiation on gold nanorods morphology. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*.
- [42]** Moghadam, T. T., Ranjbar, B., & Khajeh, K. (2012). Conformation and activity of lysozyme on binding to two types of gold nanorods: A comparative study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51, 91-96.
- [43]** Jana, N. R., Gearheart, L., & Murphy, J. (2006). Synthesis, assembly and reactivity of metallic nanorod. In C. N. Rao, A. Miller, A. K. Cheetham, & J. Wiley,

The chemistry of nanomaterials: Synthesis, properties and applications (págs. 285-307). New York.

[44] Gachard , E., Remita , H., Khatouri, J., Keita, B., Nadio, L., & Belloni, J. (1998). Radiation-induced and chemical formation of gold clusters. *New J. Chem*, 22, 1257-1265.

[45] Asadollahi, H., Shirvani, M., Nooshirvani , M., Noorafkan, R., & Nabipoor, A. (2005). Investigating the Effects of Some Capping Agents upon Gold Nanocrystals Stability, Size and Surface Plasmon Resonance. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran*, 4, 351-355.

[46] Locatelli, E., Ori, G., Founelle, M., Lemor, R., Montorsi, M., & Franchini, M. C. (2011). Click Chemistry for the Assembly of Gold Nanorods and Silver Nanoparticles. *Chem. Eur. J.*, 17, 9052 – 9056.

[47] Murphy, C. J., Gole, A. M., Hunyadi, S. E., Stone, J. W., Sisco, P. N., Alkilany, A., y otros. (2008). Chemical sensing and imaging with metallic nanorods. *Chem, Commun*, 544-557.

[48] Pissuwan, D., Valenzuela, S. M., & Cortie, M. B. (2008). Prospects for Gold Nanorod Particles in Diagnostic and Therapeutic Applications. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 25, 93-112.

[49] Wang, C., & Irudayaraj, J. (2008). Gold Nanorod Probes for the Detection of Multiple Pathogens. *Journal Small*, 4(12), 2204-2208.

[50] Shenoy, D., Fu, W., Li, J., & DiMarzo, C. (2006). Surface functionalization of gold nanoparticles using hetero-bifunctional poly(ethylene glycol) spacer for intracellular tracking and delivery. *International Journal of Nanomedicine*, 1, 51-57.

BIBLIOGRAFIA

Abdelrasoul, G. N., Cingolani, R., Diaspro, A., Athanassiou, A., & Pignatelli, F. (2013). Photochemical synthesis: effect of UV irradiation on gold nanorods morphology. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*.

Abidi, W., Selvakannan, P. R., Guillet, Y., Lampre, I., Beaunier, P., Pansu, B., y otros. (2010). One-Pot Radiolytic Synthesis of Gold Nanorods and Their Optical Properties. *J. Phys. Chem*, 114, 14794-14803.

Al Qadi, S., & Remuñán López, C. (s.f.). *Nanopartículas metálicas: oro*. Universidad de Santiago de Compostela, Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica.

Alanazi, F. K., Alsarra, I. A., & Radwan, A. A. (2010). Biopharmaceutical applications of nanogold. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 179-193.

Alkilany, A. M., Lohse, S. E., & Murphy, C. J. (2013). The Gold Standard: Gold Nanoparticle Libraries To Understand the Nano-Bio Interface. *American Chemical Society*, 46(3), 650-661.

Alkilany, A. M., Thompson, L. B., Boulos, S. P., Sisco, P. N., & Murphy, C. J. (2012). Gold nanorods: Their potential for photothermal therapeutics and drug delivery, tempered by the complexity of their biological interactions. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64, 190-199.

Asadollahi, H., Shirvani, M., Nooshirvani, M., Noorafkan, R., & Nabipoor, A. (2005). Investigating the Effects of Some Capping Agents upon Gold Nanocrystals

Stability, Size and Surface Plasmon Resonance. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran*, 4, 351-355.

Asadollahi, H., Shirvani, M., Nooshirvani, M., Noorafkan, R., & Nabipoor, A. (2005). Investigating the Effects of Some Capping Agents upon Gold Nanocrystals Stability, Size and Surface Plasmon Resonance. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran*, 4, 351-355.

Becker, R., Liedberg, B., & Kall, P. O. (2010). CTAB promoted synthesis of Au nanorods – Temperature effects. *Journal of Colloid and Interface Science*, 343, 25-30.

Boca, S. C., & Astilean, S. (2010). Detoxification of gold nanorods by conjugation with thiolated poly(ethyleneglycol) and their assessment as SERS-active carriers of Raman tags. *Nanotechnology*, 21, 88.

Chen, P. C., Mwakwari, S. C., & Oyelere, A. K. (2008). Gold nanoparticles: From nanomedicine to nanosensing. *Nanotechnology, Science and Applications*, 45-66.

Choi, W. I., Sahu, A., Kim, Y. H., & Tae, G. (2012). Photothermal Cancer Therapy and Imaging Based on Gold Nanorods. *Annals of Biomedical Engineering*, 40, 534-546.

De Moraes, D. A. (2012). *Nanopartículas magnéticas decoradas com nanopartículas metálicas visando aplicações em biomedicina*. Dissertação mestrado em ciências, Universidade de São Paulo, Instituto de Química de São Carlos, São Carlos, Brasil.

Dreaden, E. C., Alkilany, A. M., Huang, X., Murphy, C. J., & El-Sayed, M. A. (2012). The golden age: Gold nanoparticles for biomedicine. *Chem. Soc. Rev*, 41, 534-546.

Durgadas, C. V., Lakshmi, V. N., Sharma, C. P., & Sreenivasan, K. (2011). Sensing of lead ions using glutathione mediated end to end assembled gold nanorod chains. *Sensors and Actuators*, 156, 791-797.

Fernandes, I. I. (2009). *Interação de proteínas com superfícies nanoestruturadas e nanopartículas de metais nobres*. Dissertação doutorado em química inorgânica, Universidade nova de Lisboa, Faculdade de ciências e tecnologia , Lisboa.

Gachard , E., Remita , H., Khatouri, J., Keita, B., Nadio, L., & Belloni, J. (1998). Radiation-induced and chemical formation of gold clusters. *New J. Chem*, 22, 1257-1265.

Hubert, F., Testard, F., & Spalla, O. (2008). Cetyltrimethylammonium Bromide Silver Bromide Complex as the Capping Agent of Gold Nanorods. *Langmuir*, 24, 9219-9222.

Hwang, S. Y., & Tao, A. R. (2011). Biofuncionalization of gold nanorods. *Pure Appl. Chem*, 83, 233-241.

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

Jana, N. R., Gearheart, L., & Murphy , C. J. (2012). Wet Chemical Synthesis of High Aspect Ratio Cylindrical Gold Nanorods. *J. Phys. Chem. Soc*, 105, 4065-4067.

Jana, N. R., Gearheart, L., & Murphy , J. (2006). Synthesis, assembly and reactivity of metallic nanorod. En C. N. Rao, A. Miller, A. K. Cheetham, & J. Wiley,

The chemistry of nanomaterials: Synthesis, properties and applications (págs. 285-307). New York.

Jana, N. R., Gearheart, L., & Murphy, J. (2007). Gold nanorods: Synthesis, optical properties, assembly and bioapplications. En D. M. Sabatini, *Leading Edge nanotechnology research developments* (págs. 139-162). New York.

Jiang, X. C., & Pileni, M. P. (2007). Gold nanorods: Influence of various parameters as seeds, solvent, surfactant on shape control. *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects*, 295, 228-232.

Kim, F., Song, J. H., & Yang, P. (2002). Photochemical Synthesis of Gold Nanorods. *J. AM. Chem. Soc.*, 124, 14316-14317.

Li, Q., & Cao, Y. (2012). Preparation and Characterization of gold nanorods. En O. Yalcin, *Nanorods* (págs. 159-178). Shanghai.

Locatelli, E., Ori, G., Founelle, M., Lemor, R., Montorsi, M., & Franchini, M. C. (2011). Click Chemistry for the Assembly of Gold Nanorods and Silver Nanoparticles. *Chem. Eur. J.*, 17, 9052 – 9056.

Marangoni, V. S. (2012). *Estudo e desenvolvimento de Nanocompósitos contendo Nanopartículas de ouro conjugadas com Biomoléculas: Síntese e aplicações em nanomedicina*. Dissertação para obtenção do título de Mestre em ciências, Universidade de São Paulo, Instituto de Física, São Carlos.

Martin, C. R. (1996). Membrane-Based synthesis of nanomaterials. *Chem Mater*, 8, 1739-1746.

Mitamura, K., & Imae, T. (2009). Functionalization of Gold Nanorods Toward Their Applications. *Plasmonics*, 4, 23-30.

Moghadam, T. T., Ranjbar, B., & Khajeh, K. (2012). Conformation and activity of lysozyme on binding to two types of gold nanorods: A comparative study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 51, 91-96.

Murphy, C. J., Gole, A. M., Hunyadi, S. E., Stone, J. W., Sisco, P. N., Alkilany, A., y otros. (2008). Chemical sensing and imaging with metallic nanorods. *Chem, Commun*, 544-557.

Murphy, C. J., Sau, T. K., Gole, A., & Orendorff, C. J. (2005). Surfactant-directed synthesis and optical properties of one-dimensional plasmonic metallic nanostructures. *MRS Bull*, 30, 349-355.

Murphy, C. J., Sau, T. K., Gole, A., Orendorff, C. J., Gao, J., Gou, J., y otros. (2005). Anisotropic Metal Nanoparticles: Synthesis, Assembly, and Optical Applications. *J. Phys. Chem*, 109, 13857-13870.

Nikoobakht, B., & El-Sayed, M. A. (2003). Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method. *Chem. Mater*, 15, 1957-1962.

Nishioka, K., Niidome, Y., & Yamada, S. (2007). Photochemical Reactions of Ketones to Synthesize Gold Nanorods. *Langmuir*, 23, 10353-10356.

Park, K. (2006). *Synthesis, Characterization and self- Assembly of Size Tunable Gold Nanorods*. Dissertation Doctor of Philosophy, Georgia Institute of Technology, School of Polymer, Textile and Fiber Engineering, Georgia.

Perez, J. J., Pastoriza, I., Mazán, L. M., & Mulvaney, P. (2005). Gold nanorods: Synthesis, characterization and applications. *Coordination Chemistry Reviews*, 249, 1870-1901.

Pérez-Juste, J., Liz-Marzán, L. M., Carnie, S., Chan, D. Y., & Mulvaney, P. (2004). Electric-Field-Directed Growth of Gold Nanorods in Aqueous Surfactant Solutions. *Adv. Funct. Mater*, 14(6).

Pissuwan, D., Valenzuela, S. M., & Cortie, M. B. (2008). Prospects for Gold Nanorod Particles in Diagnostic and Therapeutic Applications. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 25, 93-112.

Selvakannan, P. R., Dumas, E., Dumur, F., Péchoux, C., Beaunier, P., Etcheberry, A., y otros. (2010). Coordination chemistry approach for the end-to-end assembly of gold nanorods. *Journal of colloid and Interface Science* , 349, 93-97.

Shenoy, D., Fu, W., Li, J., & DiMarzo, C. (2006). Surface functionalization of gold nanoparticles using hetero-bifunctional poly(ethylene glycol) spacer for intracellular tracking and delivery. *International Journal of Nanomedicine*, 1, 51-57.

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

Spadavecchia, J., Casale, S., Boujday, S., & Pradier, C. M. (2012). Bioconjugated gold nanorods to enhance the sensitivity of FT-SPR-based biosensors. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 100, 1-8.

Tong, L., Wei, Q., Wei, A., & Cheng, J. X. (2009). Gold Nanorods as Contrast Agents for Biological Imaging: Optical Properties, Surface Conjugation and Photothermal Effects. *Photochemistry and Photobiology*, 23, 21-32.

Vigderman, L., & Zubarev, E. R. (2012). Therapeutic platforms based on gold nanoparticles and their covalent conjugates with drug molecules. *Adv. Drug Deliv. Rev.*

Vigderman, L., & Zubarev, E. R. (2012). Therapeutic platforms based on gold nanoparticles and their covalent conjugates with drug molecules. *Adv. Drug Deliv. Rev.*

Vigderman, L., & Zubarev, E. R. (2013). High-Yield Synthesis of Gold Nanorods with Longitudinal SPR Peak Greater than 1200 nm Using Hydroquinone as a Reducing Agent. *Chem. Mater*, 25, 1450-1457.

Wang, C., & Irudayaraj, J. (2008). Gold Nanorod Probes for the Detection of Multiple Pathogens. *Journal Small*, 4(12), 2204-2208.

Zijlstra, P. (2009). *Photothermal properties of gold nanorods and their application to five-dimensional optical recording*. Thesis submitted for the degree of doctor of Philosophy, Swinburne University of Technology, Faculty of Engineering and Industrial Sciences, Melbourne, Australia.