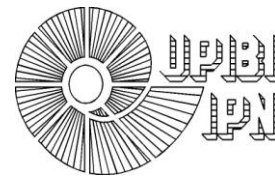


INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE
BIOTECNOLOGÍA



“APLICACIÓN DE ELECTROFORESIS CAPILAR PARA LA
CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE NANOPARTÍCULAS
METÁLICAS DE Au”

INFORME TÉCNICO DE LA OPCIÓN CURRICULAR EN LA MODALIDAD DE:

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO FARMACÉUTICO

PRESENTA:

Tolentino Hernández Suset Jannette

DIRECTOR INTERNO: Q.F.B. María Esther Bautista Ramírez

EVALUADOR: DRA. Yolanda de las Mercedes Gómez y Gómez

México, D. F. mayo 2014

México, D.F., a 27 de mayo del 2014.
Of. No. PTIII-Farmacéutica-017/2014A
TOLENTINO HERNÁNDEZ SUSET JANNETTE
ALUMNO DEL PROYECTO TERMINAL III
DEL OCTAVO NIVEL DE LA CARRERA DE
INGENIERÍA FARMACÉUTICA
Presente


Comunico a Usted que, como resultado de la evaluación por parte de la Academia de Opción Curricular, con fecha 06 de mayo de 2014, ha quedado registrada su actividad a realizar en el Proyecto Terminal en la modalidad "PROYECTO DE INVESTIGACIÓN" en el "Departamento de Bioprocesos, UPIBI" desarrollando el trabajo titulado "Aplicación de electroforesis capilar para la caracterización física de nanopartículas metálicas de Au", bajo la dirección interna de la Q.F.B. María Esther Bautista Ramírez. De cumplir con las condiciones que abajo se indican, acreditará la Opción Curricular de Titulación. Así mismo, me permito recordarle que dicha actividad deberá concluir en el octavo nivel con la entrega del informe técnico final, de conformidad con los lineamientos que para tal fin ha establecido la academia mencionada.

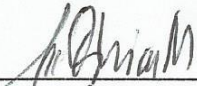
CONDICIONES

1. Permanecer en la misma modalidad en el Proyecto Terminal I, II y III.
2. Obtener una calificación igual o superior a 8.0 en Proyecto Terminal I, Proyecto terminal II y en Proyecto Terminal III.
3. Cumplir con el 90% de asistencia a las actividades asignadas y en la asignatura.
4. Cumplir con los demás requisitos que se fijan en el programa de estudios de la asignatura.

Sin otro particular por el momento, le envió un cordial saludo.

ATENTAMENTE


DRA. MARÍA GUADALUPE RAMÍREZ SOTELO
PROFESORA DE LA ASIGNATURA PROYECTO
TERMINAL III.


M. en C. GUADALUPE ORDORICA MORALES
JEFA DE LA CARRERA DE INGENIERÍA
FARMACÉUTICA

ccp Expediente de Proyecto Terminal



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
UNIDAD PROFESIONAL INTERDISCIPLINARIA DE BIOTECNOLOGÍA**

**DRA. MARÍA GUADALUPE RAMÍREZ SOTELO
COORDINADORA DE PROYECTO TERMINAL III**

Los abajo firmantes designados por el Comité de Proyecto Terminal como miembros del jurado calificador del Informe final titulado "Aplicación de electroforesis capilar para la caracterización física de nanopartículas metálicas de Au", que presenta la C. SUSET JANNETTE TOLENTINO HERNÁNDEZ de la carrera de Ingeniería Farmacéutica, informamos que después de haber revisado cuidadosamente el informe escrito, consideramos que reúne las características que se requieren para su impresión y aspirar a la aprobación del Proyecto Terminal III.

NOMBRE

FIRMA

**Q.F.B. MARÍA ESTHER BAUTISTA RAMÍREZ
ASESOR INTERNO**

**DRA. YOLANDA DE LAS MERCEDES GÓMEZ Y GÓMEZ
EVALUADOR**

Se extiende la presente a los 30 días del mes de mayo del año 2014.

Agradecimientos

A mis padres

Mami, gracias por enseñarme a ser fuerte, por demostrarme que no importa que tan grande sea el obstáculo, mientras estemos todos juntos siempre habrá una salida, tu valor como madre y mujer siempre me ha motivado a dar pasos en grande, se lo mucho que te esfuerzas por siempre dar lo mejor de ti y no sabes lo mucho que lo aprecio, espero algún día ser tan fuerte como tú, y que los años no pasen por mí, ni por mi corazón así como no han pasado por ti, lo eres todo, eres el eslabón más fuerte en nuestra cadena, simplemente sin ti, mi mundo estaría perdido, gracias mami, Te amo.

Papi, tu valor, constancia, sencillez y sobre todo tu humildad me han enseñado a siempre valorar lo mucho ó poco que tengo, haz logrado tanto empezando de cero, y se lo difícil que ha sido para ti llegar hasta donde estas, pero nada es imposible, me inspiras a ser mejor cada día, porque tú siempre me desafías, contigo nunca es suficiente, y no existen límites, gracias por guiarme por el camino de la disciplina y el respeto, agradezco todos tus consejos, enseñanzas, regaños y sobre todo tú apoyo moral y económico, eres mi soporte, sin ti nunca hubiese llegado hasta aquí.

Agradezco también a mi hermana, Kelly debes saber que gran parte de las cosas que hago son por ti, para que tengas una puerta abierta al mundo, para darte el buen ejemplo como tú hermana mayor, para que aprendas conmigo de mis errores y ojala te inspiren mis logros. Bobi gracias por siempre hacerme dibujar una sonrisa, y no dejar crecer mi niño interior; que tu carisma nunca se apague, y puedas ser mucho mejor que yo.

También agradezco a mis abuelos, que me han visto crecer, son mis segundos padres, donde esta mi segundo hogar. Gracias abuelito por todas esas charlas, compartir tus experiencias, darme tus consejos, por esas desmañanadas que te dabas para acompañarme al camión, y todos los regaños, eres un hombre tan especial y orgulloso, pero a la vez tan sensible, te quiero mucho abuelito. Moti, mi abuelita que lleva una niña dentro, se cuán orgullosa estas de mi, siempre seré tu "niño", al que consentirás más, te extraño mucho, ya me hacen falta tus abrazos, gracias por toda tú ternura y toda tu hospitalidad, te adoro abuelita.

También no menos importante, quiero agradecer a mi familia peluda, por que cuando alguien me llegaba a fallar, siempre estuvieron esas patitas, los seres más nobles, mis angelitos que se que no importa que pase siempre me darán lo mejor, sin esperar algo a cambio, no existe un amor más sincero que el de ustedes mis nenas.

Quiero agradecer a mi familia disfuncional, la familia que me toco escoger, a todos mis amigos, y compañeros; comenzamos en el mismo lugar, con un mismo sueño y objetivo, ser ingenieros, logramos sobrevivir a esas noches de desvelo y días de estrés, hacer tareas por kilo, repartirnos la exposición cinco minutos antes de pasar al pizarrón, todos esos momentos divertidos y también los tristes, cuando casi tronamos una materia, llorar por irnos a un ets, o peor aún, por tener que recurrar, sin ustedes la escuela hubiese sido un infierno, gracias por todo su apoyo incondicional y su amistad.

Amigo Bobert, que te puedo decir, te has vuelto parte de mi familia, de las personas en que podría confiar con los ojos cerrados, gracias de verdad por recorrer este camino conmigo, por dejarme entrar en tu vida, gracias por hacer de la escuela algo más que especial, siempre tendrás un lugar muy importante en mi corazón, no lo olvides.

También agradezco a todos los profesores que compartieron parte de su conocimiento con nosotros, por todo su gran esfuerzo para hacernos mejores estudiantes, y prepararnos para la vida real, en especial agradezco el tiempo y enseñanzas de mi asesora, la profesora Esther.

Finalmente agradezco al Instituto Politécnico Nacional, por darme la oportunidad de ser parte de su casa de estudios, y por permitirme realizar mi formación académica y profesional en la gloriosa UPIBI.

**Tu peor rival eres tú mismo, el día que lo venzas, vencerás a cualquiera.
¿Estás listo?**

ÍNDICE TEMÁTICO

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Nanociencia y nanotecnología	1
1.2 Nanopartículas	2
1.2.1 Nanopartículas metálicas	2
1.2.2 Nanopartículas metálicas de oro	3
1.3 Caracterización de nanopartículas	5
1.3.1 Caracterización microscópica de nanopartículas	5
1.3.1.1 Microscopía electrónica de Transmisión TEM (Transmission Electron Microscopy)	5
1.3.1.2 Microscopía Electrónica de Barrido SEM (Scanning Electro Microscopy)	6
1.3.1.3 Microscopía de Fuerza Atómica AFM (Atomic Force Microscopy)	6
1.3.2 Técnicas alternativas para caracterización física de nanopartículas	7
1.3.2.1 Electroforesis Capilar EC	7
2. JUSTIFICACIÓN	10
3. OBJETIVOS	11
a. General	11
b. Específicos	11
4. METODOLOGÍA	11
4.1 Material	11
4.2 Equipo	11
5. RESULTADOS	14
5.1 Determinación de la longitud de onda	14
5.2 Métodos probados	17
5.2.1 Método 1	17
5.2.2 Método 2	19
5.2.3 Método 3	20
5.2.4 Método 4	23
5.2.5 Método 5	25
5.2.6 Método 6	27
5.2.7 Método 7	29
5.2.8 Método 8	31
5.2.9 Método 9	34
5.3 Caracterización de muestras problema	37
6. CONCLUSIONES	39
7. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS	40
8. REFERENCIAS	42

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1

Métodos propuestos para caracterizar nanopartículas metálicas de oro por Electroforesis Capilar 13

Tabla 2

Condiciones de método 1 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 100 nm..... 17

Tabla 3

Condiciones de método 2 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 100 nm..... 19

Tabla 4

Condiciones de método 3 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 5, 50, 100 nm..... 20

Tabla 5

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 5, 50 y 100 nm a una longitud de onda de 240 nm aplicando el método 3 21

Tabla 6

Condiciones de método 4 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 200 y 300 nm..... 23

Tabla 7

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 100 y 200 nm a una longitud de onda de 210 y 530 nm aplicando el método 4 24

Tabla 8

Condiciones de método 5 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 100, 200 y 300 nm 25

Tabla 9

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 100, 200 y 300 nm a una longitud de onda de 530 nm aplicando el método 5 26

Tabla 10

Condiciones de método 6 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 100, 200 y 300 nm 27

Tabla 11

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 100, 200 y 300 nm a una longitud de onda de 530 nm aplicando el método 6 28

Tabla 12

Condiciones de método 7 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 5, 50, 100, 200 y 300 nm..... 29

Tabla 13

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 5, 50, 100, 200 y 300 nm a una longitud de onda de 532 nm aplicando el método 7 30

Tabla 14

Condiciones de método 8 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 5, 50 y 100 nm..... 32

Tabla 15

Tiempo de migración en min para estándares de nanopartículas de 5, 50 y 100nm a una longitud de onda de 210 y 530 nm aplicando el método 8 33

Tabla 16

Condiciones de método 9 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 100, 200 y 300 nm 34

Tabla 17

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 100, 200 y 300 nm a una longitud de onda de 210 y 530 nm aplicando el método 9 35

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Escala nanométrica.....	1
Figura 2. Nanopartícula de oro funcionalizada	3
Figura 3. Principales aplicaciones terapéuticas de nanopartículas de oro.....	4
Figura 4. Método de separación por electroforesis capilar	7
Figura 5. Sistema general de electroforesis capilar.....	8
Figura 6. Barrido de espectro UV (200- 600 nm) para estándar nanopartículas 5 nm	14
Figura 7. Barrido de espectro UV (200- 600 nm) para estándar nanopartículas 50 nm ...	15
Figura 8. Barrido de espectro UV (200- 600 nm) para estándar nanopartículas 100 nm .	15
Figura 9. Barrido de espectro UV (200- 600 nm) para estándar nanopartículas 200 nm .	15
Figura 10. Barrido de espectro UV (200- 600 nm) para estándar nanopartículas 300 nm	16
Figura 11. Barrido de espectro UV (400-600 nm) en EC para mezcla de nanopartículas 5, 50, 100, 200 y 300 nm	16
Figura 12. Electroferogramas de estándar 100nm Au (método 1)	18
Figura 13. Electroferogramas de estándar 100 nm Au (método 2)	19
Figura 14. Electroferogramas de estándar 5 nm, 50 nm, 100 nm Au (método 3).....	21
Figura 15. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 3.....	22
Figura 16. Electroferogramas de mezcla de nanopartículas de Au estándar de 100 nm y 200 nm (método 4)	23
Figura 17. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de 100 nm, 200 nm, y 300 nm (método 5).....	25
Figura 18. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 5.....	26
Figura 19. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de 100 nm, 200 nm y 300 nm (método 6).....	27
Figura 20. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 6.....	29
Figura 21. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de 5 nm, 50 nm, 100 nm, 200 nm y 300 nm (método 7)	30
Figura 22. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 7.....	31
Figura 23. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de 5 nm, 50 nm, 100 nm (método 8)	32

Figura 24. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 8 a una longitud de onda de 210 nm	33
Figura 25. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 8 a una longitud de onda de 530 nm	34
Figura 26. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de 100 nm, 200 nm y 300 nm (método 9).....	35
Figura 27. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 9 a una longitud de onda de 210 nm	36
Figura 28. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 9 a una longitud de onda de 530 nm	36
Figura 29. Electroferograma de muestra problema de nanopartículas de Au	38

APLICACIÓN DE ELECTROFORESIS CAPILAR PARA LA CARACTERIZACIÓN FÍSICA DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE Au

Suset Jannette Tolentino Hernández, María Esther Bautista Ramírez *

Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, Departamento de Bioprocesos, IPN. [Tel:57296000](tel:57296000) ext. 56390, maestherbr@gmail.com

FECHA: 30 de Mayo Del 2014

Palabras clave: Electroforesis Capilar, nanopartículas metálicas de oro, caracterización física.

Introducción: Las nanopartículas se definen como partículas cuyo tamaño es menor a 100nm, las nanopartículas metálicas se identifican por exhibir excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas que les confieren diversas aplicaciones que son totalmente dependientes a su tamaño nanométrico (1), por lo que es importante realizar la caracterización de tamaño de las mismas. Actualmente existe una gran variedad de técnicas microscópicas para caracterizar físicamente nanopartículas, que se identifican por ser técnicas costosas y muy complejas lo cual las hace poco accesibles a la mayor parte de los investigadores, por ello se ha propuesto utilizar técnicas alternativas para caracterizar nanopartículas, como es la electroforesis capilar (EC), que en comparación a las técnicas microscópicas, se identifica por ser una técnica sencilla, de bajo costo y más accesible.

Metodología: En el desarrollo del proyecto se utilizaron estándares de nanopartículas metálicas de oro de 5, 50, 100, 200, y 300 nm obtenidos de Sigma®. Para la preparación de los buffers se utilizó ácido 3- ciclohexamino-1-1-propanosulfónico (CAPS) proveniente de Sigma®, dodecilsulfato sódico (SDS) procedente de Promega Corporation. Todos los buffer que se utilizaron fueron preparados y filtrados con una membrana de 0.2µm el día que se utilizaron. Las separaciones se realizaron usando el sistema de Electroforesis Capilar Beckman Coulter Modelo: P/AC MDQ, se utilizó un capilar de sílice fundida recubierto de polimida (diámetro interno: 75µm, longitud: 33.4 cm), al cual se le fabricó una venta para la detección UV a 12 cm de la salida del capilar. Antes de ser utilizado, el capilar se trató con un lavado secuencial de 3 min por cada una de las soluciones siguientes, Agua desionizada, NaOH 1M, NaOH 0.1M y buffer de corrida, el capilar también se enjuaga con el buffer durante 3 min entre cada solución. Los experimentos de electroforesis capilar se realizaron a una temperatura de 25°C en un modo directo.

Resultados y discusión: Para la caracterización de nanopartículas metálicas de oro por EC, se implementaron diversos métodos en los cuales se variaron condiciones como tipo y concentración de buffer, concentración de surfactante y voltaje, obteniendo mejores resultados utilizando buffer CAPS 10mM, SDS 70mM, un Voltaje de 30 Kv con un tiempo de eyección de 60 s a una longitud de onda de 532 nm.

Utilizando dichas condiciones se obtuvo el electroferograma de la Figura 1, donde se muestran los tiempos de migración obtenidos para los diferentes estándares de nanopartícula de Au, con estos tiempos se construyó una grafica de tamaño de nanopartícula vs tiempo, se realizó una regresión lineal obteniendo la ecuación de la recta que se muestra en la Figura 2 con un R² de 0.9926 lo cual indica que el tiempo de migración es totalmente dependiente del tamaño de las mismas, dicha ecuación puede ser utilizada para caracterizar tamaños de nanopartículas que se encuentran en un intervalo de 5-300 nm.

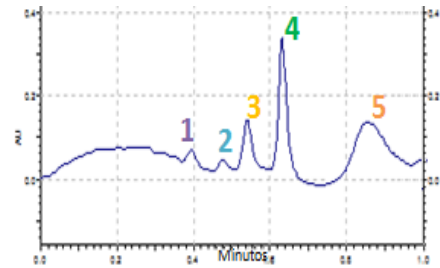


Figura 1. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de (1) 5nm, (2) 50nm, (3) 100nm, (4) 200nm y (5) 300nm buffer CAPS 10mM / SDS 70mM (pH 10), a un voltaje de 30 Kv, a 532nm.

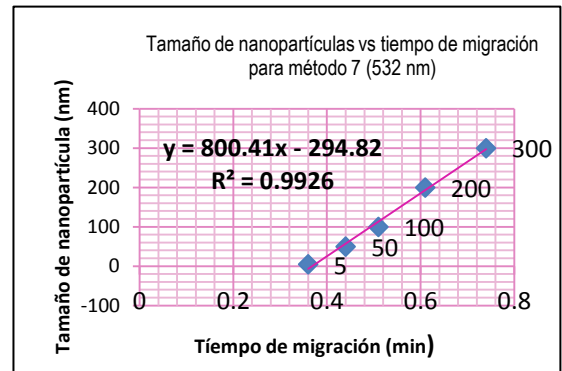


Figura 2. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 7 a una longitud de onda de 532 nm.

Conclusiones: Se lograron implementar diversos métodos para la caracterización de tamaños de nanopartículas metálicas de oro mediante la técnica de electroforesis capilar, obteniendo una curva de calibración con una R²=0.99 con la cual pueden caracterizarse tamaños e nanopartículas en un intervalo de 5-300nm. Así mismo se logró visualizar los efectos que tienen diversas condiciones en los experimentos de EC, obteniendo mejores resultados utilizando buffer CAPS 10mM, SDS 70mM, un voltaje de 30 Kv.

Referencias:

1. Domínguez S. (2011). *Síntesis de nanopartículas metálicas y de zeolitas para catálisis y separación de gases*. Tesis de doctorado. Universidad de Alicante.
2. Liu F; Lin Y; et al. 2004. **Highly efficient approach for characterizing nanometer-sized gold particles by capillary electrophoresis**. *Science Direct*. Elsevier.
3. Liu F; Tieh-Chi Chu et al. 2007. **On-line enhancement and separation of nanoparticles using capillary electrophoresis**. *Science Direct*. Elsevier.
4. Liu F; Wei G. 2003. **Adding sodium dodecylsulfate to the running electrolyte enhances the separation of gold nanoparticles by capillary electrophoresis**. *Science Direct* Elsevier.

1. INTRODUCCIÓN

1.1 Nanociencia y nanotecnología

Durante los últimos años los términos nanociencia y nanotecnología han originado gran relevancia en el ámbito científico, esto se debe a que la nanotecnología junto con otras ciencias se ha convertido en áreas prioritarias en el desarrollo científico y tecnológico actual. La nanociencia estudia todos aquellos fenómenos físicos o químicos que ocurren a una escala nanométrica en la que las propiedades de los materiales difieren significativamente de las que se pueden observar a gran escala, por su parte la nanotecnología se encarga de diseñar, conformar, sintetizar dispositivos o materiales a un nivel nano para usarse de forma práctica.

Nanociencia y nanotecnología, ciencia básica y ciencia aplicada respectivamente, tienen su fundamento en el estudio de los fenómenos ocurridos a escala nanométrica y en los llamados nanomateriales; constituyen un nuevo dominio científico que ha surgido para el diseño, manipulación, fabricación y aplicación de nuevas estructuras y materiales. A través de ellas se puede comprender la relación que se tienen entre las propiedades físicas y/o químicas de los materiales y las dimensiones de los mismos (Domínguez S. 2011). Para comprender y tener una visión del mundo a escala nanométrica podemos visualizar la Figura 1.

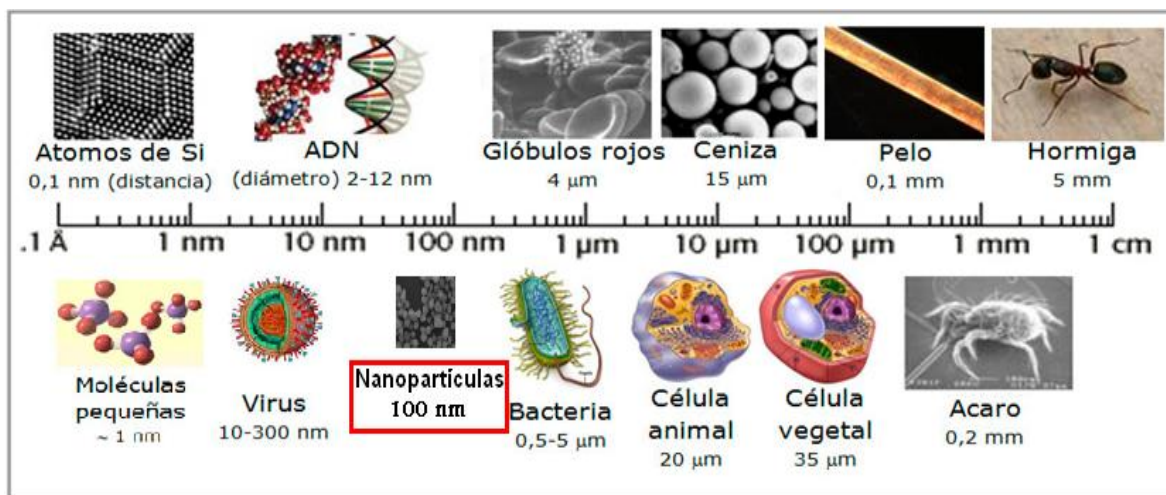


Figura 1. Escala nanométrica
(www.quimicaviva.qb)

Hablar de nanómetros, es hablar de tamaños de moléculas muy pequeñas, a escala del tamaño de virus ó del tamaño del ADN, donde también encontramos las llamadas nanopartículas.

1.2 Nanopartículas

Las nanopartículas se definen como partículas cuyo tamaño es menor a $0.1\mu\text{m}$ (100nm), poseen propiedades interesantes con aplicaciones en diversas áreas tecnológicas (Domínguez S. 2011). El conocimiento de todas estas propiedades ha hecho posible la aplicación nanopartículas en diferentes áreas, actualmente, se han logrado grandes avances sobre el conocimiento de las nanopartículas y sus funciones, se han desarrollado diversos métodos de síntesis químicos y físicos con la finalidad de poder diseñar sus dimensiones, forma, composición, y modificadores de superficie, con esto controlar su comportamiento frente a diversos estímulos (radiación electromagnética o reactividad química, entre otros). A medida que la dimensión de las nanopartículas se reduce, los efectos de tamaño y de superficie son cada vez más notables e importantes, se ha determinado que mientras más pequeña sea una nanopartícula atrae un confinamiento mayor de electrones, teniendo mayores propiedades magnéticas y de conducción eléctrica, también al ser más pequeñas incrementan su área superficial incrementando su energía libre superficial, afectando propiedades como temperatura de fusión y reactividad química. Por otra parte, la absorción óptica en la nanopartículas se modifica, y se puede modular dependiendo de las características de la nanopartícula (tamaño, composición, etc.). El conocimiento de este tipo de propiedades y características ha hecho posible la aplicación de nanopartículas en diversas áreas como medicina, textil, electrónica, higiene, cosmetología, telecomunicaciones, etc.

Dependiendo del origen de las nanopartículas pueden clasificarse en: nanopartículas cerámicas, poliméricas o metálicas.

1.2.1 Nanopartículas metálicas

Las nanopartículas metálicas han fascinado al mundo científicos durante más de un siglo y son ahora muy utilizadas en las ciencias biomédicas y la ingeniería. Son de gran interés debido a su enorme potencial en la nanotecnología. Actualmente las nanopartículas metálicas pueden ser sintetizados y modificados con diversos grupos funcionales químicos que les permiten ser conjugados con anticuerpos, ligandos, y fármacos de interés, abriendo así una amplia gama de potenciales aplicaciones en la biotecnología, y

medicina, sobre todo en el diagnóstico de enfermedades. Las nanopartículas metálicas se caracterizan por exhibir excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, que son totalmente dependientes a su tamaño nanométrico. Metales como oro, plata, paladio, hierro, titanio, bismuto, cobre entre otros, han sido empleados para fabricar nanopartículas de diversas formas y tamaños (Garduño M. 2011).

1.2.2 Nanopartículas metálicas de oro

Las nanopartículas metálicas de oro presentan un extraordinario potencial como agentes fototerapéutico en el tratamiento del cáncer, la elaboración de nanoestructuras, componentes electrónicos, vectorización de fármacos y moléculas terapéuticas, así como también se emplean en terapia génica como vehículos de plásmidos, DNA, RNA etc. El uso de oro con fines terapéuticos se remota a la antigüedad desde el manejo de oro coloidal en China en 2500 A.C., en el siglo XVI fue utilizado para tratar epilepsia y en el siglo XIX data que se utilizó para tratar la sífilis. Robert Koch descubrió su efecto como bacteriostático (Alqadi S., Remuñan C. 2009)

Las nanopartículas de oro pueden ser fácilmente funcionalizadas con amplios ligandos anticuerpos, polímeros, sondas de diagnóstico, fármacos, material genético, etc. (Figura 2), y producidas con distintos tamaños y formas, una de las ventajas que tiene sobre las demás partículas, es que pueden ser fácilmente preparadas, y se pueden obtener diferentes tamaños entre 1 nm y 150 nm.

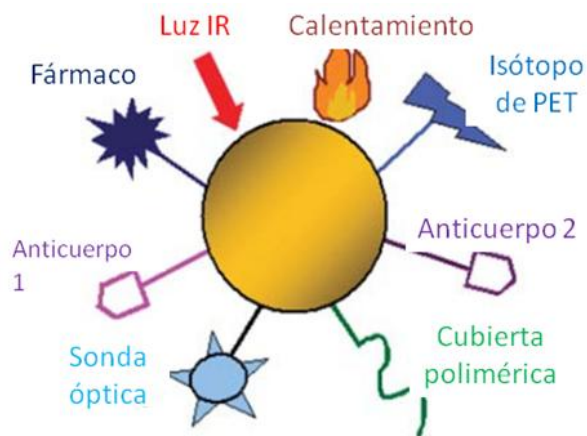


Figura 2. Nanopartícula de oro funcionalizada
(Alqadi S., Remuñan C. 2009)

La gama de aplicaciones de las nanopartículas de oro están creciendo rápidamente, principalmente en el área terapéutica y de diagnóstico (Figura 3), también se encuentran aplicaciones en otras áreas como:

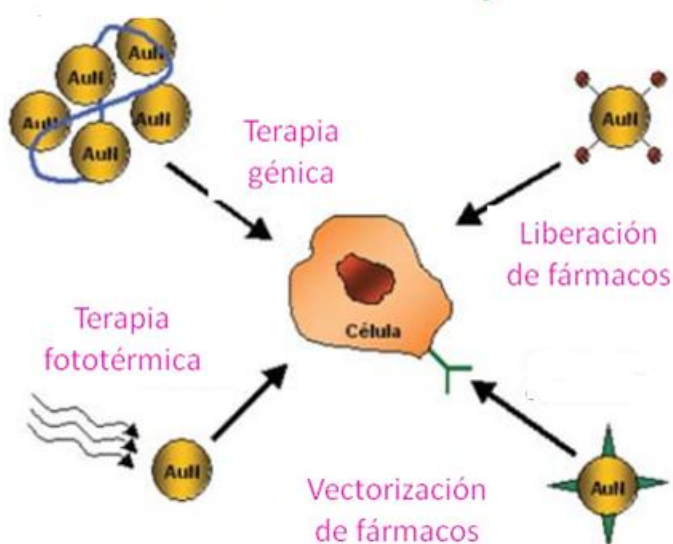


Figura 3. Principales aplicaciones terapéuticas de nanopartículas de oro
(Alqadi S., Remuñan C. 2009)

Electrónica: Se han diseñado nanopartículas de oro para su uso como conductores y conectores en chips electrónicos.

Terapia fotodinámica: Cuando las nanopartículas de oro son irradiadas con luz infrarroja se excitan y producen calor, esta propiedad ha sido utilizada para erradicar tumores, cuando se irradia un tumor con nanopartículas de oro, las nanopartículas se calientan rápidamente matando las células tumorales, este tratamiento se conoce como terapia hipertérmica.

Fármaco de entrega: Las nanopartículas pueden funcionalizarse con fármacos, modificando propiedades superficie.

Sensores: Las nanopartículas de oro se utilizan en gran variedad de sensores, para medir energías de vibración de enlaces químicos ó detección de proteínas.

Sondas: Las nanopartículas de oro dispersan la luz produciendo una gran variedad de colores. Estos colores se utilizan para la obtención de imágenes en microscopia electrónica.

Diagnóstico: Las nanopartículas de oro también se utilizan para detectar biomarcadores en el diagnóstico de las enfermedades del corazón y cáncer.

Catálisis: Las nanopartículas de oro se utilizan como catalizadores en gran número de reacciones químicas.

Es de suma importancia caracterizar todas las propiedades posibles de dichas nanopartículas, para lo cual se hace uso de muchas técnicas especializadas, que ocasiones suelen ser de elevado costo, y de difícil acceso para todos los investigadores.

1.3 Caracterización de nanopartículas

Se pueden caracterizar diversas propiedades de las nanopartículas como lo son:

- ✓ **Propiedades químicas.**
- ✓ **Propiedades superficiales.**
- ✓ **Tamaño y morfología.**

1.3.1 Caracterización microscópica de nanopartículas

Como se ha mencionado, una de las características principales de las nanopartículas es su tamaño ya que muchas otras propiedades físico-químicas son dependientes del mismo, dichas propiedades pueden conferir a las nanopartículas diversas aplicaciones, como las que se han mencionado anteriormente, por ello es de suma importancia realizar una caracterización física de tamaño puesto que con base a su tamaño se definen sus aplicaciones, actualmente existe una gran variedad de técnicas microscópicas para la caracterización de nanopartículas, entre las cuales se encuentran la microscopía electrónica de transmisión (TEM), la microscopía de barrido túnel (SEM), microscopía de fuerza atómica (AFM), cada una de estas técnicas presenta ventajas y desventajas respectivamente, pero tienen en común ser técnicas altamente costosas y muy complejas.

1.3.1.1 Microscopía electrónica de Transmisión TEM (Transmission Electron Microscopy)

Esta técnica permite determinar el tamaño, forma, estructura de las nanopartículas a través de la difracción de electrones (Aguilar M. 2009). En un microscopio electrónico de transmisión, un haz de electrones es dirigido hacia la superficie de una muestra, los electrones penetran la muestra, son dispersados a medida que la atraviesan y son

enfocados por la lente objetivo, para ser amplificados por la lente magnificadora y finalmente la imagen deseada es producida. Pueden ser obtenidas dos tipos de imagen de campo oscuro y de campo claro. Las imágenes en campo claro son producidas por los electrones que se propagan a través de la muestra. Por otro lado en el campo oscuro la imagen es producto de los electrones difractados. En equipos de alta resolución se pueden obtener resoluciones de 0.1 nm o menos. La imagen es formada de los electrones que se transmiten a través del material analizado. Los patrones de la difracción de electrones permiten determinar las constantes de redes de las partículas lo que ayuda a la identificación de la muestra. La preparación de las muestras para su observación en TEM, consiste en realizar una dispersión de las nanopartículas en un solvente y dejarlas secar sobre una rejilla de cobre con recubrimiento de carbono.

1.3.1.2 Microscopía Electrónica de Barrido SEM (Scanning Electro Microscopy)

Esta técnica permite obtener una caracterización detallada de las nanopartículas, en la SEM, un haz de electrones se hace incidir sobre la muestra, éstos interactúan con los átomos de la misma. A medida que los electrones penetran en la superficie ocurre una serie de interacciones que dan como resultado la emisión de electrones y fotones a la superficie. Los electrones emitidos son acopiados por los detectores correspondientes, produciendo una imagen en un tubo de rayos catódicos, cada punto donde el haz de electrones golpea la muestra se asigna directamente al punto que le corresponde en la pantalla (Garduño M. 2011).

Se pueden obtener dos tipos de imágenes: imágenes de electrones secundarios e imágenes de electrones retrodispersados. Cuando el haz de electrones y los átomos interactúan, estos últimos emiten los llamados electrones secundarios, a los electrones del haz que colisionan con los átomos de la muestra y son reflejados se les conoce como electrones retrodispersados. La intensidad de emisión de los electrones secundarios y los retrodispersados depende del ángulo entre el haz de electrones y la superficie de la muestra, lo cual permite a los respectivos detectores leer la topografía de muestra. Los electrones secundarios permiten ver una imagen tridimensional mientras que los electrones retrodispersados revelan una imagen por contraste de la composición química de la muestra (Osorio C., 2011).

1.3.1.3 Microscopía de Fuerza Atómica AFM (Atomic Force Microscopy)

En la AFM se monitorea la superficie de la muestra con una punta, las fuerzas entre la punta y la muestra (fuerza de Van der Waals) producen una deflexión, un detector mide la

deflexión generando una micrografía de la superficie. El AFM puede operarse en dos modos: de contacto y no contacto, en el primer modo la punta se mantiene a pocos angstroms de la superficie de la muestra y la fuerza interatómica entre la muestra y la punta es repulsiva, para el segundo la punta se mantiene a decenas de angstroms de la superficie de la muestra y la fuerza interatómica entre la punta y la muestra es atractiva (Reséndiz M, 2005).

1.3.2 Técnicas alternativas para caracterización física de nanopartículas

Las técnicas microscópicas que se utilizan para caracterizar nanopartículas son un tanto complejas y requieren el uso de equipos especializados lo cual las hace muy costosas, sin embargo se ha propuesto utilizar técnicas alternativas para caracterizar nanopartículas, como lo es la electroforesis capilar (EC).

1.3.2.1 Electroforesis Capilar EC

La electroforesis es una utilizada para separar moléculas, permitiendo identificarlas y cuantificarlas. El principio de esta técnica, está basado en el desplazamiento de sustancias cargadas bajo un campo eléctrico por lo que la electroforesis capilar se puede definir como un método de separación de especies eléctricamente cargadas en solución, bajo la influencia de un campo eléctrico (Figura 4).

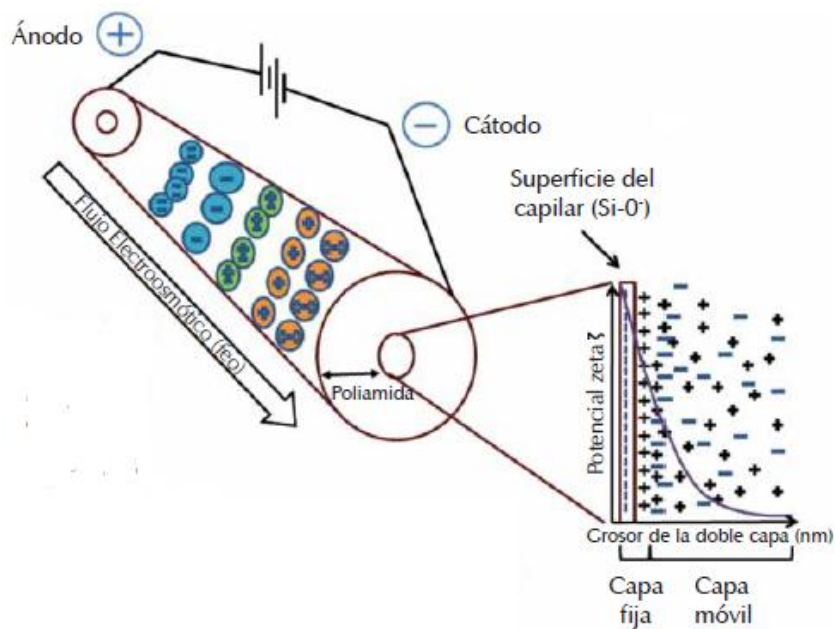


Figura 4. Método de separación por electroforesis capilar (Chopin D. 2012)

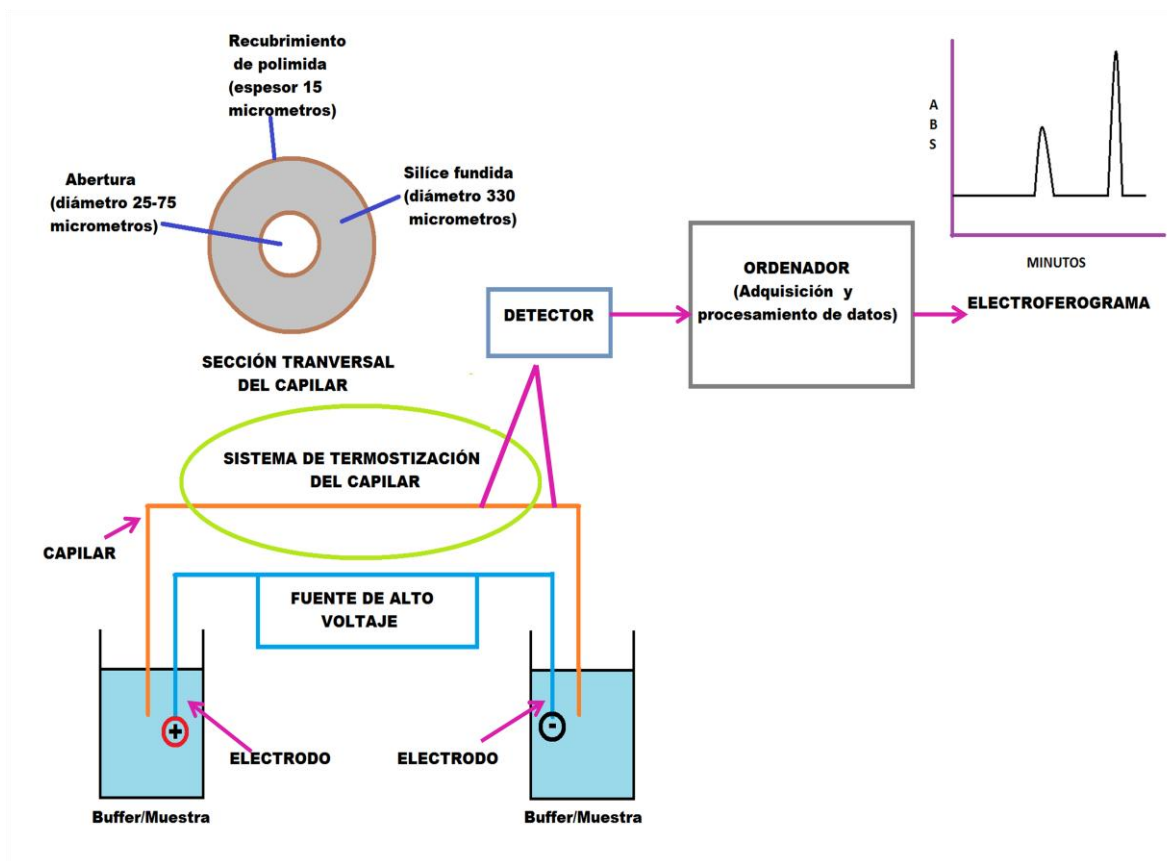


Figura 5. Sistema general de electroforesis capilar

La instrumentación habitual de un equipo de electroforesis capilar está representada gráficamente en la Figura 5. El equipo cuenta con una fuente de alto voltaje (normalmente, de 0 a 30 Kv), un capilar de sílice fundida, dos viales para el buffer de separación donde son introducidos los extremos del capilar y los electrodos de platino que se encuentran debidamente conectados a la fuente de alto voltaje. El mantenimiento de la temperatura del capilar durante un experimento es clave por lo que los equipos de electroforesis capilar también poseen un sistema de termostización el cual consiste en hacer circular un anticongelante en la superficie del capilar para evitar su calentamiento; el equipo también cuenta con un detector UV, el cual detecta la migración de las partículas, y finalmente posee un ordenador que procesa los datos para su posterior análisis.

Una de las partes más importantes del equipo es el capilar, el capilar es un tubo de sílice fundida con un diámetro interno de entre 25 a 75 μm y un diámetro externo de 200 a 500 μm . La sílice fundida es muy frágil, por lo que se encuentra recubiertos de polimida, excepto en la parte de la ventana donde incide luz el detector. La sílice presenta muy buenas propiedades para la EC, principalmente por ser transparente a la luz UV-visible, lo

que permite la detección en columna con sistemas de detección espectrofotométricos. Además, el pequeño espesor de la pared permite la disipación del calor generado por el efecto Joule.

Los capilares de sílice fundida presentan la característica de que en su pared interna, cuando está en contacto con buffers acuosos con pHs superiores a 2,5, se originan cargas negativas debidas a la ionización de los silanoles de la sílice confiriendo una carga negativa neta a la pared del capilar. El grado de ionización de los grupos silanoles de la pared del capilar es función del pH del tampón presente en su interior. La ionización de la pared del capilar hace que los contraiones presentes en el buffer se acumulen en la superficie interna del capilar, provocando un exceso de cargas positivas en la pared respecto de las que existen en las zonas interiores del capilar, dando lugar a una doble capa eléctrica (Figura 4). Esta doble capa consiste en una zona compacta en la que la interacción entre los contraiones y los silanoles del capilar es muy fuerte. Más allá de esta zona compacta las interacciones son más débiles y se genera la llamada zona difusa. Bajo la acción de un campo eléctrico, esta acumulación de cargas positivas en las cercanías de las paredes del capilar se mueve hacia el cátodo, arrastrando el agua de solvatación asociada y creando un movimiento global del buffer, que se denomina flujo electroosmótico (FEO) (Castagnino J. 2000).

Un beneficio del FEO es ocasionar un movimiento en todas las direcciones, prescindiendo de la carga, en la misma dirección. En condiciones normales la superficie del capilar está cargada negativamente, por lo que el flujo va de ánodo a cátodo. Los cationes fluyen hacia el cátodo dependiendo de la magnitud del flujo. Por otra parte los aniones tratarán de migrar hacia el ánodo pero si el FEO es mayor a su movilidad electroforética pueden ser arrastrados hacia el cátodo. De esta manera los cationes, neutrones y aniones, pueden ser separados y analizados en una corrida, ya que todos migran en la misma dirección. (Ramírez A. 2012).

En un experimento de electroforesis capilar el capilar es llenado con un buffer de pH definido; posteriormente la muestra se introduce al capilar. Se forja un alto voltaje en el capilar y así por el campo eléctrico generado, los componentes de la muestra migran a través del capilar a diferentes velocidades dependiendo de su movilidad electroforética, que está determinada por la fuerza del campo eléctrico y la carga del analito, sin embargo

esta movilidad disminuye conforme aumentan las fuerzas de fricción como son la viscosidad del buffer y el radio de los analitos.

En la ventana del capilar la señal es detectada mediante detectores de UV /vis de alta sensibilidad reproduciendo un electroferograma, donde el componente más rápido en migrar será el primero en observarse, así sucesivamente hasta el más lento. La separación por electroforesis está basada en la diferencia de velocidad de los solutos en un campo eléctrico. Los picos del electroferograma se generan como consecuencia de la concentración de analitos y de su velocidad de migración. (Castillo, A. & Duarte, M. 2008).

Normalmente, la inyección de la muestra se realiza en el extremo del capilar más alejado del punto de detección. Para ello, se sustituye el vial que contiene el tampón de separación por otro vial con la muestra en disolución. En ese momento, y durante un tiempo establecido, se aplica una presión (inyección hidrodinámica). Con lo cual una alícuota de la muestra entra en el capilar. Por otro lado, el voltaje de separación, una vez inyectada la muestra, suele aplicarse en el modo denominado polaridad normal, es decir, el ánodo en el vial de separación más alejado del detector y el cátodo en el vial de separación más cercano al detector. En las ocasiones en que sea necesario, también se puede aplicar voltaje en polaridad inversa. (Aguirre L. 2006).

Para realizar un experimento por EC, se deben tener en cuenta todas las posibles variantes a utilizar, principalmente el tipo de buffer, pH, voltaje de separación, tiempo de inyección, temperatura; la selección de un parámetro u otro puede tener diversos efectos en el experimento.

2. JUSTIFICACIÓN

Las propiedades y aplicaciones de las nanopartículas metálicas de oro son dependientes de su tamaño, los métodos que se ocupan para su caracterización física son demasiados costosos y muy especializados, lo que los hace poco accesibles para todos los investigadores.

Por lo que se busca implementar técnicas alternativas, más sencillas y accesibles para la caracterización de nanopartículas metálicas de oro, como es la electroforesis capilar.

3. OBJETIVOS

a. General

- Implementar métodos sencillos y accesibles para caracterizar tamaños de nanopartículas metálicas de oro por medio de la medición de sus propiedades físicas utilizando EC.

b. Específicos

- Construir por EC curvas de calibración de tamaños de nanopartículas metálicas de oro dependiendo de su tiempo de migración.
- Establecer las condiciones óptimas como la selección de buffer, pH, voltaje y longitud de onda para la caracterización de nanopartículas metálicas de oro mediante EC.

4. METODOLOGÍA

4.1 Material

En el desarrollo del proyecto se utilizaron estándares de nanopartículas metálicas de oro de 5, 50, 100, 200, y 300 nm obtenidos de Sigma®.

Para la preparación de los buffers se utilizó ácido 3- ciclohexamino-1-1-propanosulfónico (CAPS) proveniente de Sigma®, dodecilsulfato sódico (SDS) fue procedente de Promega Corporation, los buffers de boratos y fosfatos así como las clicodextrina α y γ que fueron adquiridas del departamento de farmacología de UPIBI. Para preparar los buffers se utilizó agua desionizada. Todos los buffer que se utilizaron fueron preparados y filtrados con una membrana de 0.2 μ m el día que se utilizaron.

4.2 Equipo

Todas las separaciones se realizaron usando el sistema de Electroforesis Capilar Beckman Coulter Modelo: P/AC MDQ, se utilizó un capilar de sílice fundida recubierto de polimida (diámetro interno: 75 μ m, longitud: 33.4 cm), al cual se le fabricó una venta para la detección UV a 12 cm de la salida del capilar. Antes de ser utilizado, el capilar se trató

con un lavado secuencial de 3 min por cada una de las soluciones siguientes, Agua desionizada, NaOH 1M, NaOH 0.1M y buffer de corrida, el capilar también se enjuaga con el buffer durante 3 min entre cada solución. Los experimentos de electroforesis capilar se realizaron a una temperatura de 25°C en un modo directo, utilizando diferentes métodos, (Tabla 1) en los cuales se variaron las condiciones de separación como buffer, voltaje, tiempo de eyección y longitud de onda.

Antes de realizar la separación por electroforesis capilar, las nanopartículas de oro fueron sonicadas durante 10 min utilizando el limpiador ultrasónico Auto sciencie® modelo AS3120B.

Para medir el pH de los buffers se utilizó un potenciómetro Orion Research Incorporated modelo 611.

Para la detección de las nanopartículas de oro se utilizaron diferentes longitudes de onda, 530, 532, 210, 230 nm, las cuales fueron elegidas por medio de la realización de un barrido de cada muestra en un espectrofotómetro Cintra 10_e, también se realizó un barrido en el equipo de electroforesis capilar Beckman Coulter Modelo: P/AC MDQ.

Tabla 1

Métodos propuestos para caracterizar nanopartículas metálicas de oro por Electroforesis Capilar

Condiciones de separación	Método 1	Método 2	Método 3	Método 4	Método 5	Método 6	Método 7	Método 8	Método 9
Buffer	Fosfatos 10mM SDS 40mM pH 7	Boratos 10mM SDS 40mM pH 9	CAPS 10mM SDS 40mM pH 10	CAPS 10mM SDS 70mM pH 10	CAPS 10mM SDS 70mM pH 10	CAPS 5mM SDS 70mM pH 10	CAPS 10mM SDS 70mM pH 10	CAPS 10mM Ciclodextrina α 70mM pH 10	CAPS 10mM Ciclodextrina γ 70mM pH 10
Voltaje	25 Kv	25 Kv	25 Kv	25 Kv	25 Kv	25 Kv	30 Kv	25 Kv	25 Kv
Tiempo de eyección	30 s	30 s	30 s	30 s	60 s	60s	60 s	60 s	60 s
Longitud de onda	520 nm	520 nm	240 nm	530 nm	530 nm	210nm	532 nm	210 nm 530 nm	210 nm 530 nm
Temperatura	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C	25°C

5. RESULTADOS

5.1 Determinación de la longitud de onda

Para realizar la caracterización de nanopartículas por Electroforesis Capilar se debe seleccionar una longitud de onda adecuada en la cual estas puedan ser detectadas en el respectivo análisis; para poder establecer las longitudes de onda, a cada uno de los estándares se les realizó un barrido de 200-600 nm con un espectrofotómetro (Figura 6Figura 7Figura 8Figura 9Figura 10), así como también se realizó un barrido de la mezcla de los estándares en el equipo de electroforesis capilar (Figura 11).

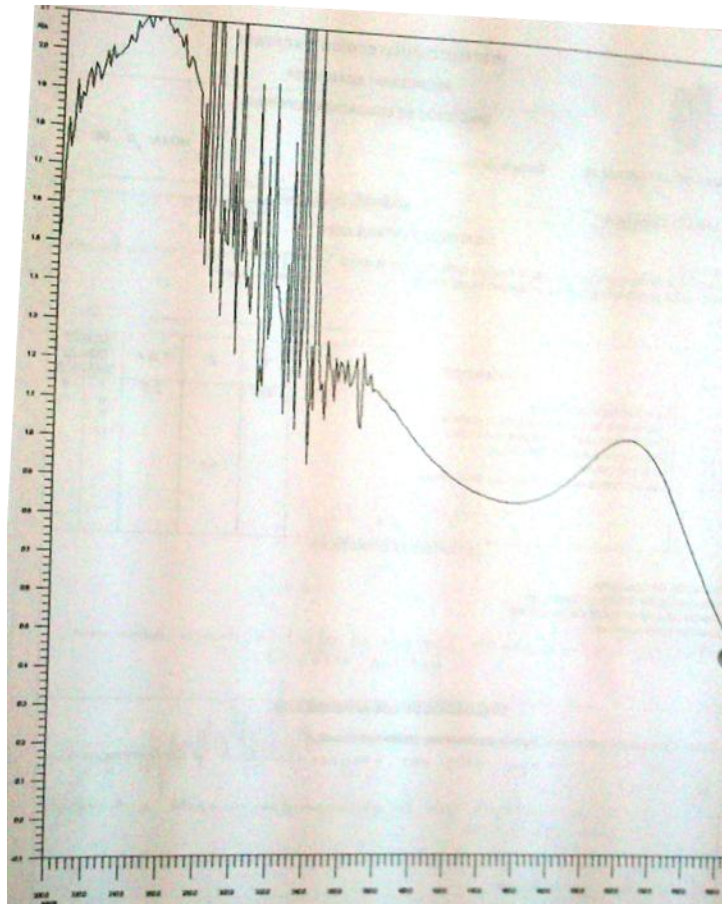


Figura 6. Barrido de espectro UV (200- 600 nm) para estándar nanopartículas 5 nm

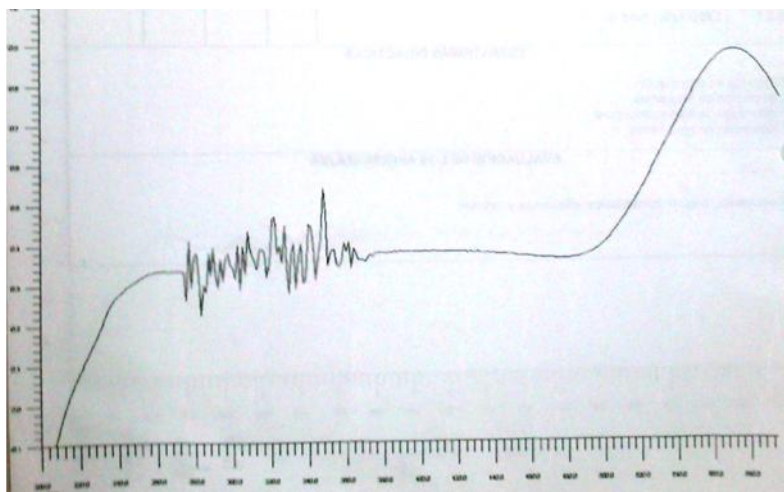


Figura 7. Barrido de espectro UV (200- 600 nm) para estándar nanopartículas 50 nm

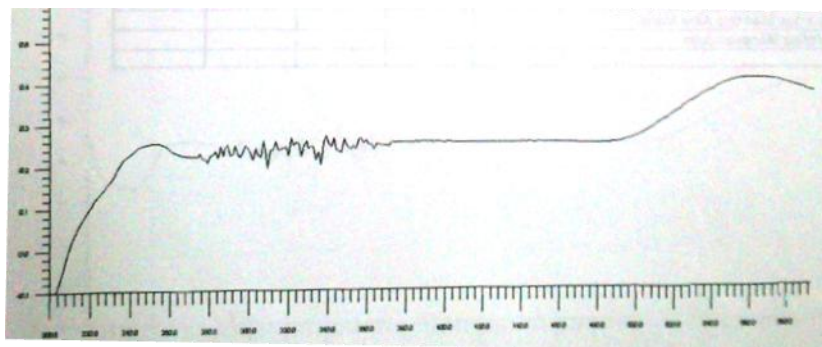


Figura 8. Barrido de espectro UV (200- 600 nm) para estándar nanopartículas 100 nm

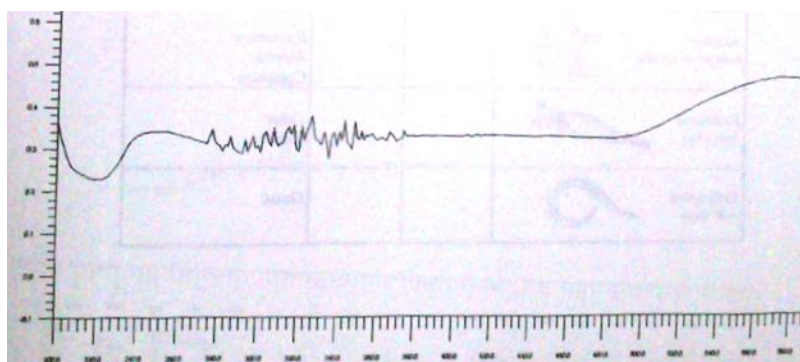


Figura 9. Barrido de espectro UV (200- 600 nm) para estándar nanopartículas 200 nm

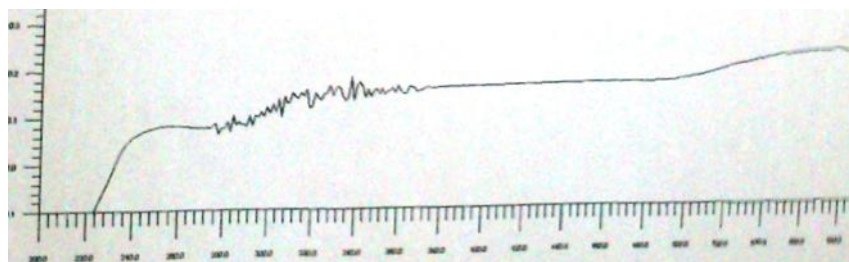


Figura 10. Barrido de espectro UV (200- 600 nm) para estándar nanopartículas 300 nm

En las Figura 7Figura 8Figura 9Figura 10, se puede observar que para todos los estándares (5, 50,100, 200, 300 nm) la absorbancia tiene un comportamiento similar, ya que estos absorben alrededor de 200 y 500 nm, también se observa que entre mayor sea el tamaño de nanopartícula tienen una absorbancia menor porque los picos disminuyen considerablemente en comparación con el tamaño de nanopartícula más pequeño (5 nm), lo cual indica que la concentración de nanopartículas es menor para los estándares de nanopartículas más grandes.

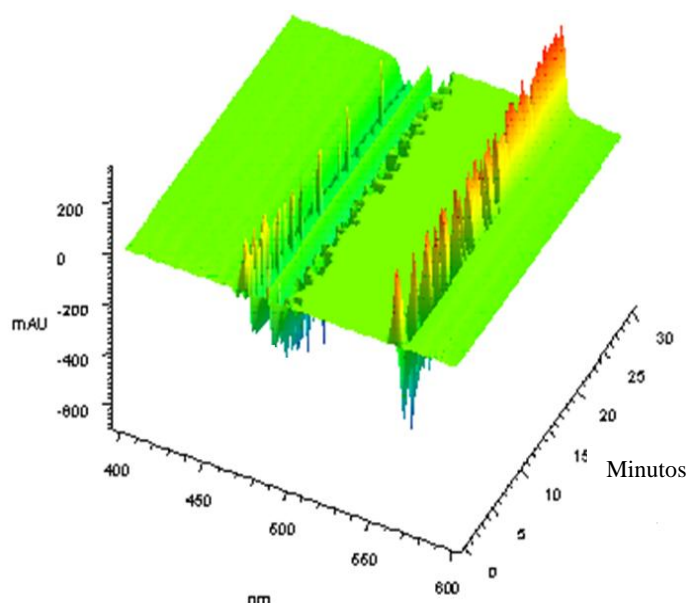


Figura 11. Barrido de espectro UV (400-600 nm) en EC para mezcla de nanopartículas 5, 50, 100, 200 y 300 nm

En la Figura 11 se observa que las nanopartículas tienen mayor absorbancia alrededor de los 530 nm. Retomando los resultados obtenidos con el espectrofotómetro y con el equipo EC, se llegó a la conclusión de utilizar longitudes de onda entre 200 y 500 nm, siendo estas las seleccionadas 210, 240, 520, 530, 532 nm.

5.2 Métodos probados

Para llevar a cabo la caracterización de las nanopartículas metálicas de oro aplicando la técnica de electroforesis capilar, se implementaron los métodos antes mencionados (Tabla 1), con el fin de visualizar el efecto de el tipo de buffer, la concentración de surfactante, concentración de buffer, voltaje y tiempo de eyección de la muestra, se hicieron variaciones de estos parámetros, para así seleccionar las condiciones optimas para la caracterización de las nanopartículas de oro, por electroforesis capilar.

5.2.1 Método 1

En la Tabla 2, se observa las condiciones utilizadas para el método 1, mientras que en la Figura 12 se observan los electroferogramas obtenidos para el estándar de 100 nm aplicando el método mencionado, los tres electroferogramas corresponden a la misma muestra leída tres veces consecutivas a las mismas condiciones.

Tabla 2

Condiciones de método 1 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 100 nm

Condiciones de separación	Método 1
Buffer	Fosfatos 10mM SDS 40mM pH 7
Voltaje	25 Kv
Tiempo de eyección	30 s
Longitud de onda	520 nm
Temperatura	25°C

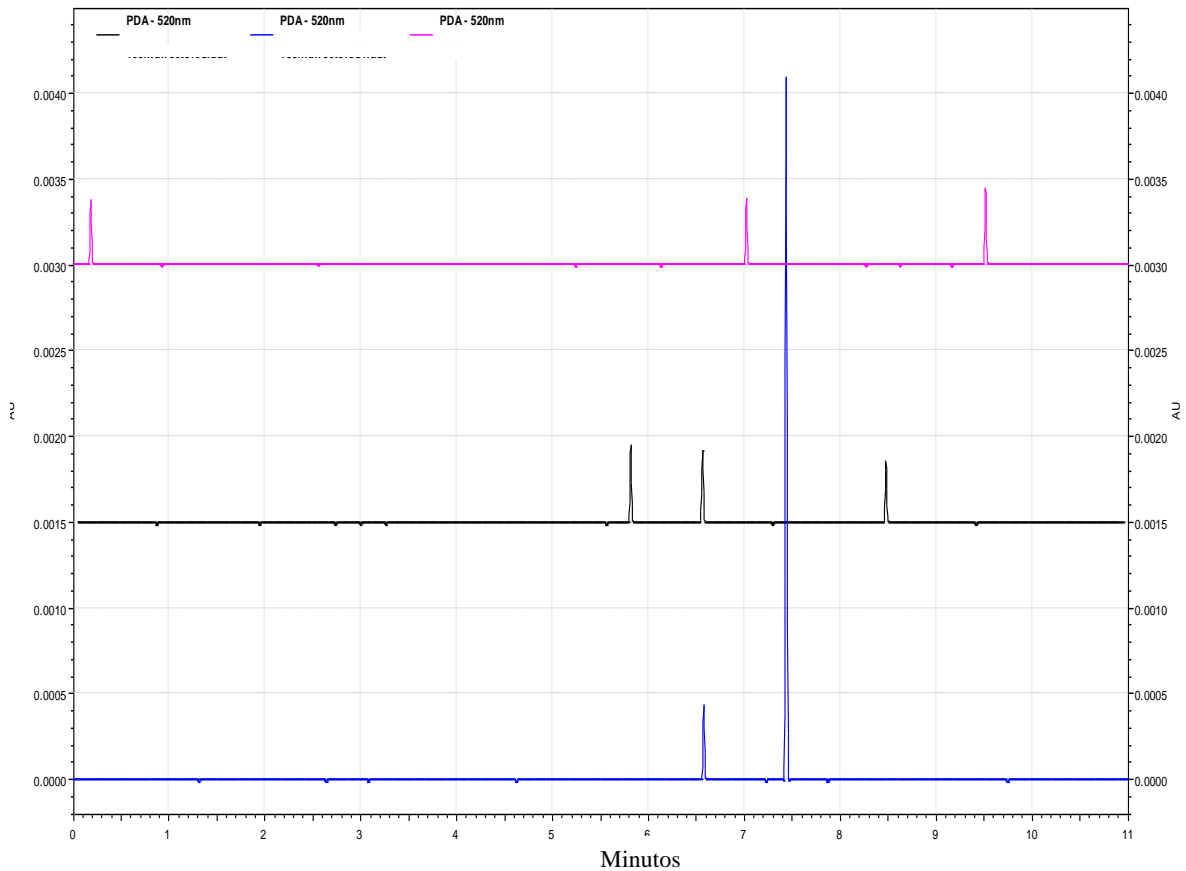


Figura 12. Electroferogramas de estándar 100nm Au buffer fosfatos 10mM / SDS 40mM (pH 7), a un voltaje de 25 Kv a 520 nm, los tres electroferogramas corresponden a la misma muestra (método 1)

Como se puede notar en la Figura 12, los resultados obtenidos no son reproducibles, se obtienen diferentes tiempos de migración para una misma muestra, además de que no se observa solo un pico, si no, varios en cada corrida, por lo que no se puede evidenciar cuál de todos ellos corresponde a la muestra, en este método se trato de visualizar el efecto del buffer de fosfatos en la separación, pero debido a las variaciones obtenidas se decidió probar con otro buffer.

5.2.2 Método 2

Para el método dos, se trato de visualizar el efecto de otro buffer, el buffer de boratos, la Tabla 3 muestra las condiciones utilizadas para dicho método, en la Figura 13 se observa los electroferogramas obtenidos para la muestra estándar de 100 nm, ambos electroferogramas corresponden a la misma muestra leída a las mismas condiciones.

Tabla 3

Condiciones de método 2 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 100 nm

Condiciones de separación	Método 2
Buffer	Boratos 10mM SDS 40mM pH 9
Voltaje	25 Kv
Tiempo de eyección	30 s
Longitud de onda	520 nm
Temperatura	25°C

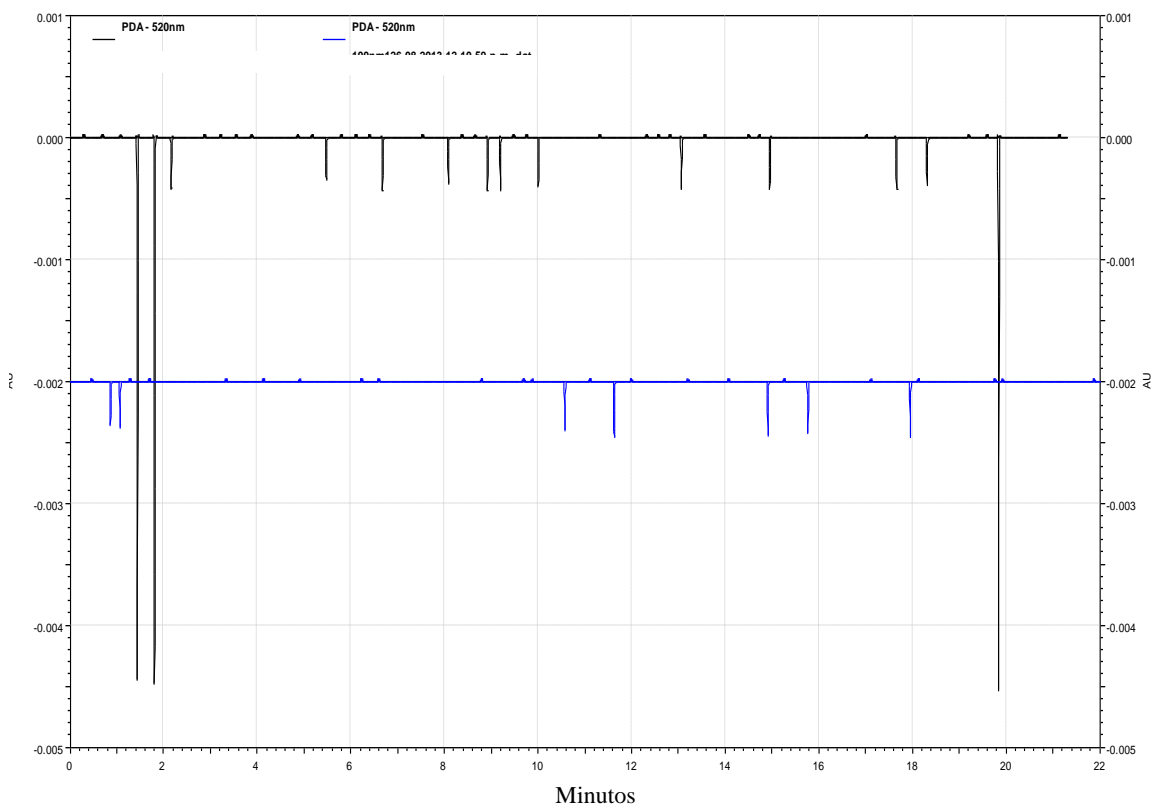


Figura 13. Electroferogramas de estándar 100 nm Au buffer boratos 10mM / SDS 40mM (pH 9), a un voltaje de 25 Kv a 520 nm, los dos electroferogramas corresponden a la misma muestra (método 2)

Como se aprecia, con el uso de este método los picos arrojados por el electroferograma salen disparados hacia abajo, en los experimentos de electroforesis es común que las muestras de tipo metálicas arrojen este tipo de lecturas, sin embargo se vuelven a tener resultados que no son confiables, debido que no representan o tienen alguna lógica, por lo que se decide usar otro buffer.

5.2.3 Método 3

En este método se hace uso del buffer CAPS, según reportes (Liu F., Lin Y. et al. 2004), es uno de los buffers más utilizados en la separación por electroforesis capilar, en la Tabla 4 se observan las condiciones utilizadas para el método 3, mientras que en la Figura 14 se muestran los electroferogramas obtenidos con dicho método para los estándares de 5, 50 y 100 nm.

Tabla 4

Condiciones de método 3 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 5, 50, 100 nm

Condiciones de separación	Método 3
Buffer	CAPS 10mM SDS 40mM pH 10
Voltaje	25 Kv
Tiempo de eyección	30 s
Longitud de onda	240 nm
Temperatura	25°C

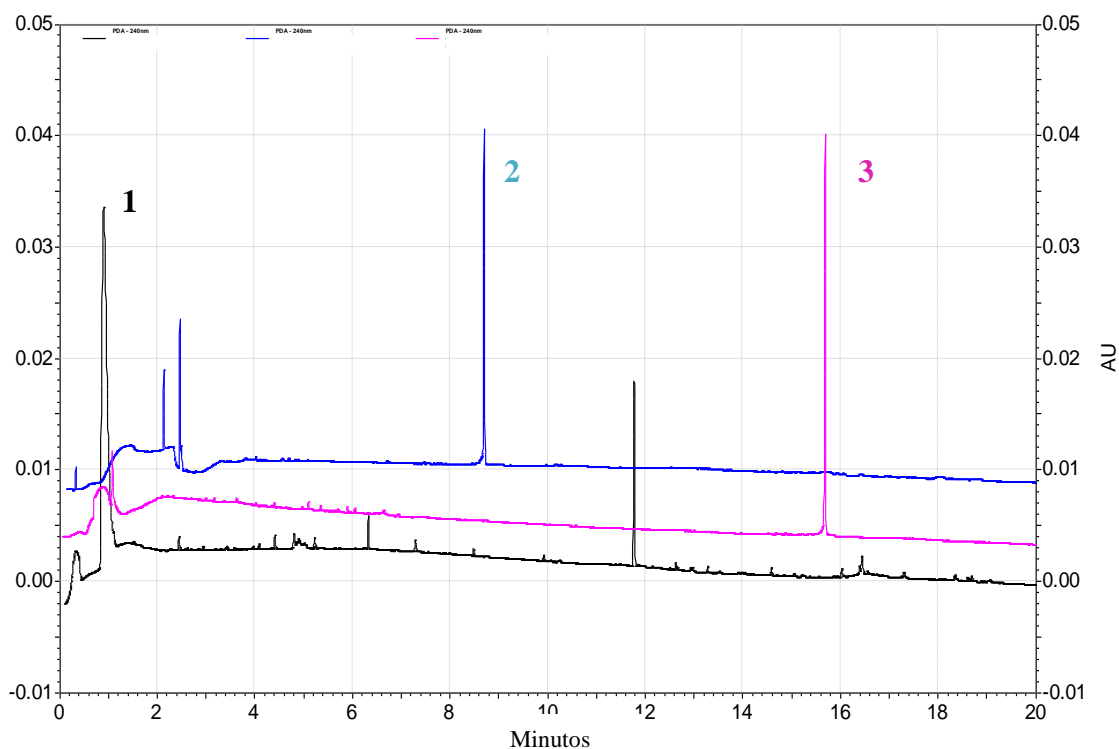


Figura 14. Electroferogramas de estándar (1)5 nm, (2)50 nm, (3)100 nm Au buffer CAPS 10mM / SDS 40mM (pH 10), a un voltaje de 25 Kv a 240 nm (método 3)

En los tres electroferogramas obtenidos (Figura 14) se visualiza más de un pico de absorción, para medir el tiempo de migración de las nanopartículas (Tabla 5) solo se considero el pico más alto dando por hecho que los demás picos representan interferencias, este electroferograma muestra que existe una correlación entre el tamaño de la nanopartícula y su tiempo de migración.

Tabla 5

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 5, 50 y 100 nm a una longitud de onda de 240 nm aplicando el método 3

Nanopartículas	Tiempo de migración	Modelamiento matemático
5 nm	0.92 min	$y = 6.4568x - 2.6139$ $R^2 = 0.9958$
50 nm	8.7 min	
100 nm	15.6 min	

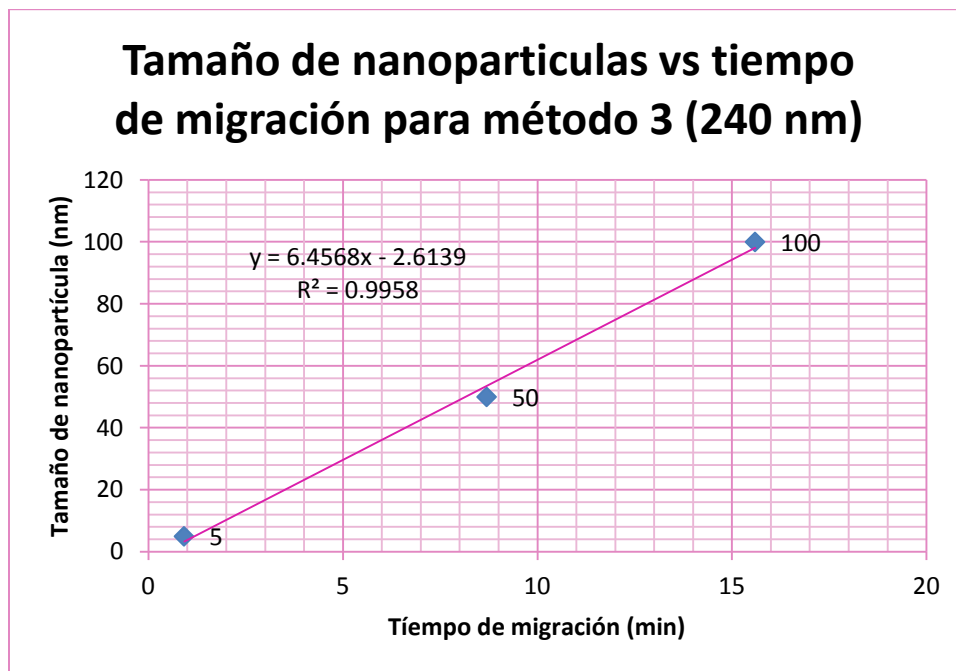


Figura 15. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 3

Para los tiempos de migración (Tabla 5) se obtuvo que entre más pequeño es el tamaño de la nanopartícula, menos tiempo tarda en ser detectada, en teoría se espera tener una correlación lineal entre el tiempo de migración y tamaño de nanopartícula, se hizo una regresión lineal de los tiempos obtenidos, teniendo como resultado una $R = 0.99$ (Figura 15), lo que indica que el tiempo de migración es totalmente dependiente del tamaño de la nanopartícula, utilizando este método y la ecuación de la recta obtenida se pueden caracterizar nanopartículas que tengan un tamaño entre 5 y 100 nm.

Sin embargo los tiempos de detección que se obtuvieron con este método son relativamente largos (15 min), por lo que se decidió optimizar el método variando la concentración de CAPS y SDS para obtener un tiempo menor, y mejores resultados.

5.2.4 Método 4

Para este método se varió la concentración del surfactante utilizada en el método 3 de 40mM a 70mM, también se leyeron las muestras a dos longitudes de onda, la Tabla 6 muestra las condiciones utilizadas para este método, así como la Figura 16 muestra los electroferogramas obtenidos.

Tabla 6

Condiciones de método 4 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 200 y 300 nm

Condiciones de separación	Método 4
Buffer	CAPS 10mM SDS 70mM pH 10
Voltaje	25 Kv
Tiempo de eyección	30 s
Longitud de onda	530 nm
Temperatura	25°C

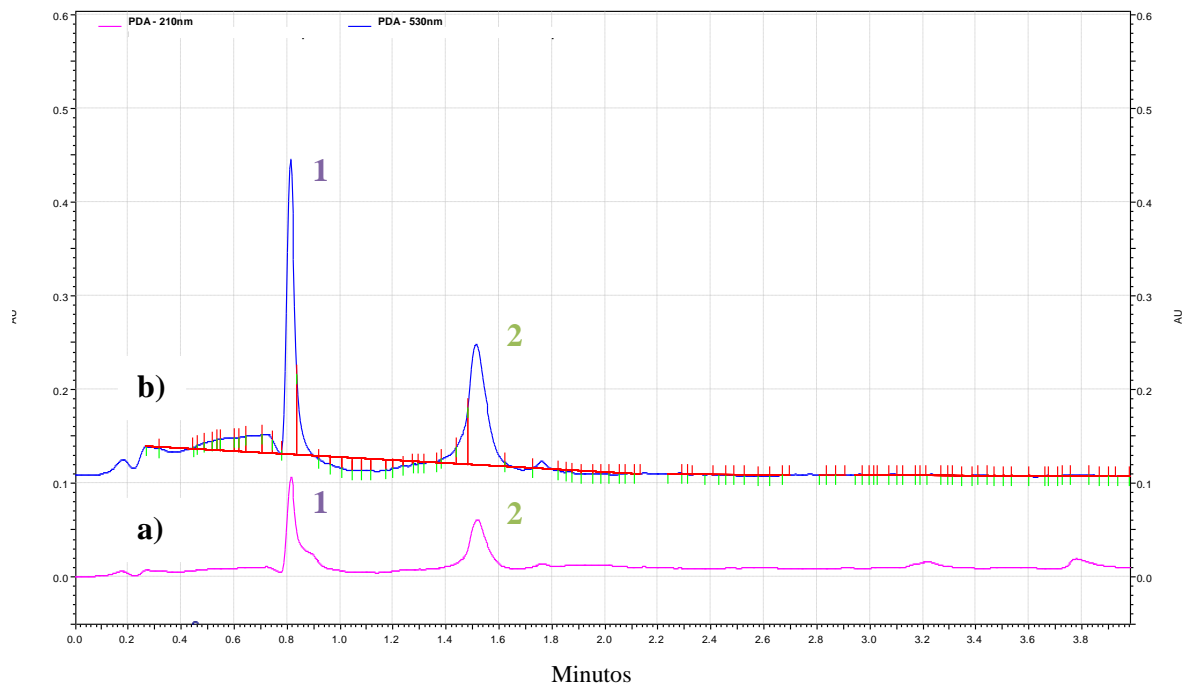


Figura 16. Electroferogramas de mezcla de nanopartículas de Au estándar de (1)100 nm y (2)200 nm, buffer CAPS 10mM / SDS 70mM (pH 10), a un voltaje de 25 Kv a (a) 210 nm y (b) 530 nm (método 4)

En este experimento se utilizó una mezcla de los estándares de nanopartículas de 100 y 200 nm con el fin de visualizar si el tiempo de migración respecto al obtenido en el método 3 para las nanopartículas de 100 nm disminuía, se leyeron a las longitudes de onda de 210 y 530 nm, para ver el efecto de absorción en ambas.

Tabla 7

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 100 y 200 nm a una longitud de onda de 210 y 530 nm aplicando el método 4

Nano partículas	Tiempo de migración 210 nm	Tiempo de migración 530 nm
100 nm	0.78 min	0.76 min
200 nm	1.43 min	1.38 min

Respecto a los tiempos de migración que se obtuvieron (Tabla 7), se nota que principalmente el tiempo de migración para las nanopartículas de 100 nm es mucho menor comparado con el método 3 (hasta 15 veces menor), la disminución del tiempo de migración se le atribuye a la concentración del surfactante SDS, estudios han reportado (Liu F., Wei G. 2003), que la concentración de SDS tiene gran influencia en la movilidad electroforética, al incrementar la concentración de surfactante la movilidad electroforética incrementa, es decir, la velocidad de la nanopartícula a través del campo eléctrico aplicado, es mayor, este fenómeno ocurre por la interacción hidrófoba que existe entre la superficie de las nanopartículas de oro y el SDS ya que induce a un incremento en la carga de las nanopartículas por la capa protectora que forma alrededor de ellas, así que la carga eléctrica que posean las nanopartículas será dependiente del número de moléculas de SDS asociadas a las mismas, afectando la movilidad electroforética ya que está es dependiente de la carga y tamaño de los analitos, a concentraciones altas de tensoactivos la relación carga tamaño es mayor que a concentraciones bajas, por lo tanto la movilidad electroforética es mayor a concentraciones altas de tensoactivo.

En cuanto a las longitudes de onda, existe poca variación en el tiempo de migración entre ambos electroferogramas, pero los picos obtenidos con la longitud de 530 nm, son mucho más grandes y mejor definidos comparados con los obtenidos a una longitud de onda de 210 nm.

5.2.5 Método 5

Para este método se utilizaron condiciones similares al método anterior sólo se varió el tiempo de eyección de la muestra al doble de 30s a 60s (Tabla 8), para ver el efecto de este parámetro en los electroferogramas, en este experimento se utilizó una mezcla de 4 nanopartículas 100, 200 y 300nm. La Figura 17 nos muestra el electroferograma obtenido con este método.

Tabla 8

Condiciones de método 5 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 100, 200 y 300 nm

Condiciones de separación	Método 6
Buffer	CAPS 10mM SDS 70mM pH 10
Voltaje	25 Kv
Tiempo de eyección	60 s
Longitud de onda	530 nm
Temperatura	25°C

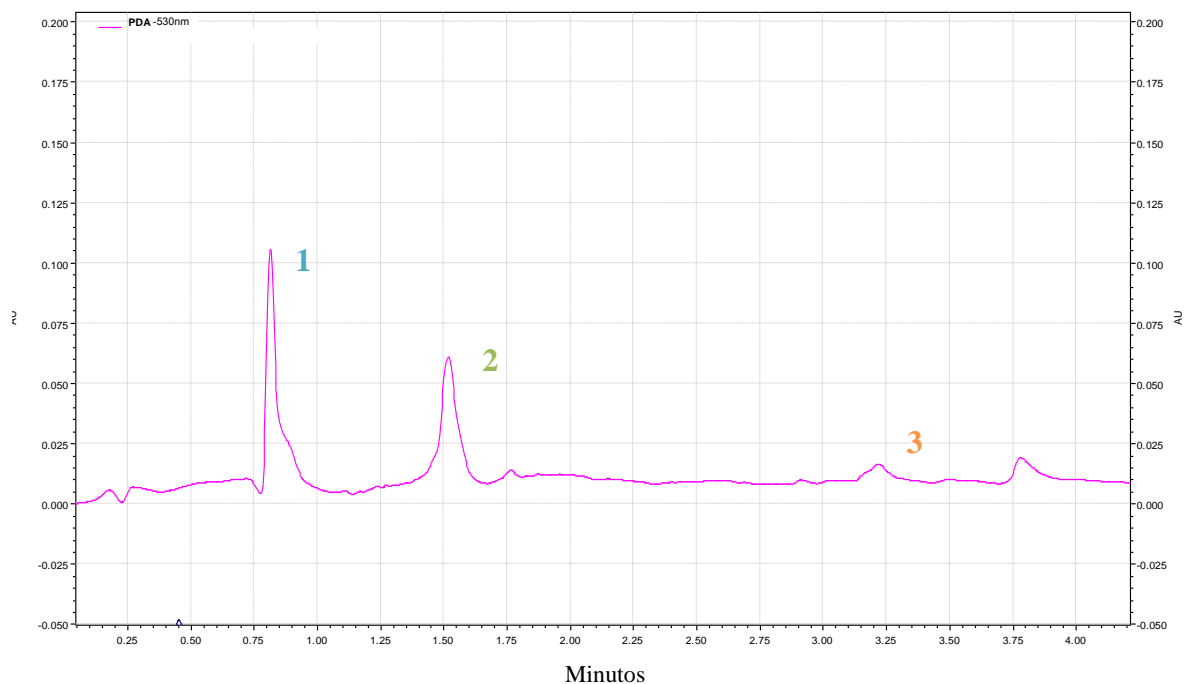


Figura 17. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de (1)100 nm, (2)200 nm, y (3)300 nm, buffer CAPS 10mM / SDS 70mM (pH 10), a un voltaje de 25 Kv a 530 nm (método 5)

En la Figura 17 se aprecian los picos obtenidos para cada una de las nanopartículas en la muestra, siendo la de menor tiempo en migrar la de menor tamaño.

Tabla 9

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 100, 200 y 300 nm a una longitud de onda de 530 nm aplicando el método 5

Nanopartículas	Tiempo de migración	Modelamiento matemático
100 nm	0.77 min	$y = 77.669x + 63.043$ $R^2 = 0.9243$
200 nm	1.37 min	
300 nm	3.15 min	

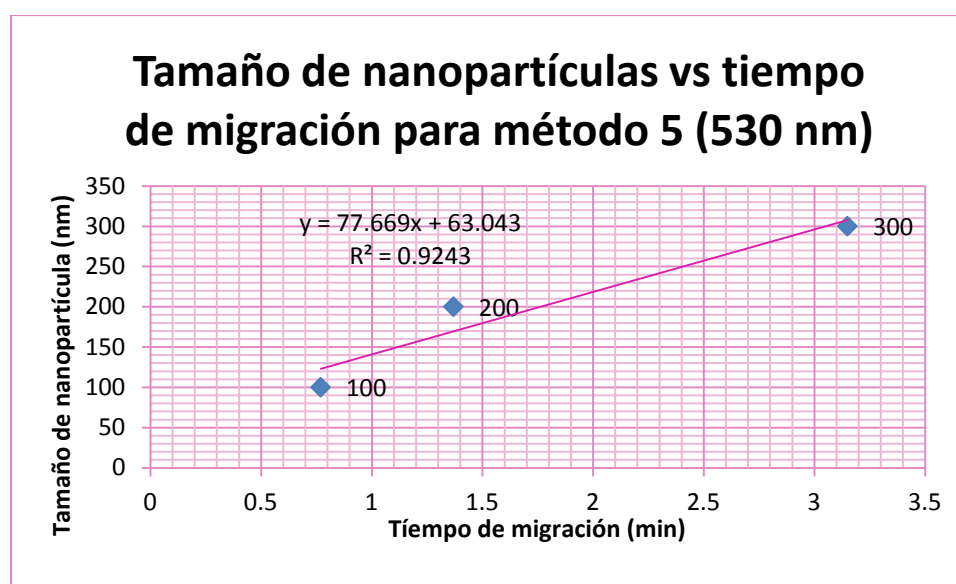


Figura 18. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 5

En los resultados obtenidos para el tiempo de migración de las nanopartículas (Tabla 9) de 100 y 200 nm, no se tiene mucha variación respecto al método anterior lo que podría decir que el tiempo de eyección no afecta considerablemente en el tiempo de migración, sin embargo para las nanopartículas de 300 nm no se obtuvo un pico bien definido y se tiene un tiempo muy desplazado, se esperaría una correlación más lineal y proporcional por que los tamaños aumentan en tamaño 100 veces, al realizar la linealización (Figura 18) se obtuvo una $R = 0.92$, nos dice que los resultados obtenidos tienen relación aunque esperaríamos un R más cercana a 1.

5.2.6 Método 6

Para este método lo que se pretendió fue visualizar el efecto de la concentración de del buffer CAPS, en comparación con los métodos anteriores ellos cuales se utilizó buffer CAPS, se disminuyó la concentración de este en un 50%, de 10mM a 5mM (Tabla 10).

Tabla 10

Condiciones de método 6 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 100, 200 y 300 nm

Condiciones de separación	Método 6
Buffer	CAPS 5mM SDS 70mM pH 10
Voltaje	25 Kv
Tiempo de eyección	60 s
Longitud de onda	530 nm
Temperatura	25°C

La Figura 19 nos muestra el electroferograma de una mezcla de estándar de nanopartículas de 100, 200 y 300 nm obtenido para el método 6, los tiempos de migración que se obtuvieron (Tabla 11), no varían tanto respecto a los métodos anteriores.

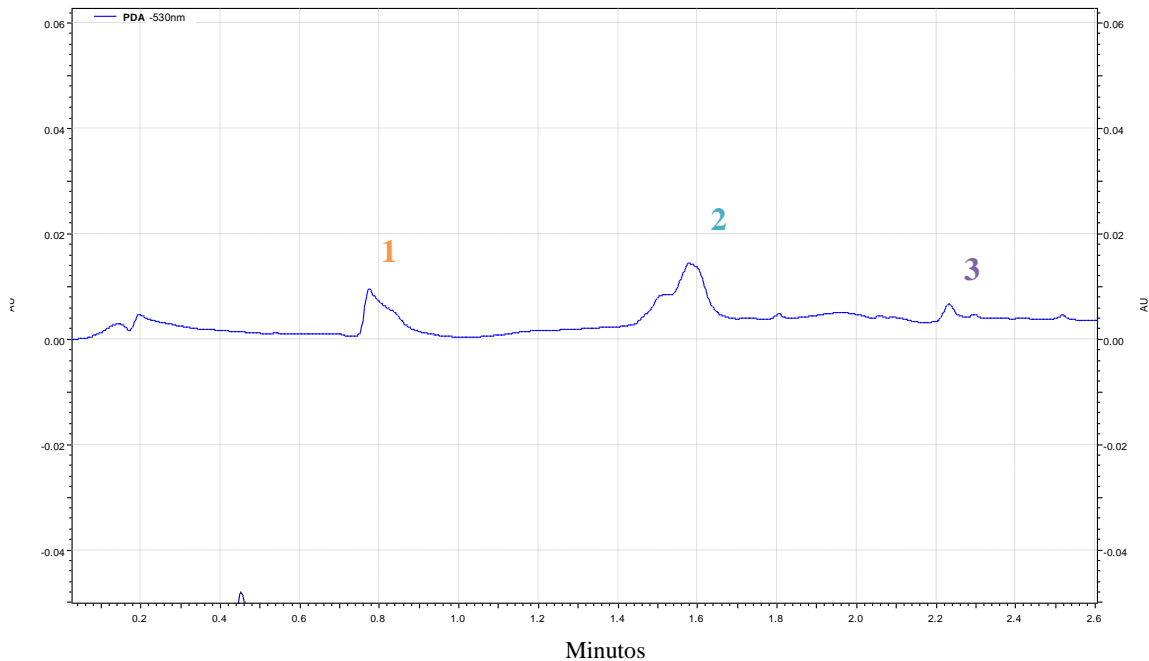


Figura 19. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de (1)100 nm, (2)200 nm y (3)300 nm, buffer CAPS 5mM / SDS 70mM (pH 10), a un voltaje de 25 Kv a 530nm (método 6)

Tabla 11

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 100, 200 y 300 nm a una longitud de onda de 530 nm aplicando el método 6

Nanopartículas	Tiempo de migración	Modelamiento matemático
100 nm	0.76 min	$y = 137.67x - 1.9115$ $R^2 = 0.9981$
200 nm	1.43 min	
300 nm	2.21 min	

Los datos obtenidos para el tiempo de migración poseen una correlación tipo lineal ya que arrojaron un R^2 de 0.99 (Figura 20), sin embargo los picos obtenidos en el electroferograma no se encuentran bien definidos lo que se le atribuye a la concentración del buffer, diversas investigaciones (Liu F., Tieh-Chi Chu et al. 2007) mencionan que la concentración de buffer tiene efectos significantes en la separación por electroforesis capilar ya que influye en el movimiento electroforético, el calentamiento del capilar, la fuerza iónica, viscosidad del analito y en la corriente producida en el capilar, se reporta que a bajas concentraciones de buffer los picos se hacen más anchos, y a altas concentraciones se obtienen picos más definidos debido a que existe una mayor generación de corriente que conlleva a que las nanopartículas migren más rápidamente, la movilidad electroforética es dependiente de la concentración de buffer, sin embargo en los resultados obtenidos (Tabla 11) se visualiza un tiempo menor de migración respecto al método anterior para los estándares de 100 y 300nm (Tabla 9), no obstante estos tiempos no son confiables, ya que los picos en el electroferograma no se encuentran bien definidos lo que hace difícil identificar donde comienzan a aparecer los picos en el electroferograma, por lo cual se decide utilizar una concentración de buffer 10mM, para los experimentos posteriores.

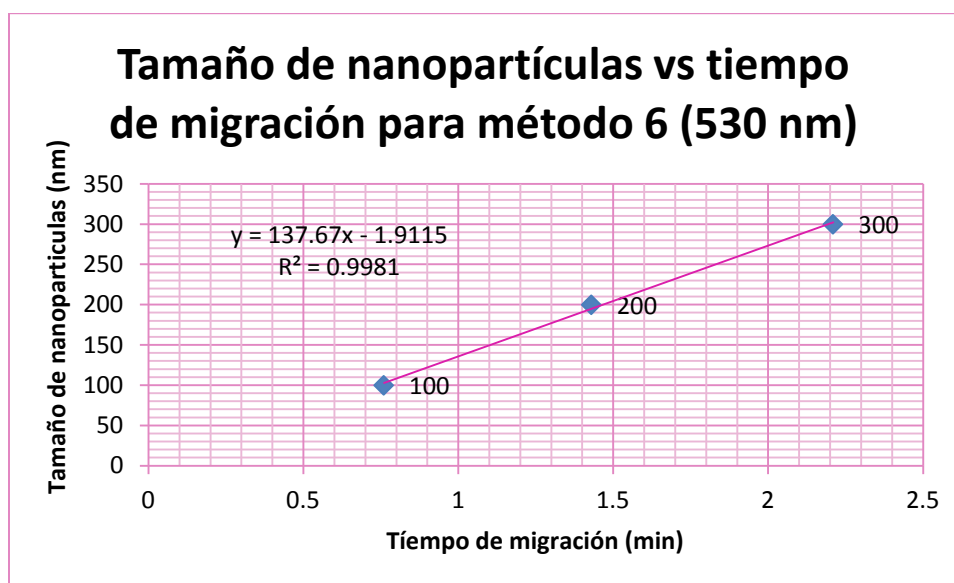


Figura 20. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 6

5.2.7 Método 7

Otro factor muy importante que se considera dentro de los experimentos de electroforesis capilar es el voltaje, por lo que para este método se pretende observar la influencia de este en la separación de las nanopartículas, respecto a los métodos anteriores el voltaje de separación se incremento 5 volts (Tabla 12), la Figura 21 muestra el electroferograma obtenido para una mezcla de nanopartículas de 5, 50,100, 200 y 300 nm aplicando dicho método.

Tabla 12

Condiciones de método 7 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 5, 50, 100, 200 y 300 nm

Condiciones de separación	Método 7
Buffer	CAPS 10mM SDS 70mM pH 10
Voltaje	30 Kv
Tiempo de eyección	60 s
Longitud de onda	532 nm
Temperatura	25°C

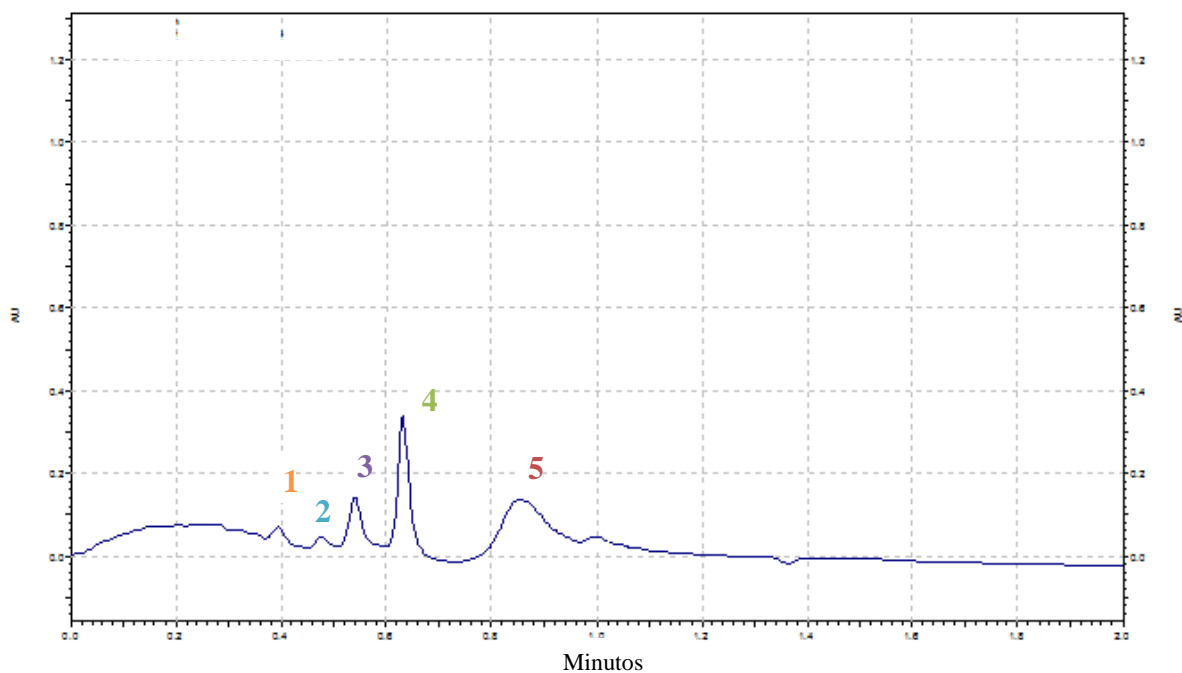


Figura 21. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de (1) 5 nm, (2) 50 nm, (3) 100 nm, (4) 200 nm y (5) 300 nm buffer CAPS 10mM / SDS 70mM (pH 10), a un voltaje de 30 Kv, a 532 nm (método 7)

En el electroferograma (Figura 21) se logra observar cada uno de los picos correspondientes a las nanopartículas presentes en la mezcla, como es de esperarse y al igual que los métodos anteriores, las nanopartículas más pequeñas son las que tienen un tiempo menor de migración y así sucesivamente hasta que las nanopartículas más grandes tienen un tiempo de migración más prolongado debido a su tamaño, en cuestión de los tiempos de migración (Tabla 13), se obtuvo que en relación a los métodos anteriores estos disminuyeron, dicho fenómeno se atribuye al voltaje, ya que la corriente es totalmente dependiente de él, entre mayor sea el voltaje mayor es la corriente, lo cual repercute directamente en la movilidad electroforética ya que se incrementa considerablemente, dando como resultado tiempos de migración más breves.

Tabla 13

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 5, 50, 100, 200 y 300 nm a una longitud de onda de 532 nm aplicando el método 7

Nanopartículas	Tiempo de migración	Modelamiento matemático
5 nm	0.36 min	$y = 800.41x - 294.82$ $R^2 = 0.9926$
50 nm	0.44 min	
100 nm	0.51 min	
200 nm	0.61 min	
300 nm	0.74 min	

Al realizar la correlación lineal de los datos obtenidos (Tabla 13), se obtiene una R^2 de 0.9926 (Figura 22), lo cual indica que existe una buena relación entre los datos obtenidos, y que efectivamente el tiempo de migración es totalmente dependiente del tamaño de las nanopartículas, siendo este método con el que se ha obtenido una mejor correlación con un número mayor de muestras, con la curva de calibración obtenida se pueden caracterizar tamaños de nanopartículas que posean un tamaño entre 5 y 300nm.

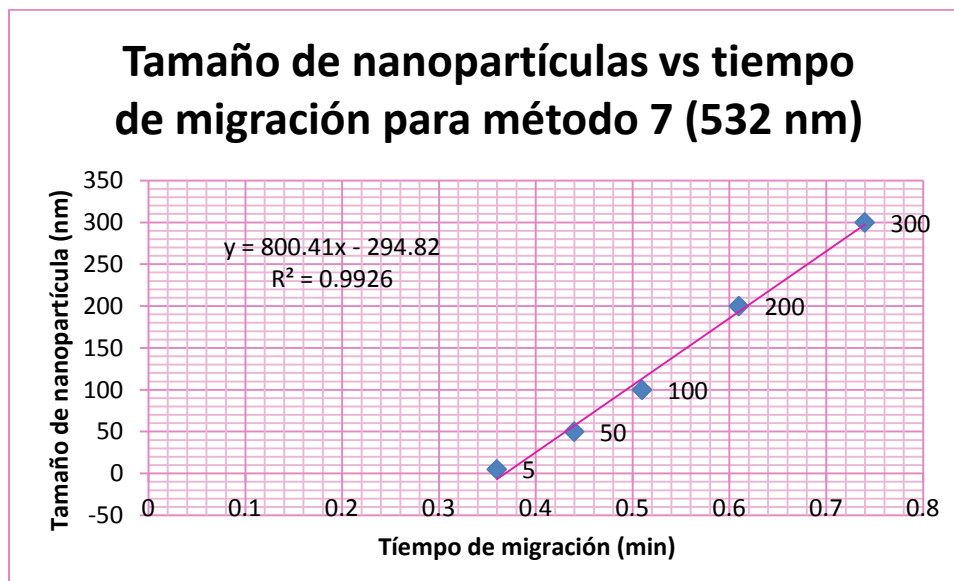


Figura 22. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 7 a una longitud de onda de 532 nm

5.2.8 Método 8

Para los métodos 8 y 9 se decidió cambiar el uso del surfactante SDS, utilizando otro aditivo, las ciclodextrinas, para el caso del método 8 se utilizó la ciclodextrina α , a una concentración igual que la utilizada para el surfactante en los métodos anteriores (Tabla 14), el experimento se corrió a dos longitudes de onda (210 y 530 nm), para visualizar el efecto en los electroferogramas obtenidos con dicho método (Figura 23) utilizando dicha ciclodextrina, para el método 9 se utilizó la ciclodextrina γ a una concentración y condiciones similares que el método 8 (Tabla 16), los electroferogramas obtenidos para el método 9 se visualizan en la Figura 28.

Tabla 14

Condiciones de método 8 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 5, 50 y 100 nm

Condiciones de separación	Método 8
Buffer	CAPS 10mM Ciclodextrina α 70mM pH 10
Voltaje	25 Kv
Tiempo de eyección	60 s
Longitud de onda	210 nm 530 nm
Temperatura	25°C

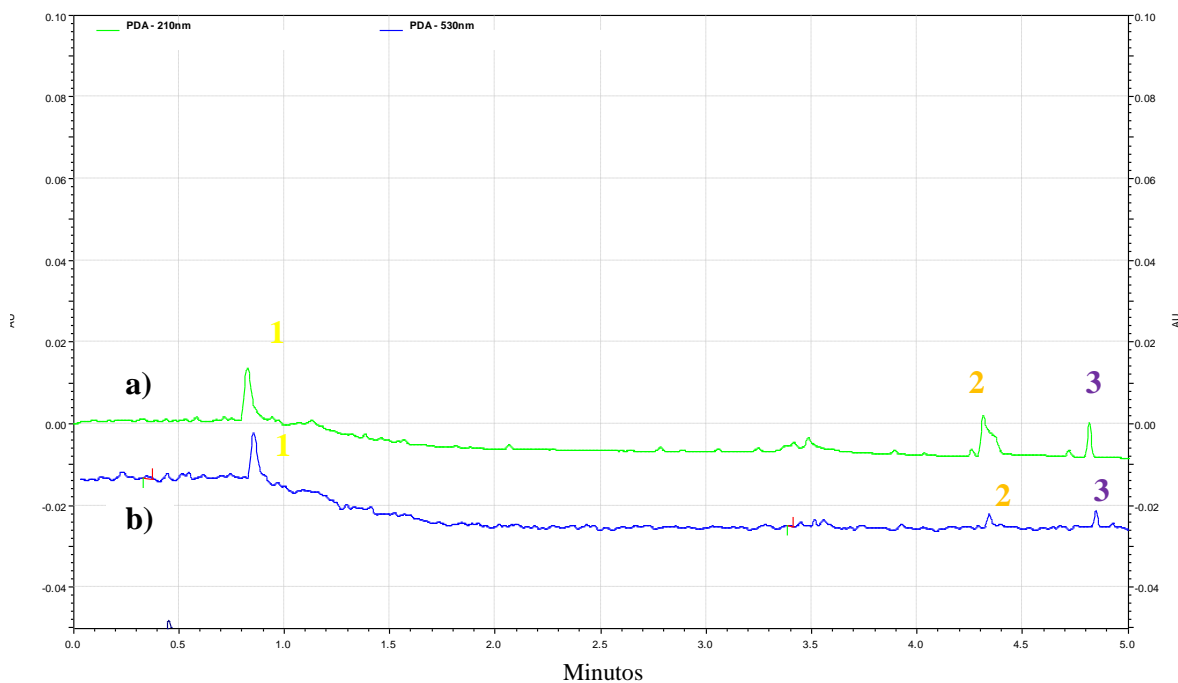


Figura 23. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de (1) 5 nm, (2) 50 nm, (3) 100 nm buffer CAPS 10mM / ciclodextrina α 70mM (pH 10), a un voltaje de 25 Kv, a (a) 210 nm y (b) 530 nm (método 8)

Tabla 15

Tiempo de migración en min para estándares de nanopartículas de 5, 50 y 100nm a una longitud de onda de 210 y 530 nm aplicando el método 8

Nanopartículas	Tiempo de migración 210 nm	Modelamiento matemático 210 nm	Tiempo de migración 530 nm	Modelamiento matemático 530 nm
5 nm	0.81 min	$y = 19.87x - 13.705$ $R^2 = 0.8158$	0.82 min	$y = 19.705x - 13.752$ $R^2 = 0.8158$
50 nm	4.29 min		4.33 min	
100 nm	4.77 min		4.81 min	

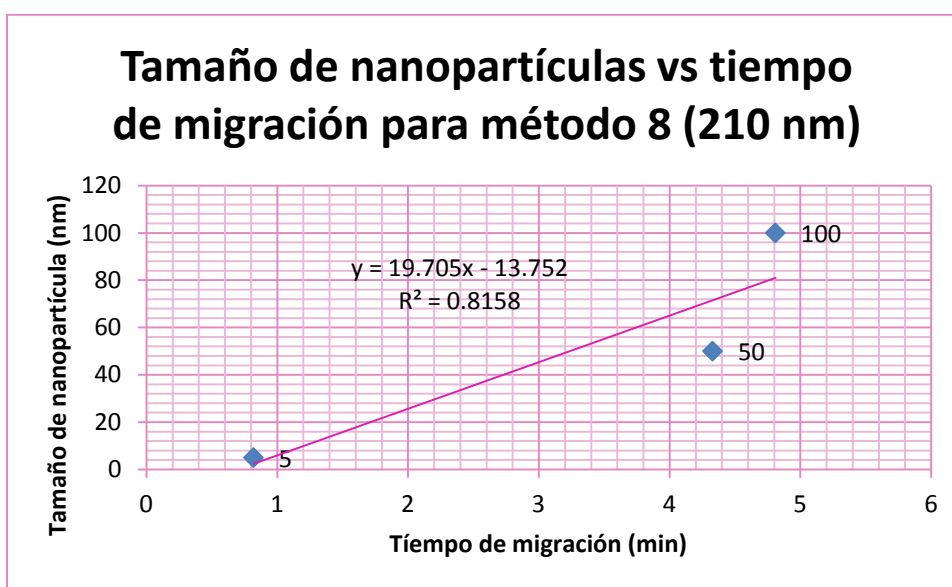


Figura 24. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 8 a una longitud de onda de 210 nm

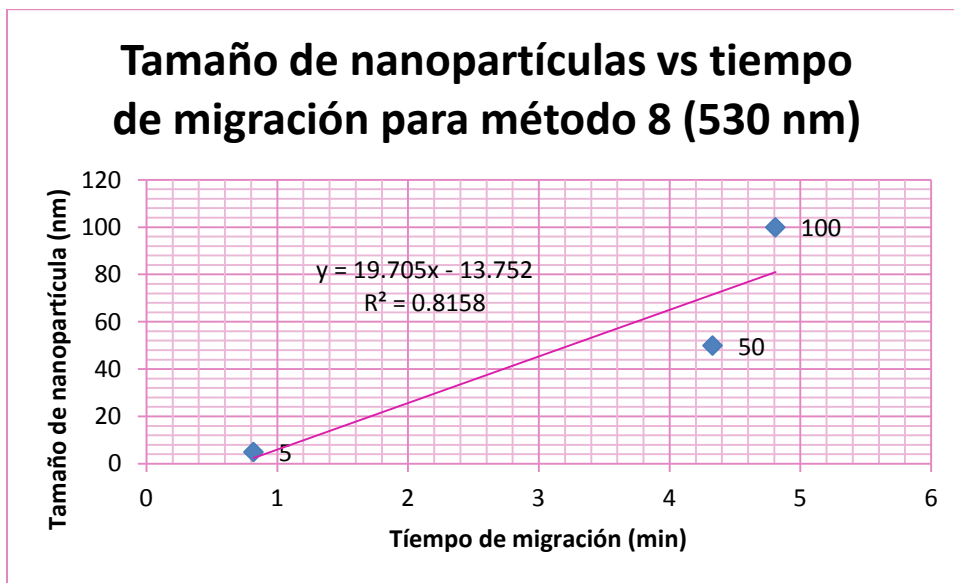


Figura 25. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 8 a una longitud de onda de 530 nm

5.2.9 Método 9

Tabla 16

Condiciones de método 9 para la identificación por EC de nanopartículas metálicas de Au estándar 100, 200 y 300 nm

Condiciones de separación	
/método	Método 8
Buffer	CAPS 10mM Ciclodextrina Y 70mM pH 10
Voltaje	25 Kv
Tiempo de eyección	60 s
Longitud de onda	210 nm 530 nm
Temperatura	25°C

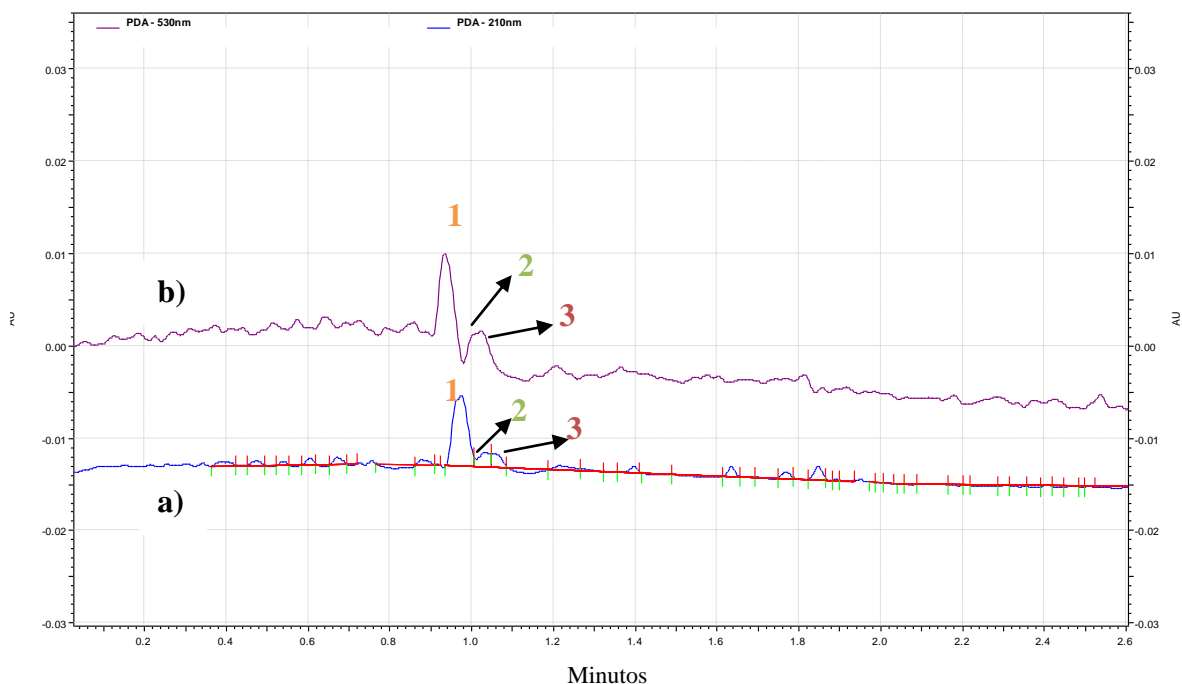


Figura 26. Electroferograma mezcla de nanopartículas de Au estándar de (1) 100 nm, (2) 200 nm y (3) 300 nm buffer CAPS 10mM / ciclodextrina Y 70mM (pH 10), a un voltaje de 25 Kv, a (a) 210 nm y (b) 530 nm (método 9)

Tabla 17

Tiempo de migración para estándares de nanopartículas de 100, 200 y 300 nm a una longitud de onda de 210 y 530 nm aplicando el método 9

Nanopartículas	Tiempo de migración 210 nm	Modelamiento matemático 210 nm	Tiempo de migración 530 nm	Modelamiento matemático 530 nm
100 nm	0.97 min	$y = 591.4x - 462.37$	0.95 min	$y = 1243.1x - 1059.7$
200 nm	1.09 min	$R^2 = 0.9758$	0.99 min	$R^2 = 0.9323$
300 nm	1.3 min		1.1 min	

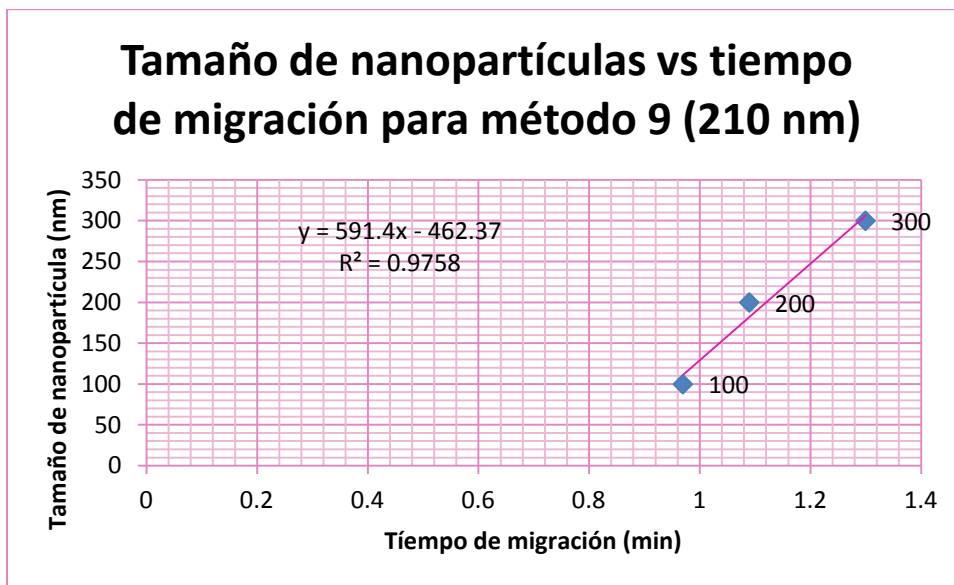


Figura 27. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 9 a una longitud de onda de 210 nm

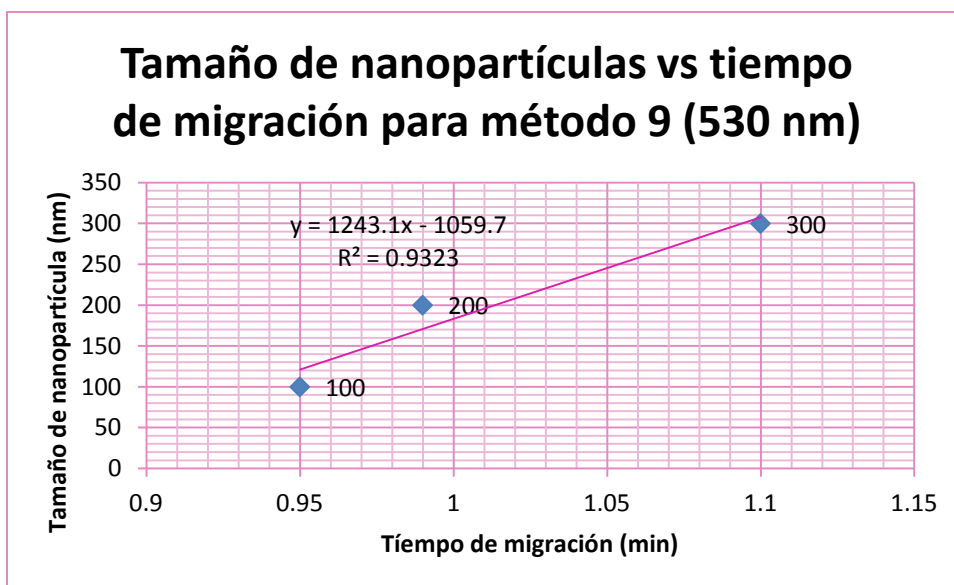


Figura 28. Gráfico del tamaño de nanopartícula vs tiempo de migración utilizando el método 9 a una longitud de onda de 530 nm

La Figura 23 muestra los electroferogramas obtenidos aplicando el método 8, a primera instancia se visualiza que los electroferogramas tienen mucha similitud, no obstante a 530 nanómetros se logran apreciar con mayor facilidad y resolución los picos correspondientes a cada una de las nanopartículas presentes en la muestra, respecto al tiempo de migración de las nanopartículas (Tabla 15), en relación a los métodos anteriores es muy prolongado, al linealizar los datos para ambas longitudes de onda(

Figura 24 Figura 25), se obtienen R^2 alrededor de 0.8, lo que indica que no hay una buena correspondencia entre los datos obtenidos, para el método 9 los electroferogramas se

visualizan en la Figura 26, los picos obtenidos no son bien definidos, puesto que para las nanopartículas de 200 y 300 nm, los picos salen demasiado juntos y no logran distinguirse uno del otro, este efecto sucedió en ambos casos en 210 y 530nm, por lo que los tiempos de migración (Tabla 17), sólo son un estimado, las linealizaciones para ambas longitudes de onda (Figura 27 Figura 28), dan una buena correlación alrededor de un R^2 de 0.9, no obstante los datos no son fiables, ya que los tiempos utilizados no son exactos por la superposición de los picos obtenidos en los electroferogramas, el fin de usar la ciclodextrina era para visualizar si se tenía un mejor efecto que utilizando el SDS, las ciclodextrinas son compuestos cíclicos formados por varias unidades de glucosa, se obtienen mediante la degradación enzimática de almidón y según las unidades de glucosa que posean pueden ser α , β y γ , el acoplamiento de estas unidades dan lugar a una estructura rígida con una cavidad interior de naturaleza hidrofóbica de volumen determinado, para la ciclodextrina α su cavidad interior mide 0.56 nm, mientras que para la β posee un tamaño de 0.70 nm, y la cavidad de γ mide aproximadamente 0.88 nm, esta cavidad les da la capacidad de formar complejos con otras moléculas de naturaleza muy diversa (Martínez G., Gómez M. 2007), las ciclodextrinas se emplean en electroforesis capilar para estabilizar las moléculas (Castagnino J. 2000). En el caso de las nanopartículas de oro, las ciclodextrinas se unen a la superficie de las partículas, dando una mayor estabilidad, entre mayor el número de moléculas de glucosa, más estable se hacen los complejos a los que se une, esperando mediante este fenómeno obtener picos con una mayor resolución, sin embargo los picos obtenidos no pueden interpretarse mejor que cuando se utilizó el SDS, por lo que el uso de surfactante tiene un mejor efecto que utilizando una ciclodextrina.

5.3 Caracterización de muestras problema

De los métodos probados anteriormente el método 7 arrojó los mejores resultados, por lo que se decidió caracterizar una muestra problema utilizando el respectivo método y la ecuación obtenida con el mismo, la Figura 29 muestra el electroferograma obtenido para la muestra problema aplicando las condiciones del mismo (Tabla 12).

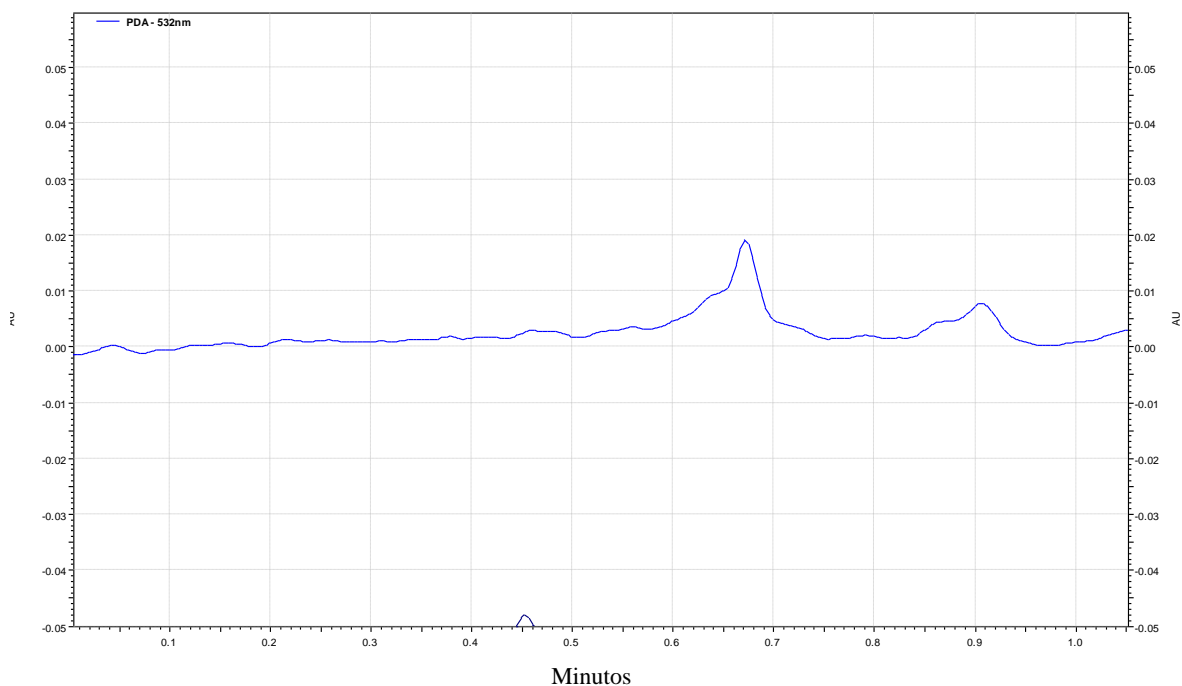


Figura 29. Electroferograma de muestra problema de nanopartículas de Au utilizando buffer CAPS 10mM / SDS 70mM (pH 10), a un voltaje de 30 Kv, a 532 nm (muestra problema)

Del electroferograma (Figura 29) se obtiene que el tiempo de migración aproximado para la muestra problema es de 0.56 min sustituyendo este tiempo en la ecuación obtenida para el método 7 ($y = 800.41x - 294.82$) se obtiene que el tamaño aproximado de las nanopartículas de oro para la muestra problema es de 153.40 nanómetros.

6. CONCLUSIONES

De acuerdo con los resultados obtenidos en este trabajo se tienen las siguientes conclusiones:

- Se lograron implementar diversos métodos para la caracterización de tamaños de nanopartículas metálicas de oro mediante la técnica de electroforesis capilar.
- Utilizando la técnica de electroforesis capilar, se consiguió obtener una curva de calibración de tamaño de nanopartículas metálicas de oro con una $R = 0.99$ con la cual pueden caracterizarse tamaños e nanopartículas en un intervalo de 5-300nm.
- Se logró visualizar los efectos que tienen diversas condiciones en los experimentos de EC, obteniendo mejores resultados utilizando buffer CAPS 10mM, SDS 70mM, un voltaje de 30 Kv.
- Se consiguió utilizar la electroforesis capilar como una técnica alternativa para la caracterización de nanopartículas metálicas de oro.

7. RECOMENDACIONES PARA TRABAJOS FUTUROS

Para posteriores proyectos que tengan como antecedente el presente trabajo se recomienda tener en cuenta las siguientes recomendaciones:

Respecto a la técnica de electroforesis capilar

1. Caída de corriente

En repetidas ocasiones al realizar los experimentos de electroforesis capilar la corriente descendía abruptamente lo cual tenía incidencia en los datos obtenidos, este tipo de problema se atribuye al buffer utilizado, ya que en ocasiones si lleva mucho tiempo de haber sido preparado, al momento de correr la técnica este no tiene la potencia necesaria para cargar la pared del capilar, por lo que se recomienda preparar el buffer el día que se haga el experimento, así como cambiar los viales con buffer de separación cada tres corridas.

2. Taponamiento del capilar

Otro de los problemas encontrados fue que el capilar podía taponarse debido a impurezas presentes en el buffer, agua o NaOH usados en el experimento, por ello se recomienda filtrar con cada una de las soluciones utilizadas con una membrana de 0.2 μm .

3. Rompimiento del capilar

En algunos experimentos puede que el capilar se rompa, esto puede deberse a varias razones entre las cuales se encuentran que los viales no estén bien acomodados, los carros mecánicos del equipo no se encuentran bien calibrados, por lo que antes de realizar cualquier corrida es recomendable verificar que todos los viales se encuentren bien tapados y posicionados, así como confirmar que los carros se encuentren bien alineados, si el problema persiste es necesario llamar al proveedor del equipo para que estos realicen un mantenimiento correctivo.

4. Agotamiento de refrigerante

Ocasionalmente el refrigerante del equipo se agota, deteniendo los experimentos lo cual genera una mayor inversión de tiempo y pérdida de muestra, por lo que es recomendable verificar la cantidad de refrigerante disponible en el equipo antes de realizar las corridas, para evitar pérdidas considerables de tiempo y reactivos.

5. Resultados reproducibles

Repetidas veces al leer las muestras por segunda o tercera vez, los resultados no eran reproducibles, se pronostica que el tiempo que transcurre después de que las nanopartículas son sonicadas es crucial y tiene afección en los resultados, ya que están pueden sedimentar muy rápidamente o aglomerarse, por este hecho se recomienda que las muestras se soniquen durante diez minutos antes de cada corrida y no se deje pasar mucho tiempo después de sonicarlas y correr el experimento, lo cual ayudara a obtener resultados reproducibles.

También se recomienda que si se desea ocupar alguno de los métodos propuestos con otro equipo de electroforesis capilar, se realice toda la metodología sugerida para el mismo, ya que los resultados pueden variar mucho dependiendo del equipo y los estándares que se utilicen.

6. Validación del método analítico

Se sugiere que se realice la validación del método analítico, utilizando alguna de las técnicas microscópicas para cerciorarse de que el tamaño de nanopartícula que se obtiene con esta técnica es fiable.

8. REFERENCIAS

1. Aguilar M. (2009). Síntesis y caracterización de nanopartículas de plata: Efecto sobre *Colletotrichum gloesporioides*. Tesis de doctorado, Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología Avanzada, IPN, México.
2. Aguirre L. (2006). Desarrollo de métodos de electroforesis capilar para el análisis de formas de glicoproteínas de interés farmacéutico y clínico. Tesis de doctorado. Universidad Autónoma de Madrid Facultad de Ciencias. España
3. Alqadi S., Remuñan C. (2009). *Nanopartículas metálicas: oro*. Departamento de Farmacia y Tecnología Farmacéutica. Facultad de Farmacia. Universidad de Santiago de Compostela.
4. Castagnino J. (2000, 1 enero). Bioquímica y fisicoquímica. Electroforesis Capilar. *Asociación Mexicana de Bioquímica Clínica, A.C. México*. 25, 13-32.
5. Castillo, A. J. & Duarte, M. A. (2008). *Determinación y cuantificación de vitaminas liposolubles en productos farmacéuticos por el método de electroforesis capilar*. Tesis de licenciatura, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, IPN, México.
6. Chopin D. (2012 diciembre). Principios básicos de electroforesis capilar: técnica analítica de separación de analitos. *Tecnología de Salud*. Vol. 1 pp. 86-89.
7. Domínguez S. (2011). *Síntesis de nanopartículas metálicas y de zeolitas para catálisis y separación de gases*. Tesis de doctorado. Universidad de Alicante.
8. Garduño Z. (2011). Fabricación de nanopartículas metálicas para aplicaciones fotovoltaicas. Tesis de Maestría, Escuela Superior de Ingeniería Mecánica y Eléctrica, IPN, México.
9. Helle A., Hirsjarvi S. et al . (2007, 14 noviembre). *Quantitative determination of drug encapsulation in poly (lactic acid) nanoparticles by capillary electrophoresis*. Science Direct. Elsevier.
10. Leon, L.C. (2008). *Producción y cuantificación de un antibiótico por electroforesis capilar*. Tesis de licenciatura, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Biotecnología, IPN, México.
11. Liu F. (2007, 24 agosto). A high-efficiency capillary electrophoresis-based method for characterizing the sizes of Au nanoparticles. Science Direct. Elsevier.
12. Liu F., Lin Y. et al (2004, 23 agosto). Highly efficient approach for characterizing nanometer-sized gold particles by capillary electrophoresis. Science Direct. Elsevier.

13. Liu F., Tieh-Chi Chu et al. (2007, 29 mayo). *On- line enhancement and separation of nanoparticles using capillary electrophoresis*. Science Direct. Elsevier.
14. Liu F., Wei G. (2003, 10 diciembre). Adding sodium dodecylsulfate to the running electrolyte enhances the separation of gold nanoparticles by capillary electrophoresis. . Science Direct. Elsevier.
15. Martínez G., Gómez M. (2007 mayo). *Ciclodextrinas: Complejos de inclusión de polímeros*. Instituto de ciencia y Tecnología de Polímeros. España.
16. Osorio C. (2011). *Síntesis y caracterización de nanotubos monocapa, nanotubos multicapa y nanopartículas de bismuto obtenidas mediante irradiación con microondas*. Tesis de doctorado, Universidad Autónoma de Nuevo León, UNAM, México.
17. Ramírez A. G. (2012). *Desarrollo de un Método para la Determinación de Antibióticos en leche de Vaca por Electroforesis Capilar*. Tesis de licenciatura, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán. UNAM, México.
18. Reséndiz M. (2005, 17 marzo). *Microscopio de Fuerza Atómica*. Encuentro de Investigación en Ingeniería Eléctrica. Centro de Investigación en Ingeniería y Ciencias Aplicadas.