

ESCUELA POLITÉCNICA NACIONAL

FACULTAD DE CIENCIAS

CARRERA DE FÍSICA

**MEJORAMIENTO DE LA CAPACIDAD ANALÍTICA DE LA
ESPECTROSCOPIA LIBS MEDIANTE EL DEPÓSITO DE
NANOPARTÍCULAS METÁLICAS SOBRE LA MUESTRA**

TRABAJO DE TITULACIÓN PREVIO A LA OBTENCIÓN DEL TÍTULO DE FÍSICO

PROYECTO DE INVESTIGACIÓN

CARLOS EDUARDO NOGALES HERRERA

carlos.nogales.herrera@gmail.com

Director: César Augusto Costa Vera, Ph.D.

cesar.costa@epn.edu.ec

JULIO 2022



DECLARACIÓN

Yo, Carlos Eduardo Nogales Herrera, declaro bajo juramento que el trabajo aquí descrito es de mi autoría; que no ha sido previamente presentada para ningún grado o calificación profesional; y, que he consultado las referencias bibliográficas que se incluyen en este documento.

La Escuela Politécnica Nacional puede hacer uso de los derechos correspondientes a este trabajo, según lo establecido por la Ley de Propiedad Intelectual, por su Reglamento y por la normatividad institucional vigente.

Carlos Eduardo Nogales Herrera

AUTOR



CERTIFICACIÓN

Certifico que el presente trabajo fue desarrollado por Carlos Eduardo Nogales Herrera, bajo mi supervisión.

César Costa Vera, Ph. D.

DIRECTOR

AGRADECIMIENTO

En primer lugar, quiero agradecer al Dr. César Costa por todo su apoyo y guía, tanto para la realización del presente proyecto como para el desarrollo del perfil que se requiere para aportar de manera efectiva al emocionante mundo científico al que nos debemos.

A todos los miembros del Laboratorio de Espectroscopia Óptica por su ayuda y revisiones; en especial a la Ing. Isamar Sarabia, el Ing. Víctor Santos, la Fís. Elizabeth Samaniego y el Fís. Juan Molina. A Alba Jumbo, por sus valiosos consejos en momentos clave.

A todos los miembros del laboratorio del cuarto piso, por su ayuda y don de gente.

A todos los buenos profesores que tuve la fortuna de conocer a lo largo de mi tiempo en las aulas de la Escuela Politécnica Nacional, de quienes aprendí la vastedad y potencia de las ciencias en el desarrollo de nuestra sociedad, así como los caminos hacia la excelencia vistos en su propio ejemplo.

A los profesores que no conocí en las aulas, pero de quienes recibí grandes lecciones de integridad y compromiso con la sociedad.

A Víctor Hugo Guevara y Gerardo Machado, mis grandes maestros del Teodoro Gómez de la Torre en mi ciudad natal, por cultivar durante mi adolescencia el amor que tengo hacia la ciencia y la verdad; los recuerdo siempre con gratitud y cariño.

A mi familia por respetar mis decisiones, tiempos y por todo su soporte.

DEDICATORIA

A mi Esthercita, mi dos veces madre, como decía mi abuelo Miguicho, quien no pudo acompañarme físicamente hasta el final, pero cuyo cariño nunca me ha dejado y de quien aprendí que la felicidad está en el amor a la familia.

A Hilda, mi madre, a quien admiro profundamente y que, a su manera, ha sabido ser una madre grandiosa y un apoyo inmenso en muchos de los momentos más complicados.

A Carlos, mi padre, por su soporte al inicio de la universidad, todas las conversaciones y la experiencia que ha sabido transmitirme.

A Valeria, mi hermana, la más brillante de todos, con quien hemos afrontado las diferentes etapas de la vida a nuestro modo y a quien quiero con toda mi alma, aunque no se lo diga muy a menudo.

A Ronald Andrés, mi hermano, el más perspicaz de todos, a quien siempre he querido transmitir lo que he logrado aprender de la vida y a quien también quiero con toda mi alma.

A Ronald grande, padre de mi hermano, por todo su apoyo, sus consejos y ser la gran persona que fue.

A toda mi familia, mis tíos y primos, de cada uno de quienes obtuve valiosos aprendizajes a lo largo del camino.

A Daniela, quien me animó a seguir adelante y terminar esta etapa, por su respaldo, su comprensión y cuidados, sin ella nada de esto hubiera sido posible. Con todo mi cariño: gracias.

A todos los buenos líderes con quienes comparto el honor de haber dejado un legado silencioso con mejores condiciones para las nuevas generaciones. No quisiera cometer la injusticia de que se me escape un nombre si empiezo a enunciarlos, pero ustedes saben quiénes son.

A todos las personas brillantes que he conocido en la academia, la política, la empresa y la vida. Son una inspiración para ser siempre mejor y nunca quedarme en mi zona de confort.

Al Prof. Douglas Moya, quién me animó a seguir esta carrera que tanto amo y de quién aprendí la fortaleza de la solvencia intelectual y el don de gente en la vida.

A Adriana, por su apoyo, compañía en años cruciales, y por todo el aprendizaje.

A todos los amigos que conocí en medio de las más diversas actividades, en especial a Diego, Nathy y Pedro.

A los millones de trabajadores y cientos de miles de empresarios de nuestro país que con su sacrificio financian la universidad pública y que, por tanto, merecen obtener el disfrute de los mejores sistemas posibles que haya podido diseñar la humanidad. Más temprano que tarde, lo conseguiremos.

A la vida misma, que merece ser vivida.

ÍNDICE

ÍNDICE	i
LISTA DE TABLAS	v
LISTA DE FIGURAS	vii
RESUMEN	x
ABSTRACT	xi
DECLARACIÓN DE AUTORÍA	xii
CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA	3
2.1.FUNDAMENTOS DE LIBS	3
2.1.1. Espectroscopía de descomposición inducida por láser (LIBS)	3
2.1.2. Instrumentación del Sistema LIBS	3
2.1.3. Desarrollo del plasma inducido por láser	4
2.1.4. Procesamiento espectral en LIBS	6
2.2.FUNDAMENTOS DE NELIBS	8
2.2.1. Nanopartículas, plasmones y láseres.	8
2.2.2. Consideraciones previas al uso de NELIBS como método para tratamiento de muestras	10
2.2.3. Concentración superficial, distancia entre partículas y factor de empaquetamiento	11
2.2.4. Límite de detección y límite de cuantificación.	12
2.3.FUNDAMENTOS PARA LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS	13
2.3.1. Síntesis por crecimiento a partir semillas	13
2.3.2. Síntesis por reducción química	13
2.4.FUNDAMENTOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MEDIANTE ANÁLISIS UV-Vis	14
2.4.1. Análisis de absorbancia en UV-Vis	14

2.4.2. Relación con la teoría de Mie _____	14
2.4.3. Modelo para la caracterización de nanopartículas de oro _____	15
2.4.4. Modelo para la caracterización de nanopartículas de plata _____	16
2.4.5. Ajuste del perfil de absorbancia: función de Chesler-Cram _____	16
2.5.SISTEMA LIBS 2000+ _____	18
2.5.1. Distancia lente-muestra _____	18
2.5.2. Niveles de fluencia _____	18
CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA _____	19
3.1.SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS _____	19
3.1.1. Materiales _____	19
3.1.2. Instrumentación _____	19
3.1.3. Protocolos para nanopartículas de oro _____	20
3.1.4. Protocolos para nanopartículas de plata _____	21
3.1.5. Síntesis de Puntos Cuánticos de Grafeno dopados con Nitrógeno (N-GQDs) _____	21
3.2.CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS _____	21
3.2.1. Medición de espectros UV-Vis _____	22
3.2.2. Automatización de la caracterización _____	22
3.3.MÉTODO DE ANÁLISIS SOBRE PLACAS DE ALEACIÓN DE ALUMINIO/SILICIO _____	23
3.3.1. Parámetros seleccionados para la definición de cada combinación _____	24
3.3.2. Preparación de las placas de aluminio para el depósito de las nanopartículas _____	25
3.4.MÉTODO PARA LA ESTIMACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CADMIO EN CACAO _____	26
CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	27
4.1.CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS _____	27
4.1.1. Tamaño y concentración de puntos cuánticos de grafeno dopados con nitrógeno _____	27

4.1.2. Tamaño y concentración de nanopartículas de oro _____	27
4.1.3. Tamaño y concentración de nanopartículas de plata _____	29
4.2.RESULTADOS NELIBS EN PLACAS DE ALUMINIO _____	30
4.2.1. Nanopartículas de plata sobre aluminio _____	30
4.2.2. Nanopartículas de oro en aluminio _____	32
4.2.3. Puntos cuánticos de grafeno dopados con nitrógeno en aluminio _____	33
4.3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN PARA PASTILLAS DE GRANO MOLIDO DE CACAO _____	35
4.4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN PARA PASTILLAS DE CACAO EN POLVO _____	36
CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES _____	37
CAPÍTULO 6: BIBLIOGRAFÍA _____	39
CAPÍTULO 7: ANEXOS _____	44
7.1.ANEXO 1: Abstract presentado y aceptado en el Colloquium Spectroscopicum Internationale XLII _____	44
7.2.ANEXO 2: Código para la caracterización de nanopartículas de oro _____	46
7.3.ANEXO 3: Código para la caracterización de nanopartículas de plata _____	53
7.4.ANEXO 4: Código para realizar la comparación entre LIBS y NELIBS. _____	60
7.5.ANEXO 5: Gráficas de los resultados de la síntesis y caracterización de nanopartículas de plata. _____	68
7.6.ANEXO 6: Gráficas de los resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para Ag NPs _____	70
7.7.ANEXO 7: Gráficas de los resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para Au NPs _____	78
7.8.ANEXO 8: Gráficas de los resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para N-GQDs _____	86
7.9.ANEXO 9: Tablas de los resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para el análisis de Cadmio en pastillas de granos molidos de Cacao _____	90
7.10.ANEXO 10: Tablas de los resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para el análisis de Cadmio en pastillas de polvo de Cacao _____	92

7.11.ANEXO 11: Tablas de los resultados del cálculo para la distancia entre partículas y el factor de empaquetamiento. _____ 94

7.12.ANEXO 12: Gráficas de los resultados de las mediciones de concentración de cadmio para pastillas de granos molinos. _____ 96

7.13.ANEXO 13: Gráficas de los resultados de las mediciones de concentración de cadmio para pastillas de granos molinos. _____ 96

LISTA DE TABLAS

Tabla 1.- Resumen de las regiones temporales de evolución del plasma. _____	6
Tabla 2.- Tamaños seleccionados para el análisis NELIBS sobre placas de aluminio. _____	24
Tabla 3.- Dispersiones superficiales seleccionadas para cada tipo de nanopartícula. _____	24
Tabla 4.- Longitud de onda de resonancia plasmónica λ_{SPR} calculado para las Au NPs sintetizadas. _____	27
Tabla 5.- Diámetro, concentración y densidad de las Au NPs. _____	27
Tabla 6 .- λ_{SPR} calculado para las Ag NPs sintetizadas. _____	29
Tabla 7.- Resultados de la caracterización de las Ag NPs. _____	29
Tabla 8.- Combinaciones en las que se consiguieron los aumentos más grandes según cada tipo de comparación realizada para Ag NPs. _____	30
Tabla 9.- Combinaciones en las que se consiguieron los aumentos más grandes según cada tipo de comparación realizada para Au NPs. _____	32
Tabla 10.- Combinaciones en las que se consiguieron los aumentos más grandes según cada tipo de comparación realizada para N-GQDs. _____	33
Tabla 11.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con AG NPs sin diluir. Pastillas de grano molido. _____	90
Tabla 12.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con Au NPs sin diluir. Pastillas de grano molido. _____	90
Tabla 13.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con AG NPs diluidas. Pastillas de grano molido. _____	91
Tabla 14.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con Au NPs diluidas. Pastillas de grano molido. _____	91
Tabla 15.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con AG NPs sin diluir. Pastillas de polvo. _	92
Tabla 16.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con Au NPs sin diluir. Pastillas de polvo. __	92
Tabla 17.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con Ag NPs diluidas. Pastillas de polvo. ___	93

Tabla 18.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con Au NPs diluidas. Pastillas de polvo. ____93

Tabla 19.- Cálculo de la distancia interparticular, D , para cada combinación de dispersión superficial y tipo de nanopartícula. _____94

Tabla 20.- Factor de empaquetamiento calculado para cada combinación de dispersión superficial y tipo de nanopartícula. _____94

Tabla 21.- Cálculo del error estándar para las distancias interparticulares en cada combinación de dispersión superficial y tipo de nanopartícula. _____94

Tabla 22.- Error estándar calculado para el factor de empaquetamiento en cada combinación de dispersión superficial y tipo de nanopartícula. _____95

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.-** Esquema instrumental del sistema LIBS 2000+. El plasma generado por el láser emite una señal espectroscópica receptada por una fibra óptica que la conduce al espectrómetro para finalmente mostrar los resultados en el Software OOILIBS. _____ 1
- Figura 2.-** Esquema de producción del plasma inducido por láser. a) Emisión del pulso láser y focalización de este sobre la superficie de la muestra. b) Vaporización, fragmentación y atomización de los componentes de la muestra. c) Creación del plasma: iones, iones excitados, átomos y átomos excitados. d) Desexcitación de las partículas y emisión de fotones con longitudes de onda características. _____ 3
- Figura 3.-** Especies en emisión dominante en el tiempo desde la incidencia del pulso láser. _ 5
- Figura 4.-** Esquema de oscilación plasmónica en una nanopartícula esférica en presencia de un campo eléctrico. La nube electrónica que conforma el plasmón se alinea en contra de la presencia del campo. _____ 9
- Figura 5.-** Dipolos inducidos durante la incidencia de un pulso láser. D es la distancia entre partículas, μ es el momento dipolar generado dentro de las NPs y μ' es el momento dipolar generado entre las nanopartículas. _____ 10
- Figura 6.-** Representación de la función de Chesler-Cram y los efectos de cada uno de sus parámetros. _____ 17
- Figura 7.-** Imagen de la distribución chispa LIBS hacia el punto focal _____ 18
- Figura 8.-** En rojo NELIBS y en azul LIBS. Ordenamiento y comparación de intensidad de picos en 4 formas diferentes: entre el mínimo obtenido en NELIBS con el mínimo obtenido en LIBS. Lo mismo para el máximo, la mediana y la media. _____ 23
- Figura 9.-** Esquema de las placas de aluminio usadas para depositar nanopartículas y realizar los análisis LIBS y NELIBS correspondientes. _____ 25
- Figura 10.-** Elaboración de las pastillas de cacao dopadas con cadmio. _____ 26
- Figura 11.-** Espectros de absorbancia y caracterización para cada lote de Au NPs. _____ 28
- Figura 12.-** Espectros de absorbancia para cada lote de Ag NPs. _____ 29
- Figura 13.-** a) Coeficiente de mejora NELIBS/LIBS, para la relación mínimo a mínimo, en función de la fluencia y concentración superficial para la línea de Al 309.38 [nm]. b) Espectros de los 30 disparos en LIBS (azul) y NELIBS (rojo) para la combinación con el coeficiente de mejora más alto de a). _____ 31
- Figura 14.-** a) Coeficiente de mejora NELIBS/LIBS, para la relación mediana a mediana, en función de la fluencia y concentración superficial para la línea de Al 308.31 [nm]. b) Espectros de los 30 disparos en LIBS (azul) y NELIBS (rojo) para la combinación con el coeficiente de mejora más alto de a). _____ 32

- Figura 15.-** a) Coeficiente de mejora NELIBS/LIBS, para la relación máximo a máximo, en función de la fluencia y concentración superficial para la línea de Al 308.31 [nm]. b) Espectros de los 30 disparos en LIBS (azul) y NELIBS (rojo) para la combinación con el coeficiente de mejora más alto de a). _____ 34
- Figura 16.-** Gráficos de la intensidad vs. concentración de cadmio para varias líneas de interés del cadmio. Pastillas de granos molidos. _____ 35
- Figura 17.-** Gráficos de la intensidad vs. concentración de cadmio para varias líneas de interés del cadmio. Pastillas de cacao en polvo. _____ 36
- Figura 18.-** Caracterización de Ag NPs sintetizadas con Borohidruro en baño de hielo. ____ 68
- Figura 19.-** Caracterización de Ag NPs sintetizadas por distintos métodos. _____ 69
- Figura 20.-** Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Ag NPs, comparando los mínimos de intensidad de cada grupo. _____ 70
- Figura 21.-** Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Ag NPs, comparando los mínimos de intensidad de cada grupo. _____ 71
- Figura 22.-** Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Ag NPs, comparando los máximos de intensidad de cada grupo. _____ 72
- Figura 23.-** Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Ag NPs, comparando los máximos de intensidad de cada grupo. _____ 73
- Figura 24.-** Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Ag NPs, comparando la mediana de intensidad de cada grupo. _____ 74
- Figura 25.-** Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Ag NPs, comparando la mediana de intensidad de cada grupo. _____ 75
- Figura 26.-** Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Ag NPs, comparando la media de intensidad de cada grupo. _____ 76
- Figura 27.-** Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Ag NPs, comparando la media de intensidad de cada grupo. _____ 77
- Figura 28.-** Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Au NPs, comparando los mínimos de intensidad de cada grupo. _____ 78

Figura 29.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Au NPs, comparando los mínimos de intensidad de cada grupo. _____ 79

Figura 30.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Au NPs, comparando los máximos de intensidad de cada grupo. _____ 80

Figura 31.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Au NPs, comparando los máximos de intensidad de cada grupo. _____ 81

Figura 32.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Au NPs, comparando la mediana de intensidad de cada grupo. _____ 82

Figura 33.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Au NPs, comparando la mediana de intensidad de cada grupo. _____ 83

Figura 34.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Au NPs, comparando la media de intensidad de cada grupo. 84

Figura 35.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Au NPs, comparando la media de intensidad de cada grupo. 85

Figura 36.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm, Al 309.38 nm, Al 394.29 nm y Al 396.03 en N-GQDs, comparando los mínimos de intensidad de cada grupo. _____ 86

Figura 37.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm, Al 309.38 nm, Al 394.29 nm y Al 396.03 en N-GQDs, comparando los máximos de intensidad de cada grupo. _____ 87

Figura 38.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm, Al 309.38 nm, Al 394.29 nm y Al 396.03 en N-GQDs, comparando la mediana de intensidad de cada grupo. _____ 88

Figura 39.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm, Al 309.38 nm, Al 394.29 nm y Al 396.03 en N-GQDs, comparando la media de intensidad de cada grupo. _____ 89

Figura 40.- Gráficos de la intensidad vs. concentración de cadmio con líneas de la respectiva desviación estándar para cada línea CD. Pastillas de granos molidos. _____ 96

Figura 41.- Gráficos de la intensidad vs. concentración de cadmio con líneas de la respectiva desviación estándar para cada línea CD. Pastillas de polvo. _____ 97

RESUMEN

El interés en la espectroscopía de descomposición inducida por láser mejorada con nanopartículas (NELIBS), debido a su capacidad para aumentar la señal en los espectros, ha ido creciendo en la comunidad LIBS desde el primer informe de De Giacomo et al.[1] en 2013. En NELIBS, típicamente, las nanopartículas metálicas (NP) se depositan sobre la superficie de la muestra antes de realizar el análisis LIBS. La mejora de la señal causada por las NPs ha permitido, entre otras cosas, reducir el límite de detección (LOD) de varios elementos en diferentes tipos de materiales (metálicos, dieléctricos transparentes y biológicos)[2], [3]. A pesar de esta mejora, la reproducibilidad y variabilidad de NELIBS presenta problemas que deben investigarse más a fondo; también si otros tipos de NPs que pueden generar este efecto. En este trabajo se analizaron más de 18.000 espectros. Estos espectros resultaron de 600 combinaciones diferentes de diámetros de nanopartículas (D), concentraciones superficiales (SC) y fluencia láser. Las muestras consistieron en placas de aleación de aluminio (98%). Tanto las nanopartículas de oro (Au) como de plata (Ag) fueron sintetizadas, caracterizadas por absorbancia óptica, y depositados en la superficie de las placas.[4]–[11] Además, por primera vez en esta técnica, se aplicaron puntos cuánticos de grafeno dopados con nitrógeno [12] (~2 nm) para evaluar su rendimiento en NELIBS. Se investigó sistemáticamente el efecto de los depósitos y los demás parámetros. Por cada combinación, se tomaron 30 disparos LIBS, a 10 niveles de fluencia láser. Se utilizó ácido cítrico para evitar el efecto anillo de café para distribuir mejor los NP en las superficies. Para la evaluación de la mejora, se exploraron cuatro picos de aluminio (308.3, 309.4, 394.3, 396nm). Determinándose, así, las mejoras máximas para las combinaciones dadas, en todos los casos.

El cacao fue seleccionado como muestra biológica para el estudio de la presencia de cadmio, debido a su importancia económica y a los niveles detectados en la producción ecuatoriana (hasta 1833 ng/g) que están 129% encima de los máximos permitidos por la Unión Europea (800 ng).¹³ El cacao fue transformado en pastillas a partir de dos presentaciones de su grano seco: molido y transformado en polvo. Ocho líneas de cadmio (326.11, 340.37, 346.62, 361.05, 643.84, 228.80, 226.50 y 214.44 nm) fueron exploradas en busca de la mejor para la construcción de curvas de calibración. Nanopartículas metálicas de plata y oro fueron usadas para tratar de conseguir una mejora en la señal detectada y por tanto mejores curvas de calibración. Se determinó que es posible establecer una curva de calibración con la técnica LIBS para el cadmio presente en cacao. Salvo casos puntuales, no fue posible encontrar una mejora significativa con los protocolos usados. Los indicios recomiendan profundizar el análisis pues esto muestran que es plausible conseguir una curva de calibración mejorada por NELIBS.

Palabras clave: *LIBS, NELIBS, Nanopartículas Metálicas, Au NPs, Ag NPs, Puntos Cuánticos de Grafeno dopados con Nitrógeno, N-GQDs, Cacao, Cadmio, Análisis Elemental*

ABSTRACT

Interest in nanoparticle-enhanced laser-induced breakdown spectroscopy (NELIBS), due to its ability to increase signal in spectra, has been growing in the LIBS community since the first report by De Giacomo et al. [1] in 2013. In NELIBS, typically, metal nanoparticles (NPs) are deposited on the sample surface prior to LIBS analysis. The signal enhancement caused by NPs has allowed, among other things, to reduce the limit of detection (LOD) of various elements in different types of materials (metallic, transparent dielectric and biological) [2], [3]. Despite this improvement, the reproducibility and variability of NELIBS presents problems that should be further investigated; also, if other types of NPs that can generate this effect. In this work, more than 18,000 spectra were analyzed. These spectra resulted from 600 different combinations of nanoparticle diameters (D), surface concentrations (SC) and laser fluence. The samples consisted of aluminum alloy plates (98%). Both gold (Au) and silver (Ag) nanoparticles were synthesized, characterized by optical absorbance, and deposited on the surface of the plates.[4]-[11] In addition, for the first time in this technique, nitrogen-doped graphene quantum dots [12] (~2 nm) were applied to evaluate their performance in NELIBS. The effect of the deposition and the other parameters were systematically investigated. For each combination, 30 LIBS shots were taken, at 10 laser fluence levels. Citric acid was used to avoid the coffee ring effect to better distribute the NPs on the surfaces. For enhancement evaluation, four aluminum peaks (308.3, 309.4, 394.3, 396nm) were scanned. The maximum enhancements for the given combinations were determined in all cases.

Cocoa was selected as a biological sample for the study of the presence of cadmium, due to its economic importance and the levels detected in Ecuadorian production (up to 1833 ng/g), which are 129% above the maximum levels permitted by the European Union (800 ng).13 Cocoa was processed into tablets from two presentations of its dry beans: ground and powdered. Eight cadmium lines (326.11, 340.37, 346.62, 361.05, 643.84, 228.80, 226.50 and 214.44 nm) were explored in search of the best one for the construction of calibration curves. Silver and gold metallic nanoparticles were used to try to achieve an improvement in the detected signal and therefore better calibration curves. It was determined that it is possible to establish a calibration curve with the LIBS technique for cadmium present in cocoa. Except for specific cases, it was not possible to find a significant improvement with the protocols used. The indications recommend further analysis as this shows that it is plausible to obtain an improved calibration curve by NELIBS.

Keywords: *LIBS, NELIBS, Metallic Nanoparticles, Au NPs, Ag NPs, Nitrogen-doped Graphene Quantum Dots, N-GQDs, Cocoa, Cadmium, Elemental Analysis*

DECLARACIÓN DE AUTORÍA

El candidato a físico, Carlos Eduardo Nogales Herrera, en adelante ‘el autor’, manifiesta de forma libre y voluntaria, y en honor a la verdad, la siguiente declaración de autoría.

El eje de investigación y el tema, sobre el cual se desarrolló el presente trabajo de titulación, fueron construidos y ofertados por el Dr. César Augusto Costa Vera dentro del Laboratorio de Espectroscopía Óptica y Espectrometría de Masas del Departamento de Física de la Escuela Politécnica Nacional. La investigación fue hecha a partir de sus guías iniciales, tanto en lo experimental como lo bibliográfico. Toda la realización ha sido ejecutada bajo su tutela y mentoría.

La investigación bibliográfica registrada a lo largo del texto fue llevada a cabo de forma exhaustiva por el autor de la presente.

Los protocolos para la síntesis de nanopartículas metálicas usadas para NELIBS fueron ejecutados en las instalaciones del laboratorio y los materiales fueron provistos en el mismo. Estos protocolos se basaron en otros reportados en bibliografía revisada por pares, sin embargo, en algunos casos fueron modificados notablemente para ajustarlos a las necesidades del presente trabajo.

Los protocolos para la síntesis de las nanopartículas de oro fueron determinados por el autor. Los protocolos para la síntesis de las nanopartículas de plata fueron discutidos con los demás miembros del laboratorio, especialmente con la Ing. Isamar Sarabia, el Dr. César Costa y la Fís. Eugenia Samaniego. El autor fue el principal partícipe y conductor en los procesos de determinación y ejecución de los protocolos. Todas las síntesis se ejecutaron con el apoyo de la Ing. Isamar Sarabia. La síntesis y caracterización de los puntos cuánticos de grafeno dopados con nitrógeno fueron realizadas por la Ing. Isamar Sarabia.

La determinación de la fundamentación física, programación y automatización para la caracterización de las nanopartículas metálicas, mediante métodos espectroscópicos, son responsabilidad íntegra del autor.

El diseño experimental de todos los procesos relativos a LIBS y NELIBS, así como el código para el análisis de los 18300 espectros (con un resultado de más de 250 millones de datos por cada tupla, con más de 10 tuplas presentes según la etapa del proceso), hecho mediante herramientas de código abierto para grandes cantidades de datos (SPARK), son de realización del autor.

Varios resultados del presente trabajo han sido presentados y aceptados en el Colloquium Spectroscopicum Internationale XLII (CSI XLII) en forma de un póster titulado <<Enhancement in NELIBS with silver and gold nanoparticles and N-Graphene QDs>>, (Nogales-Herrera, Sarabia y Costa-Vera – 2022) el cual está presentado en el ANEXO 1. También han sido presentados y aceptados trabajos con estos resultados en la Latin America Optics And Photonics Conference 2022 (LAOP) y en el 25th Congress of the International Commission for Optics (ICO) and 16th Conference of International Society on Optics Within Life Sciences (OWLS).

CAPÍTULO 1: INTRODUCCIÓN

En 2009 se reportó por primera vez mejoras significativas en la sensibilidad para la respuesta espectroscópica de la técnica LIBS (ver Figura 1) luego del depósito de nanopartículas metálicas sobre la superficie de la muestra.[14] Esto ocurrió en un estudio sobre análisis de nutrientes en plantas. Reportes posteriores con tratamientos en muestras metálicas indicaron la existencia del efecto en superficies de este tipo y otros la presencia del efecto de mejora en medios transparentes y soluciones acuosas. El fenómeno observado, que corresponde a una mejora en la técnica LIBS gracias a las nanopartículas depositadas, se denominó NELIBS (Nanoparticle-Enhanced LIBS).[1], [15], [16]

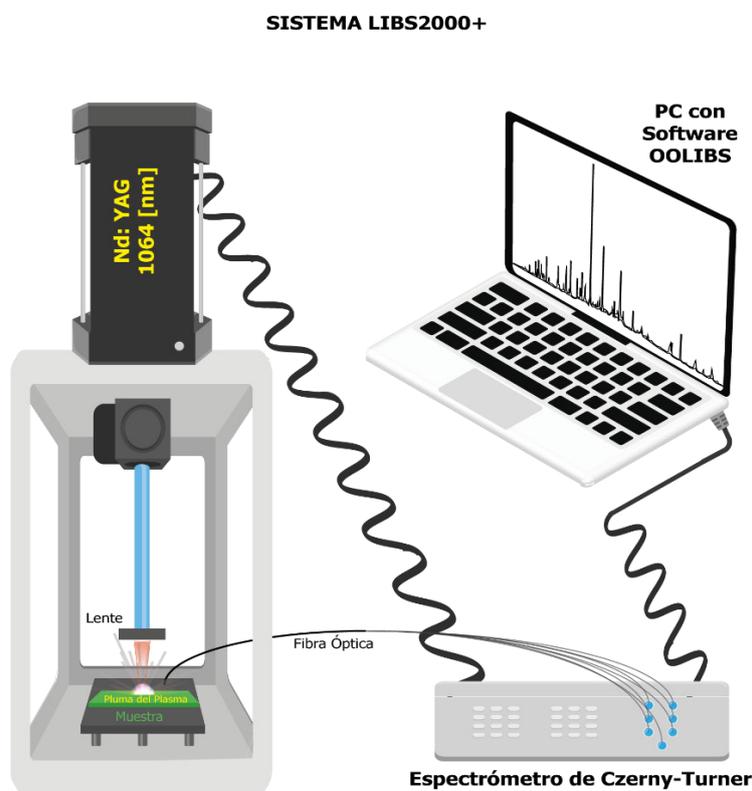


Figura 1.- Esquema instrumental del sistema LIBS 2000+. El plasma generado por el láser emite una señal espectroscópica receptada por una fibra óptica que la conduce al espectrómetro para finalmente mostrar los resultados en el Software OOLIBS.

El interés en NELIBS ha ido en aumento en la comunidad LIBS desde el primer informe de De Giacomo et al. [1], debido a su capacidad para aumentar la señal en los espectros. En NELIBS, normalmente se depositan nanopartículas (NPs) metálicas en concentraciones determinadas sobre la superficie de la muestra antes de realizar el análisis LIBS. La mejora de la señal provocada por las NPs ha permitido, entre otras cosas, bajar el límite de detección (LOD) de varios elementos en distintos tipos de materiales, desde metálicos hasta dieléctricos transparentes, y muestras biológicas.[3] A pesar de esta mejora, la reproducibilidad y variabilidad de NELIBS presenta problemas que deben investigarse más a fondo, además de si hay otros tipos de NPs que puedan generar este efecto.

El presente proyecto se basa en evaluar la reproducibilidad y posterior análisis de los puntos

óptimos en los parámetros dentro los esquemas experimentales para maximizar el aumento en la respuesta espectroscópica en NELIBS [17]–[19]. Este trabajo fue realizado en el Laboratorio de Espectroscopía Óptica y Espectrometría de Masas del Departamento de Física de la Escuela Politécnica Nacional. La reproducción a nivel cualitativo de los interesantes resultados reportados en la literatura, con el instrumento LIBS2000+ disponible en el laboratorio y con nanopartículas preparadas en tamaños y concentraciones controladas, es uno de los desafíos fundamentales a afrontar. El análisis se hizo con superficies metálicas y soluciones acuosas homogeneizadas en muestras biológicas (Cacao), usando nanopartículas de plata, Ag NPs, nanopartículas de oro, Au NPs, y puntos cuánticos de grafeno dopado con nitrógeno, N-GQDs. Las nanopartículas se depositaron en alícuotas desde nanosuspensiones acuosas en concentraciones variables, para controlar la densidad superficial de las NPs sobre la muestra. Nótese que el grafeno tiene propiedades tanto de semiconductor como de conductor, lo cual lo vuelve interesante para el análisis NELIBS que típicamente usa nanopartículas metálicas. Este material nunca ha sido usado en este contexto, según nuestra investigación bibliográfica.

Una parte metodológica importante de este trabajo fue la síntesis de las nanopartículas metálicas usando métodos de química húmeda (reducción de los precursores) para controlar el tamaño y concentración. Las nanopartículas de oro se realizan en una versión propia del conocido método de Turkevich, y las de plata mediante la reducción con borohidruro de sodio del nitrato de plata. Ambos métodos permiten controlar el tamaño de las nanopartículas con precisión. Las suspensiones de nanopartículas fueron analizadas mediante absorbancia UV-Vis-NIR para determinar nivel de polidispersividad, polimorfismo, tamaño central característico y densidad de las NPs.^{4-12,20-23} El rol del tamaño y eventualmente de la cercanía intrínseca entre las NPs depositadas sobre la superficie a analizar también fueron metodológicamente explorados para determinar los efectos sobre la mejora en la intensidad de la señal. [2], [24]

El cacao fue elegido muestra biológica debido a su amplio impacto económico y el problema latente en los niveles de cadmio del producto ecuatoriano. Los niveles seguros para el cacao en polvo en la Unión Europea son de 800 ng/g mientras que los detectados en el cacao ecuatoriano oscilan entre los 533 y 1833 ng/g.[13] Un mecanismo de detección en tiempo real permitiría una mejora en el control de calidad en varios niveles. Tanto en el nivel de producción como en el relativo a los resultados de innovación para la mitigación de este fenómeno. El presente estudio supone un avance en esa línea y la consideración de NELIBS en este proceso.

Un total de 18 300 espectros de las muestras metálicas fueron procesados para encontrar las combinaciones de mayor incremento en la señal. En las muestras biológicas, 8 líneas de Cadmio en 5 modos (LIBS y 4 NELIBS) de análisis fueron exploradas.

CAPÍTULO 2: FUNDAMENTACIÓN TEÓRICA

2.1.FUNDAMENTOS DE LIBS

2.1.1. ESPECTROSCOPIA DE DESCOMPOSICIÓN INDUCIDA POR LÁSER (LIBS)

LIBS (Laser-induced Breakdown Spectroscopy) pertenece al conjunto de técnicas que conforman la Espectroscopía Atómica (EA).[25] En específico, LIBS pertenece a la Espectroscopía de Emisión Atómica (EEA). En EEA, la muestra a ser analizada es excitada para posteriormente estudiar las líneas del espectro emitido durante la desexcitación. En LIBS, la vaporización, atomización y excitación inducidas por el láser forman un plasma (Laser-induced Plasma – LIP), ver Figura 2, que está parcialmente ionizado.[26][27]

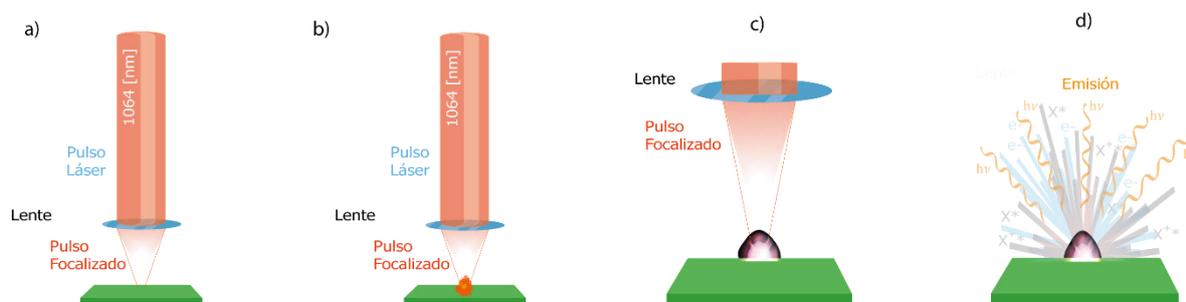


Figura 2.- Esquema de producción del plasma inducido por láser.

a) Emisión del pulso láser y focalización de este sobre la superficie de la muestra. b) Vaporización, fragmentación y atomización de los componentes de la muestra. c) Creación del plasma: iones, iones excitados, átomos y átomos excitados. d) Desexcitación de las partículas y emisión de fotones con longitudes de onda características.

En términos generales, se pueden identificar tres componentes importantes que caracterizan la ejecución del método LIBS: a) la instrumentación usada, b) el desarrollo del plasma y c) los algoritmos de procesamiento de los datos espectrales.[27]

2.1.2. INSTRUMENTACIÓN DEL SISTEMA LIBS

Diferentes tipos de láser suelen ser usados para LIBS. Desde los tipo ArF Excimer que emiten a una longitud de onda de 193 nm con pulsos de entre 8 ns a 15 ns con entre 8mJ y 15 mJ por pulso, hasta los de tipo CO₂ Repetitive que emiten luz a 10600 nm con pulsos de entre 10 y 100 μ s con entre 0.1 y 5J por pulso.[27] Especial atención tienen hoy en día los son capaces de realizar pulsos en el rango de los femtosegundos.[28] El sistema del laboratorio cuenta con un láser Nd:YAG que emite pulsos a 1064 nm (primer armónico) con 8 ns de duración a un máximo de 250 mJ; además, un espectrómetro Czerny-Turner con un rango desde 198 nm hasta 963 nm con una resolución de 0.05528 nm.

Existen dos parámetros importantes que pueden ser controlados en los sistemas LIBS, el tiempo de retraso luego del cual se iniciará la medición, t_d , y el tiempo durante el cual estará abierto para la recolección de datos el espectrómetro, t_g . La distancia entre el lente y la muestra, d , también juega un papel importante puesto que determina el tamaño del lugar en que será disparado el pulso.

2.1.3. DESARROLLO DEL PLASMA INDUCIDO POR LÁSER

La duración del pulso láser incidente sobre la superficie de la muestra es de apenas unas decenas de nanosegundos. El ciclo del plasma producido puede ser estudiado a través de tres regiones de evolución marcadas:

- 1) ruptura de enlaces e ignición,
- 2) expansión y enfriamiento, y
- 3) eyección y condensación de partículas.

Estos procesos inician con la absorción de la energía óptica del láser, que ocurre en apenas femtosegundos, hasta la condensación de las partículas que ocurre en órdenes de los milisegundos después de la llegada del pulso ha sido completada. [29] La modelación matemática exhaustiva de estos fenómenos sobrepasa los objetivos del presente trabajo y es, de hecho, un campo de investigación abierto. Sin embargo, su descripción cualitativa es necesaria para la comprensión del rol de los parámetros temporales que son configurados para las mediciones con el espectrómetro.

2.1.3.1. *RUPTURA DE ENLACES E IGNICIÓN*

El proceso inicia con la transmisión de la energía del láser (nótese aquí la importancia de la longitud de onda a la cual es emitido el pulso) para iniciar la ablación con unos pocos electrones libres que sirven como receptores de energía a través de fenómenos de colisión de tres cuerpos que incluyen fotones y átomos neutros. El segundo paso es el fenómeno de ionización por avalancha que ocurre en la región focal. Clásicamente, los electrones son acelerados entre colisiones por los campos eléctricos del pulso. A medida que las energías de los electrones crecen, las colisiones conducen a ionizaciones, la aparición de nuevos electrones libres, más capacidad de absorción de energía y todo ello confluye en el proceso de avalancha. Bremsstrahlung y bremsstrahlung inversa conducen estas interacciones.[26] Para pulsos láser de nanosegundos con irradiancias menores a 10^8 W/cm^2 , como el que es parte de nuestro sistema, el mecanismo dominante para iniciar la ablación es la vaporización térmica donde la temperatura superficial de la muestra se incrementa y ocurren transiciones de fase bien definidas: sólido a líquido, líquido a vapor y de vapor a plasma. En esta fase, la longitud de onda, la duración del pulso y la irradiancia son factores determinantes. Por ejemplo, en el caso de los pulsos de nanosegundos la parte final de estos es absorbida por el plasma, formando una región que es llamada blindaje.[27]

2.1.3.2. *EXPANSIÓN Y ENFRIAMIENTO*

La expansión del plasma ocurre después de la ignición y está gobernada por las propiedades que tiene el plasma al final del pulso y el tipo de medio en que ocurre la expansión. Propiedades como la densidad electrónica, temperatura y velocidad inicial de expansión dependen fuertemente de las características del láser. La expansión depende tanto de la cantidad de masa y energía en la pluma como del gas circundante en el medio. Mientras la ignición ocurre desde el arribo del pulso a la superficie, el proceso de expansión inicia cuando aún este (pulso en ns) no ha colisionado completamente. Una vez que el pulso termina su colisión, la masa de electrones calientes, átomos y iones es expulsada de la superficie de la muestra con una rapidez del orden de 10^5 m/s . La onda de choque producto de esta rápida expansión del volumen focal es la causa del sonido característico de LIBS. La expansión es fuertemente anisotrópica y el flujo del plasma tiene una velocidad máxima en dirección perpendicular a la superficie independientemente del ángulo entre el haz incidente y la superficie de la muestra. También es adiabática hasta aproximadamente un microsegundo después del pulso. Mientras el volumen aumenta está también presente el efecto de

interacción con el entorno incluyendo transferencia de energía después de ese tiempo. Adicionalmente, después de ese tiempo, la emisión de líneas espectrales es el principal mecanismo de pérdida de energía. Existen tres modelos para la propagación y expansión: combustión asistida por láser (laser-supported combustion - LSC), detonación asistida por láser (laser-supported detonation - LSD), y ondas de radiación asistidas por láser (laser-supported radiation - LSR). Estos modelos difieren en sus predicciones sobre la opacidad de la pluma y la transferencia de energía al ambiente. Los que mejor modelan el fenómeno para bajas irradiancias en LIBS son el LSC y el LCD.[26], [27]

Para el caso de los pulsos de nanosegundos, que son de nuestro interés, existe emisión continua y de líneas específicas. Durante el impacto del pulso y varias centenas de nano segundos después, existe emisión continua. Varios estudios muestran que la pluma de emisión brillante inicia alrededor del pico del pulso y alcanza un máximo hasta en el orden de 10^2 ns. La emisión continua se origina cerca de la superficie objetivo (fuera del plasma) y típicamente cubre el rango espectral de 2 nm a 600 nm. Las líneas espectrales provienen de átomos neutros e iones a través de procesos de recombinación y desexcitación. Las especies altamente ionizadas están presentes cerca del centro del plasma, mientras que las especies neutras o de baja ionización han sido identificadas en la parte externa de la pluma del plasma. Los espectros de átomos neutros se encuentran originadas en la mayor parte de la región espacial lo cual indica que estas emisiones son las dominantes después de la expansión y el enfriamiento. Un análisis temporal (ver Figura 3) muestra que los estados altamente ionizados aparecen en el período temprano del proceso y los de baja ionización en el tardío. Los procesos iónicos dominan en escalas de nanosegundos. Las líneas de emisión atómicas son detectadas después de un microsegundo aproximadamente. En torno a un milisegundo la temperatura de los electrones llega al equilibrio con la de iones y átomos.[26], [27] En definitiva, los tipos de emisión esperada están expresados por:

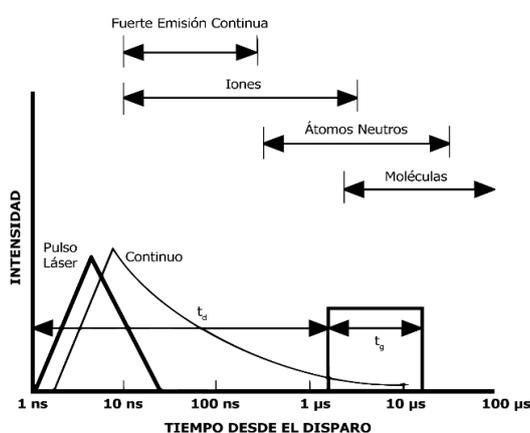
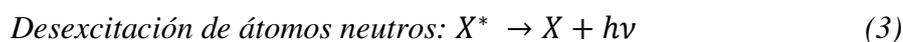
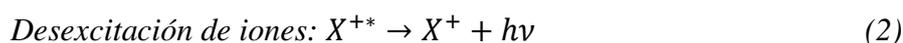
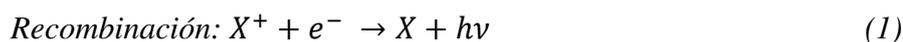


Figura 3.- Especies en emisión dominante en el tiempo desde la incidencia del pulso láser. (Nota: ilustración adaptada [26])

2.1.3.3. EYECCIÓN Y CONDENSACIÓN DE PARTÍCULAS

Una cantidad significativa de masa es ablacionada en forma de partículas en lugar de ser

vaporizada. Esta masa no aporta en las mediciones LIBS, salvo que pueda ser re-evaporada y excitada por la pluma. La formación de partículas proviene de tres fuentes: exfoliación de la muestra sólida, eyección de líquidos o condensación de vapores. Para pulsos láser de nanosegundos, una ebullición homogénea en la capa ablacionada es el principal mecanismo de remoción de partículas. Las partículas eyectadas se registran desde aproximadamente $4 \cdot 10^2$ ns hasta los $3 \cdot 10$ μ s. Los enormes de temperatura son los que dirigen este proceso. Para pulsos láser de 3 ns se ha detectado tasas por sobre los 1000°K/s . Se ha encontrado correlación entre los cráteres residuales y los resultados analíticos. Estos suelen ser analizados a partir de la relación profundidad-diámetro como métrica del acoplamiento entre la energía del pulso y la superficie del material. Cuando este factor es mayor de 5, por ejemplo, se sabe que un disparo en él produce un acoplamiento diez veces superior al equivalente en una superficie plana. La formación de partículas genera un problema a LIBS puesto que esta ablación de masa no forma parte del plasma y no contribuye a la componente analítica.[26][27] Sin embargo, al controlar parámetros como el tiempo de enfriamiento o la densidad de la pluma podemos obtener nanopartículas de tamaños específicos cuando el vapor se enfría por debajo del punto de ebullición y los átomos empiecen a condensarse. Es decir, puede aprovecharse esta parte del proceso para crear protocolos de fabricación de nanopartículas. [30]

Tabla 1.- Resumen de las regiones temporales de evolución del plasma.

Ruptura de Enlaces e Ignición	Expansión y enfriamiento	Eyección y condensación de partículas
Excitación electrónica y Ionización (1fs – 1ps)	Propagación de la onda de choque	Eyección de pequeñas gotas (10 ns – 1 μ s)
Vaporización y ablación (1ns – 10ns)	Expansión del plasma (10ps – 1 μ s)	Exfoliación de sólidos de la muestra (1 μ s – 10 μ s)
Blindaje del Plasma (1ns – 10ns)	Enfriamiento del plasma por emisión de líneas espectrales (1 μ s – 100 μ s)	Formación de nanopartículas (100 μ s – 1ms)

2.1.4. PROCESAMIENTO ESPECTRAL EN LIBS

La luz emitida durante el proceso de enfriamiento es recolectada por una fibra óptica que los envía hacia un detector CCD en el espectrómetro. Esta señal es procesada por un software que actúa como interfaz con el detector, el cual puede ajustarse a distintos modos de trabajo. Por otro lado, se debe tener en cuenta que la detección de los espectros emitidos durante el proceso LIBS tiene al menos dos fuentes metodológicas de incertidumbre en el proceso de medición. La primera son las fluctuaciones propias de las emisiones provenientes del plasma y la segunda el ruido del detector. Los detectores CCD para LIBS típicamente tienen una frecuencia de recolección de 2 MHz, lo que se traduce en tiempo de 5 ns para cada recolección ejecutada. Por ejemplo, para el presente estudio se utiliza el software OOILIBS de Ocean Optics Inc que es capaz de operar en dos modos: mono disparo y promedios. En el primer modo todos los espectros de cada disparo son registrados, mientras que en el segundo se entregan los valores promedios de cada línea del espectro, con su respectiva desviación estándar. [31]

El modo de mono disparo nos permite analizar uno a uno los disparos realizados para obtener, después de un cierto ordenamiento, comparaciones coherentes de las variaciones entre los espectros. Este es el método elegido para el presente trabajo. Dependiendo del análisis que se haga sobre los espectros, puede inferirse información muy valiosa. La

temperatura del plasma y la densidad electrónica, por ejemplo, pueden ser determinadas a partir del continuo de emisión y el ancho medio del pico, realizando un ajuste lorentziano sobre las líneas de interés de átomos o iones.[27] Las líneas son cotejadas con extensas bases de datos para la realización de análisis atómicos de componentes principales. Adicionalmente, diversos métodos para el uso en análisis cuantitativo de LIBS han sido desarrollados. [32]–[34] La intensidad relativa de las especies en estudio suele usarse típicamente para la obtención de curvas de calibración de la concentración de los elementos. Algunos de especial atención son los que se hacen sin una calibración previa o sin un modelo subyacente en el análisis. [35], [36] En la actualidad, miles de perfiles espectrales pueden ser analizados para conjugar las herramientas de predicción de la inteligencia artificial y big data con las capacidades analíticas de LIBS. ¹³⁻¹⁵

2.2.FUNDAMENTOS DE NELIBS

NELIBS (Nanoparticle-enhanced LIBS) consiste en mejorar la respuesta óptica del LIP mediante el depósito de nanopartículas sobre la superficie de la muestra.[1], [14] La principal diferencia entre LIBS y NELIBS radica en que tanto los procesos de ablación como de excitación poseen mejoras por la aparición de fenómenos físicos adicionales en este último, lo que a su vez afecta las características del plasma y por consiguiente la emisión detectada.[2]

2.2.1. NANOPARTÍCULAS, PLASMONES Y LÁSERES.

En el régimen de nanoestructuras ($<0.1 \mu\text{m}$) la relación entre el porcentaje de superficie y el porcentaje de volumen no es despreciable, a diferencia de lo que ocurre en el régimen micrométrico donde tal relación tiende a ser muy pequeña. Esto significa que la superficie es una parte altamente relevante en el estudio de los fenómenos acaecidos sobre todo el cuerpo que comprende una nanopartícula. En el caso de la interacción luz-materia para nanopartículas con propiedades metálicas, que es el subyacente en todo nuestro estudio, el fenómeno más importante radica en la inducción de un dipolo sobre la nanopartícula debido a la oscilación colectiva de los electrones superficiales. Precisamente, ese desplazamiento de la densidad electrónica respecto a la posición de equilibrio en la red que compone la estructura de la nanopartícula, es lo que consideramos una pseudopartícula llamada plasmón.[2], [39]

Mientras que para los materiales de relativamente grandes dimensiones (a partir del régimen micrométrico) existen ondas plasmónicas que se propaguen sobre la superficie, en el caso de las nanopartículas el campo electromagnético de la luz incidente involucra a todo su volumen e induce una polarización entre los electrones de la banda de conducción.[2], [39]–[41] De esta forma, como el plasmón está distribuido sobre toda la partícula, no se propaga como en el otro caso sino que está localizado sobre la partícula en sí, recibe el nombre de plasmón superficial localizado (Localized Surface Plasmon - LSP). Se puede medir la frecuencia (y la respectiva longitud de onda) de oscilación de los LSP, es decir su punto resonancia plasmónica ante la incidencia de luz visible, mediante métodos de absorbancia en UV-Vis-NIR.[5], [30], [42], [43]

Cuando un pulso láser incide sobre las nanopartículas, una fuerte oscilación en la banda de conducción es inducida y consecuentemente una acumulación de densidad de carga se forma sobre los bordes. En este escenario, el campo electrostático proveniente del dipolo formado produce un fuerte aumento en el campo electromagnético cercano, el cual está confinado a la superficie de las NPs y la región circundante. Es decir, se obtienen dos campos electromagnéticos nuevos (con relación a LIBS), uno dentro de las NPs y otro, mucho más fuerte, fuera de las NPs. Además, si consideramos una distribución homogénea del campo electromagnético del pulso incidente y una distancia de separación suficientemente pequeña entre NPs, obtendremos un campo inducido adicional producto del acoplamiento de los LSP de las NPs adjuntas.[2], [24], [44]

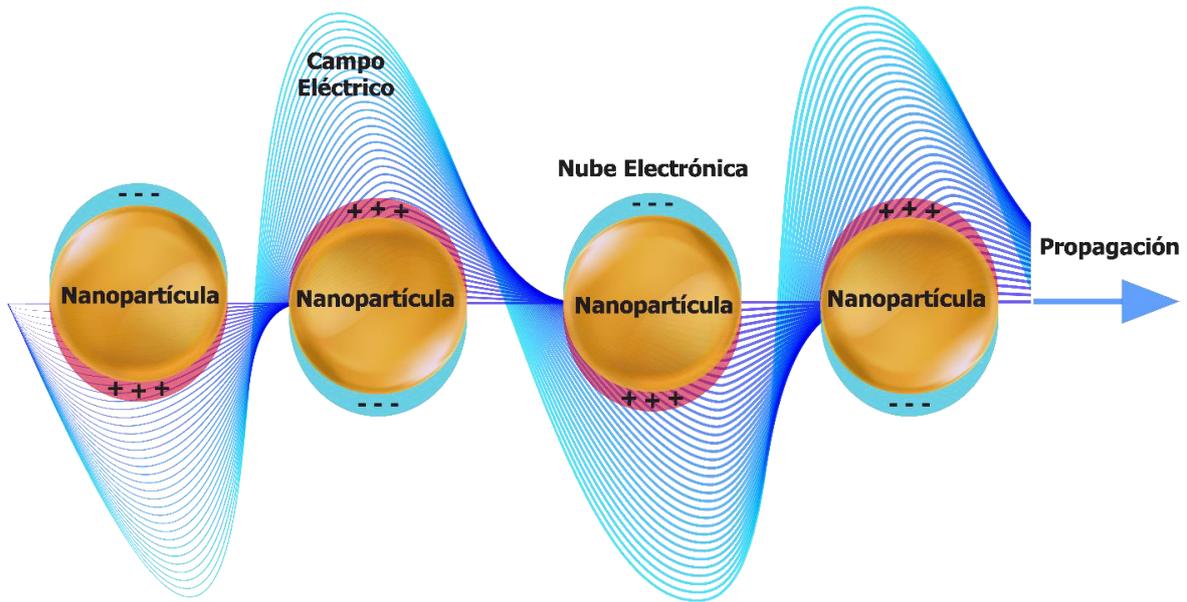


Figura 4.- Esquema de oscilación plasmónica en una nanopartícula esférica en presencia de un campo eléctrico. La nube electrónica que conforma el plasmón se alinea en contra de la presencia del campo.

Los tres nuevos campos inducidos son:

Campo electromagnético inducido dentro de las NPs:

$$E_{in} = \frac{3 \varepsilon_d}{\varepsilon_m + 2\varepsilon_d} E_0 \quad (4)$$

Campo electromagnético inducido fuera de las NPs:

$$E_{out} = E_0 + \frac{\mu}{2\pi\varepsilon_d\varepsilon_0 r^3} \quad (5)$$

Campo electromagnético inducido entre las NPs:

$$E_{inter} = E_0 + \frac{\mu'}{2\pi\varepsilon_d\varepsilon_0 D^3} \quad (6)$$

Donde E_0 es el campo electromagnético incidente, ε_m y ε_d son la función de permitividad del metal y el medio dieléctrico (típicamente aire), r es el radio de las NPs, D es la distancia entre partículas, μ es el momento dipolar generado dentro de las NPs y μ' es el momento dipolar generado en el espacio entre partículas. [2], [24], [44]

Cabe destacar que se producirán mayores incrementos en estos campos si la longitud de onda del pulso incidente entra en resonancia con la oscilación plasmónica y que la longitud de onda para la resonancia es distinta tanto para las NPs como para el acople entre NPs. Esto implica que existirá una banda de resonancias cuando el pulso incida sobre las NPs. [2], [24], [44]

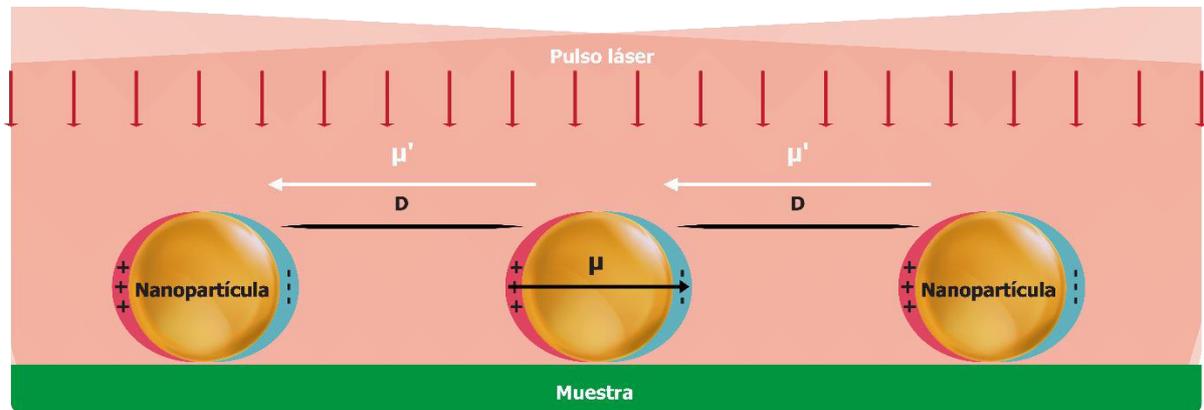


Figura 5.- Dipolos inducidos durante la incidencia de un pulso láser. D es la distancia entre partículas, μ es el momento dipolar generado dentro de las NPs y μ' es el momento dipolar generado entre las nanopartículas.

En definitiva, las NPs provocan una más rápida, numerosa y potente eyección de electrones libres como semilla en el proceso de ignición del plasma a la vez que proporcionan múltiples nuevos puntos de ruptura sobre la muestra y contribuyen con mayor masa y energía al plasma. De ahí que las temperaturas del plasma en NELIBS sean superiores a las de LIBS y que las características de ambos puedan tener marcadas diferencias y consecuentemente rendimientos distintos. Estos procesos ocurren bajo dinámicas disímiles según sea la naturaleza de la muestra (metálica o dieléctrica).[2], [24], [44]

Como se mencionó previamente, el estudio exhaustivo de la evolución de los plasmas excede los objetivos del presente trabajo por lo que solo se han presentado los esquemas necesarios para la posterior comprensión de la fase experimental.

2.2.2. CONSIDERACIONES PREVIAS AL USO DE NELIBS COMO MÉTODO PARA TRATAMIENTO DE MUESTRAS

Las propiedades de resonancia plasmónica de las NPs han sido explotadas en otro tipo de espectroscopía como la Raman, dónde es conocido el análisis de dispersión mejorado por tratamiento de superficie (Surface-enhancement Raman Spectroscopy - SERS).[45] Hasta hace pocos años, la mejora de la señal en métodos que incluyen ablación láser (como LIBS) no era considerada debido a que las NPs son deterioradas o de plano destruidas en el proceso. De allí, que la fluencia del láser usada se convierte también en un parámetro relevante a ser considerado; tanto para conseguir el umbral mínimo para provocar ablación como por los efectos destructivos que podría acarrear el uso de pulsos de alto poder.

NELIBS se clasifica como una categoría especial de los distintos tipos de tratamiento de muestra que existen para LIBS.[46] Su ventaja radica en la menor cantidad de preparación y tiempo necesario para realizarla. Aun así, la preparación de las muestras no es trivial y deben tenerse ciertas precauciones. Se debe asegurar de que el haz del láser cubra toda la zona donde se encuentran las nanopartículas o que en su defecto estas hayan sido tratadas para evitar el efecto de anillo de café. [16], [47], [48] El efecto de anillo de café consiste en la aglomeración, hacia los bordes, de las partículas durante el proceso de secado de la solución en la cual están suspendidas. Existen varios métodos para contrarrestarlo y obtener mayor uniformidad en la distribución de las partículas.[49]

La aplicación de NELIBS ha crecido hacia una amplia variedad de tipos de muestras que incluyen materiales metálicos, dieléctricos y biológicos.[1], [3], [14], [15], [50]–[54] La mayor parte de la literatura sobre NELIBS usa técnicas físicas para la obtención de nanopartículas suspendidas en agua ultra pura sin presencia de materiales adicionales (típicamente obtenidas por ablación láser).[2], [30], [54], [55] Esto se debe a que si se desconocen los precursores con los cuales han sido sintetizadas químicamente las nanopartículas, puede producirse una interferencia en la señal que también será amplificada. Es recomendable conocer los componentes u obtener un perfil para realizar un análisis LIBS de principales componentes en las NPs y así evitar errores en la medición. En el presente trabajo se exploran los efectos en la intensidad usando nanopartículas y puntos cuánticos sintetizados usando química húmeda; también la eliminación del efecto de anillo de café fue abordada por métodos químicos.[2], [49]

La dispersión superficial de las NPs en la muestra, ligada directamente a la concentración de estas en la solución coloidal, es un factor delicado y que debe ser tomado en cuenta. Si la concentración es muy baja, se estaría perdiendo la mejora aportada por los dipolos interparticulares. Si en cambio la concentración es muy alta, se presenta riesgo de aglomeración y con ello la pérdida de las propiedades inherentes a las nanopartículas.[2]

2.2.3. CONCENTRACIÓN SUPERFICIAL, DISTANCIA ENTRE PARTÍCULAS Y FACTOR DE EMPAQUETAMIENTO

Como se mencionó, la distancia entre nanopartículas, D (no debe confundirse con el diámetro de las nanopartículas - d), es importante para obtener la mejora del acople plasmónico entre partículas cercanas. Para estudiar este hecho procedemos a obtener distintas diluciones a partir de las cuales podemos estimar distribuciones superficiales (codificadas como DS) y con ellas finalmente una estimación del parámetro D . Para garantizar una distribución más uniforme y eliminar el efecto de anillo de café, en todas las diluciones será añadido ácido cítrico a 0.5 mM hasta llegar a un 5% en volumen [46], [49]. Se busca tener concentraciones superficiales entre los 5 y 50 (10^{-3}) ng/mm^2 para las Au NPs y las Ag NPs con el fin de estudiar la mejora sin el efecto del acoplamiento y concentraciones en el rango de 5 a 50 ng/mm^2 para los N-GQDs en el cual la bibliografía reportó ya cambios significativos en los niveles de mejora para nanopartículas metálicas [15], [18].

Para determinar el parámetro D , se asumió esfericidad óptima en las NPs y distribución uniforme a lo largo de la superficie donde se depositan las NPs. Se parte de la definición para la masa de una nanopartícula como función del diámetro medio. Se asume densidad uniforme a lo largo de la esfera.

$$m_{NP} = \rho_{NP} \cdot \frac{4}{3}\pi \left(\frac{\langle d \rangle}{2}\right)^3 \quad (7)$$

Donde m_{NP} es la masa de la nanopartícula, ρ la densidad y $\langle d \rangle$ el diámetro medio. Para obtener la masa en nanogramos colocando el diámetro $\langle d \rangle$ en nanómetros y la densidad en g/cm^3 , la expresión se convierte en:

$$m_{NP} = \frac{\pi}{6} \cdot (10)^{-12} \cdot \langle d \rangle^3 \cdot \rho_{NP} \quad (8)$$

Con esto, y a partir de la concentración superficial conocida, podemos establecer el número de NPs por milímetro cuadrado. Como hemos asumido distribución uniforme, al aplicar la raíz cuadrada a ese resultado se obtiene una distribución lineal de esas partículas. El inverso

de este resultado será el parámetro D en milímetros. La expresión para obtener el parámetro D en nanómetros estará dado entonces por:

$$D = \frac{10^6}{\sqrt{\frac{DS}{m_{NP}}}} \quad (9)$$

Para caracterizar la cercanía relativa al tamaño de las nanopartículas, se define el factor de empaquetamiento [2]:

$$f_{EMP} = \frac{d}{D} \quad (10)$$

Donde d es el diámetro medio de las nanopartículas y D la distancia media entre partículas.

2.2.4. COEFICIENTE DE MEJORA, LÍMITE DE DETECCIÓN Y LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN.

En el presente trabajo se comparará, bajo idénticas condiciones experimentales en cada caso, los resultados de la intensidad para LIBS y NELIBS. El coeficiente de mejora en el presente trabajo se define de la siguiente manera:

$$Q = \frac{\text{Intensidad}_{NELIBS}}{\text{Intensidad}_{LIBS}} \quad (11)$$

Las nanopartículas, típicamente suspendidas en soluciones coloidales, son usadas para aumentar la intensidad de las líneas en estudio y conseguir batir así el límite de detección del sistema LIBS. El límite de detección (Limit of Detection - LOD) y el límite de cuantificación (Limit of Quantification - LOQ) para LIBS, definidos bajo el criterio 3σ de la IUPAC, están dados por:[26], [37]

$$LOD = 3 \frac{S_b}{S} \quad (12)$$

$$LOQ = 10 \frac{S_b}{S} \quad (13)$$

Donde S_b es la desviación estándar de la señal de fondo y S es la pendiente de la curva de calibración para la emisión específica en estudio. Cabe señalar que estas definiciones no son únicas, aunque sí las más habituales, y que la curva de calibración podría llegar a ser no lineal por lo que debe linealizarse y usar la definición adaptada. [37] Batir el LOD significa que este se reduzca. Para ello puede crecer el factor S o disminuir el S_b . El aumento en la intensidad provocado por las nanopartículas produce un crecimiento en S .

2.3.FUNDAMENTOS PARA LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS

Existe una gran variedad de opciones para la obtención de nanopartículas. En el presente estudio hemos optado por procesos de química húmeda para su síntesis. Podemos clasificar los protocolos en tres grandes grupos: síntesis por crecimiento a partir de semillas, síntesis por reducción química y fotocatalisis inducida por luz visible. Estos fueron usados en el presente trabajo para producir nanopartículas de oro[6], [7], plata [11], [20], [21] y puntos cuánticos de grafeno dopados con nitrógenos [12], respectivamente.

2.3.1. SÍNTESIS POR CRECIMIENTO A PARTIR SEMILLAS

La obtención de nanopartículas de mayor tamaño con la adición de reactivos a nanopartículas preexistentes, se llama método de crecimiento a partir de semillas. En el presente estudio se usó este método para obtener nanopartículas de oro en diferentes tamaños. El crecimiento puede ocurrir por la adición de átomos de oro a la semilla o a una agregación de pequeñas unidades de forma compacta. La síntesis de las semillas puede realizarse por cualquier otro método. Las semillas provinieron de un método de Turkevich inverso mejorado[6].

Cada adición de reactivos constituye una nueva generación obtenida a partir de las semillas previas. Es decir, para obtener la generación N+1 consideramos como su semilla a la generación N.[7]

Asumiendo que todo el oro de los precursores se transforma en NPs, que las semillas son esféricas y que el proceso de reducción y crecimiento ocurre sin nuevas nucleaciones (proceso en que los precursores forman directamente nuevas NPs), podemos predecir el tamaño de las NPs a través de la siguiente expresión:

$$r_{AuNP}^3 = r_{seed}^3 + \frac{3}{4} \frac{m_{Au}}{\pi \rho_{Au} n_{seed}} \quad (14)$$

donde m_{Au} es la masa de oro añadida, n_{seed} es el número de semillas, ρ_{Au} la densidad del oro, r_{seed} es el radio las semillas y r_{AuNP} es el radio esperado de las NPs resultantes. [7]

Se ha adaptado el protocolo a la disponibilidad de insumos. Dicha adaptación es descrita en la sección metodológica.

2.3.2. SÍNTESIS POR REDUCCIÓN QUÍMICA

Este tipo de síntesis básicamente tiene dos agentes que se reaccionan en un medio (típicamente agua ultrapura). Uno de ellos, el precursor, aporta el metal (en este caso plata) y el otro actúa como reductor. El precursor puede ser nitrato de plata, citrato de plata o acetato de plata. El agente reductor puede ser citrato de sodio[20] o borohidruro de sodio[11], [21]. Los protocolos usados se presentan en la sección metodológica.

2.4.FUNDAMENTOS DE LA CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS MEDIANTE ANÁLISIS UV-Vis

2.4.1. ANÁLISIS DE ABSORBANCIA EN UV-VIS

El análisis de absorbancia consiste en tomar el espectro de transmisión en UV-Vis de la línea base (en el caso del actual estudio es agua ultrapura) y posteriormente el espectro de transmisión de la suspensión de NPs. Con estos dos espectros, se construye el perfil de absorbancia a partir de la definición de Lambert-Beer:

$$A = \log \left(\frac{I_{\text{línea base}}}{I_{\text{NPs}}} \right) \quad (15)$$

Este espectro de absorción, en el caso de las NPs, revela un máximo que se corresponde con la longitud de onda donde ocurre el fenómeno de resonancia plasmónica superficial localizada. El ancho de banda medio del pico de resonancia plasmónica tiene correlación con la distribución de tamaños de NPs presentes en la solución; mientras más angosto sea este ancho de banda mayor monodispersividad existirá en la solución coloidal. Así mismo, la existencia de protuberancias hacia el infrarrojo indica la presencia de polimorfismo, es decir, que no existen solamente formas esféricas entre las NPs.[6], [56]

2.4.2. RELACIÓN CON LA TEORÍA DE MIE

La teoría de Mie es la que subyace todos los análisis que se presentarán. Esta teoría es una solución para interacciones de luz con cuerpos esféricos, proveniente de las ecuaciones de Maxwell. Para cuerpos anisotrópicos no existe solución exacta. Sin embargo, una extensión de la teoría de Mie, llamada teoría de Gans, puede ser usada para elipsoides y nanotubos.[56]

Para la determinación del tamaño y la concentración de las nanopartículas usaremos el ajuste de varios conjuntos de datos experimentales sobre algunos resultados de la teoría de Mie.[4], [5], [10] Partamos de la relación entre I_o e I , presentes en (15), dada por:

$$I = I_o e^{-\sigma l N} \quad (16)$$

Donde σ es la sección de transversal de extinción, l es el camino óptico recorrido y N la densidad volumétrica de partículas. Sustituyendo en (15):

$$A = \frac{\sigma l N}{\ln(10)} \quad (17)$$

Además, usando la relación de σ con el coeficiente de extinción, Q_{ext} , para partículas esféricas de radio R y reemplazando en (17), tenemos:

$$\sigma = Q_{ext} \pi R^2 \quad (18)$$

$$A = \frac{Q_{ext} \pi R^2 l N}{\ln(10)} \quad (19)$$

Nótese que l es un valor empírico, 1 cm en nuestro caso, y que A también será obtenido experimentalmente. N y R son las variables que deseamos determinar. De la teoría de Mie

podemos encontrar Q_{ext} , el cual está definido como:

$$Q_{ext} = \frac{2}{x^2} \sum_{n=1}^{\infty} (2n+1) \text{Re}\{a_n + b_n\} \quad (20)$$

Donde a_n y b_n son coeficientes de dispersión dados por:

$$a_n = \frac{m\psi_n(mx)\psi_n'(x) - \psi_n(x)\psi_n'(mx)}{m\psi_n(mx)\xi_n'(x) - \xi_n(x)\psi_n'(mx)} \quad (21)$$

$$b_n = \frac{\psi_n(mx)\psi_n'(x) - m\psi_n(x)\psi_n'(mx)}{\psi_n(mx)\xi_n'(x) - m\xi_n(x)\psi_n'(mx)} \quad (22)$$

Donde ψ_n y ξ_n son las funciones de Ricatti-Bessel, $x = \frac{2\pi n_m R}{\lambda}$ es el parámetro adimensional del tamaño, $m = n_p/n_m$ es el índice relativo de refracción, n_p y n_m son los componentes complejo y real del índice de refracción para una partícula y un medio en λ , respectivamente.

2.4.3. MODELO PARA LA CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO

Realizando un ajuste de los conjuntos de datos experimentales para Q_{ext} se llega a la siguiente expresión para N : [4]

$$N = \frac{A_{450} \times 10^{14}}{d^2 \left[-0.295 + 1.36 \cdot e^{-\left(\frac{d-96.8}{78.2}\right)^2} \right]} \quad (23)$$

Donde A_{450} es la absorbancia en $\lambda = 450$ y d es el diámetro de la nanopartícula en nanómetros.

Para el cálculo de la densidad volumétrica se usa la expresión: $\delta_{NPs-Solución} = \frac{m_{NPs}}{V}$.

Dado que las medidas se realizaron en un camino óptico de 1 cm y los resultados de la concentración de NPs, N , está en #NPs/mL, entonces $V = 1 \text{ cm}^3 = 1 \text{ ml} = 10^3 \text{ ul}$. Para el cálculo de la masa se asume que todas las NPs son esféricas, su densidad es uniforme y todas tienen el mismo diámetro que hacemos corresponder con el cálculo del diámetro medio.

$$m_{NPs} = \#NPs \cdot \frac{4}{3} \pi \left(\frac{\langle d \rangle}{2}\right)^3 \cdot \rho_{NP} \quad (24)$$

Con lo cual la densidad volumétrica de las NPs suspendidas en la solución, $\delta_{NPs-Solución}$, en unidades de $ng/\mu l$, queda establecida por:

$$\delta_{NPs-Solución} = \frac{\pi}{6} \cdot 10^{-15} \cdot \langle d \rangle^3 \cdot \rho_{NP} \cdot N \quad (25)$$

Donde N está en #NPs/ml, $\langle d \rangle$ en nm y ρ_{NP} en g/cm^3 .

Finalmente, a partir de un ajuste sobre conjuntos de datos pertinentes, se sabe que, con una validez que se extiende entre $5 \text{ nm} < \lambda < 100 \text{ nm}$, λ se rige bajo la siguiente expresión: [10]

$$d = \begin{cases} 3 + 7.5 \cdot 10^{-5} \cdot \lambda_{aux}, & \lambda_{aux} < 23 \\ \frac{[\sqrt{\lambda_{aux}-17}-1]}{0.06}, & \lambda_{aux} \geq 23 \end{cases} \quad (26)$$

Donde $\lambda_{aux} = \lambda_{SPR} - 500$ y λ_{SPR} es la longitud de onda donde ocurre la resonancia plasmónica, expresada en el punto donde ocurre el máximo en el respectivo gráfico de absorción.

2.4.4. MODELO PARA LA CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

El análisis es análogo al realizado a las nanopartículas de oro.[57], [58] El cambio radica en los ajustes experimentales. El ajuste a los datos para la determinación de la correlación entre la longitud de onda de resonancia plasmónica con el diámetro de las NPs está dado por:[10]

$$d = \sqrt{24.01 + 100 \cdot (\lambda_{SPR} - 385)} + 4.9 \quad (27)$$

Por otro lado, sabemos de

(17) que:

$$N = \frac{A \cdot \ln(10)}{\sigma l}$$

Luego, de los resultados empíricos podemos establecer la existencia de dos regímenes. El primero para Ag NPs con diámetros menores a 70 nm y el segundo para los demás. El cambio radica en que hay una longitud de onda de referencia en el espectro de absorbancia que funciona mejor en un régimen que en otro. De ello, tenemos que:[8]

$$N = \begin{cases} \frac{A_{532}}{0.4343 \cdot \sigma} , & d < 70 \text{ [nm]} \\ \frac{A_{671}}{0.4343 \cdot \sigma} , & d \geq 70 \text{ [nm]} \end{cases} \quad (28)$$

Donde A_{532} y A_{671} son los valores de la absorbancia para $\lambda = 532 \text{ [nm]}$ y $\lambda = 671 \text{ [nm]}$ respectivamente y además:[8]

$$\sigma = \begin{cases} 3 \cdot 10^{-17} \cdot d^3 + 4 \cdot 10^{-22} \cdot d^6, & d < 70 \text{ [nm]} \\ 1 \cdot 10^{-17} \cdot d^3 + 4 \cdot 10^{-21} \cdot d^6, & d \geq 70 \text{ [nm]} \end{cases} \quad (29)$$

2.4.5. AJUSTE DEL PERFIL DE ABSORBANCIA: FUNCIÓN DE CHESLER-CRAM

Para calcular las variables (λ_{SPR}, A_λ) de las que dependen d, N y $\delta_{NPs-Solución}$ realizamos un ajuste sobre el espectro de absorbancia, a partir de la función de Chesler-Cram. Esta es una convolución entre una función Gaussiana y una función tangente hiperbólica y ha sido probada para realizar buenos ajustes sobre el perfil plasmónica de nanopartículas esféricas:[30]

$$P(z) = P_o + A \left\{ e^{-\frac{(z-\mu_1)^2}{2\sigma}} + B \left[1 - \frac{1 - \tanh(k_2(z-\mu_2))}{2} \right] \cdot e^{-k_3 \frac{|z-\mu_3| + z - \mu_3}{2}} \right\} \quad (30)$$

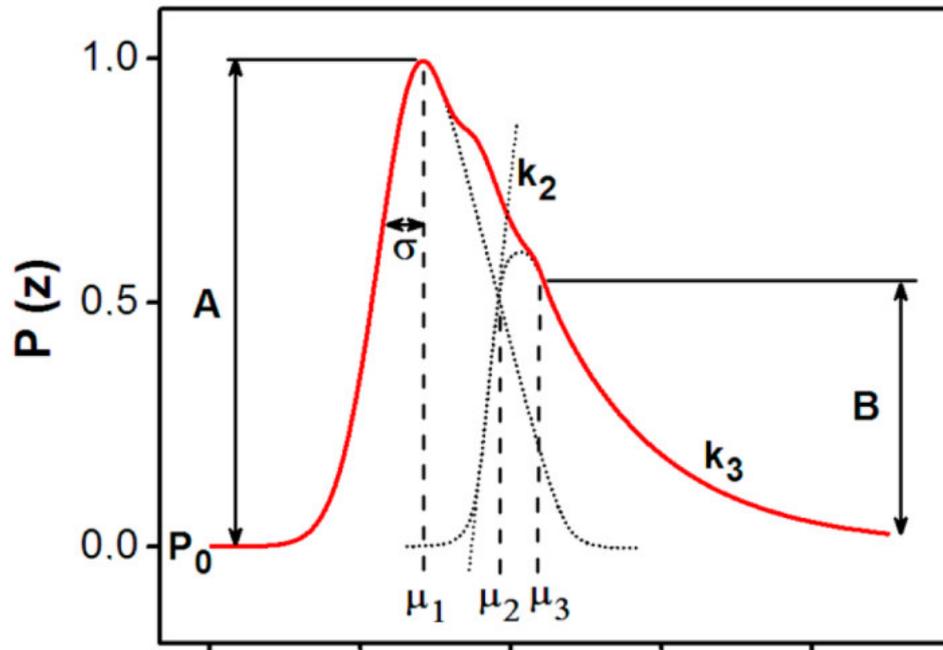


Figura 6.- Representación de la función de Chesler-Cram y los efectos de cada uno de sus parámetros.

Donde, salvo z y $P(z)$, todos los demás son parámetros de ajuste a ser determinados a partir de los datos experimentales. La interpretación gráfica de cada parámetro está ilustrada en la Figura 6.

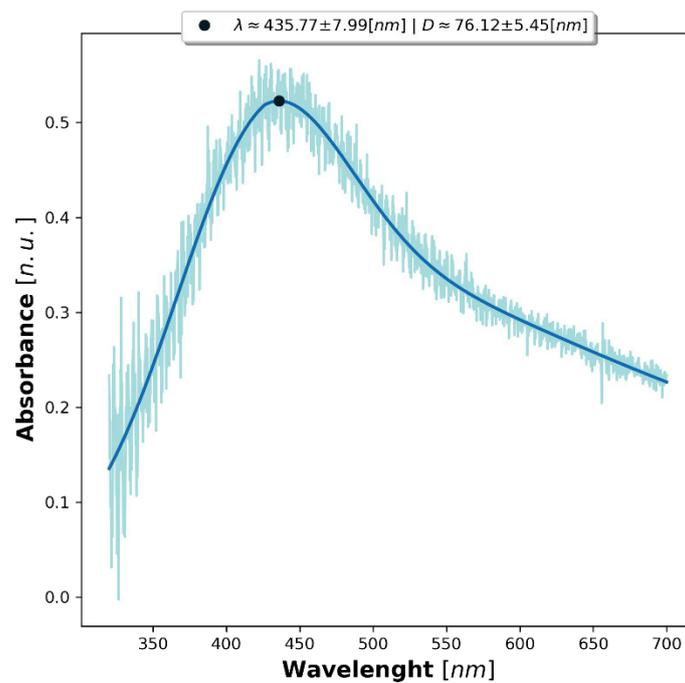


Figura 7.- Ejemplo de ajuste de la función de Chesler-Cram a un espectro real de absorbancia de nanopartículas.

2.5. SISTEMA LIBS 2000+

El sistema LIBS2000+ cuenta con un láser de Nd: YAG de emisión a 1064 [nm] y un espectrómetro de Czerny-Turner. El controlador es el software OOILIBS de Ocean Optics Inc. (Dunedin, Fl, USA). Cada pulso láser tiene una duración de 8 ns. El t_g del sistema está configurado por hardware en 500 ms y se ejecutan 10 disparos por secuencia con una separación de 1500 ms. Se coloca un puntero láser exterior, que emite en el rojo, como señalador para identificar la ubicación precisa de cada disparo. Es preciso encontrar una distancia lente-muestra que sea óptima[59].

2.5.1. DISTANCIA LENTE-MUESTRA

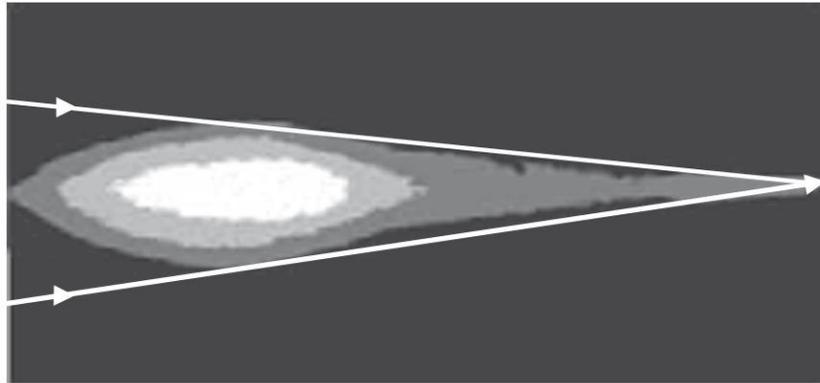


Figura 8.- Imagen de la distribución chispa LIBS hacia el punto focal [27]

Disparos a distintas alturas son realizados sobre un papel fotosensible. Al medir el tamaño del haz incidente se determina la relación entre la altura de la escala arbitraria y el diámetro. Al mismo tiempo se analiza la intensidad de un pico de interés para establecer la altura óptima que se usará en todos los disparos. La ecuación que rige la relación de la escala arbitraria del equipo, H (en cm), con el diámetro del lugar, d_{spot} (en mm), con $R^2 = 0.9966$ es la siguiente:

$$d_{spot} = -0.68 \cdot H + 9.9 \quad (31)$$

2.5.2. NIVELES DE FLUENCIA

El láser cuenta con una escala arbitraria que controla el nivel de energía del láser entre 0.5 y 10, en pasos de 0.5. Una medición de la energía del láser fue realizada en otro trabajo de titulación y dio como resultado un ajuste polinómico de quinto grado con $R = 0.998$. La relación entre la energía E (en mJ) y el número del nivel arbitrario n , está expresada por: [30]

$$E = 1.898 + 2.336 \cdot n + 6.506 \cdot n^2 - 0.575 \cdot n^3 + 0.008 \cdot n^4 + 0.001 \cdot n^5 \quad (32)$$

CAPÍTULO 3: METODOLOGÍA

3.1.SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS

Varios protocolos se exploraron para la producción química de nanopartículas de oro (Au NPs). Cada uno posee un parámetro clave que permite el control de tamaño, estos son: a) relación molar de los reactivos[22], [23], b) pH del medio de reacción[60] y c) adición de reactivos para crecimiento a partir de semillas[7]. El método de Turkevich es el proceso más ampliamente usado y el pionero en la producción de Au NPs por síntesis química. Los mejores resultados se obtuvieron con el método de crecimiento a partir de semillas sintetizadas por un método optimizado de Turkevich inverso. Ambos procesos, de crecimiento y de semillas, son detallados a continuación.

Los procesos de síntesis y caracterización de las nanopartículas de plata son de elaboración propia. La síntesis fue llevada a cabo por varios procesos químicos que entregan resultados similares en tanto a polimorfismo y polidispersión. La diferencia radica en la precisión que tienen para la obtención de un tamaño determinado de nanopartículas.

La síntesis y caracterización de los puntos cuánticos de grafeno dopados con nitrógeno fue realizada con una modificación de método propuesto en la referencia [12]. Este procedimiento fue ejecutado en un trabajo llevado a cabo por la Ing. Isamar Sarabia. En el presente trabajo se describe los resultados obtenidos que son relevantes para su uso en NELIBS.

3.1.1. MATERIALES

- Citrato trisódico dihidratado (Sigma-Aldrich)
- Sal áurica (Sigma-Aldrich)
- Ácido Cítrico (Casa del Químico)
- EDTA (Multiciencias)
- Borohidruro de sodio (Multiciencias)
- Nitrato de plata (Sigma-Aldrich)
- Polyvinylpyrrolidone – PVP (Sigma-Aldrich)
- Citrato trisódico dihidratado (Sigma-Aldrich)
- Ácido ascórbico (TM Media)
- Ácido cítrico (Casa del Químico)
- Hidróxido de sodio
- Urea
- Agua ultrapura

3.1.2. INSTRUMENTACIÓN

- Sistema de reflujo
- Manta Térmica con agitación Magnética (Modelo HME II 1000 mL - Biobase)
- Plancha con agitación magnética (Corning)
- Plancha con agitación magnética (MS300HS - MToro)
- Sonicadora (30W o 50W - Bakku)

3.1.3. PROTOCOLOS PARA NANOPARTÍCULAS DE ORO

3.1.3.1. *TURKEVICH INVERSO MEJORADO PARA SEMILLAS DE AU NPS*

- Se prepararon 800 mL de un buffer, a 2.75 mM, compuesto de citrato trisódico dihidratado (SC) y ácido cítrico (CA) en una relación $\frac{SC}{CA} = \frac{75}{25}$.
- Se llevó a ebullición en un balón de 1000 mL colocado sobre una manta térmica con agitación magnética; el balón está conectado a un sistema de reflujo y protegido de la luz con papel aluminio.
- Paralelamente, 200 mL de sal áurica a 812,5 μ M fueron llevados a 90°C para evitar un gradiente de temperatura al momento de la realizar la mezcla.
- Una vez que se alcanzó la ebullición y antes de la adición de la sal áurica, se agregaron 3,8 mg de EDTA para tener una concentración de 0.01mM en el volumen total.
- 15 minutos después de que el buffer llegó al punto de ebullición y bajo la vigorosa agitación de un cilindro magnético, se inyectó rápidamente la solución de sal áurica.
- Se mantuvo ebullición 20 minutos después de que se observó el cambio de color característico de la reacción (rojo vino).
- Se dejó enfriar a temperatura ambiente y se llevó a un recipiente de vidrio debidamente protegido de la luz para su almacenamiento.[6]

La adición de EDTA se realiza para evitar poliformismo. El buffer (SC/CA=75/25) sirve para mantener un pH adecuado y evitar polidispersión. No provocar grandes gradientes de temperatura también contribuye a disminuir tanto el polimorfismo como la polidispersión, además de ayudar a prevenir aglomeraciones tempranas en la síntesis. Un análisis pormenorizado de cada uno de los parámetros así como el rol en la reproductibilidad de los resultados fue llevado a cabo en las referencias [6], [56] y [60].

3.1.3.2. *MÉTODO DE CRECIMIENTO A PARTIR DE SEMILLAS*

- Se mezclaron 20mL de semillas con 20mL de agua ultrapura y 2 mL de SC.
- Se llevó a ebullición y se agregó 1mL de sal áurica.
- 5 minutos después se agregó 1mL adicional de sal áurica.
- Se mantuvo en ebullición por 15 minutos.
- Se retiró 20 mL de la solución de NPs resultantes y se almacenó.

En general, para la generación N+1:

- Se mezclaron 20mL de semillas con 20mL de agua ultrapura y 2 mL de SC.
- Se llevó a ebullición y se agregó 1mL de sal áurica.
- 5 minutos después se agregó 1mL adicional de sal áurica.
- Se mantuvo en ebullición por 15 minutos.

3.1.4. PROTOCOLOS PARA NANOPARTÍCULAS DE PLATA

3.1.4.1. *REDUCCIÓN CON BOROHIDRURO DE SODIO EN BAÑO DE HIELO* [21]

- 30 mL de borohidruro de sodio a 2 mM fueron colocados en un baño de hielo mientras se agita vigorosamente.
- 2 mL de nitrato de plata a 1 mM se gotearon en la solución de borohidruro.
- Se retiraron muestras a diferentes tiempos y se les agregó PVP para detener el crecimiento.

3.1.4.2. *MÉTODO DE VARIACIÓN DEL PH CON ÁCIDO CÍTRICO* [20]

- Se mezcló 8mL de ácido ascórbico a 0,6 μ M con citrato trisódico a 3 μ M.
- Se ajustó el valor de pH mediante la adición de ácido cítrico a 0,2 M.
- La solución preparada al pH deseado se agitó a 900 rpm en un baño térmico de agua a 30°C por 15 minutos.
- Se añadieron 80 μ l de una solución acuosa de nitrato de plata a 1 M.
- La mezcla fue llevada a 100°C durante dos horas.

La mezcla cambió de un color transparente a un amarillo y finalmente a un color café claro para el pH alto (10 o más) y a un azul turbio para los más bajos.

3.1.4.3. *MÉTODO DE BOROHIDRURO DE SODIO Y CITRATO TRISÓDICO A 90° C* [11]

- Se preparó una mezcla de 48 mL borohidruro de sodio a 3 mol/dm³ y citrato trisódico a 6 mol/dm³.
- Se llevó la mezcla a 60°C con una agitación vigorosa y protección de la luz durante 30 minutos.
- Al finalizar los 30 minutos se agregó por goteo 2 mL de nitrato de plata a 2,5 mol/dm³ y a continuación se elevó la temperatura a 90° C.
- Una vez alcanzados los 90°C se ajustó el pH a 10,5 usando hidróxido de sodio a 0,1M mientras se mantiene la temperatura por 20 minutos adicionales.
- Se enfrió a temperatura ambiente.

3.1.5. SÍNTESIS DE PUNTOS CUÁNTICOS DE GRAFENO DOPADOS CON NITRÓGENO (N-GQDS) [12]

- 1.70 g (8 mmol) de Ácido Cítrico y 1.44 g (24 mmol) de urea fueron disueltos en 40 mL de agua y agitados hasta formar una solución transparente.
- La solución se transfirió a un autoclave de acero inoxidable revestido con teflón de 50 mL. El autoclave sellado se calentó a 180 °C por 20 min y se mantuvo durante 8 horas.
- Se dejó enfriar toda una noche.
- El producto final se agitó en aire a 700 rpm y 30°C por una hora.
- Se elevó la temperatura a un promedio de 55°C por dos horas adicionales con una temperatura de baño térmico de 32° C.

3.2. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS

Tanto la síntesis como la caracterización de las nanopartículas de oro son de elaboración propia. Se usaron los equipos y reactivos disponibles en el Laboratorio de Espectrometría

Óptica y Espectrometría de Masas. La caracterización de las nanopartículas se realizó a partir de los modelos espectroscópicos detallados en la sección 2.3 que están apoyados sobre la Teoría de Mie para partículas esféricas.

3.2.1. MEDICIÓN DE ESPECTROS UV-VIS

3.2.1.1. INSTRUMENTACIÓN

- Lámpara (DH – MINI Deuterium Halogen Light Source - Ocean Optics Inc.)
- Cubetas plásticas de 1 cm de camino óptico
- Espectrómetro (CCS200/M Compact Spectrometer - Thorlabs)
- Software de análisis (Optical Spectrum Analyzers, Redstone OSA305 - Thorlabs)

3.2.1.2. PROCEDIMIENTO

- Se ilumina con la lámpara la muestra colocada sobre una cubeta plástica de 1cm de camino óptico.
- Se mide la señal con un espectrómetro.
- Se procesa el espectro por el software.
- Se mide el espectro de transmisión de la línea base, agua ultrapura en este caso, o el espectro de la suspensión de nanopartículas en estudio.
- Se obtiene el espectro de absorción (para esto caso se usó un software de elaboración propia).

3.2.2. AUTOMATIZACIÓN DE LA CARACTERIZACIÓN

Como parte del presente trabajo se ha desarrollado un código en Python (v3.6.5), el cual es presentado en el ANEXO 2 y en el que se automatiza la caracterización de las nanopartículas de oro a partir de los dos espectros (línea base de agua ultrapura y solución con NPs) obtenidos en el análisis UV-Vis-NIR. El código calcula el espectro de absorbancia y realiza un ajuste con la función de Chesler-Cram. A partir de ahí determina la longitud de onda λ_{SPR} donde ocurre la resonancia plasmónica, es decir donde ocurre el pico del perfil de absorción, y usa los resultados presentados en esta sección para medir el diámetro medio y la concentración de las nanopartículas.

De igual manera, se ha desarrollado un código en Python (v3.6.5) que está presentado en el ANEXO 3: Código para la caracterización de nanopartículas de plata y con el cual se realizó la caracterización de manera automática basado en un proceso análogo al descrito para las Au NPs, con los cambios respectivos ya indicados en la sección 2.3.

3.3.MÉTODO DE ANÁLISIS SOBRE PLACAS DE ALEACIÓN DE ALUMINIO/SILICIO

Las placas de aluminio utilizadas tienen la siguiente composición porcentual: Al 99.068%, Si 0.57%, Fe 0.24%, Cu 0.03%, Mn 0.025%, Mg 0.01%, Zn 0.047% y Ti 0,01%. En total, 600 combinaciones son analizadas sobre las placas. Cada combinación tiene 4 parámetros:

- nivel de fluencia del láser,
- concentración superficial de las nanopartículas,
- tamaño de nanopartícula, y
- tipo de nanopartícula.

Para cada combinación se realizaron 30 disparos para obtener una distribución normal de la medida de acuerdo con lo esperado del Teorema de Límite Central. Los 30 disparos se ordenaron según la intensidad detectada en el pico de análisis. La evaluación de los picos obtenidos para una combinación determinada de nanopartículas en NELIBS se comparan con los obtenidos al mismo nivel de fluencia en LIBS. La comparación de la intensidad se realiza de cuatro maneras distintas: entre los picos más pequeños obtenidos respectivamente, los medianos, los más grandes y la media.

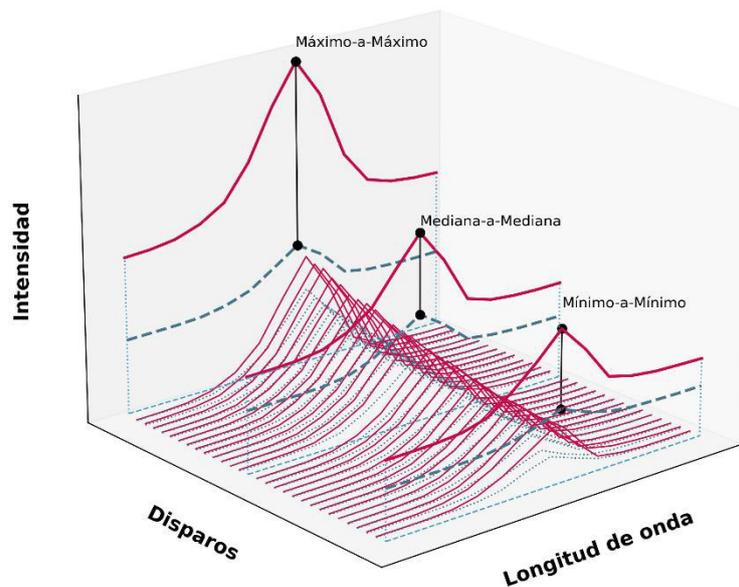


Figura 9.- En rojo NELIBS y en azul LIBS. Ordenamiento y comparación de intensidad de picos en 4 formas diferentes: entre el mínimo obtenido en NELIBS con el mínimo obtenido en LIBS. Lo mismo para el máximo, la mediana y la media.

Posteriormente los datos son procesados por un código de elaboración propia en PySpark. PySpark es la librería que permite usar Spark con Python. Spark es un software de acceso libre usado creado para realizar análisis Big Data. La ejecución se realiza con Windows 10, Spark v3.1.2, Python v3.6.1, Scala v2.12.10 y Java 1.8.0_22. El código se presenta en el ANEXO 4.

3.3.1. PARÁMETROS SELECCIONADOS PARA LA DEFINICIÓN DE CADA COMBINACIÓN

3.3.1.1. PARÁMETROS EN EL SISTEMA LIBS 200+

- $H = 14 \text{ cm} \Rightarrow d_{spot} = 0.380 \text{ mm} = 380 \mu\text{m}$.
- $t_d = -2.5 \mu\text{s}$

El tiempo de demora real está desfasado con respecto al tiempo de demora de la apertura para medición del sistema en el orden de los nanosegundos. En sentido, el establecer $t_d = -2.5 \mu$ significa en términos prácticos que el hay un tiempo de demora para apertura de aproximadamente 2.5 microsegundos. A partir de la altura elegida y de la ecuación mostrada en la sección 2.5 podemos colegir las fluencias, esto es:

- $0.5 < n < 5$
- $4.62 \text{ mJ} < E < 112.48 \text{ mJ}$
- $4.07 \text{ J/cm}^2 < \text{fluencia} < 99.18 \text{ J/cm}^2$

3.3.1.2. PARÁMETROS EN LAS NANOPARTÍCULAS

Los resultados de la caracterización de las nanopartículas se presentan de manera detallada en el capítulo siguiente. Allí se incluyen los cálculos de densidad volumétrica y se presentan los perfiles de absorbancia. Sin embargo, en esta sección se muestra la selección de tamaños en cada tipo de nanopartículas. Las nanopartículas de 80 nm son las más comunes en aplicaciones biológicas, de allí que se escogiese ese techo en el presente análisis[3], [14]. Los tamaños y dispersiones seleccionados son los siguientes:

Tabla 2.- Tamaños seleccionados para el análisis NELIBS sobre placas de aluminio.

ID Código	Au NPs	Diámetro Medio [nm]	ID Código	Ag NPs	Diámetro Medio [nm]
TAU1	Semillas	8.67	TAG 2	Borohidruro en hielo	33.63
TAU2	2da gen	24.19	TAG 3	Borohidruro a ebullición	39.89
TAU3	4ta gen	44.70	TAG 4	Borohidruro en hielo	56.15
TAU4	5ta gen	61.19	TAG 5	Control de pH	78.21
TAU5	6ta gen	78.56	TQD 1	N-GQDs	2

Tabla 3.- Dispersiones superficiales seleccionadas para cada tipo de nanopartícula.

TIPO	Dispersión Superficial [ng/mm2]					
	DS1	DS2	DS3	DS4	DS5	DS6
Au NPs	0.001	0.005	0.01	0.02	0.04	0.05
Ag NPs	0.001	0.005	0.01	0.02	0.04	0.05
N-GQDs	1	5	10	20	40	50

El cálculo de la distancia entre partículas y el factor de empaquetamiento correspondientes a estos niveles de dispersión y tamaño de nanopartícula se muestran en el ANEXO 11.

3.3.2. PREPARACIÓN DE LAS PLACAS DE ALUMINIO PARA EL DEPÓSITO DE LAS NANOPARTÍCULAS

En las placas de aluminio se dibujan con láser cuadrados de $2 \times 2 \text{ mm}^2$. Cada cuadrado albergó 10 disparos de los 30 definidos para cada combinación específica. Las placas se ubicaron en un porta muestras, se etiquetaron y almacenaron dentro de tubos falcon esterilizados para protegerlos frente a cualquier tipo de contaminación. Previo a la colocación de las NPs, las placas fueron lavadas con agua ultrapura y etanol.

Finalmente, el proceso llevado a cabo para el análisis sobre las placas culminó así:

- Se llevaron las diluciones de nanopartículas a una concentración volumétrica en $\text{ng}/\mu\text{l}$ tal que con dos microgotas se obtenga la dispersión superficial definida en los cuadrados de $2 \times 2 \text{ mm}^2$.
- Se colocaron las gotas y se etiquetó el espacio de los 30 cuadrados reservados para cada combinación.
- Se secaron con una caja Petri encima protegiéndolas.
- Se almacenaron en los tubos falcón.

Como se mencionó previamente, todas las diluciones tienen ácido cítrico al 5% para combatir con ello el efecto de anillo de café y garantizar mayor uniformidad en la distribución.

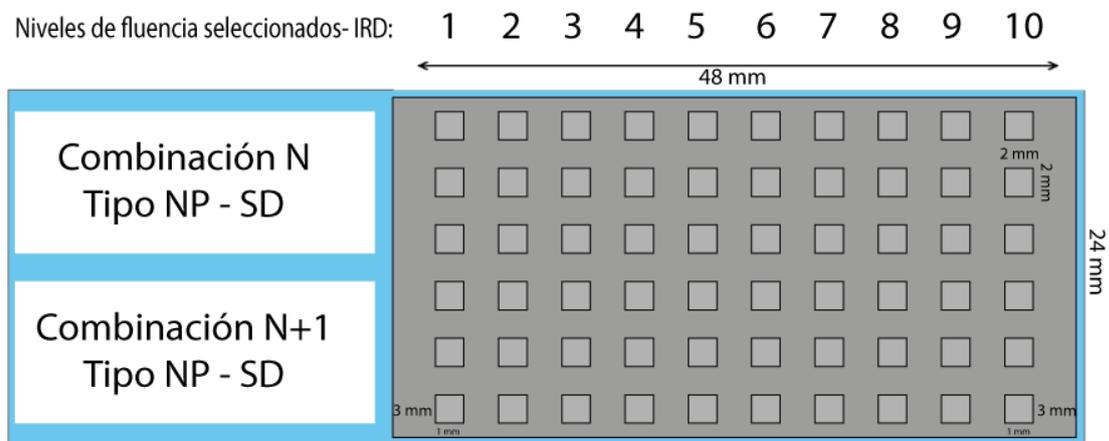


Figura 10.- Esquema de las placas de aluminio usadas para depositar nanopartículas y realizar los análisis LIBS y NELIBS correspondientes.

3.4.MÉTODO PARA LA ESTIMACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN DE CADMIO EN CACAO

El cacao se usó en dos presentaciones. La primera con granos secos molidos y la segunda en polvo, como puede verse en la Figura 11.

- Se prepararon 11 diluciones de nitrato de cadmio para realizar pruebas de calibración. Las diluciones van desde la saturación a 0,5 M hasta $5 \cdot 10^{-11}$ M.
- Se agregó surfactante para facilitar la adhesión del cadmio en el cacao.
- Se tomaron 500 mg de muestra de cacao.
- Se añadió 200 μ l de dilución de nitrato de cadmio.
- Se los agitó hasta lograr una mezcla homogénea dentro de un tubo falcon.
- Se dejó secar la mezcla por 72 horas.
- Se realizaron pastillas con un troquel.

Finalmente, a cada pastilla primero se le realizan 30 disparos LIBS para promediarlos y se repite el proceso agregando NPs en la superficie de las pastillas.

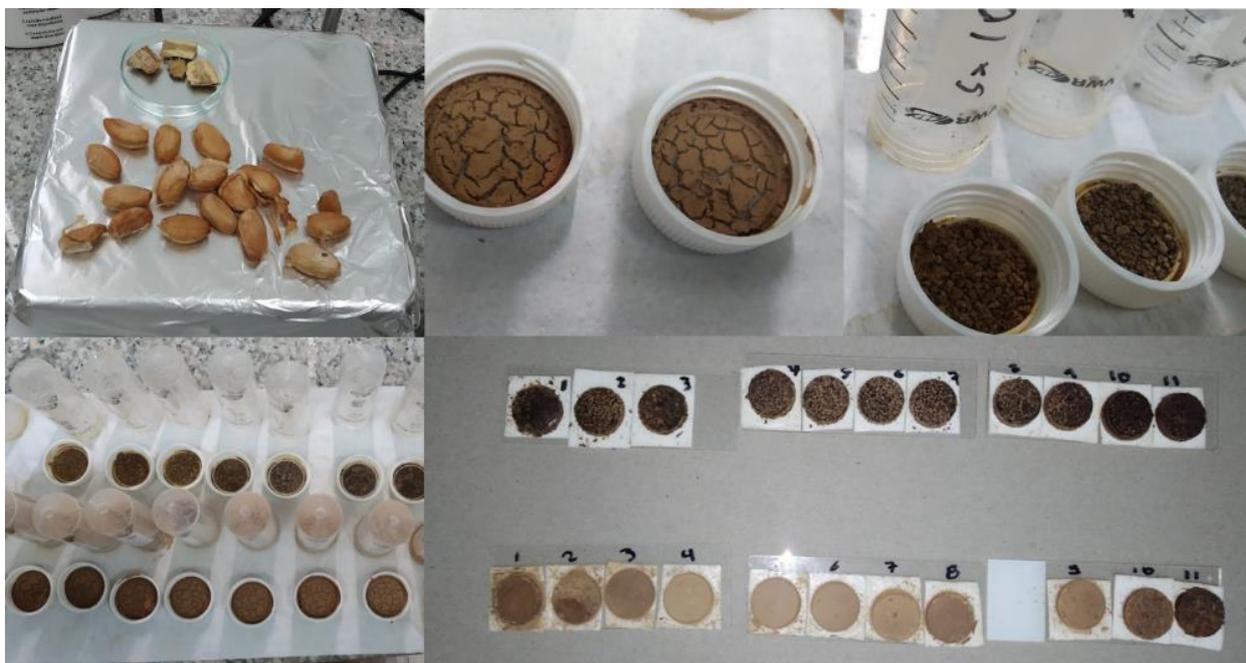


Figura 11.- Elaboración de las pastillas de cacao dopadas con cadmio.

Se analizaron cinco escenarios, análisis LIBS, NELIBS con Ag NPs puras, NELIBS con Ag NPs diluidas y agregadas ácido cítrico al 5%, NELIBS con Au NPs puras y NELIBS con Au NPs diluidas y agregadas ácido cítrico al 5%.

La codificación usada para las diluciones de Cadmio, en Molar, es la siguiente:

Código	CD11	CD10	CD 9	CD8	CD7	CD6
Molaridad	$5 \cdot 10^{-1}$	$5 \cdot 10^{-2}$	$5 \cdot 10^{-3}$	$5 \cdot 10^{-4}$	$5 \cdot 10^{-5}$	$5 \cdot 10^{-6}$
Código	CD5	CD4	CD3	CD2	CD1	
Molaridad	$5 \cdot 10^{-7}$	$5 \cdot 10^{-8}$	$5 \cdot 10^{-9}$	$5 \cdot 10^{-10}$	$5 \cdot 10^{-11}$	

CAPÍTULO 4: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS

Como se mencionó previamente, este proceso fue llevado a cabo de manera automática a partir de un código de elaboración propia basado en los fundamentos de la caracterización de nanopartículas esféricas por métodos espectroscópicos. La ejecución del código para la caracterización de las distintas generaciones de nanopartículas de oro arroja los siguientes resultados. Los resultados de la caracterización son mostrados en las tablas de las subsecciones siguientes.

4.1.1. TAMAÑO Y CONCENTRACIÓN DE PUNTOS CUÁNTICOS DE GRAFENO DOPADOS CON NITRÓGENO

Las características de los puntos cuánticos resultantes son tomadas directamente del reporte realizado por la autora. Los resultados de esta síntesis son los siguientes:

- Forma esférica
- Aproximadamente, 2 nm de diámetro
- Densidad de 33 g/l.

4.1.2. TAMAÑO Y CONCENTRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO

Tabla 4.- Longitud de onda de resonancia plasmónica λ_{SPR} calculado para las Au NPs sintetizadas.

ID NPs	λ_{SPR} [nm]		
	Media	Err. Std.	Mediana
Semillas	515.57	3.74	515.15
1ra gen	521.58	2.69	522.08
2da gen	522.83	2.89	523.42
3ra gen	527.06	2.51	527.45
4ta gen	530.67	2.33	531.38
5ta gen	538.91	2.77	539.58
6ta gen	549.65	0.99	549.93

Tabla 5.- Diámetro, concentración y densidad de las Au NPs.

ID NPs	Diámetro [nm]			Concentración [NPs / mL]	Densidad [ng/ul]	
	Media	Err. Std.	Mediana		Media	Err. Std.
Semillas	8.67	3.73	6.95	1.77E+11	1.12	0.63
1ra gen	20.34	6.51	20.82	1.07E+12	24.79	1.57
2da gen	24.19	7.52	25.57	5.62E+11	21.11	1.85
3ra gen	35.86	7.04	37.22	6.67E+10	19.31	1.74
4ta gen	44.70	5.70	46.53	2.35E+10	19.6	2.52
5ta gen	61.19	5.08	62.52	5.92E+09	13.85	2.87
6ta gen	78.56	1.45	78.97	3.64E+09	17.85	1.88

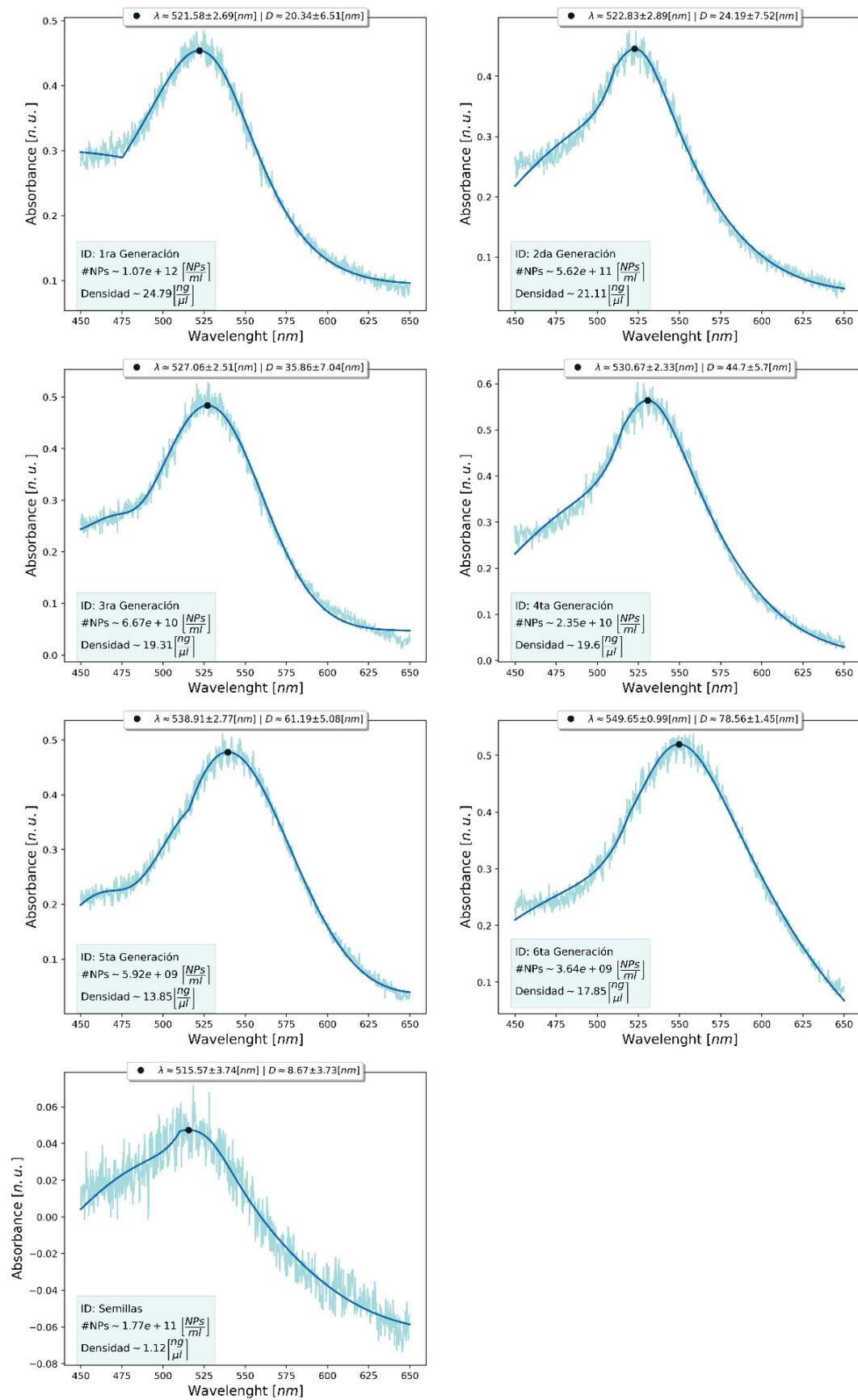


Figura 12.- Espectros de absorbancia y caracterización para cada lote de Au NPs.

4.1.3. TAMAÑO Y CONCENTRACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA

Tabla 6.- λ_{SPR} calculado para las Ag NPs sintetizadas.

ID NPs	λ_{SPR} [nm]		
	MEDIA	ERR. STD.	MEDIANA
Borohidruro en hielo 2	393.23	6.22	391.20
Borohidruro a ebullición	396.88	4.58	396.93
Borohidruro en hielo	409.50	8.10	411.24
Control de pH	435.77	7.99	434.34

Tabla 7.- Resultados de la caracterización de las Ag NPs.

ID NPs	Diámetro [nm]			Concentración [NPs / mL]	Densidad [ng/ul]	
	Media	Err. Est.	Mediana	Media	Media	Err. Est.
Borohidruro en hielo 2	32.61	9.37	30.29	7.86E+11	81.2	22.12
Borohidruro a ebullición	39.99	5.17	39.79	2.46E+10	7.17	2.16
Borohidruro en hielo	54.99	6.11	56.35	3.30E+10	22.97	7.72
Control de pH	76.12	5.45	75.31	2.28E+09	3.95	8.44

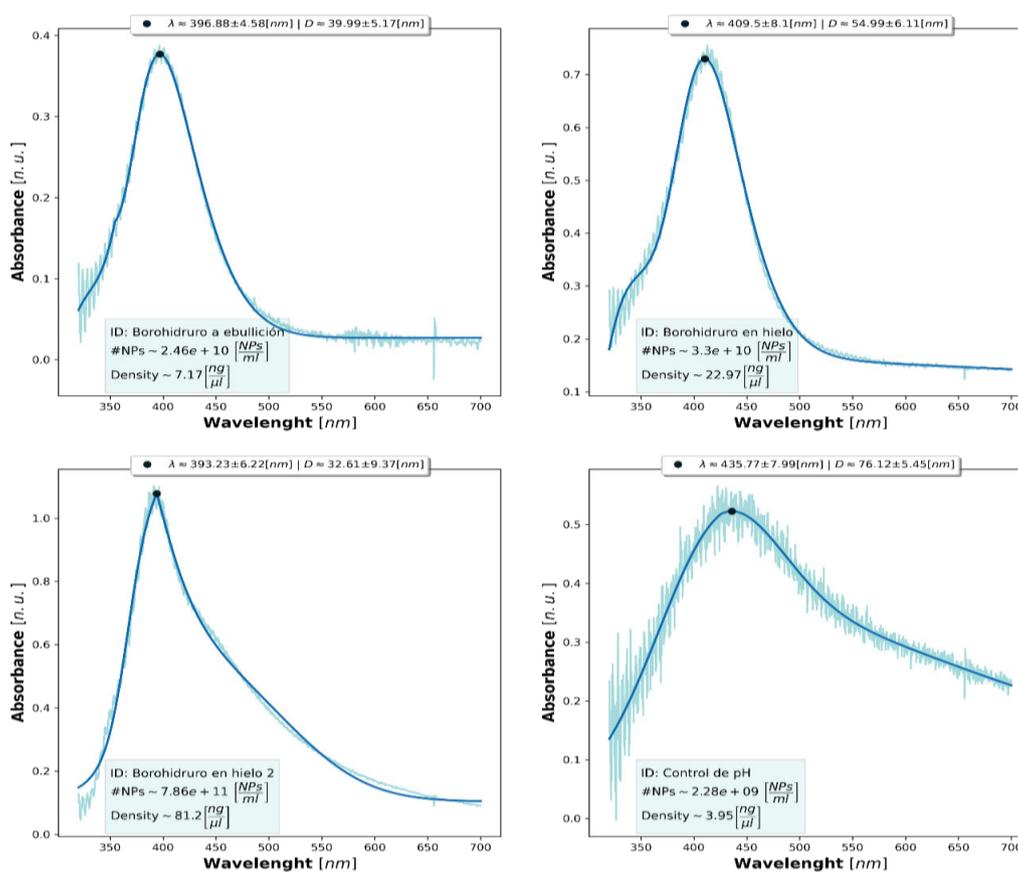


Figura 13.- Espectros de absorbancia para cada lote de Ag NPs.

Los demás resultados de las síntesis de nanopartículas de plata se presentan en el ANEXO 5.

4.2.RESULTADOS NELIBS EN PLACAS DE ALUMINIO

En primer lugar, notemos que hay un total 18300 espectros recolectados. 300 de ellos corresponden a LIBS, 30 por cada nivel de energía del láser seleccionado. Los otros 18000 corresponden a NELIBS, distribuidos en 300 espectros para cada nivel de energía y por cada una de las 60 combinaciones de tipo de nanopartícula con distribución superficial. Hemos definido cuatro líneas de interés del aluminio, Al 308.31 nm, Al 309.38 nm, Al 394.29 nm y Al 396.01 nm, en las que se explora el efecto sobre la intensidad.

Con el apoyo del código desarrollado en Spark se realiza el análisis correspondiente, el cual es descrito a continuación. Los espectros son clasificados entre LIBS y NELIBS. Los espectros en LIBS son agrupados por el nivel de fluencia usado y ordenados por intensidad dentro de la agrupación en cada una de las líneas de interés. Los espectros en NELIBS son agrupados por tipo de nanopartícula (material y tamaño), dispersión superficial y nivel de fluencia usado en el láser. Estos también son ordenados por la intensidad registrada para cada línea de interés. Finalmente, cada grupo clasificado en NELIBS se compara con su el de correspondiente fluencia en LIBS. La comparación se realizó entre las intensidades mínimas, máximas, mediana y media de cada grupo, para cada línea de Aluminio seleccionada. A continuación, se presentan los resultados más relevantes y los espectros de la mejor relación de aumento encontrada en los cuatro picos de interés.

4.2.1. NANOPARTÍCULAS DE PLATA SOBRE ALUMINIO

Los resultados de la relación en la intensidad entre NELIBS y LIBS para Ag NPs son presentados de manera exhaustiva para todas las combinaciones en el ANEXO 6. En esta sección se presentan los espectros de la combinación con la mayor mejora en cada tipo de comparación: entre mínimos, entre máximos, entre medianas y entre medias.

Tabla 8.- Combinaciones en las que se consiguieron los aumentos más grandes según cada tipo de comparación realizada para Ag NPs.

Relación	Diámetro [nm]	Distribución Superficial [ng/mm ²]	Fluencia [J/cm ²]	Coefficiente de Mejora NELIBS/LIBS
Máximo a máximo	33.63	0.001	71.96	2.321
Mediana a mediana	39.89	0.02	99.18	2.191
Media a media	39.89	0.02	71.96	1.89
Mínimo a mínimo	39.89	0.02	85.43	3.082

Como se puede observar, existe un incremento en la señal en los picos de interés de hasta un 208%. Los mejores aumentos ocurrieron con NPs de aproximadamente 40 nm de diámetro, colocados a una distribución superficial de 0.02 ng/mm² sobre la muestra. Estos resultados se obtuvieron a fluencias superiores a los 70 J/cm². A esa dilución, La distancia interparticular estimada es de 4175.11 ± 384.16 nm y el factor de empaquetamiento es 0.00955 ± 0.00195 , por lo tanto, podemos inferir que esta mejora se produce sin la contribución del campo electromagnético del acoplamiento interparticular. Esto significa que este es el orden de la mínima mejora que se puede esperar en el régimen NELIBS a partir de esta distribución superficial. Revisando el perfil de los 30 espectros que componen cada grupo seleccionado, vemos mayor consistencia en la mejora con el realizado en un nivel de energía de 99.98 J/mm².

En la comparación máximo-a-máximo y la comparación de los valores medios de los picos, existe el riesgo de que la medición esté sesgada por un solo pico anormalmente alto. Por ello, se revisa que el factor de incremento de media-a-media esté cercano al de mediana-a-mediana para considerar que los resultados tienen mayor plausibilidad de ser replicados. En este caso, la diferencia en el factor de mejora entre ambos es de menos del 2%, con lo cual se estima altamente plausible repetir estos niveles de mejora en un disparo cualquiera bajo las mismas condiciones.

Especial atención debe también prestarse a los resultados de las nanopartículas del lote TAG4, presentados junto a los demás en el ANEXO 6. En ninguna de las formas de medición se registraron aumentos en la señal, al contrario, reducciones de la menos un 25%. La peculiaridad de este lote está en el tiempo transcurrido entre su síntesis y su utilización que es mucho mayor, varios meses, que las demás síntesis realizadas apenas días antes. Se conoce que el tamaño era menor al que fue medido en el proceso de caracterización, es decir, crecieron en el tiempo, por lo que se sospecha que hay cambios no analizables desde la caracterización espectroscópica que evitan que estas actúen como las demás según lo descrito en la sección 3.2.1.

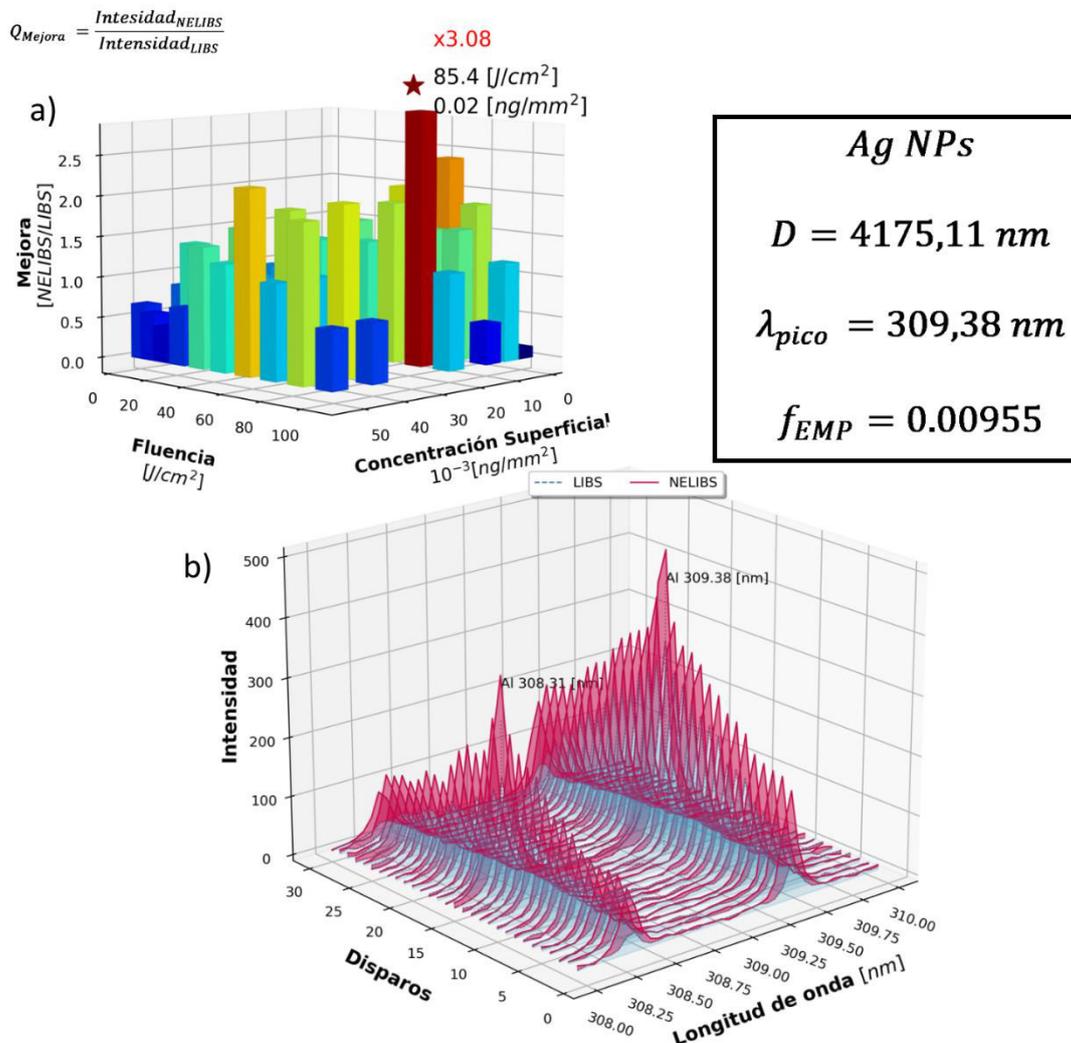


Figura 14.- a) Coeficiente de mejora NELIBS/LIBS, para la relación mínimo a mínimo, en función de la fluencia y concentración superficial para la línea de Al 309.38 [nm].
b) Espectros de los 30 disparos en LIBS (azul) y NELIBS (rojo) para la combinación con el coeficiente de mejora más alto de a).

4.2.2. NANOPARTÍCULAS DE ORO EN ALUMINIO

Tabla 9.- Combinaciones en las que se consiguieron los aumentos más grandes según cada tipo de comparación realizada para Au NPs.

Relación	Diámetro [nm]	Distribución Superficial [ng/mm ²]	Fluencia [J/cm ²]	Coefficiente de Mejora NELIBS/LIBS
Mínimo a mínimo	24.19	0.01	85.43	2.993
Máximo a máximo	61.19	0.005	85.43	2.707
Mediana a mediana	78.56	0.04	99.18	2.361
Media a media	78.56	0.04	99.18	1.938

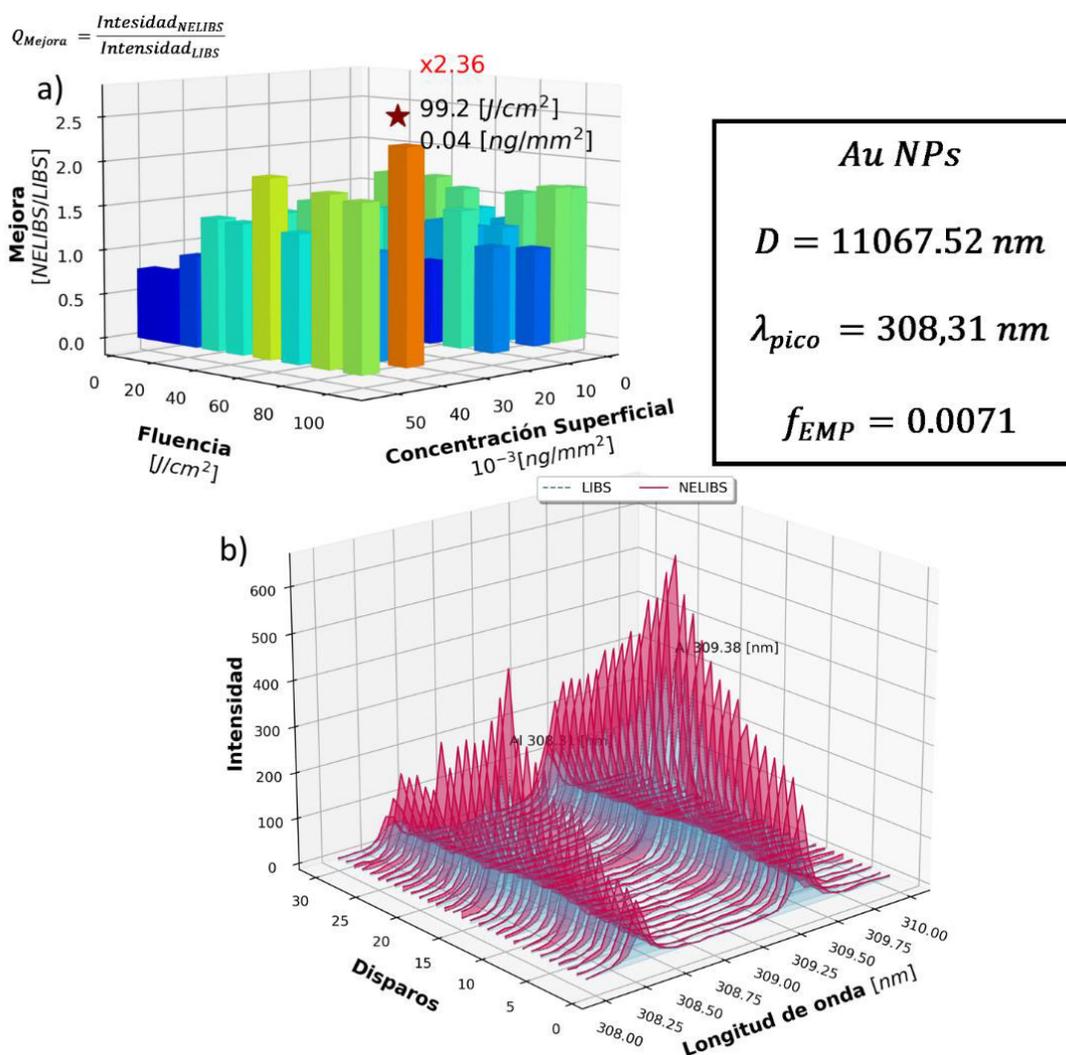


Figura 15.- a) Coeficiente de mejora NELIBS/LIBS, para la relación mediana a mediana, en función de la fluencia y concentración superficial para la línea de Al 308.31 [nm].
b) Espectros de los 30 disparos en LIBS (azul) y NELIBS (rojo) para la combinación con el coeficiente de mejora más alto de a).

Las mejoras en intensidades medidas en el uso de Au NPs llegan hasta un 199%. Existe una coincidencia exacta en el grupo con la relación de mejora más grande con el criterio media-media y mediana a mediana. Esta mejora ocurre para las nanopartículas del lote TAU5 con un

diámetro de aproximadamente 80 nm, una distancia interparticular de 11067.52 ± 27.75 nm y un factor de empaquetamiento 0.0071 ± 0.00034 .

Las mejores relaciones de aumento se identificaron para el lote mencionado independientemente de la longitud de onda. En segundo lugar, por criterio de aumento de mejora de manera persistente, es decir que la mejora se reproduzca en un número importante de combinaciones, están las pertenecientes al lote TAU1 con un diámetro medio de 9 nm.

El menor desempeño estuvo en las nanopartículas de 24 nm, pertenecientes al lote TAU2. Si bien los lotes TAU3 y TAU4 tienen incrementos puntuales mayores a TAU1, estos se producen en pocas combinaciones, específicamente el mayor se detectó concentraciones de 0.005 ng/l con fluencias de 58.9 y 35.1 J/cm² respectivamente. En contraste con TAU5 y TAU1 que presentan mejoras en todas las concentraciones, TAU3 y TAU4 las presentan en las más bajas.

Los resultados de la relación en la intensidad entre NELIBS y LIBS para Au NPs son presentados de manera exhaustiva para todas las combinaciones en el ANEXO 7.

4.2.3. PUNTOS CUÁNTICOS DE GRAFENO DOPADOS CON NITRÓGENO EN ALUMINIO

Tabla 10.- Combinaciones en las que se consiguieron los aumentos más grandes según cada tipo de comparación realizada para N-GQDs.

Relación	Diámetro [nm]	Distribución Superficial [ng/mm ²]	Fluencia [J/cm ²]	Coefficiente de Mejora NELIBS/LIBS
Media a media	2	10	85.43	1.325
Máximo a máximo	2	1	85.43	1.794
Mediana a mediana	2	20	99.18	1.347
Mínimo a mínimo	2	20	71.96	1.566

Se encontraron, por primera vez, aumentos en la intensidad de la señal con N-GQDS para las cuatro concentraciones más bajas y los niveles más altos de fluencia del láser, es decir, para concentraciones menores o iguales a 20 ng/l y fluencias mayores a 70 J/cm². El máximo aumento hallado fue de un 79%, el aumento medio fue de 30% y la relación entre los picos más pequeños tuvo un aumento de hasta 57%.

Si bien no se replican los niveles obtenidos con diluciones 3 órdenes más grandes en NPs metálicas, el aumento encontrado muestra que es plausible conseguir la mejora NELIBS con este tipo de materiales.

Los resultados de la relación en la intensidad entre NELIBS y LIBS para N-GQDs son presentados de manera exhaustiva para todas las combinaciones en el ANEXO 8.

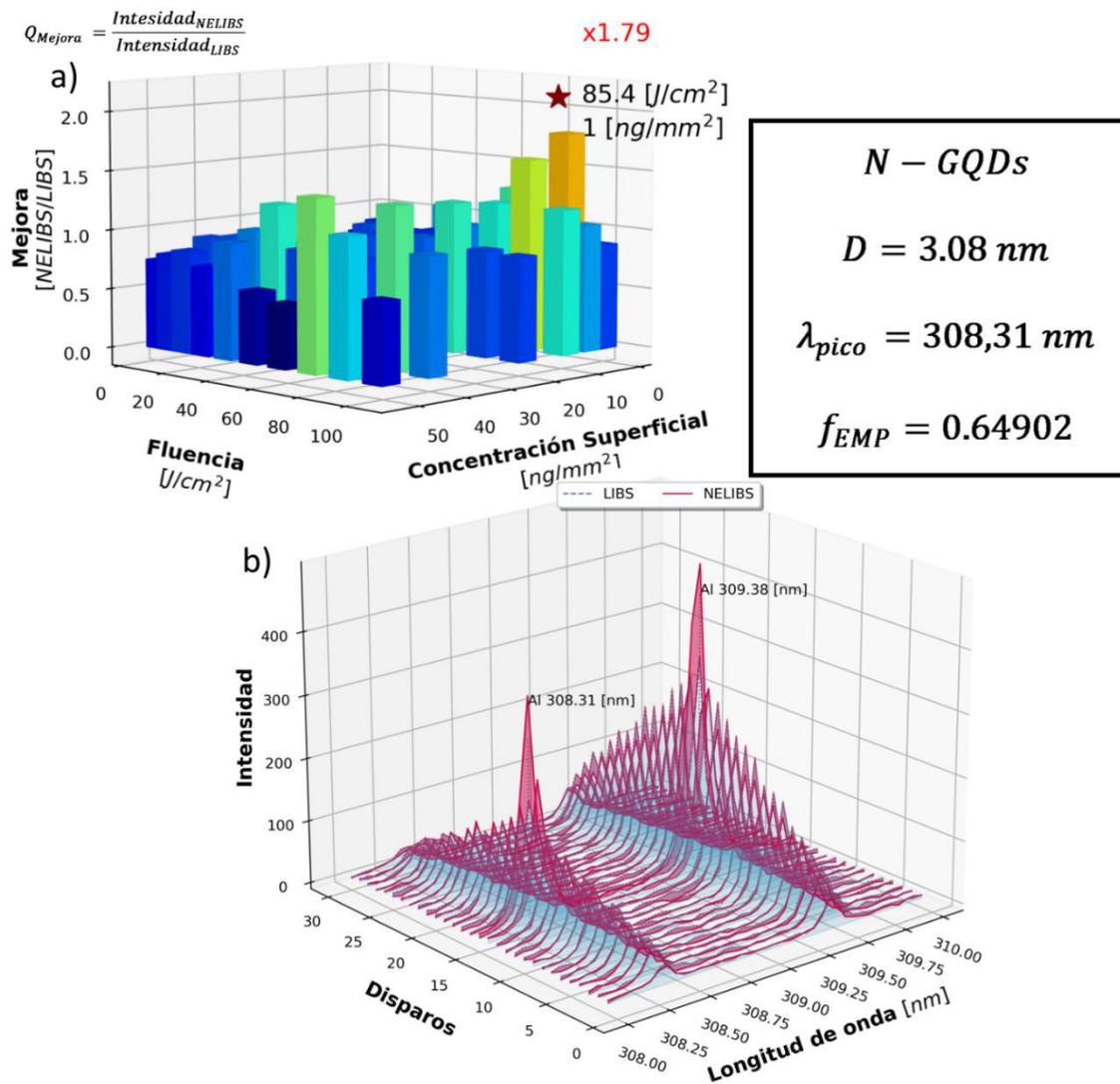


Figura 16.- a) Coeficiente de mejora NELIBS/LIBS, para la relación máximo a máximo, en función de la fluencia y concentración superficial para la línea de Al 308.31 [nm].
 b) Espectros de los 30 disparos en LIBS (azul) y NELIBS (rojo) para la combinación con el coeficiente de mejora más alto de a).

4.3.RESULTADOS Y DISCUSIÓN PARA PASTILLAS DE GRANO MOLIDO DE CACAO

Se identificaron 8 líneas de cadmio en las pastillas de cacao: 326.11 nm, 340.37 nm, 346.62 nm, 361.05 nm, 643.8470 nm, 228.80 nm, 226.50 nm y 214.44 nm.

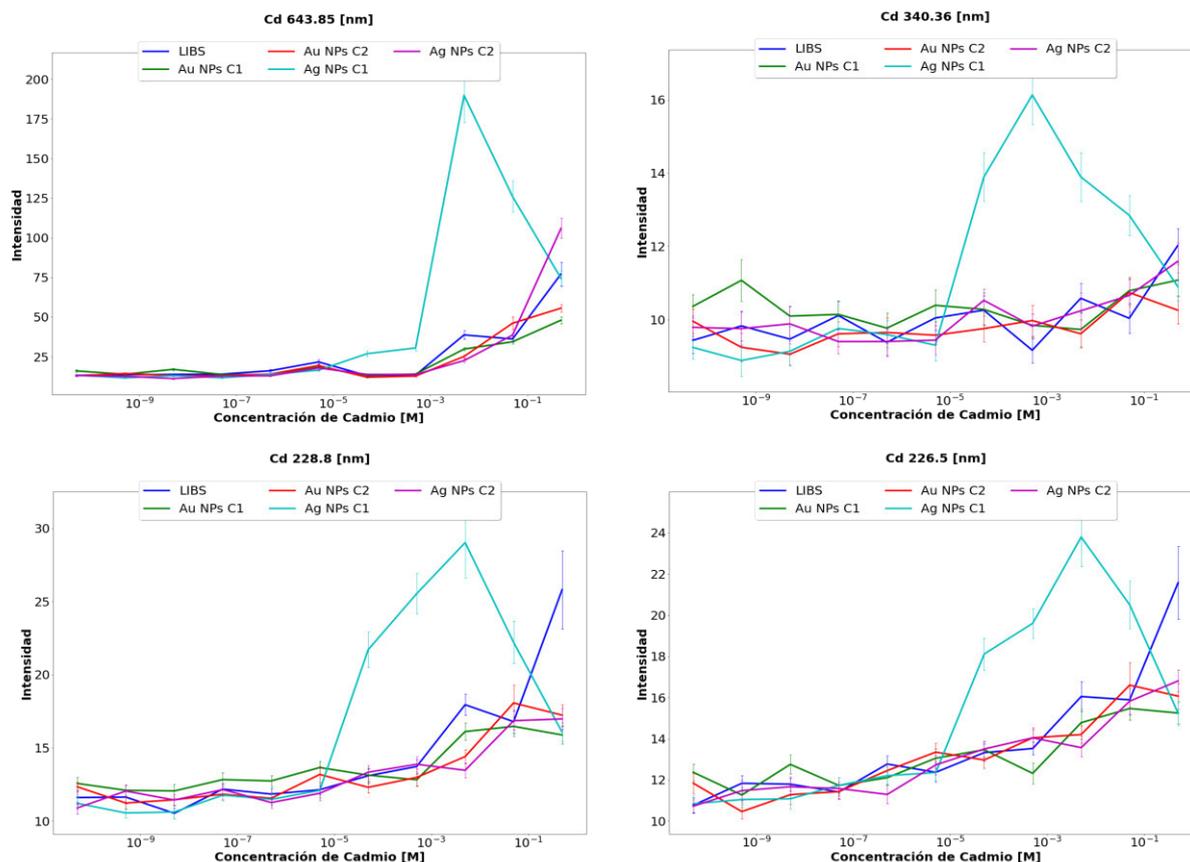


Figura 17.- Gráficos de la intensidad vs. concentración de cadmio para varias líneas de interés del cadmio. Pastillas de granos molidos.

Nótese en primer lugar, la línea de cadmio en 643.85 nm en la Figura 17, la cual alcanza para la concentración CD 9 un gran incremento puntual en NELIBS para Ag NPs, con más de 5 veces la intensidad conseguida en el análisis LIBS. Lo cual es un indicador de los niveles de mejora que pueden llegar a obtenerse. Esta línea sin embargo ha sido descrita en la bibliografía por su autoabsorción.[3] Se evidencia que hay líneas inertes a la concentración, en las cuales se detecta una línea horizontal constante, como en el caso de la línea de 340.36 nm. Las líneas de 228.8 y 226.5 nm en cambio puede observarse como se empiezan a establecer pendientes correlacionadas con el nivel de concentración. Sin embargo, los resultados obtenidos no nos permiten establecer una línea de calibración debido al solapamiento la pequeña pendiente presente que pueden verse en los gráficos respectivos.

4.4.RESULTADOS Y DISCUSIÓN PARA PASTILLAS DE CACAO EN POLVO

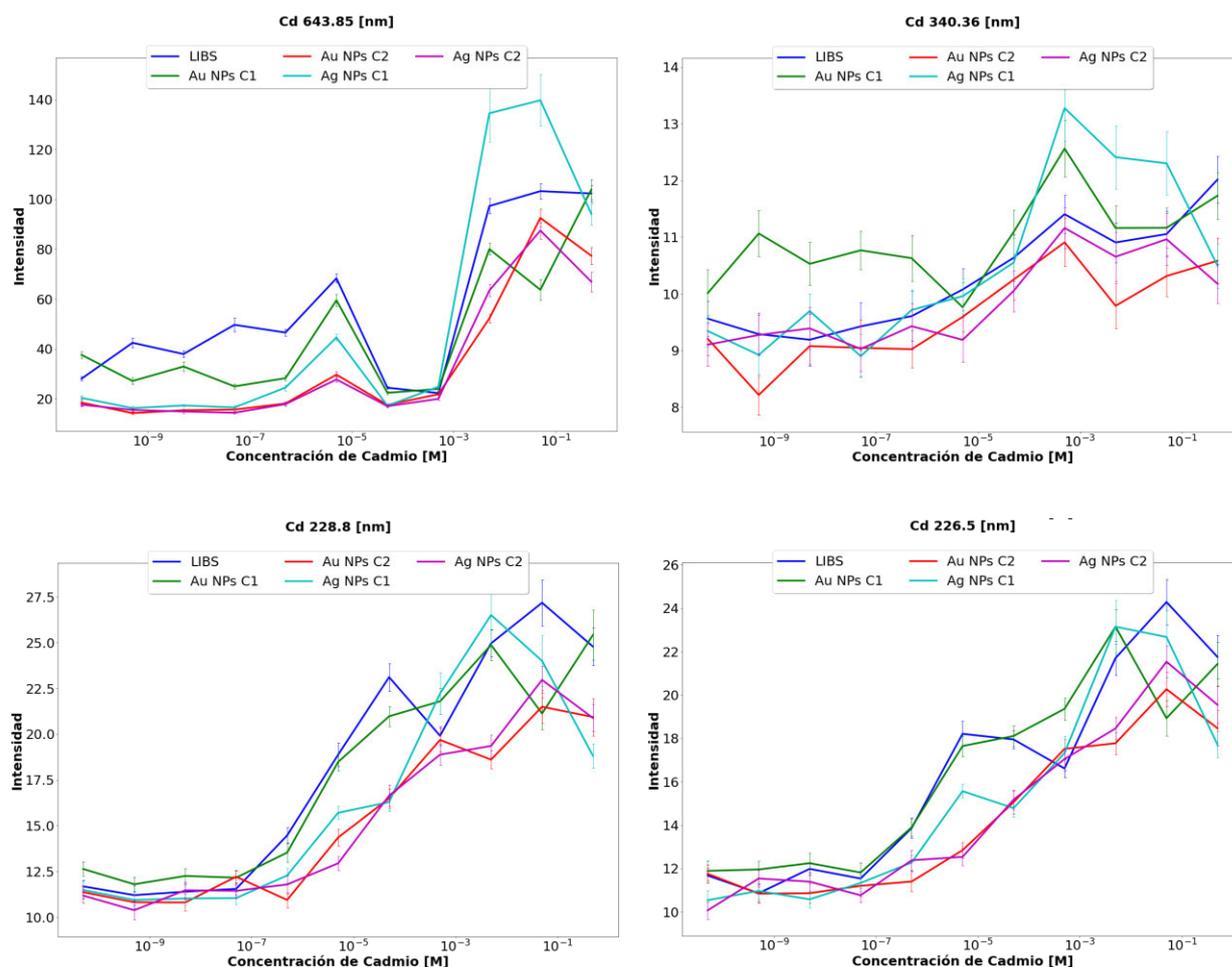


Figura 18.- Gráficos de la intensidad vs. concentración de cadmio para varias líneas de interés del cadmio. Pastillas de cacao en polvo.

En primer lugar, se hace notar que la línea 643.85 nm (véase Figura 18) presenta una no linealidad debido al fenómeno de autoabsorción descrito en la sección previa, lo cual la elimina como candidata para realizar un proceso de regresión y obtener con ello una curva de calibración. El mismo comportamiento inerte, descrito previamente, se repite para la línea 340.36 nm. Para las líneas 228.8 nm y 226.5 nm aparece cierta correlación lineal a partir de la concentración CD 4. Sin embargo, no existe mejora respecto a LIBS en ninguno de los análisis NELIBS y la incertidumbre se solapa en los niveles más altos de concentración.

En ANEXO 9 y ANEXO 10 se presentan tablas con los resultados de la comparación de las intensidades correspondientes entre NELIBS y LIBS. En ellos se identifica si hubo o no mejora en la señal. Las gráficas de resultados para las ocho líneas de interés del cadmio son presentadas en ANEXO 12 y ANEXO 13. Las cuatro líneas presentadas en esta sección sirven para ilustrar el análisis.

CAPÍTULO 5: CONCLUSIONES

El objetivo central del presente trabajo fue la evaluación del rol de la concentración superficial, el tamaño y tipo de nanopartículas depositadas sobre muestras metálicas. Esta evaluación nos ha confirmado la existencia de incremento putativo en la emisión espectral. Las mejoras en la señal fueron detectadas para fluencias de láser mayores a 16 J/cm^2 . En cuanto a la correlación con las concentraciones, no existe una tendencia marcada de correlación en el aumento de señal con los niveles de concentración medidos. Esto es coherente con el hecho de que a esos niveles de dilución no se espera la existencia del efecto del campo debido a los acoples plasmónicos entre partículas, por lo que este factor se puede despreciar. Por otro lado, existen combinaciones específicas, indicadas en la sección de resultados, en las que hay incrementos notablemente superiores a los demás, es decir, existen óptimos en cierta combinación de parámetros operacionales.

Estos resultados son coherentes con los reportados en la literatura [1]–[3], [17], [53], [54]. En el caso de muestras metálicas de aluminio, por ejemplo, se reportaron incrementos de hasta 10 veces la intensidad en la señal pues eran situaciones en que se esperaba la contribución de los tres campos, ya descritos, en la mejora en lugar de los dos campos esperados a los niveles de dilución manejados en el presente trabajo. El efecto de mejora, para Au y Ag NPs, fue detectado incluso a concentraciones en las que la distancia entre partículas fue del orden de 10^4 nanómetros y el factor de empaquetamiento de órdenes de 10^{-3} . A tales distancia, y tomando en cuenta que el mayor diámetro medio de las nanopartículas sintetizadas fue de $\sim 80 \text{ nm}$, no es posible contribución del dipolo entre partículas. Por otro lado, para los N-GQDs, donde se usaron concentraciones 1000 veces más altas, observamos que hay mayor probabilidad de encontrar una mejora si el factor de empaquetamiento es menor a 3 y la distancia entre partículas es mayor a $0,69 \text{ nm}$ (nótese que el diámetro medio de los N-GQDS es de $\sim 2 \text{ nm}$).

Tanto en las NPs metálicas como en los N-GQDs sobre las placas de aluminio, las mejoras más significativas ocurrieron en la línea Al 308.31 nm . En las Ag NPs y N-GQDs los aumentos más bajos ocurrieron en la línea Al 309.38 nm . En las líneas Al 394.29 nm y 396.03 nm los aumentos fueron similares. En definitiva, el incremento en la emisión luminosa debido a la presencia de nanopartículas ha sido validado y por primera vez, de acuerdo con la amplia bibliografía explorada, se ha determinado que este incremento también es posible usando puntos cuánticos de grafeno.

El rol de los parámetros involucrados en la mejora del rendimiento analítico de LIBS varía en cada tipo de nanopartícula usada. Para las Au NPs existe una correlación directa, a lo largo de varias de las líneas de Al, entre el tamaño de las NPs y la mejora conseguida; esto, en el rango de $24,19 \text{ nm}$ hasta 78.56 nm . Las Au NPs de 8.67 nm mostraron por el contrario un aumento fuera de esa tendencia, teniendo en general mayores aumentos que las de 24.19 nm . Para las Ag NPs existe una correlación inversa entre el tamaño de las NPs y la mejora conseguida.

Los mejores resultados para nanopartículas de plata se encontraron con aquellas que fueron sintetizadas a través de un proceso de ebullición con borohidruro y nitrato de plata. La presencia de estos aumentos contrasta con el planteamiento de que NELIBS deba hacerse con NPs obtenidas con técnica láser. Si bien los aumentos de señal fueron más significativos en estas nanopartículas con 38.89 nm de diámetro, los resultados para las Ag NPs de 78.21 y 33.63 son apenas un 10% y 5% menores en sus resultados. La mejora más alta para Au NPs ocurrió en el lote con 78.56 nm de diámetro, la cual es entre 6.5% y 25.6% más alta que las registradas en las demás nanopartículas. El registro de una mejora persistente valida que la

causa de este incremento se debe a la presencia de las nanopartículas metálicas, lo cual se corresponde con la reproducción cualitativa de los resultados reportados a lo largo de la bibliografía ya citada. En definitiva, nuestros datos validan que a grandes diluciones, dónde el campo debido a los acoples plasmónicos entre partículas no está presente, existe una mejora que no supera en ningún caso los 3 órdenes de incremento en la señal independientemente del tipo o tamaño de nano partícula, de la fluencia del láser o la concentración superficial.

Por primera vez fue encontrada una mejora de la señal con N-GQDs. Esta fue de hasta un 79% respecto a LIBS, lo que abre la puerta para explorar este nuevo tipo de materiales en NELIBS. Dadas las características del grafeno y el creciente conocimiento sobre el proceso subyacente a la mejora de la señal, podría ser interesante explorar nanoestructuras de grafeno que contribuyan a intensificar el acoplamiento de los plasmones superficiales.

La persistencia en la detección de mejora, aún a dispersiones muy altas, muestra como plausible la exploración teórica expuesta en la sección 2.2 para explicar el comportamiento plasmónico y los procesos físicos que subyacen al fenómeno NELIBS.

El sistema real escogido para la aplicación de la técnica NELIBS fue la determinación de niveles de cadmio en cacao. En ese sentido, en los análisis sobre las diluciones de cadmio adheridas a cacao, la adición de nanopartículas metálicas no resulta en una mejora significativa de la señal medida. Tampoco se encontraron resultados negativos de forma sistemática. A pesar de esto, es posible usar la técnica LIBS y un tratamiento de transformación en pastillas para encontrar una curva de calibración a partir de los resultados para las líneas de Cd 226.5 nm y Cd 228.8 nm en el rango de $5 \cdot 10^{-8}$ M a $5 \cdot 10^{-2}$ M. Esto significa concentraciones entre $2 \cdot 10^{-2}$ ng/g y $2 \cdot 10^4$ ng/g. En este rango de medición se encuentran los niveles seguros para el cacao en polvo en la Unión Europea son de 800 ng/g y, sobre todo, los valores detectados para cacao ecuatoriano que están entre los 533 y 1833 ng/g. [13] Los niveles de incertidumbre encontrados en el presente estudio, que pueden verse en los gráficos de la sección respectiva, se solapan entre ellos en la mayoría de mediciones. Por otro lado, existió aumentos de señal bastante significativos en varias mediciones con NELIBS. Notable es el caso de las nanopartículas de plata puras depositadas sobre las pastillas hechas con granos molidos donde se consiguió un aumento de mayor a 5 veces la intensidad obtenida en LIBS. Debido a que las limitaciones temporales del presente trabajo, no es posible llevar a cabo análisis más profundos. En consecuencia, con los resultados encontrados en determinadas concentraciones, ya descritos, se recomienda una posterior investigación a partir de este trabajo para el uso de NELIBS como método de detección rápida de niveles de cadmio en el cacao.

CAPÍTULO 6: BIBLIOGRAFÍA

- [1] A. De Giacomo, R. Gaudioso, C. Koral, M. Dell'Aglio, and O. De Pascale, "Nanoparticle-enhanced laser-induced breakdown spectroscopy of metallic samples," *Anal. Chem.*, vol. 85, no. 21, pp. 10180–10187, 2013.
- [2] M. Dell'Aglio, R. Alrifai, and A. De Giacomo, "Nanoparticle Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy (NELIBS), a first review," *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 148, no. 2017, pp. 105–112, 2018.
- [3] X. Zhao, C. Zhao, X. Du, and D. Dong, "Detecting and Mapping Harmful Chemicals in Fruit and Vegetables Using Nanoparticle-Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy," *Sci. Rep.*, vol. 9, no. 1, pp. 1–10, 2019.
- [4] W. Haiss, N. T. K. Thanh, J. Aveyard, and D. G. Fernig, "Determination of size and concentration of gold nanoparticles from UV-Vis spectra," *Anal. Chem.*, vol. 79, no. 11, pp. 4215–4221, 2007.
- [5] J. Doak, R. K. Gupta, K. Manivannan, K. Ghosh, and P. K. Kahol, "Effect of particle size distributions on absorbance spectra of gold nanoparticles," *Phys. E Low-Dimensional Syst. Nanostructures*, vol. 42, no. 5, pp. 1605–1609, 2010.
- [6] F. Schulz, T. Homolka, N. G. Bastús, V. Puentes, H. Weller, and T. Vossmeier, "Little adjustments significantly improve the Turkevich synthesis of gold nanoparticles," *Langmuir*, vol. 30, no. 35, pp. 10779–10784, 2014.
- [7] N. G. Bastús, J. Comenge, and V. Puentes, "Kinetically controlled seeded growth synthesis of citrate-stabilized gold nanoparticles of up to 200 nm: Size focusing versus ostwald ripening," *Langmuir*, vol. 27, no. 17, pp. 11098–11105, 2011.
- [8] M. Hlaing, B. Gebear-Eigzabher, A. Roa, A. Marcano, D. Radu, and C. Y. Lai, "Absorption and scattering cross-section extinction values of silver nanoparticles," *Opt. Mater. (Amst.)*, vol. 58, pp. 439–444, 2016.
- [9] S. Z. Malynych, "Estimation of size and concentration of silver nanoparticles in aqueous suspensions from extinction spectra," *J. Nano- Electron. Phys.*, vol. 2, no. 4, pp. 5–11, 2010.
- [10] N. Khlebtsov, "Determination of Size and Concentration of Gold Nanoparticles from Extinction Spectra," *Anal. Chem.*, vol. 80, no. 17, pp. 6620–6625, 2008.
- [11] S. Agnihotri, S. Mukherji, and S. Mukherji, "Size-controlled silver nanoparticles synthesized over the range 5-100 nm using the same protocol and their antibacterial efficacy," *RSC Adv.*, vol. 4, no. 8, pp. 3974–3983, 2014.
- [12] X. Sun *et al.*, "Visible-light driven TiO₂ photocatalyst coated with graphene quantum dots of tunable nitrogen doping," *Molecules*, vol. 24, no. 2, 2019.
- [13] E. Abt and L. P. Robin, "Perspective on Cadmium and Lead in Cocoa and Chocolate," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 68, no. 46, pp. 13008–13015, 2020.
- [14] T. Ohta, M. Ito, T. Kotani, and T. Hattori, "Emission enhancement of laser-induced

- breakdown spectroscopy by localized surface plasmon resonance for analyzing plant nutrients,” *Appl. Spectrosc.*, vol. 63, no. 5, pp. 555–558, 2009.
- [15] C. Koral, M. Dell’Aglia, R. Gaudiuso, R. Alrifai, M. Torelli, and A. De Giacomo, “Nanoparticle-Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy for the noninvasive analysis of transparent samples and gemstones,” *Talanta*, vol. 182, no. February, pp. 253–258, 2018.
- [16] A. De Giacomo, C. Koral, G. Valenza, R. Gaudiuso, and M. Dellaglio, “Nanoparticle Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Microdrop Analysis at subppm Level,” *Anal. Chem.*, vol. 88, no. 10, pp. 5251–5257, 2016.
- [17] A. M. El Sherbini, A. A. Galil, S. H. Allam, and T. M. E. Sherbini, “Nanomaterials induced plasma spectroscopy,” *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 548, no. 1, 2014.
- [18] A. De Giacomo, R. Gaudiuso, C. Koral, M. Dell’Aglia, and O. De Pascale, “Nanoparticle Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy: Effect of nanoparticles deposited on sample surface on laser ablation and plasma emission,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 98, pp. 19–27, 2014.
- [19] A. De Giacomo *et al.*, “Plasma processes and emission spectra in laser induced plasmas: A point of view,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 100, pp. 180–188, 2014.
- [20] Y. Qin, X. Ji, J. Jing, H. Liu, H. Wu, and W. Yang, “Size control over spherical silver nanoparticles by ascorbic acid reduction,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 372, no. 1–3, pp. 172–176, 2010.
- [21] A. Zielińska, E. Skwarek, A. Zaleska, M. Gazda, and J. Hupka, “Preparation of silver nanoparticles with controlled particle size,” *Procedia Chem.*, vol. 1, no. 2, pp. 1560–1566, 2009.
- [22] C. Gao, J. Vuong, Q. Zhang, Y. Liu, and Y. Yin, “One-step seeded growth of Au nanoparticles with widely tunable sizes,” *Nanoscale*, vol. 4, no. 9, pp. 2875–2878, 2012.
- [23] J. Dong, P. L. Carpinone, G. Pyrgiotakis, P. Demokritou, and B. M. Moudgil, “Synthesis of precision gold nanoparticles using Turkevich method,” *KONA Powder Part. J.*, vol. 37, no. 37, pp. 224–232, 2020.
- [24] A. De Giacomo, R. Alrifai, V. Gardette, Z. Salajková, and M. Dell’Aglia, “Nanoparticle enhanced laser ablation and consequent effects on laser induced plasma optical emission,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 166, no. December 2019, p. 105794, 2020.
- [25] N. H. Bings, A. Bogaerts, and J. A. C. Broekaert, “Atomic spectroscopy: A review,” *Anal. Chem.*, vol. 82, no. 12, pp. 4653–4681, 2010.
- [26] A. Miziolek, V. Palleschi, and I. Schechter, *LASER-INDUCED BREAKDOWN SPECTROSCOPY*. Cambridge University Press, 2006.
- [27] J. Singh, *Laser-induced breakdown spectroscopy*. Elsevier, 2020.

- [28] F. Yang *et al.*, “Emission enhancement of femtosecond laser-induced breakdown spectroscopy by combining nanoparticle and dual-pulse on crystal SiO₂,” *Opt. Laser Technol.*, vol. 93, pp. 194–200, 2017.
- [29] R. E. Russo, X. Mao, J. J. Gonzalez, V. Zorba, and J. Yoo, “Laser ablation in analytical chemistry,” *Anal. Chem.*, vol. 85, no. 13, pp. 6162–6177, 2013.
- [30] C. Velásquez, “Síntesis y modificación de Nanopartículas de Plata mediante Ablación Láser,” Escuela Politécnica Nacional, 2017.
- [31] V. N. Rai and S. N. Thakur, “Instrumentation for Laser-Induced Breakdown Spectroscopy,” *Laser-Induced Break. Spectrosc.*, no. December, pp. 113–133, 2007.
- [32] J. Picard *et al.*, “Characterization of laser ablation of copper in the irradiance regime of laser-induced breakdown spectroscopy analysis,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 101, pp. 164–170, 2014.
- [33] T. Yuan, Z. Wang, Z. Li, W. Ni, and J. Liu, “A partial least squares and wavelet-transform hybrid model to analyze carbon content in coal using laser-induced breakdown spectroscopy,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 807, pp. 29–35, 2014.
- [34] G. Vítková *et al.*, “Comparative study on fast classification of brick samples by combination of principal component analysis and linear discriminant analysis using stand-off and table-top laser-induced breakdown spectroscopy,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 101, pp. 191–199, 2014.
- [35] C. Molineros, “Estudio de las condiciones físicas necesarias de la evolución de un plasma LIBS para la implementación de un método de análisis cuantitativo sin calibración (Calibration-Free LIBS),” 2014.
- [36] P. Yaroshchik and J. E. Eberhardt, “Automatic correction of continuum background in Laser-induced Breakdown Spectroscopy using a model-free algorithm,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 99, pp. 138–149, 2014.
- [37] J. El Haddad, L. Canioni, and B. Bousquet, “Good practices in LIBS analysis: Review and advices,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 101, pp. 171–182, 2014.
- [38] J. El Haddad *et al.*, “Application of a series of artificial neural networks to on-site quantitative analysis of lead into real soil samples by laser induced breakdown spectroscopy,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 97, pp. 57–64, 2014.
- [39] E. Hutter and J. H. Fendler, “Exploitation of localized surface plasmon resonance,” *Adv. Mater.*, vol. 16, no. 19, pp. 1685–1706, 2004.
- [40] D. H. Sliney, “What is light? the visible spectrum and beyond,” *Eye*, vol. 30, no. 2, pp. 222–229, 2016.
- [41] F. Schertz, M. Schmelzeisen, M. Kreiter, H. J. Elmers, and G. Schönhense, “Field emission of electrons generated by the near field of strongly coupled plasmons,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 108, no. 23, pp. 1–5, 2012.
- [42] N. G. Bastús, J. Piella, and V. Puentes, “Quantifying the Sensitivity of Multipolar

- (Dipolar, Quadrupolar, and Octapolar) Surface Plasmon Resonances in Silver Nanoparticles: The Effect of Size, Composition, and Surface Coating,” *Langmuir*, vol. 32, no. 1, pp. 290–300, 2016.
- [43] H. Lange *et al.*, “Tunable plasmon coupling in distance-controlled gold nanoparticles,” *Langmuir*, vol. 28, no. 24, pp. 8862–8866, 2012.
- [44] A. De Giacomo and J. Hermann, “Laser-induced plasma emission: From atomic to molecular spectra,” *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 50, no. 18, 2017.
- [45] G. McNay, D. Eustace, W. E. Smith, K. Faulds, and D. Graham, “Surface-enhanced Raman scattering (SERS) and surface-enhanced resonance raman scattering (SERRS): A review of applications,” *Appl. Spectrosc.*, vol. 65, no. 8, pp. 825–837, 2011.
- [46] S. C. Jantzi, V. Motto-Ros, F. Trichard, Y. Markushin, N. Melikechi, and A. De Giacomo, “Sample treatment and preparation for laser-induced breakdown spectroscopy,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 115, pp. 52–63, 2016.
- [47] C. Zhao and D. Dong, “Comment on ‘nanoparticle Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Microdrop Analysis at subppm Level’: Several Issues to Consider When Quantitatively Measuring Fluids Using Nanoparticle-Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy,” *Anal. Chem.*, vol. 88, no. 19, pp. 9869–9870, 2016.
- [48] A. De Giacomo, C. Koral, R. Gaudiuso, and M. Dell’Aglia, “Reply to Comment on ‘nanoparticle Enhanced Laser-Induced Breakdown Spectroscopy for Microdrop Analysis at subppm Level,’” *Anal. Chem.*, vol. 88, no. 19, pp. 9871–9872, 2016.
- [49] D. Mampallil and H. B. Eral, “A review on suppression and utilization of the coffee-ring effect,” *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 252, pp. 38–54, 2018.
- [50] D. Dong, L. Jiao, X. Du, and C. Zhao, “Ultrasensitive nanoparticle enhanced laser-induced breakdown spectroscopy using a super-hydrophobic substrate coupled with magnetic confinement,” *Chem. Commun.*, vol. 53, no. 33, pp. 4546–4549, 2017.
- [51] L. Sládková *et al.*, “Improvement of the Laser-Induced Breakdown Spectroscopy method sensitivity by the usage of combination of Ag-nanoparticles and vacuum conditions,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 127, pp. 48–55, 2017.
- [52] Y. Yao *et al.*, “Synchronous detection of heavy metal ions in aqueous solution by gold nanoparticle surface-enhanced laser-induced breakdown spectroscopy,” *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 36, no. 12, pp. 2639–2648, 2021.
- [53] C. Koral, A. De Giacomo, X. Mao, V. Zorba, and R. E. Russo, “Nanoparticle Enhanced Laser Induced Breakdown Spectroscopy for Improving the Detection of Molecular Bands,” *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 125, pp. 11–17, 2016.
- [54] A. De Giacomo, M. Dell’Aglia, R. Gaudiuso, C. Koral, and G. Valenza, “Perspective on the use of nanoparticles to improve LIBS analytical performance: Nanoparticle enhanced laser induced breakdown spectroscopy (NELIBS),” *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 31, no. 8, pp. 1566–1573, 2016.

- [55] S. Kohsakowski *et al.*, “High productive and continuous nanoparticle fabrication by laser ablation of a wire-target in a liquid jet,” *Appl. Surf. Sci.*, vol. 403, pp. 487–499, 2017.
- [56] J. Kimling, M. Maier, B. Okenve, V. Kotaidis, H. Ballot, and A. Plech, “Turkevich method for gold nanoparticle synthesis revisited,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 32, pp. 15700–15707, 2006.
- [57] D. D. Evanoff and G. Chumanov, “Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays,” *ChemPhysChem*, vol. 6, no. 7, pp. 1221–1231, 2005.
- [58] P. Billaud *et al.*, “Optical extinction spectroscopy of single silver nanoparticles,” *Eur. Phys. J. D*, vol. 43, no. 1–3, pp. 271–274, 2007.
- [59] J. Guo, J. Shao, T. Wang, C. Zheng, A. Chen, and M. Jin, “Optimization of distances between the target surface and focal point on spatially confined laser-induced breakdown spectroscopy with a cylindrical cavity,” *J. Anal. At. Spectrom.*, vol. 32, no. 2, pp. 367–372, 2017.
- [60] F. Kettemann *et al.*, “Missing Piece of the Mechanism of the Turkevich Method: The Critical Role of Citrate Protonation,” *Chem. Mater.*, vol. 28, no. 11, pp. 4072–4081, 2016.

CAPÍTULO 7: ANEXOS

7.1.ANEXO 1: Abstract presentado y aceptado en el Colloquium Spectroscopicum Internationale XLII



Colloquium Spectroscopicum Internationale XLII (CSI XLII)
30 May - 3 June 2022, Gijón (Spain)
<https://www.csi2022spain.com>

Enhancement in NELIBS with silver and gold nanoparticles and N-Graphene QDs

Nogales-Herrera, Carlos Eduardo^{1*}, Sarabia, Isamar¹, Costa-Vera, Cesar¹

¹ Laboratorio de Espectroscopia, Departamento de Física, Escuela Politécnica Nacional, Quito, Ecuador.

* email: carlos.nogales@epn.edu.ec

Abstract

The interest in Nanoparticle-enhanced Laser-induced Breakdown Spectroscopy (NELIBS) has been a growing in the LIBS community since the first report of De Giacomo et al.^[1], because of its capacity to increase the signal in the spectra. In NELIBS, typically metal nanoparticles (NPs) are deposited over the surface of the sample prior to conducting the LIBS analysis. The signal improvement caused by the NPs has permitted, among other things, lowering the limit of detection (LOD) of several elements in different kinds of materials (metallic, transparent dielectric, and biological). Despite of this improvement, NELIBS reproducibility and variability presents issues that need to be further investigated, also whether other kinds of NP that can generate this effect. In this work, over 18,000 spectra were analysed. These spectra resulted from 600 different combinations of nanoparticle diameters (D), surface concentrations (SC), and laser fluence. The samples consisted of aluminium alloy (98%) plates. Both, gold (Au) and silver (Ag) NPs were synthesized, characterized by optical absorbance, and deposited on the surface of the plates.^{[2][3]} Additionally, N-doped Graphene quantum dots (~2 nm) were applied to evaluate their performance in NELIBS.^[4] The effect of the deposits and the other parameters was systematically investigated. For every combination, 30 shots were taken, at 10 laser fluence levels. Citric acid was used to avoid the Coffee Ring Effect to better distribute the NPs on the surfaces. For enhancement assessment, four aluminium peaks were explored (308.3, 309.4, 394.3, 396nm). Maximum enhancements were determined for given combinations, in all cases.

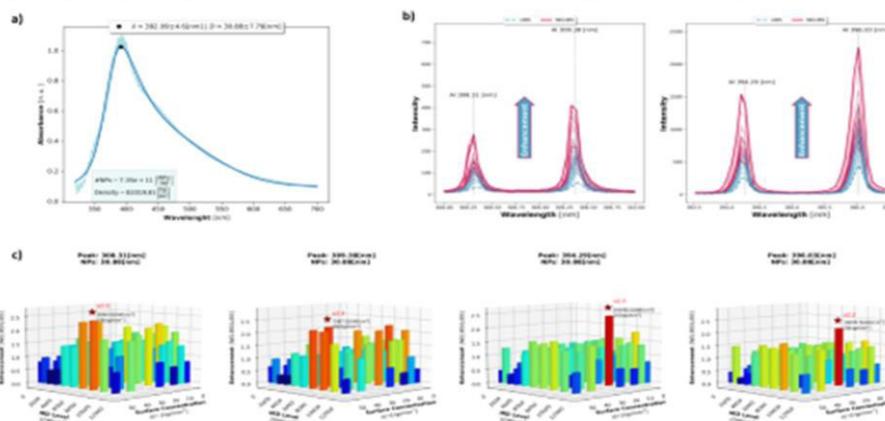


Figure 1. a) Absorbance for Ag NPs. b) NELIBS vs. LIBS for Ag NPs (0.05 ng/mm²). c) Enhancements for the Al peaks Ag NPS=30.88nm.

Keywords:

NELIBS; Gold Nanoparticles; Silver Nanoparticles; N-Graphene Quantum Dots

References

- [1] A. De Giacomo et al., *Anal. Chem.*, vol. 85, no. 21, pp. 10180–10187, 2013.
- [2] S. Agnihotri et al., *RSC Adv.*, vol. 4, no. 8, pp. 3974–3983, 2014.
- [3] N. G. Bastús et al., *Langmuir*, vol. 27, no. 17, pp. 11098–11105, 2011.
- [4] X. Sun et al., *Molecules*, vol. 24, no. 2, 2019.

Acknowledgements

The kind support of the Alexander von Humboldt Foundation through a Digital Cooperation Grant is acknowledged.

Póster presentado en el Colloquium Spectroscopicum Internationale XLII



Enhancement in NELIBS with Silver and Gold Nanoparticles, and N-Graphene Quantum Dots

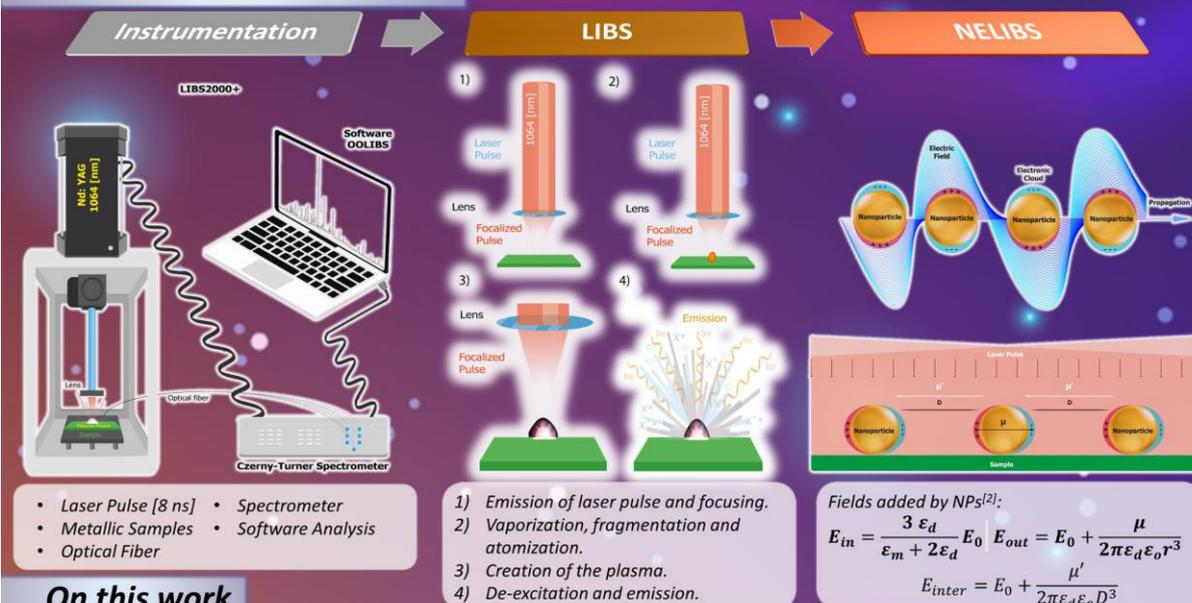
Nogales-Herrera, Carlos Eduardo^{1*} Sarabia, Isamar¹ Costa-Vera, César¹

¹Laboratorio de Espectroscopia, Departamento de Física, Escuela Politécnica Nacional, 170925 Quito, Ecuador
*carlos.nogales.herrera@gmail.com, carlos.nogales@epn.edu.ec



Abstract: Gold and Silver Nanoparticles, and N-Graphene Quantum Dots (N-GQDs) were used for NELIBS^[1]. 199% and 208% of signal improvements were reached with Au and Ag nanoparticles. N-GQDs were tested for first time ever and 79% of signal improvement was reached.

What are LIBS and NELIBS?

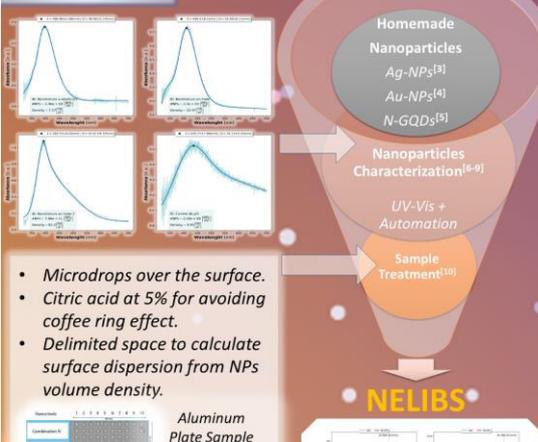


- Laser Pulse [8 ns]
- Spectrometer
- Metallic Samples
- Software Analysis
- Optical Fiber

On this work

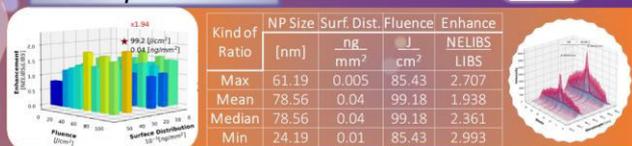
- ✓ +18 000 spectra analyzed
- ✓ 600 combinations of NP diameters, surface concentrations, fluence.
- ✓ Low surface distributions for metallic NPs (0,001 <ng/mm²<0,05)
- ✓ Range of surface distributions for N-GQDs (1<ng/mm²<50).
- ✓ Interparticle distances (D) from 362 nm to 69 999 nm for metallic NPs.
- ✓ D from 0,44 to 3,08 nm for N-GQDs.
- ✓ Aluminum alloy samples.
- ✓ 30 shots for each combination.
- ✓ 4 different comparison ways.
- ✓ 2 of 3 NP-induced EM fields expected.
- ✓ +250 MM data tuples analyzed.

Process

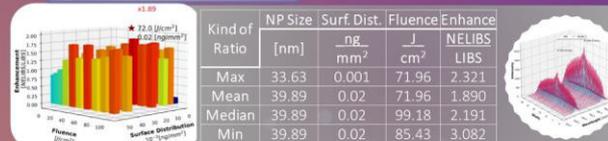


Findings

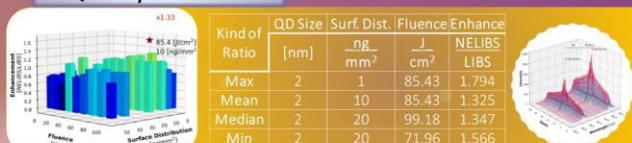
Au NPs – up to 199%



Ag-NPs – up to 208%



N-GQDs – up to 79%



Conclusions

Best enhancements were reached for silver nanoparticles. The enhancement is detected even in very high surface distributions for metallic nanoparticles. For the first time, up to 79% of enhancement were measured with the use of N-graphene quantum dots in NELIBS. The enhancement reached with low concentrations shows how big is the minimum enhancement we can expect from two of the three EM fields added by the NPs.

References

- [1] A. De Giacomo et al., *Anal. Chem.*, vol. 85, no. 21, pp. 10180–10187, 2013.
- [2] M. Dell'Aglio et al., *Spectrochim. Acta - Part B At. Spectrosc.*, vol. 148, no. 2017, pp. 105–112, 2018.
- [3] S. Agnihotri et al., *RSC Adv.*, vol. 4, no. 8, pp. 3974–3983, 2014.
- [4] N. G. Bastús et al., *Langmuir*, vol. 27, no. 17, pp. 11098–11105, 2011.
- [5] X. Sun et al., *Molecules*, vol. 24, no. 2, 2019.
- [6] W. Haiss et al., *Anal. Chem.*, vol. 79, no. 11, pp. 4215–4221, 2007.
- [7] M. Hlaing et al., *Opt. Mater. (Amst.)*, vol. 58, pp. 439–444, 2016.
- [8] S. Z. Malynych, *J. Nano- Electron. Phys.*, vol. 2, no. 4, pp. 5–11, 2010.
- [9] N. Khebtsov, *Anal. Chem.*, vol. 80, no. 17, pp. 6620–6625, 2008.
- [10] D. Mampallil et al., *Adv. Colloid Interface Sci.*, vol. 252, pp. 38–54, 2018.

7.2.ANEXO 2: Código para la caracterización de nanopartículas de oro

```

+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Importación de librerías
import pandas as pd
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
import glob
import os
import re
from scipy.signal import find_peaks_cwt, find_peaks, peak_prominences
from scipy.optimize import curve_fit
from numpy import inf
import time
import gc
import random
import warnings
rc('text',usetex=False)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Directorio de Archivos C:\Users\carlo\Big-Data-Tools\Data\Análisis-NPs
path="C:\Users\carlo\OneDrive\Documents\NPs Carlos Dic 2021\"
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Lista de todas las direcciones de los archivos de datos .txt
filesNPs = glob.glob(path+"\\DATA\\**\\*.txt",
                      recursive = True)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Definición de rango de análisis
wavel_min=450
wavel_max=650
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#FUNCIONES NECESARIAS
#Toma el diámetro de la nanopartícula y el coeficiente de absorción a 450 nm y entrega el número NPs por
mililitro
def Num_NPs(d,A_450):
    N=(A_450*10**14)/(d**2*(-0.295+1.36*np.exp(-1*((d-96.8)/78.2)**2)))
    return N
#Toma la longitud de onda del pico SPR y entrega el diámetro promedio de las nanopartículas
def Diameter(x):
    x=x-500
    if x<23:
        d=3+7.5*10**(-5)*x**4
    else:
        d=(np.sqrt(x-17)-1)/0.06
    return d
#Función para realizar el fit Chesler-Cram (Gaussiana + exp()*tanh())
def Chesler_Cram_tanh(x,w,x_c1,x_c2,x_c3,A,B,y_0,k2,k3):

```

```

    y=y_0+A*(np.exp(-((x-x_c1)**2)/(2*w))+B*(1-0.5*(1-np.tanh(k2*(x-x_c2))))*np.exp(-
0.5*k3*(np.abs(x-x_c3)+x-x_c3)))
    return y
#Reduce el rango de las longitudes de onda estudiadas
def reduce_range(DF,wavel_min,wavel_max):
    cond = (DF[0] > wavel_min) & (DF[0] < wavel_max)
    return DF[cond]
#Gauss -NO USADA EN LA VERSIÓN FINAL-
def Gauss(x,P,w,y_0,x_c):
    y=y_0+np.sqrt(2/np.pi)*(P/w)*np.exp(-2*((x-x_c)/w)**2)
    return y
#Smooth por convolucion
def smooth(y, box_pts):
    box = np.ones(box_pts)/box_pts
    y_smooth = np.convolve(y, box, mode='same')
    return y_smooth
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Función para generar una barra de progreso del estado del análisis.
def printProgressBar (iterrelaciónn, total, prefix = "", suffix = "", decimals = 1, length = 100, fill = '█',
printEnd = "\r"):
    """
    Call in a loop to create terminal progress bar
    @params:
    iterrelaciónn - Required : current iterrelaciónn (Int)
    total        - Required : total iterrelaciónns (Int)
    prefix       - Optional : prefix string (Str)
    suffix       - Optional : suffix string (Str)
    decimals    - Optional : positive number of decimals in percent complete (Int)
    length       - Optional : character length of bar (Int)
    fill        - Optional : bar fill character (Str)
    printEnd    - Optional : end character (e.g. "\r", "\r\n") (Str)
    """
    percent = ("{0:." + str(decimals) + "f}").format(100 * (iterrelaciónn / float(total)))
    filledLength = int(length * iterrelaciónn // total)
    bar = fill * filledLength + '-' * (length - filledLength)
    print(f'\r{prefix} |{bar}| {percent}% {suffix}', end = printEnd)
    # Print New Line on Complete
    if iterrelaciónn == total:
        print()

import time
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Inicialización de listas
SPR=pd.DataFrame()
parametersList=[]
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Creamos una lista que agrupe para cada archivo una columna con el nombre y otra columna con el
Dataframe del analisis Uv-Vis
#Lista: Macro(nombre de archivo, Dataframe UV-Vis respectivo); baseDF, que es el Dataframe del
espectro base, se excluye de la lista.
nameList=[]

```

```

UV_VisDFList=[]
Macro=[]
for file in filesNPs:

    #leemos el nombre del archivo
    endname=os.path.basename(file)
    name=os.path.splitext(endname)[0]
    nameList.append(name)

    #Convierte el archivo en DataFrame
    UV_VisDF = pd.read_csv(file, header=None)
    UV_VisDF=reduce_range(UV_VisDF,wavel_min,wavel_max)
    UV_VisDFList.append(UV_VisDF)

    if name=='base':
        baseDF=UV_VisDF #Asigna al archivo de base un DataFrame especifico llamado baseDF
    else:
        Macro.append((name,UV_VisDF))
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Cálculo del espectro de absorbancia
#Crea una lista: Macro2(nombre de archivo, Dataframe UV-Vis respectivo, Dataframe SPR respectivo)
Macro2=[]
for i in Macro:
    A=0
    SPR=0
    A=-np.log10(np.abs(i[1][1]/baseDF[1])) #Opera el elemento de la columna Cuentas de cada DataFrame
    respecto al elemento de la columna respectiva de la base
    SPR=pd.DataFrame()
    SPR[0]=i[1][0]
    SPR[1]=A
    Macro2.append((i[0],i[1],SPR))
    #print(SPR, "\n" 'Hola')
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Ejecución de la caracterización
warnings.filterwarnings('error')
parametersList=[]
parameter_Xc1_List=[]
nameList2=[]
xPeakList=[]
yPeakList=[]
d_NPsList=[]
NList=[]
denList=[]
xList=[]
yfitList=[]
yList=[]
l=30*len(Macro2)
#Barra de progreso del proceso
printProgressBar(0, l, prefix = 'Progress:', suffix = 'Complete', length = 50)
for m in range(30):
    for i, j in zip(Macro2,range(len(Macro2))):
        #i[0] es el nombre del archivo
        #i[1] es el dataframe del UV-vis
        #i[2] es el dataframe de la absorbancia

```

```

parameters=0
covariance=0
id_peak=0
Xaux=[]
Yaux=[]
x=0
y=0
x=i[2][0]
x[x == -inf] = 0
x[x == inf] = 0
x=x.fillna(0)
y=i[2][1]
y[y == -inf] = 0
x[x == inf] = 0
y=y.fillna(0)
# ymin=np.min(y)
# y=y-ymin
x=np.array(x)
x=np.round(x,6)
y=np.array(y)
y=np.round(y,6)
c=False
avg=np.mean(y)
avg=np.round(avg,6)
guess=np.round([5000,520,520,520,-0.5,0.5,avg,-0.1,0.1],2)
ex=0
nameList2.append(i[0])
#print(i[0])
start_time = time.time()
while ((c!=True) ):
    end_time = time.time()
    t=end_time - start_time
    try:
        parameters=0
        covariance=0
        ysmooth=smooth(y,3)
        parameters, covariance =
curve_fit(Chesler_Cram_tanh,x,ysmooth,p0=guess,bounds=((10,500,300,300,-10,-10,-100,-0.9,-0.9),
(9e3,550,1e3,1e3,2,2,100,0.9,0.09)), xtol=1e-14, ftol=1e-14, gtol=1e-14)
        # (w,x_c1,x_c2,x_c3,A,B,y_0,k2,k3)

        parameters=np.round(parameters,6)

        #Crea el array en Y a partir de los elementos del array x a traves de la funcion de ajuste
        yfit=Chesler_Cram_tanh(x,*parameters)
        yfit=np.round(yfit,6)

        avg=np.mean(yfit)
        dev=np.std(yfit)
        h=avg+dev
        h=np.round(h,6)

        #Pico en la funcion de ajuste
        id_peak=find_peaks(yfit, height=h, distance=2)
        id_peak=id_peak[0]

        rt=peak_prominences(yfit,np.array(id_peak))
        id_peak=id_peak[0]
        id_peak1=find_peaks(y, height=h, prominence=0.75*rt[0][0])
        id_peak1=id_peak1[0][0]

```

```

if bool(id_peak)==False:
    id_peak=id_peak1

c = True

#Agregar un elemento a la lista "Parametros"
parametersList.append(parameters)
parameter_Xc1_List.append(parameters[1])

#Calculo de la covarianza de cada parametro del ajuste
SE=np.sqrt(np.diag(covariance))
SEP=(np.round(SE,6)/parameters)*100
#print(SEP)
#print(c)
except:
    ex=ex+1
    #print(ex)
    g=random.uniform(4000, 10000)
    g0=random.uniform(500, 550)
    g1=random.uniform(0, 1)
    g2=random.uniform(-avg, avg)
    g3=random.uniform(0, 0.05)
    guess=[g,g0,g0,g0,-g1,g1,g2,-g3,g3]
    c = False

#Calculo del diametro medio de las NPs
d_NPs=Diameter(x[id_peak])
d_NPs=np.round(d_NPs,6)

xPeakList.append(x[id_peak])
yPeakList.append(Chesler_Cram_tanh(x[id_peak],*parameters))

#ID de la longitud de onda donde esta el pico del ajuste
x[id_peak]=np.round(x[id_peak],2)

#Calculo de la absorbancia en 450nm
A_450=Chesler_Cram_tanh(450,*parameters)
A_450=np.round(A_450,6)

#Calculo de la Cantidad de NPs a partir del diametro medio y la absorbancia en 450nm
N=Num_NPs(d_NPs,A_450)

denAu=19.3 #g/cm3
den=denAu*N*1e-15*0.523598776*d_NPs**3
#Den=NumeroDeNPs*DensidadDeOro*VolumenNPs/1cm3(tamano de la seccion transversal)
d_NPsList.append(d_NPs) #Agrega un elemento a la lista "Diametro de NPs"
NList.append(N) #Agrega un elemento a la lista "Cantidad de NPs"
denList.append(den) #Agrega un elemento a la lista "Densidad en ng por ul de NPs"
xList.append(x)
yList.append(y)
yfitList.append(yfit)
# #Liberación de memoria
del x
del y
del yfit

```

```

del parameters
del covariance
del id_peak
gc.collect() #Garbage collect
time.sleep(0.1)
# Update Progress Bar
printProgressBar(m*len(Macro2)+j+1, 1, prefix = 'Progress:', suffix = 'Complete', length = 50)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Creación del DATAFRAME de resultados.
DFdata=pd.DataFrame()
DFdata=pd.DataFrame({'Nombre': nameList2,
                    'Diametro': d_NPsList,
                    '#NPs / mL': NList,
                    'Densidad [ng/ul]': denList,
                    'ParametroXc1': parameter_Xc1_List,
                    'Longitud de onda en el Pico': xPeakList,
                    'Absorbancia en pico': yPeakList,
                    'X':xList,
                    'Y':yList,
                    'Yfit':yfitList})
ty=DFdata.groupby(by=["Nombre"]).describe()
th=ty.iloc[:,[1,2,9,10,17,18,25,26,33,34]].sort_values(by=('Nombre'))
th.columns = th.columns.get_level_values(1)
th.columns=['D-mean','D-desv','NPs-mean','NPs-desv','Density-mean','Density-desv','Xc1-mean','Xc1-
desv','xPeak-mean','xPeak-desv']
ty.iloc[:,[1,2,5,9,10,13,17,18,21,25,26,29,33,34,37]].sort_values(by=(['Diametro','mean']))
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Listas y dataframes para la creación del resumen gráfico
ResultList=[]
result=pd.merge(DFdata, th, on='Nombre',how='outer')
result['resta']= np.abs(result['xPeak-mean'] -result['Longitud de onda en el Pico'])
ResultDF=result.loc[result.groupby("Nombre")["resta"].idxmin()].iloc[:,[0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14
,15,16,17,18,19]]
ResultList=ResultDF.values.tolist()
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Creación del resumen gráfico
fig=plt.figure()
fig.set_size_inches(10*1.5, 1.5*10*len(Macro2)/4)
cols_plot=2
rows_plot=int(np.ceil(len(ResultList)/cols_plot))
#rc('text',usetex=True)
#Para ResultList:
#i[0] es nombre
#i[1] es Diametro Medio
#i[2] es Cantidad Nanoparticulas
#i[3] es Densidad en Ng/ul
#i[4] es Xc1
#i[5] es Xpico
#i[6] es Ypico
#i[7] es X
#i[8] es Y

```

```

#i[9] es Yfit
#i[10] es D-mean
#i[11] es D-desv
#i[12] es NPs-mean
#i[13] es NPs-desv
#i[14] es Density-mean
#i[15] es Density-desv
#i[16] es Xc1-mean
#i[17] es Xc1-desv
#i[18] es xPeak-mean
#i[19] es xPeak-desv
for i,j in zip(ResultList,range(len(ResultList))):

    Nombre=np.array(i[0])
    X=np.array(i[7])
    Y=np.array(i[8])
    Yfit=np.array(i[9])

    ax=fig.add_subplot(rows_plot, cols_plot, j+1)

    c_dots='#A5DADC'##081B2475'##D4F1F4'##A1CED9'
    c_lines1='#106AAF'##106AAF'##189AB4'
    c_lines2='#2A6EAC'
    c_marker='#081B24'##05445E'
    plt.plot(X,Y,c=c_dots)
    #plt.plot(X,Yfit,'-',linewidth=3,c=c_lines2)
    plt.plot(X,Yfit,'-',linewidth=2,c=c_lines1)

    plt.plot(i[5],i[6],'o',c=c_marker,label=r'$\lambda\approx\{ }\$\pm\{ }$ [nm]$ | $\Delta\approx\{ }\$\pm\{ }$ [nm]$.format(np.round(i[18],2),np.round(i[19],2),np.round(i[10],2),np.round(i[11],2),fontsize=18))

    plt.legend(loc='upper center', bbox_to_anchor=(0.5,1.05),
              ncol=1, fancybox=True, shadow=True)
    plt.text(450, min(Y), '\nID: { }\n#NPs'r'$\sim\{ }\$ $\left[\dfrac{\{NPs\}}{\{mL\}}\right]$\nDensidad'r'$\sim\{ }\$ $\left[\dfrac{\{ng\}}{\{\mu\}}\right]$\nDensidad'r'$\sim\{ }\$ $\left[\dfrac{\{ng\}}{\{\mu\}}\right]$.format(i[0],np.format_float_scientific(i[12],precision = 2),np.round(i[14],2)), fontsize = 11,
              bbox = dict(facecolor = '#29B9A9', alpha = 0.1))
    #explicacion de <<\n'r" >>: al usar formato raw <<r">> sirve el comando latex pero no los comandos de
    cambio de linea.
    xLabel = ax.set_xlabel('Wavelength $[nm]$',fontsize = 14) #, linespacing=3.2
    yLabel = ax.set_ylabel('Absorbance $[n.u.]$',fontsize = 14) #, linespacing=3.1
    fig.savefig('Reporte Au NPs.png',dpi=400)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
----

```

7.3.ANEXO 3: Código para la caracterización de nanopartículas de plata

```

+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Importación de librerías
import pandas as pd
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
import glob
import os
import re
from scipy.signal import find_peaks_cwt, find_peaks, peak_prominences
from scipy.optimize import curve_fit
from numpy import inf
import time
import gc
import random
import warnings
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Directorio de Archivos
path="C:\Users\carlo\OneDrive\Documents\NPs Carlos Dic 2021\Ag"
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Creación de lista de todas las direcciones de los archivos de datos .txt
filesNPs = glob.glob(path+"\\Data\\**\\*.txt",
                      recursive = True)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Definición de rango de análisis
wavel_min=320
wavel_max=700
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#FUNCIONES
#Toma el diámetro y devuelve el coeficiente de dispersión
def C_ext(d):
    if d<70:
        C_ext=(3*10**(-17))*d**3+(4*10**(-22))*d**6
        return C_ext
    else:
        C_ext=(1*10**(-17))*d**3+(4*10**(-21))*d**6
        return C_ext

#Toma el diámetro de la nanopartícula y el coeficiente de absorción a 532 nm y 641 nm
def Num_NPs(d,A_532,A_671):
    Cext=C_ext(d)
    if d<70:
        N=A_532/(0.4343*Cext)

```

```

else:
    N=A_671/(0.4343*Cext)
    return N
#Toma la longitud de onda del pico SPR y entrega el diámetro promedio de las nanopartículas
def Diameter(x):
    d=np.sqrt(24.01+100*np.abs(x-385))+4.9
    return d
#Función para realizar el fit Chesler-Cram (Gaussiana + exp()*tanh())
def Chesler_Cram_tanh(x,w,x_c1,x_c2,x_c3,A,B,y_0,k2,k3):
    y=y_0+A*(np.exp(-((x-x_c1)**2)/(2*w))+B*(1-0.5*(1-np.tanh(k2*(x-x_c2)))))*np.exp(-
0.5*k3*(np.abs(x-x_c3)+x-x_c3))
    return y
#Reduce el rango de las longitudes de onda estudiadas
def reduce_range(DF,wavel_min,wavel_max):
    cond = (DF[0] > wavel_min) & (DF[0] < wavel_max)
    return DF[cond]
#Gauss -NO USADA EN LA VERSIÓN FINAL-
def Gauss(x,P,w,y_0,x_c):
    y=y_0+np.sqrt(2/np.pi)*(P/w)*np.exp(-2*((x-x_c)/w)**2)
    return y
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Función para generar una barra de progreso del estado del análisis.
def printProgressBar (iterrelaciónn, total, prefix = "", suffix = "", decimals = 1, length = 100, fill = '█',
printEnd = "\r"):
    """
    Call in a loop to create terminal progress bar
    @params:
    iterrelaciónn - Required : current iterrelaciónn (Int)
    total - Required : total iterrelaciónns (Int)
    prefix - Optional : prefix string (Str)
    suffix - Optional : suffix string (Str)
    decimals - Optional : positive number of decimals in percent complete (Int)
    length - Optional : character length of bar (Int)
    fill - Optional : bar fill character (Str)
    printEnd - Optional : end character (e.g. "\r", "\r\n") (Str)
    """
    percent = ("{0:." + str(decimals) + "f").format(100 * (iterrelaciónn / float(total)))
    filledLength = int(length * iterrelaciónn // total)
    bar = fill * filledLength + '-' * (length - filledLength)
    print(f'\r{prefix} |{bar}| {percent}% {suffix}', end = printEnd)
    # Print New Line on Complete
    if iterrelaciónn == total:
        print()

import time
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Inicialización de Listas
SPR=pd.DataFrame()
parametersList=[]
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Creamos una lista que agrupe para cada archivo una columna con el nombre y otra columna con el

```

```

Dataframe del analisis UV-Vis
#Lista: Macro(nombre de archivo, Dataframe UV-Vis respectivo); baseDF, que es el Dataframe del
espectro base, se excluye de la lista.
nameList=[]
UV_VisDFList=[]
Macro=[]
for file in filesNPs:

    #leemos el nombre del archivo
    endname=os.path.basename(file)
    name=os.path.splitext(endname)[0]
    nameList.append(name)

    #Convierte el archivo en DataFrame
    UV_VisDF = pd.read_csv(file, header=None)
    UV_VisDF=reduce_range(UV_VisDF,wavel_min,wavel_max)
    UV_VisDFList.append(UV_VisDF)

    if name=='base':
        baseDF=UV_VisDF #Asigna al archivo de base un DataFrame especifico llamado baseDF
    else:
        Macro.append((name,UV_VisDF))
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Cálculo del espectro de absorbancia
#Crea la lista: Macro2(nombre de archivo, Dataframe UV-Vis respectivo, Dataframe SPR respectivo)
Macro2=[]
for i in Macro:
    A=0
    SPR=0
    A=-np.log10(np.abs(i[1][1]/baseDF[1])) #Opera el elemento de la columna Cuentas de cada DataFrame
respecto al elemento de la columna respectiva de la base
    SPR=pd.DataFrame()
    SPR[0]=i[1][0]
    SPR[1]=A
    Macro2.append((i[0],i[1],SPR))
    #print(SPR, "\n" 'Hola')
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Ejecución de la caracterización
warnings.filterwarnings('error')
parametersList=[]
parameter_Xc1_List=[]
nameList2=[]
xPeakList=[]
yPeakList=[]
d_NPsList=[]
NList=[]
denList=[]
xList=[]
yfitList=[]
yList=[]
l=30*len(Macro2)
#Barra de progreso del proceso
printProgressBar(0, l, prefix = 'Progress:', suffix = 'Complete', length = 50)
for m in range(30):

```

```

for i, j in zip(Macro2,range(len(Macro2))):
#i[0] es el nombre del archivo
#i[1] es el dataframe del UV-vis
#i[2] es el dataframe de la absorbancia
    parameters=0
    covariance=0
    id_peak=0
    Xaux=[]
    Yaux=[]
    x=0
    y=0
    x=i[2][0]
    x[x == -inf] = 0
    x[x == inf] = 0
    x=x.fillna(0)
    y=i[2][1]
    y[y == -inf] = 0
    x[x == inf] = 0
    y=y.fillna(0)
#    ymin=np.min(y)
#    y=y-ymin
    x=np.array(x)
    x=np.round(x,6)
    y=np.array(y)
    y=np.round(y,6)
    c=False
    avg=np.mean(y)
    avg=np.round(avg,6)
    guess=np.round([5000,390,390,390,-0.5,0.5,avg,-0.1,0.1],2)
    ex=0
    nameList2.append(i[0])
    #print(i[0])
    start_time = time.time()
    while ((c!=True) ):
        end_time = time.time()
        t=end_time - start_time
        try:

            parameters=0
            covariance=0
            parameters, covariance =
curve_fit(Chesler_Cram_tanh,x,y,p0=guess,bounds=((100,3e2,3e2,3e2,-10,-10,-10,-0.9,-0.9),
(9e3,1e3,1e3,1e3,3,3,10,0.2,0.09)), xtol=1e-14, ftol=1e-14, gtol=1e-14)
            #
            (w,x_c1,x_c2,x_c3,A,B,y_0,k2,k3)

            parameters=np.round(parameters,6)

            #Crea el array en Y a partir de los elementos del array x a traves de la funcion de ajuste
            yfit=Chesler_Cram_tanh(x,*parameters)
            yfit=np.round(yfit,6)

            avg=np.mean(yfit)
            dev=np.std(yfit)
            h=avg+dev
            h=np.round(h,6)

            #Pico en la funcion de ajuste
            id_peak=find_peaks(yfit, height=h, distance=2)
            id_peak=id_peak[0]

```

```

rt=peak_prominences(yfit,np.array(id_peak))
id_peak=id_peak[0]
id_peak1=find_peaks(y, height=h, prominence=0.75*rt[0][0])
id_peak1=id_peak1[0][0]

if bool(id_peak)==False:
    id_peak=id_peak1

c = True

#Agregar un elemento a la lista "Parametros"
parametersList.append(parameters)
parameter_Xc1_List.append(parameters[1])

#Calculo de la covarianza de cada parametro del ajuste
SE=np.sqrt(np.diag(covariance))
SEP=(np.round(SE,6)/parameters)*100
#print(SEP)

except:

ex=ex+1
#print(ex)
g=random.uniform(4000, 10000)
g0=random.uniform(350, 550)
g1=random.uniform(0, 1)
g2=random.uniform(-avg, avg)
g3=random.uniform(0, 0.05)
guess=[g,g0,g0,g0,-g1,g1,g2,-g3,g3]
c = False

#Calculo del diametro medio de las NPs
d_NPs=Diameter(x[id_peak])
d_NPs=np.round(d_NPs,6)

xPeakList.append(x[id_peak])
yPeakList.append(Chesler_Cram_tanh(x[id_peak],*parameters))

#ID de la longitud de onda donde esta el pico del ajuste
x[id_peak]=np.round(x[id_peak],2)

#Calculo de la absorbancia en 532nm y 671nm
A_532=Chesler_Cram_tanh(532,*parameters)
A_671=Chesler_Cram_tanh(671,*parameters)

A_532=np.round(A_532,6)
A_671=np.round(A_671,6)

#Calculo de la Cantidad de NPs a partir del diametro medio y la absorbancia
N=Num_NPs(d_NPs,A_532,A_671)

denAg=10.49
den=denAg*N*1e-15*0.523598776*d_NPs**3
#Den=NumeroDeNPs*DensidadDeLaPlata*VolumenNPs/1cm3(tamano de la seccion transversal)
d_NPsList.append(d_NPs) #Agrega un elemento a la lista "Diametro de NPs"
NList.append(N) #Agrega un elemento a la lista "Cantidad de NPs"

```

```

denList.append(den) #Agrega un elemento a la lista "Densidad en ng por ul de NPs"
xList.append(x)
yList.append(y)
yfitList.append(yfit)

# #Liberación de memoria
del x
del y
del yfit
del parameters
del covariance
del id_peak
gc.collect() #Garbage collect
time.sleep(0.1)
# Update Progress Bar
printProgressBar(m*len(Macro2)+j+1, 1, prefix = 'Progress:', suffix = 'Complete', length = 50)

----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Creación del DATAFRAME de resultados.
DFdata=pd.DataFrame()
DFdata=pd.DataFrame({'Nombre': nameList2,
                    'Diametro': d_NPsList,
                    '#NPs / mL': NList,
                    'Densidad [ng/ul]': denList,
                    'ParametroXc1': parameter_Xc1_List,
                    'Longitud en el Pico': xPeakList,
                    'Absorbancia en pico': yPeakList,
                    'X':xList,
                    'Y':yList,
                    'Yfit':yfitList})
ty=DFdata.groupby(by=["Nombre"]).describe()
th=ty.iloc[:,[1,2,9,10,17,18,25,26,33,34]].sort_values(by=({'Nombre'}))
th.columns = th.columns.get_level_values(1)
th.columns=['D-mean','D-desv','NPs-mean','NPs-desv','Density-mean','Density-desv','Xc1-mean','Xc1-
desv','xPeak-mean','xPeak-desv']
ty.iloc[:,[1,2,5,9,10,13,17,18,21,25,26,29,33,34,37]].sort_values(by=({'Diametro','mean'}))
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Listas y dataframes para la creación del resumen gráfico
ResultList=[]
result=pd.merge(DFdata, th, on='Nombre',how='outer')
result['resta']= np.abs(result['xPeak-mean'] -result['Longitud en el Pico'])
ResultDF=result.loc[result.groupby("Nombre")["resta"].idxmin()].iloc[:,[0,1,2,3,4,5,6,7,8,9,10,11,12,13,14
,15,16,17,18,19]]
ResultList=ResultDF.values.tolist()
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Creación del resumen gráfico
fig=plt.figure()
fig.set_size_inches(10*1.5, 1.5*10*len(Macro2)/4)
cols_plot=2
rows_plot=int(np.ceil(len(ResultList)/cols_plot))
#rc('text',usetex=True)
#Para ResultList:

```

```

#i[0] es nombre
#i[1] es Diametro Medio
#i[2] es Cantidad Nanoparticulas
#i[3] es Densidad en Ng/ul
#i[4] es Xc1
#i[5] es Xpico
#i[6] es Ypico
#i[7] es X
#i[8] es Y
#i[9] es Yfit
#i[10] es D-mean
#i[11] es D-desv
#i[12] es NPs-mean
#i[13] es NPs-desv
#i[14] es Density-mean
#i[15] es Density-desv
#i[16] es Xc1-mean
#i[17] esXc1-desv
#i[18]es xPeak-mean
#i[19] es xPeak-desv
for i,j in zip(ResultList,range(len(ResultList))):

    Nombre=np.array(i[0])
    X=np.array(i[7])
    Y=np.array(i[8])
    Yfit=np.array(i[9])

    ax=fig.add_subplot(rows_plot, cols_plot, j+1)

    c_dots='#A5DADC'##081B2475'##D4F1F4'##A1CED9'
    c_lines1='#106AAF'##106AAF'##189AB4'
    c_lines2='#2A6EAC'
    c_marker='#081B24'##05445E'
    plt.plot(X,Y,c=c_dots)

    plt.plot(X,Yfit,'-',linewidth=2,c=c_lines1)

    plt.plot(i[5],i[6],'o',c=c_marker,label=r'$\lambda\approx\{\}\$\pm\{\}\text{ [nm]}\$ | $\mathcal{D}\approx\{\}\$\pm\{\}\text{ [nm]}\$'.format(np.round(i[18],2),np.round(i[19],2),np.round(i[10],2),np.round(i[11],2),fontsize = 18))

    plt.legend(loc='upper center', bbox_to_anchor=(0.5,1.05),
              ncol=1, fancybox=True, shadow=True)
    plt.text(350, min(Y), '\nID: \{\}\n#NPs'r'$\sim\{\}\$ $\left[\dfrac{\{\}\{\}\text{ [mL]}\}\right]$\nDensity'r'$\sim\{\}\$ $\left[\dfrac{\{\}\{\}\text{ [ng]}\}\{\}\mu\text{ l}\right]$\n'.format(i[0],
    np.format_float_scientific(i[12],precision = 2),np.round(i[14],2)), fontsize = 11,
            bbox = dict(facecolor = '#29B9A9', alpha = 0.1))
    #explicacion de <<"\n\r" >>: al usar formato raw <<r">> sirve el comando latex pero no los comandos de
    cambio de linea.
    xLabel = ax.set_xlabel('Wavelength $\text{[nm]}\$',fontweight='bold', fontsize = 14)
    yLabel = ax.set_ylabel('Absorbance $\text{[n.u.]}\$',fontweight='bold', fontsize = 14)
    fig.savefig('Reporte Ag NPs.png',dpi=300)
----
----

```

7.4.ANEXO 4: Código para realizar la comparación entre LIBS y NELIBS.

```

== Configuración e inicio de Sesión en Spark
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Busca los módulos de spark existentes y, si existen, las sesiones de Spark iniciadas.
import findspark
findspark.init()
findspark.find()
from pyspark import SparkContext, SparkConf
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Inicia una sesión SQL para pySpark y la librerías que necesitamos para tratar RDD y DataFrames.
from pyspark.sql import SparkSession
from pyspark.sql.types import StructType, StructField, IntegerType
from pyspark.sql.types import StringType, FloatType, Row
from pyspark.sql.functions import *
import pyspark.sql.functions as F
from pyspark.sql import Window
from pyspark.sql import SQLContext
from pyspark.sql.functions import lit
from pyspark.storagelevel import StorageLevel
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Importa librerías específicas de Python
import pandas as pd
import glob
import os
import re
import numpy as np
import matplotlib.pyplot as plt
from scipy.signal import find_peaks_cwt, find_peaks
import time
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Define las variables de los contextos.
conf = (SparkConf().set("spark.driver.maxResultSize", "0"))
sc = SparkContext(conf=conf)
spark = SparkSession.builder.appName("Particionado").master("local[*]").getOrCreate()
#sc = SparkContext(master="local", appName="DataFrames")
sqlContext = SQLContext(spark)
#Improvement Shuffle partitions for local deployments
sqlContext.setConf("spark.sql.shuffle.partitions", "12")
sqlContext.setConf("spark.default.parallelism", "12")
#Estándar de persistencia a usar
#class pyspark.StorageLevel(useDisk, useMemory, useOffHeap, deserialized, replication=1)
StorageLevel.MEMORY_AND_DISK_3 = StorageLevel(True,True,False,False,3)
----
== Definición de directorios y funciones globales
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]

```

```

----
#Definimos la ruta del directorio donde están los datos.
path="C:\Users\carlo\Big-Data-Tools\Data\CENH LIBS\"
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Llama de forma iterativa a cada direccion *.ols de las subcarpetas de la ruta principal de los datos. iglob()
es iterativo
#for filename in glob.iglob(path+"\\LIBS\\**\\*.ols", recursive = True):
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
def eliminaEncabezado(indice, interador):
    return iter(list(interador)[8:]) #Los archivos OLS del Ocean Optics inician sus datos en la linea 8.
----
== Configuración para carga y análisis de LIBS
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Enlista todas las direcciones de los archivos para LIBS
filesLIBS = glob.glob(path+"\\LIBS\\**\\*.ols",
                      recursive = True)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Estructura del RDD definitivo libsRDD
schemaLIBS = StructType ([
    StructField("name", StringType(),False),
    StructField("wavel", FloatType(), False),
    StructField("intensity", FloatType(), False),
    StructField("fluence", StringType(), False),
    StructField("samples", IntegerType(), False),
    StructField("qdelay", FloatType(), False)
])
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#inicializaciones de listas, RDDs y DFs
libsRDD=spark.sparkContext.parallelize([]) #inicializa el RDD
libsDF = spark.createDataFrame([], schemaLIBS) #inicializa el DF
auxRDD=spark.sparkContext.parallelize([])
nameLibsList=[]
#listsize=len(filesLIBS) #tamaño de la lista con las direcciones
#libsDF=libsRDD.toDF(schemaLIBS) #crea el DF a partir del RDD bajo schemaLIBS
qDelayList=[] #inicializa la lista vacia para los QDelays
#head=[] #inicializa la lista auxiliar para tomar las primeras lineas del archivo
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
for file in filesLIBS:

    #Obtener el valor de QDelay del encabezado cada archivo
    HEAD_DF = pd.read_csv(file, nrows=1, delimiter="\t", skiprows= lambda x : x in [1, 2])
    Q_aux=HEAD_DF["Data File"][0]
    qdelay=float(re.findall(r'(\d\d+\.\d*\d+\.\d*)',Q_aux)[0])

```

```

base=os.path.basename(file) #extrae la parte final de la ruta, es decir el nombre.extension del archivo
name=os.path.splitext(base)[0] #nombre del archivo que esta leyendo en este momento
ext=os.path.splitext(base)[1] #extension del archivo

nameLibsList.append(name) #anade elemento a la lista nameLibsList

#aplicamos la funcion para hallar expresiones regulares y extraer informacion relevante del nombre del
archivo
regexLibs=re.findall(r'(\w+)-(\w+)-(\w+)', name)
libs=regexLibs[0][0] #extrae la primera parte de la codificacion del nombre
fluence=regexLibs[0][1] #extrae la segunda parte de la codificacion del nombre
sample=regexLibs[0][2] #extrae la tercera parte de la codificacion del nombre

libsRDD0=spark.sparkContext.textFile(file,1).map(lambda l: l.split("\t"))#Asigna, en cada iteración, un
archivo OLS a libsRDD0, reconoce la separacion por tabulador para diferenciar elementos.
libsRDD0=libsRDD0.mapPartitionsWithIndex(eliminaEncabezado)
libsRDD0=libsRDD0.map(lambda x: (name, x[0], x[1], fluence, sample, qdelay)) #elimina todo el
encabezado de cada archivo
libsRDD0 = libsRDD0.map(lambda l: (
    str(l[0]),
    float(l[1]),
    float(l[2]),
    str(l[3]),
    int(l[4]),
    float(l[5])
))

libsRDD=libsRDD.union(libsRDD0) #unimos cada RDD0 en un solo RDD completo

#a=libsRDD.getNumPartitions()
#if libsRDD.getNumPartitions()==30:
#    #libsRDD=libsRDD.repartition(12)
#a=libsRDD.take(1)

#print(a)

libsDF0 = libsRDD0.toDF(schemaLIBS) #Creamos un dataframe auxiliar, toma el formato auxiliar que
solo incluye wave y count
#agrega nuevas columnas al dataframe auxiliar libsDF0
#libsDF0=libsDF0.withColumn("id", lit(name)).withColumn("tipo", lit(libs)).withColumn("ird",
lit(fluencia)).withColumn("disparo", lit(muestra)).withColumn("qdelay", lit(qqq))
libsDF=libsDF.union(libsDF0) #juntamos en un solo dataframe toda la información para libs

----
== Configuración para carga y análisis de NELIBS
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Enlista todas las direcciones de los archivos para LIBS
filesNELIBS=[]
head=[]
filesNELIBS = glob.glob(path+"\\NELIBS\\**\\*.ols",
    recursive = True)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Estructura del DF nelibsDF

```

```

schemaNELIBS = StructType ([
    StructField("name", StringType(),False),
    StructField("wavel", FloatType(), False),
    StructField("intensity", FloatType(), False),
    StructField("nanoparticle", StringType(), False),
    StructField("npdensity", StringType(), False),
    StructField("fluence", StringType(), False),
    StructField("samples", IntegerType(), False),
    StructField("qdelay", FloatType(), False)
])
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#inicializaciones de listas, RDDs y DFs
nelibsRDD=spark.sparkContext.parallelize([]) #inicializa el RDD
nelibsDF = spark.createDataFrame([], schemaNELIBS) #inicializa el DF
auxRDD=spark.sparkContext.parallelize([])
nameNELibsList=[]
#listsize=len(filesLIBS) #tamaño de la lista con las direcciones
#libsDF=libsRDD.toDF(schemaLIBS) #crea el DF a partir del RDD bajo schemaLIBS
qDelayList=[] #inicializa la lista vacia para los QDelays
#head=[] #inicializa la lista auxiliar para tomar las primeras lineas del archivo
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
for file in filesNELIBS:

    #Obtener el valor de QDelay del encabezado cada archivo
    HEAD_DF = pd.read_csv(file, nrows=1, delimiter="\t", skiprows= lambda x : x in [1, 2])
    Q_aux=HEAD_DF["Data File"][0]
    qdelay=float(re.findall(r'\D\d+\.\d*\d+\.\d*'),Q_aux)[0])

    base=os.path.basename(file) #extrae la parte final de la ruta, es decir el nombre.extension del archivo
    name=os.path.splitext(base)[0] #nombre del archivo que esta leyendo en este momento
    ext=os.path.splitext(base)[1] #extension del archivo

    nameNELibsList.append(name) #anade elemento a a la lista nameLibsList

    #aplicamos la funcion para hallar expresiones regulares
    regexNELibs=re.findall(r'(\w+)-(\w+)-(\w+)-(\w+)', name)
    type_size=regexNELibs[0][0] #extrae la primera parte de la codificacion del nombre: tipo y tamaño de
    Nanopartícula
    sup_dis=regexNELibs[0][1] #extrae la segunda parte de la codificacion del nombre: la dispersion
    superficial
    fluence=regexNELibs[0][2] #extrae la tercera parte de la codificacion del nombre: la fluencia del laser
    sample=regexNELibs[0][3] #extrae la cuarta parte de la codificacion del nombre: el número de disparo
    o número de muestra

    nelibsRDD0=spark.sparkContext.textFile(file,1).map(lambda l: l.split("\t"))#Asigna, en cada iteración,
    un archivo OLS a libsRDD0, reconoce la separación por tabulador para diferenciar elementos.
    nelibsRDD0=nelibsRDD0.mapPartitionsWithIndex(eliminaEncabezado)
    nelibsRDD0=nelibsRDD0.map(lambda x: (name, x[0], x[1],type_size, sup_dis, fluence, sample,
    qdelay)) #elimina todo el encabezado de cada archivo
    nelibsRDD0 = nelibsRDD0.map(lambda l: (
        str(l[0]),
        float(l[1]),
        float(l[2]),
        str(l[3]),

```

```

    str(l[4]),
    str(l[5]),
    int(l[6]),
    float(l[7])
))

nelibsRDD=nelibsRDD.union(nelibsRDD0) #unimos cada RDD0 en un solo RDD completo

#a=libsRDD.getNumPartitions()
#if libsRDD.getNumPartitions()==30:
    #libsRDD=libsRDD.repartition(12)
#a=libsRDD.take(1)

#print(a)

nelibsDF0 = nelibsRDD0.toDF(schemaNELIBS) #Creamos un dataframe auxiliar, toma el formato
auxiliar que solo incluye wave y count
#agrega nuevas columnas al dataframe auxiliar libsDF0
#libsDF0=libsDF0.withColumn("id", lit(name)).withColumn("tipo", lit(libs)).withColumn("ird",
lit(fluencia)).withColumn("disparo", lit(muestra)).withColumn("qdelay", lit(qqq))
nelibsDF=nelibsDF.union(nelibsDF0) #juntamos en un solo dataframe toda la información para libs

----
== LIBS - Filtros, medidas y agrupaciones para una longitud de onda
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
magic_percentile = F.expr("percentile_approx(intensity, 0.5)")
with open(filesLIBS[0]) as myfile:
    head=[next(myfile) for x in range(13702)]
    wavelist=[]
    cuentaslist=[]
    for i in range (7,13702):
        data=re.findall(r'(\D\d+\.\d*\d+\.\d*)',head[i])
        wave=float(data[0])
        cuentas=float(data[1])
        wavelist.append(wave)
        cuentaslist.append(cuentas)

    cuentasArray=np.array(cuentaslist)
    avg=np.mean(cuentasArray)
    dev=np.std(cuentasArray)
    h=avg+5*dev
    asd=find_peaks(cuentasArray, height=h, distance=2)
    ars0=wavelist[asd[0][0]]
    ars1=wavelist[asd[0][1]]
    ars2=wavelist[asd[0][2]]
    ars3=wavelist[asd[0][3]]
    print(ars0,ars1,ars2,ars3)

----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Establece una partición de 12 para el libsRDD.
auxRDD=spark.sparkContext.parallelize([])
#auxRDD=libsRDD.repartition(12)
auxRDD=libsDF.rdd.repartition(12) #si hay problemas de tamaño del RDD se usa el original de DF
libsDF=sqlContext.createDataFrame(auxRDD,schemaLIBS)
----

```

```

+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Envia el RDD memoria (y si no alcanza lo envía al disco) de libsDF para que esté disponible en memoria
luego de su primera ejecución.
libsDF.rdd.persist(StorageLevel.MEMORY_AND_DISK_3)
#libsDF.rdd.saveAsTextFile(path+"\RDDs\")
#libsDF.rdd.unpersist()
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#for name in nameLibsList:
start_time = time.time()
libs_peaks_DF0=libsDF.filter( libsDF.wavel== str(ars0)
).drop("name", "samples", "qdelay").groupBy("fluence").agg(magic_percentile.alias("mediana"),round(mea
n("intensity"),2).alias("media"),max("intensity").alias("max"),min("intensity").alias("min")).sort("fluence"
)
libs_peaks_DF0=libs_peaks_DF0.withColumn('wavel', lit(ars0))
libs_peaks_DF1=libsDF.filter( libsDF.wavel== str(ars1)
).drop("name", "samples", "qdelay").groupBy("fluence").agg(magic_percentile.alias("mediana"),round(mea
n("intensity"),2).alias("media"),max("intensity").alias("max"),min("intensity").alias("min")).sort("fluence"
)
libs_peaks_DF1=libs_peaks_DF1.withColumn('wavel', lit(ars1))
libs_peaks_DF2=libsDF.filter( libsDF.wavel== str(ars2)
).drop("name", "samples", "qdelay").groupBy("fluence").agg(magic_percentile.alias("mediana"),round(mea
n("intensity"),2).alias("media"),max("intensity").alias("max"),min("intensity").alias("min")).sort("fluence"
)
libs_peaks_DF2=libs_peaks_DF2.withColumn('wavel', lit(ars2))
libs_peaks_DF3=libsDF.filter( libsDF.wavel== str(ars3)
).drop("name", "samples", "qdelay").groupBy("fluence").agg(magic_percentile.alias("mediana"),round(mea
n("intensity"),2).alias("media"),max("intensity").alias("max"),min("intensity").alias("min")).sort("fluence"
)
libs_peaks_DF3=libs_peaks_DF3.withColumn('wavel', lit(ars3))
libs_peaks_DF=libs_peaks_DF0
libs_peaks_DF=libs_peaks_DF.union(libs_peaks_DF1)
libs_peaks_DF=libs_peaks_DF.union(libs_peaks_DF2)
libs_peaks_DF=libs_peaks_DF.union(libs_peaks_DF3)
end_time = time.time()
print("Total execution time: { } seconds".format(end_time - start_time))
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
libs_peaks_DF
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#libsDF.rdd.unpersist()
#auxRDD=spark.sparkContext.parallelize([])
#auxRDD=libs_peaks_DF.rdd.repartition(12)
#libs_peaks_DF=sqlContext.createDataFrame(auxRDD,schemaLIBS)
#libs_peaks_DF.rdd.persist(StorageLevel.MEMORY_AND_DISK_3)
----
== NELIBS - Filtros, medidas y agrupaciones para una longitud de onda
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#Establece una partición de 12 para el nelibsRDD.

```

```

auxRDD=spark.sparkContext.parallelize([])
#auxRDD=nelibsRDD.repartition(12)
auxRDD=nelibsDF.rdd.repartition(12) #si hay problemas de tamaño del RDD se usa el RDD original de
DF
nelibsDF=sqlContext.createDataFrame(auxRDD,schemaNELIBS)
#nelibsDF.rdd.unpersist()
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
nelibsDF.rdd.persist(StorageLevel.MEMORY_AND_DISK_3)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
start_time = time.time()
nelibs_peaks_DF0=nelibsDF.filter( nelibsDF.wavel== str(ars0)
).drop("name", "samples", "qdelay").groupBy("nanoparticle", "npdensity", "fluence").agg(magic_percentile.a
lias("mediana"),mean("intensity").alias("media"),max("intensity").alias("max"),min("intensity").alias("min
")).sort("fluence")
nelibs_peaks_DF0=nelibs_peaks_DF0.withColumn('wavel', lit(ars0))
nelibs_peaks_DF1=nelibsDF.filter( (nelibsDF.wavel== str(ars1))
).drop("name", "samples", "qdelay").groupBy("nanoparticle", "npdensity", "fluence").agg(magic_percentile.a
lias("mediana"),mean("intensity").alias("media"),max("intensity").alias("max"),min("intensity").alias("min
")).sort("fluence")
nelibs_peaks_DF1=nelibs_peaks_DF1.withColumn('wavel', lit(ars1))
nelibs_peaks_DF2=nelibsDF.filter( (nelibsDF.wavel== str(ars2))
).drop("name", "samples", "qdelay").groupBy("nanoparticle", "npdensity", "fluence").agg(magic_percentile.a
lias("mediana"),mean("intensity").alias("media"),max("intensity").alias("max"),min("intensity").alias("min
")).sort("fluence")
nelibs_peaks_DF2=nelibs_peaks_DF2.withColumn('wavel', lit(ars2))
nelibs_peaks_DF3=nelibsDF.filter( (nelibsDF.wavel== str(ars3))
).drop("name", "samples", "qdelay").groupBy("nanoparticle", "npdensity", "fluence").agg(magic_percentile.a
lias("mediana"),mean("intensity").alias("media"),max("intensity").alias("max"),min("intensity").alias("min
")).sort("fluence")
nelibs_peaks_DF3=nelibs_peaks_DF3.withColumn('wavel', lit(ars3))
nelibs_peaks_DF=nelibs_peaks_DF0
nelibs_peaks_DF=nelibs_peaks_DF.union(nelibs_peaks_DF1)
nelibs_peaks_DF=nelibs_peaks_DF.union(nelibs_peaks_DF2)
nelibs_peaks_DF=nelibs_peaks_DF.union(nelibs_peaks_DF3)
end_time = time.time()
print("Total execution time: { } seconds".format(end_time - start_time))
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
#nelibsDF.rdd.unpersist()
#auxRDD=spark.sparkContext.parallelize([])
#auxRDD=nelibs_peaks_DF.rdd.repartition(12)
#nelibs_peaks_DF=sqlContext.createDataFrame(auxRDD)
#nelibs_peaks_DF.rdd.persist(StorageLevel.MEMORY_AND_DISK_3)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
MEJORA_DF = nelibs_peaks_DF.join(libs_peaks_DF, nelibs_peaks_DF.fluence==libs_peaks_DF.fluence
, "left").withColumn("RELACIÓN MEDIANA",
nelibs_peaks_DF.mediana/libs_peaks_DF.mediana).withColumn("RELACIÓN MEDIA",
nelibs_peaks_DF.media/libs_peaks_DF.media).withColumn("RELACIÓN MAX",
nelibs_peaks_DF.max/libs_peaks_DF.max).withColumn("RELACIÓN MIN",

```

```
nelibs_peaks_DF.min/libs_peaks_DF.min).select("nanoparticle","npdensity",libs_peaks_DF.fluence,libs_p
eaks_DF.wavel.alias("wavellibs"),nelibs_peaks_DF.wavel.alias("wavelnelibs"),"RELACIÓN
MEDIANA","RELACIÓN MEDIA","RELACIÓN MAX","RELACIÓN MIN")
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
MEJORA_DF=MEJORA_DF.filter(MEJORA_DF.wavellibs==MEJORA_DF.wavelnelibs)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
MEJORA_DF.toPandas().to_csv("REPORTE DE DATOS NELIBS.csv", header=True)
----
+*In[ ]:*+
[source, ipython3]
----
spark.stop()
----
```

7.5.ANEXO 5: Gráficas de los resultados de la síntesis y caracterización de nanopartículas de plata.

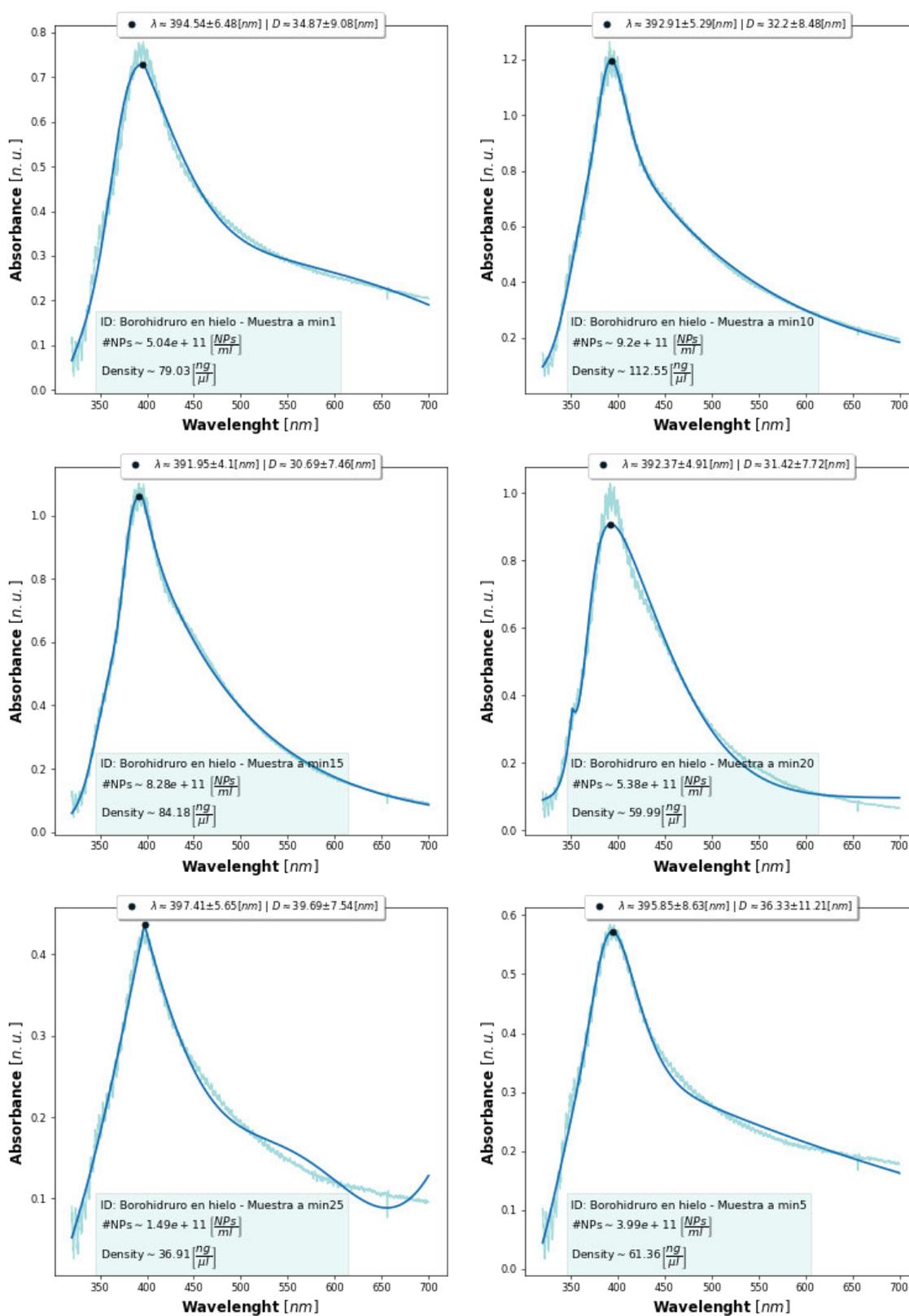


Figura 19.- Caracterización de Ag NPs sintetizadas con Borohidruro en baño de hielo.

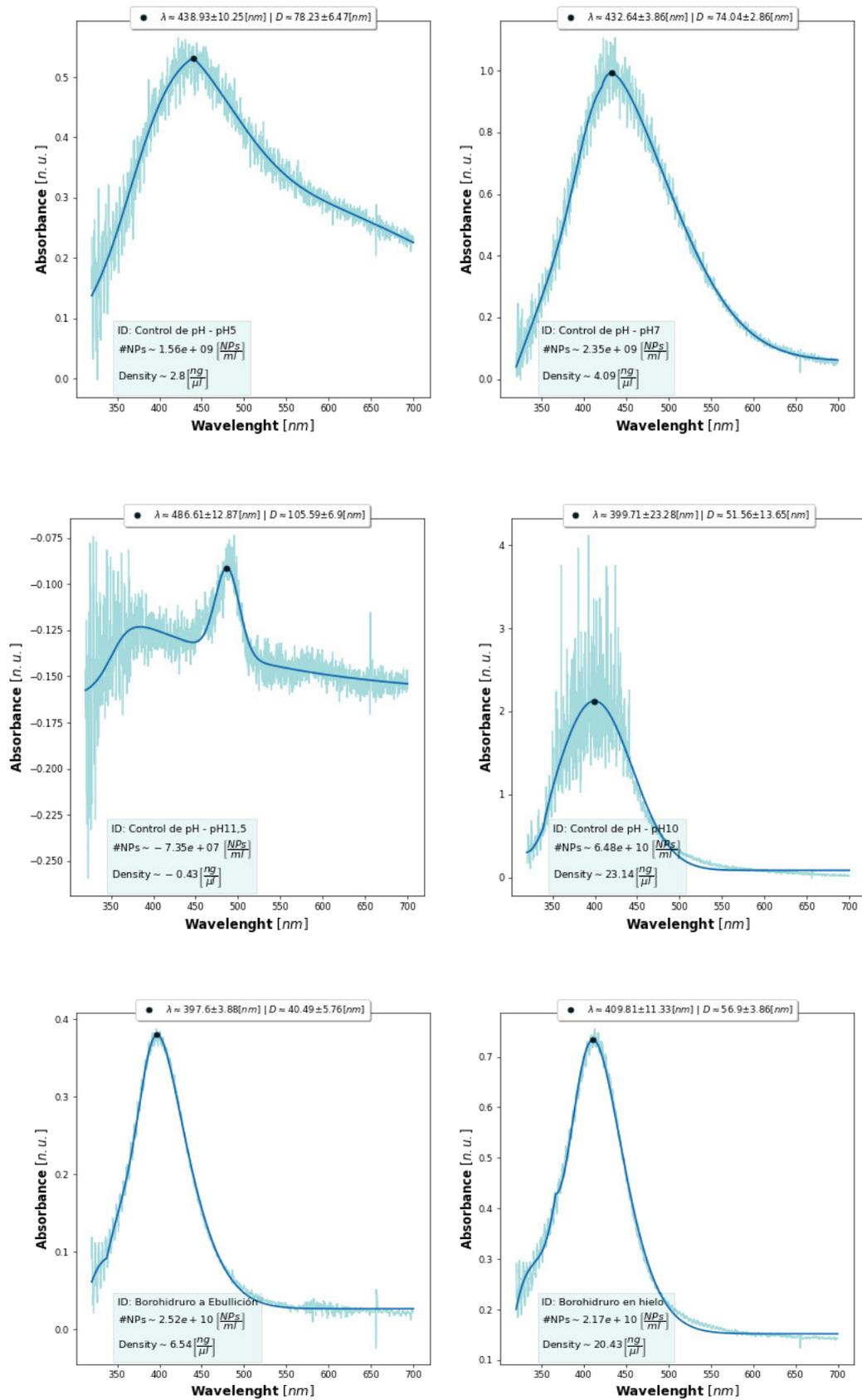


Figura 20.- Caracterización de Ag NPs sintetizadas por distintos métodos.

7.6.ANEXO 6: Gráficas de los resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para Ag NPs

7.6.1. RELACIÓN DE MEJORA MÍNIMO-A-MÍNIMO

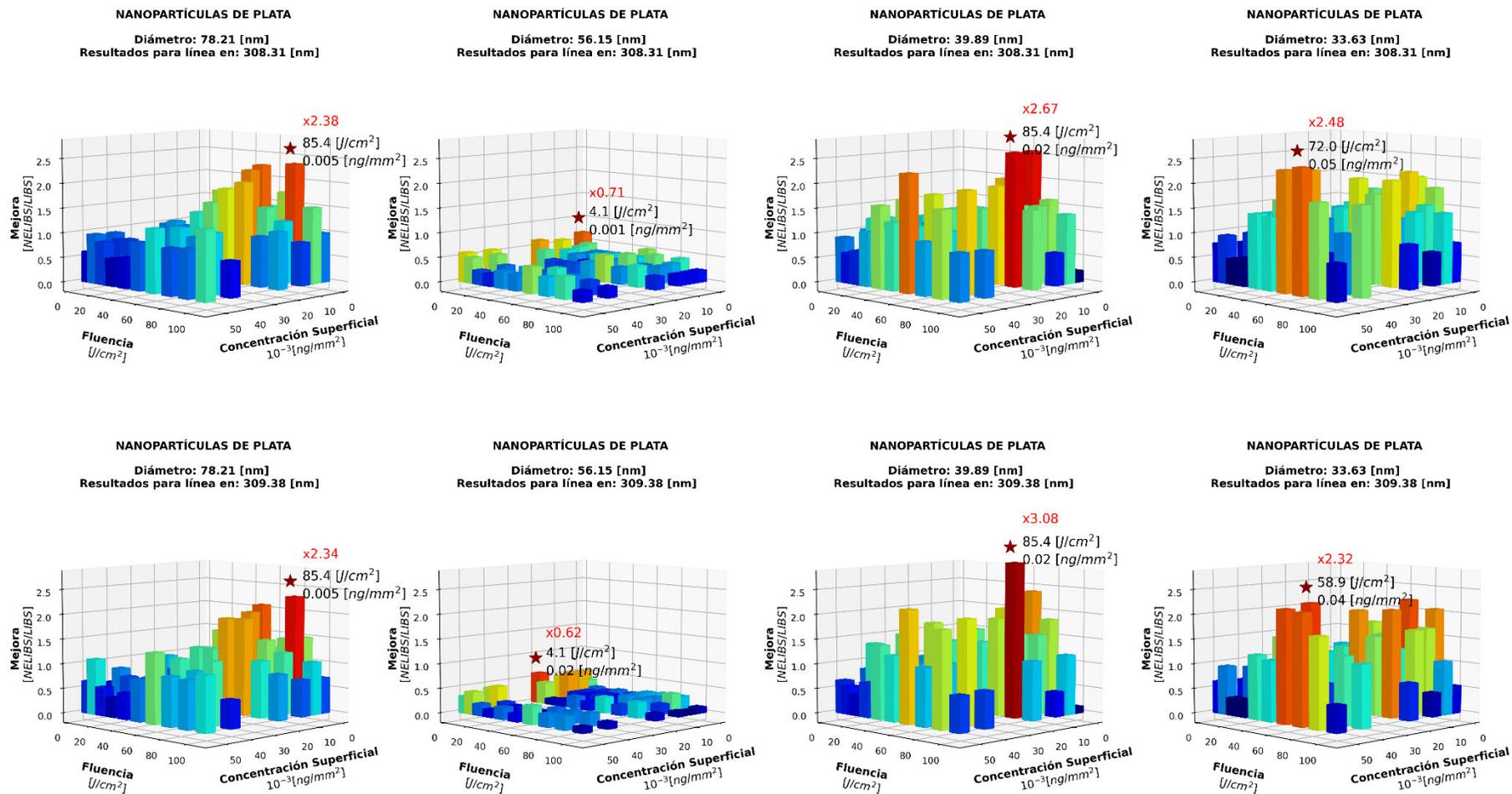


Figura 21.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Ag NPs, comparando los mínimos de intensidad de cada grupo.

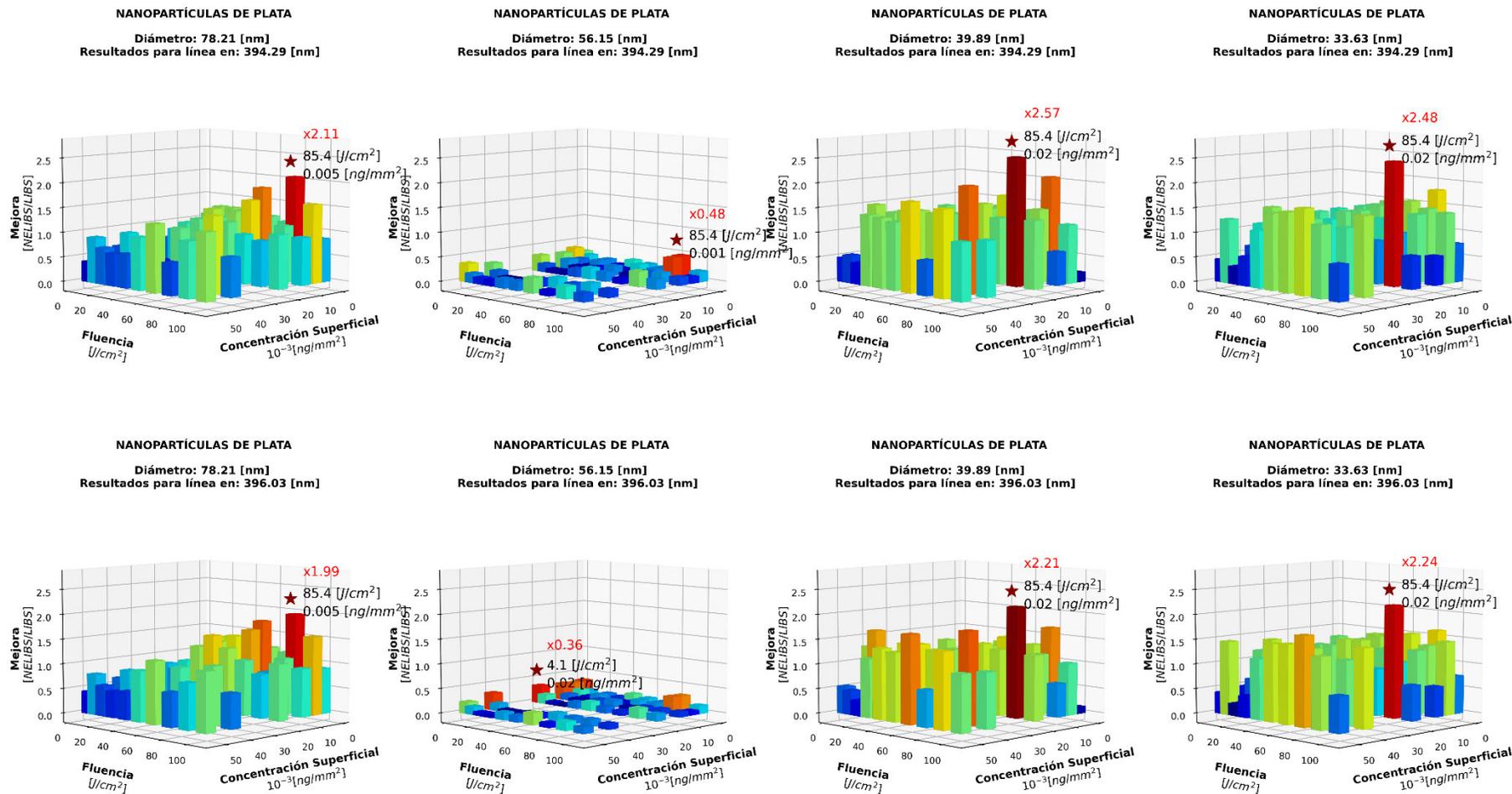


Figura 22.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Ag NPs, comparando los mínimos de intensidad de cada grupo.

7.6.2. RELACIÓN DE MEJORA MÁXIMO-A-MÁXIMO

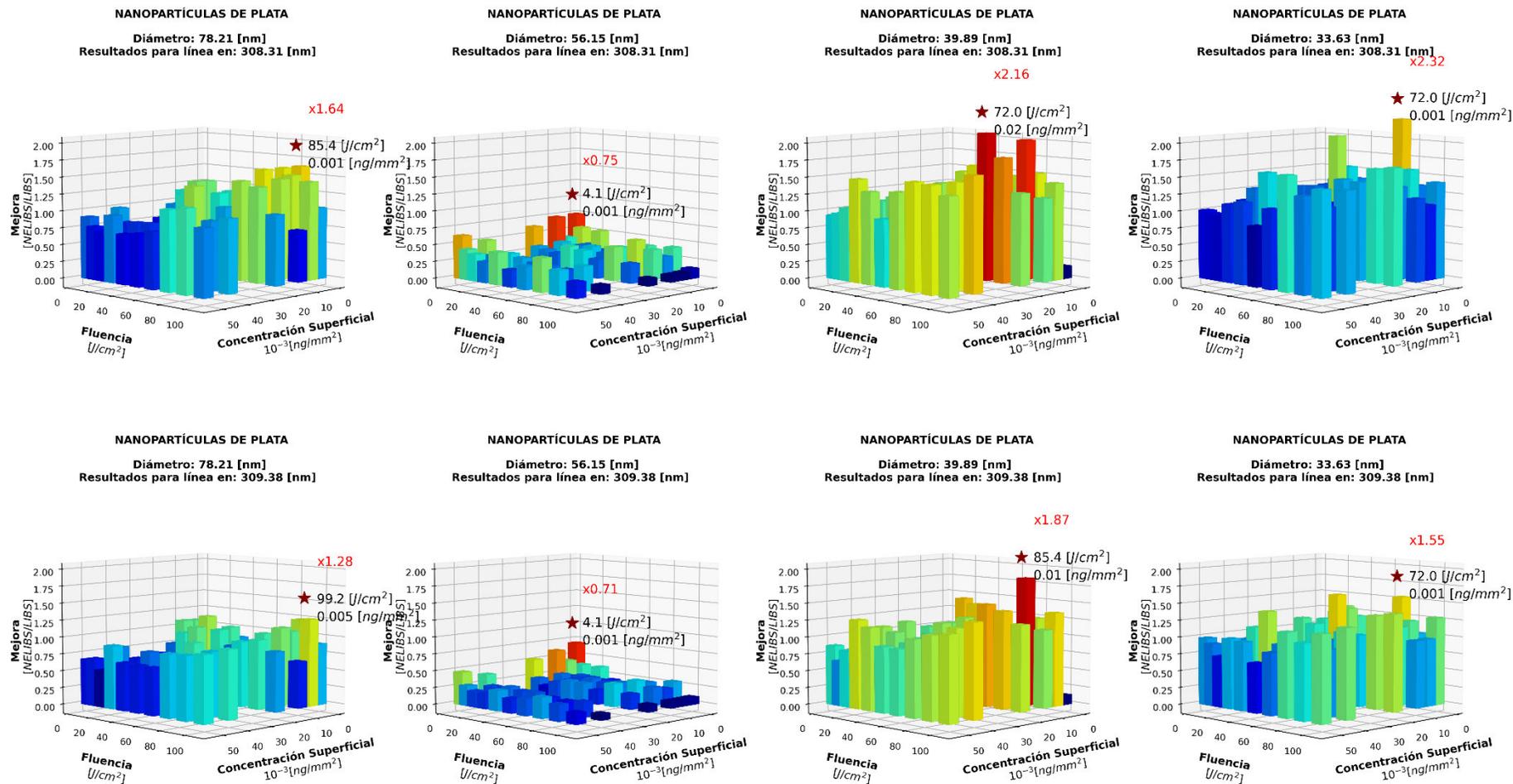


Figura 23.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Ag NPs, comparando los máximos de intensidad de cada grupo.

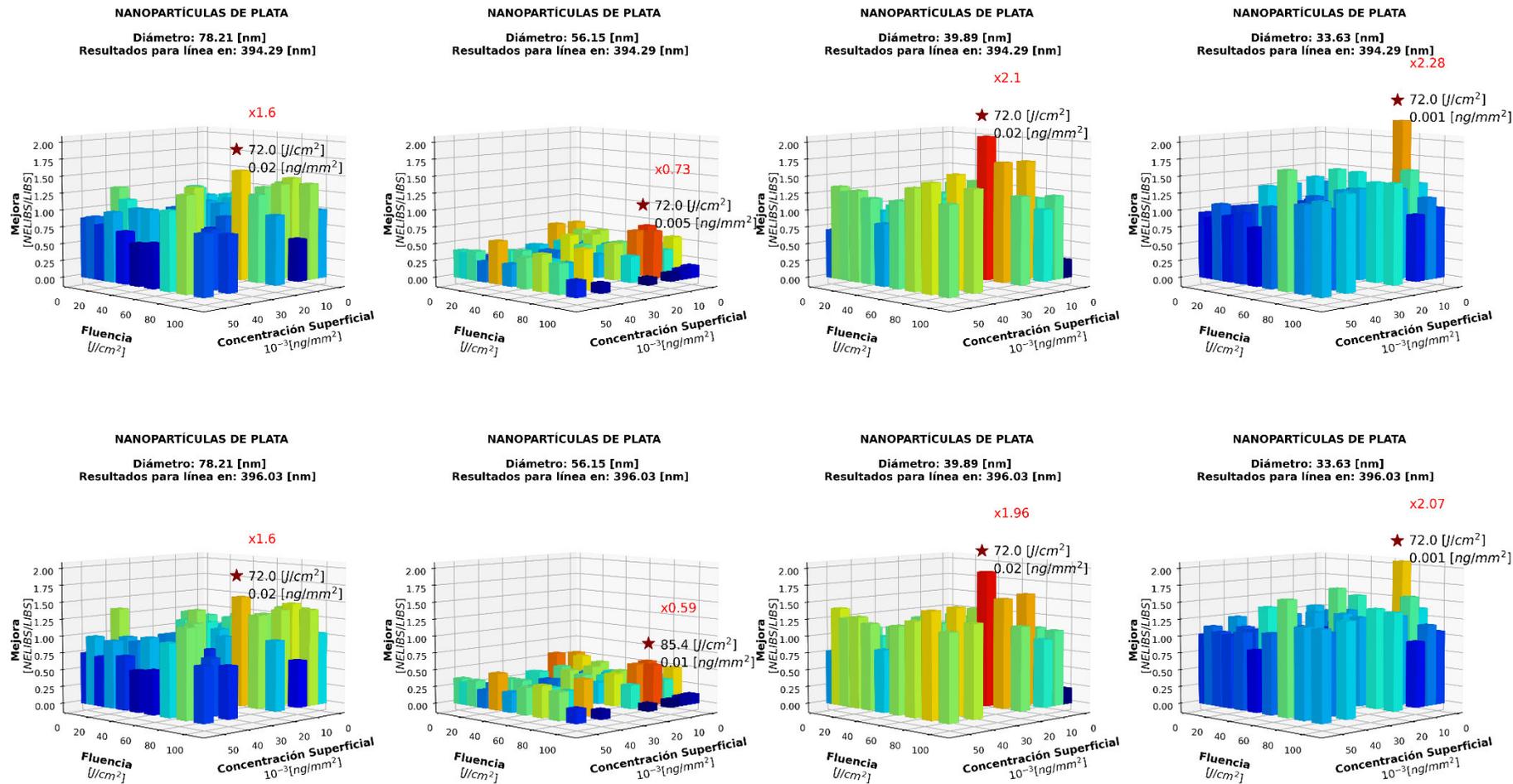


Figura 24.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Ag NPs, comparando los máximos de intensidad de cada grupo.

7.6.3. RELACIÓN DE MEJORA MEDIANA-A-MEDIANA

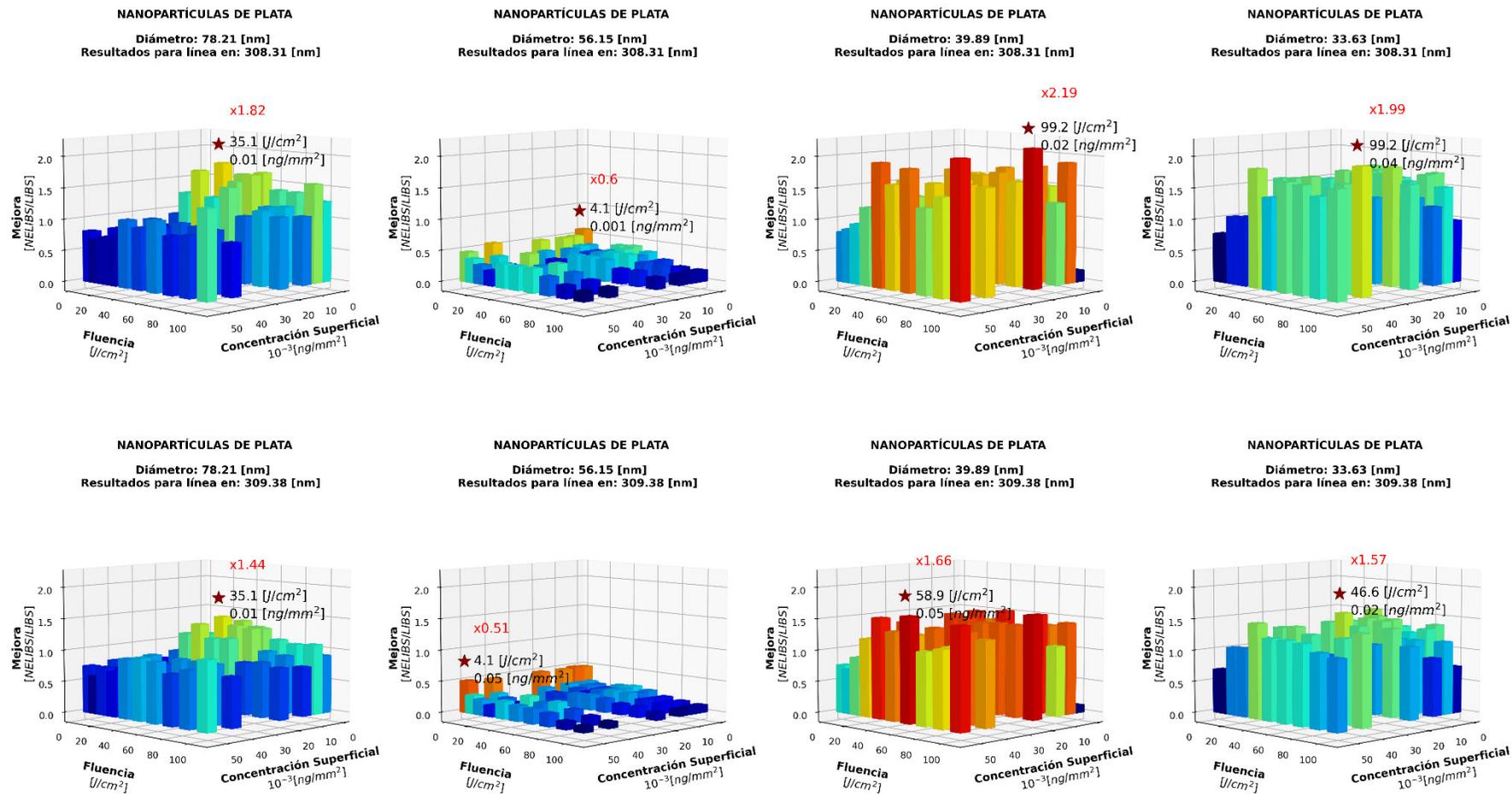


Figura 25.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Ag NPs, comparando la mediana de intensidad de cada grupo.

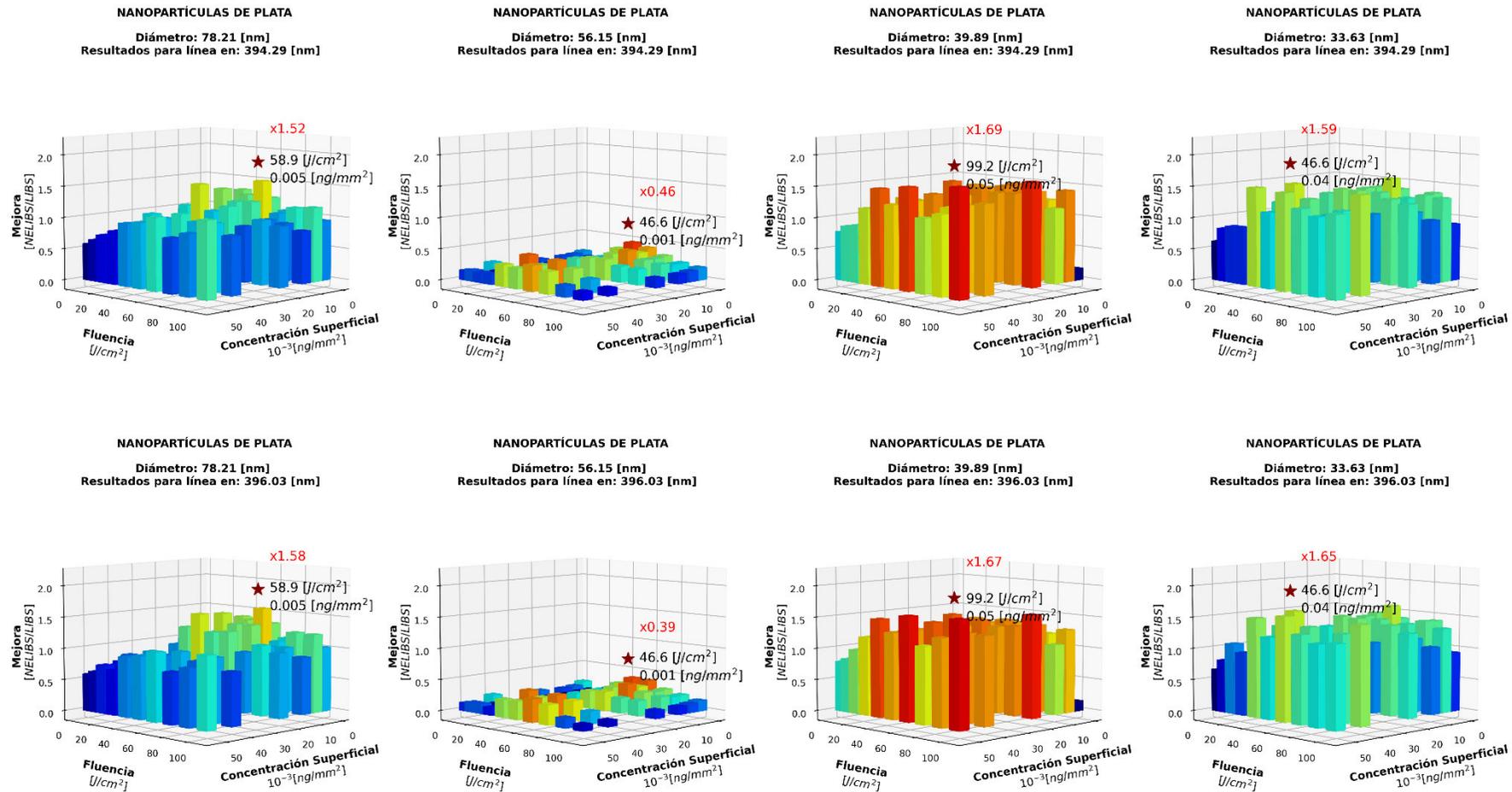


Figura 26.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Ag NPs, comparando la mediana de intensidad de cada grupo.

7.6.4. RELACIÓN DE MEJORA MEDIA-A-MEDIA

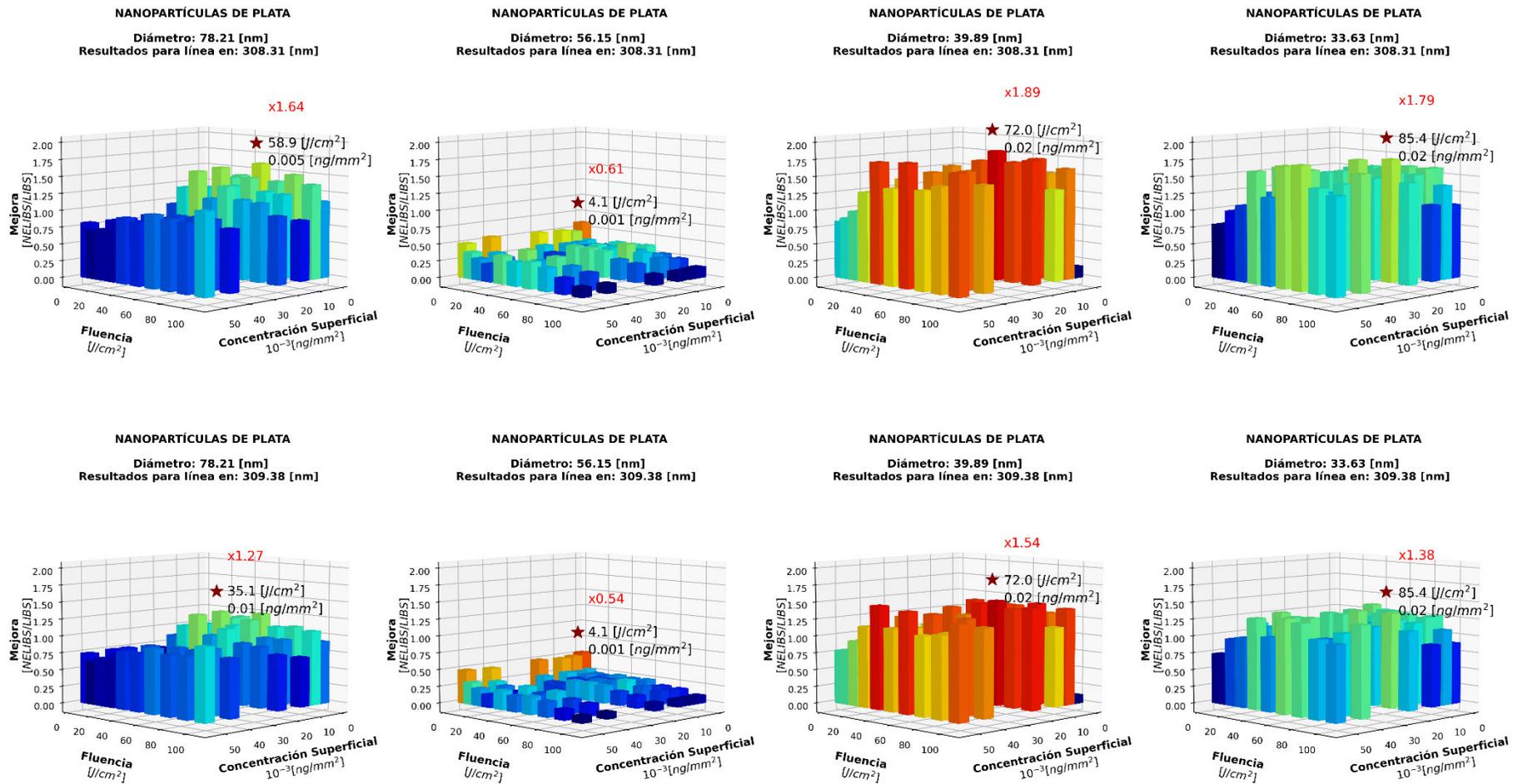


Figura 27.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Ag NPs, comparando la media de intensidad de cada grupo.

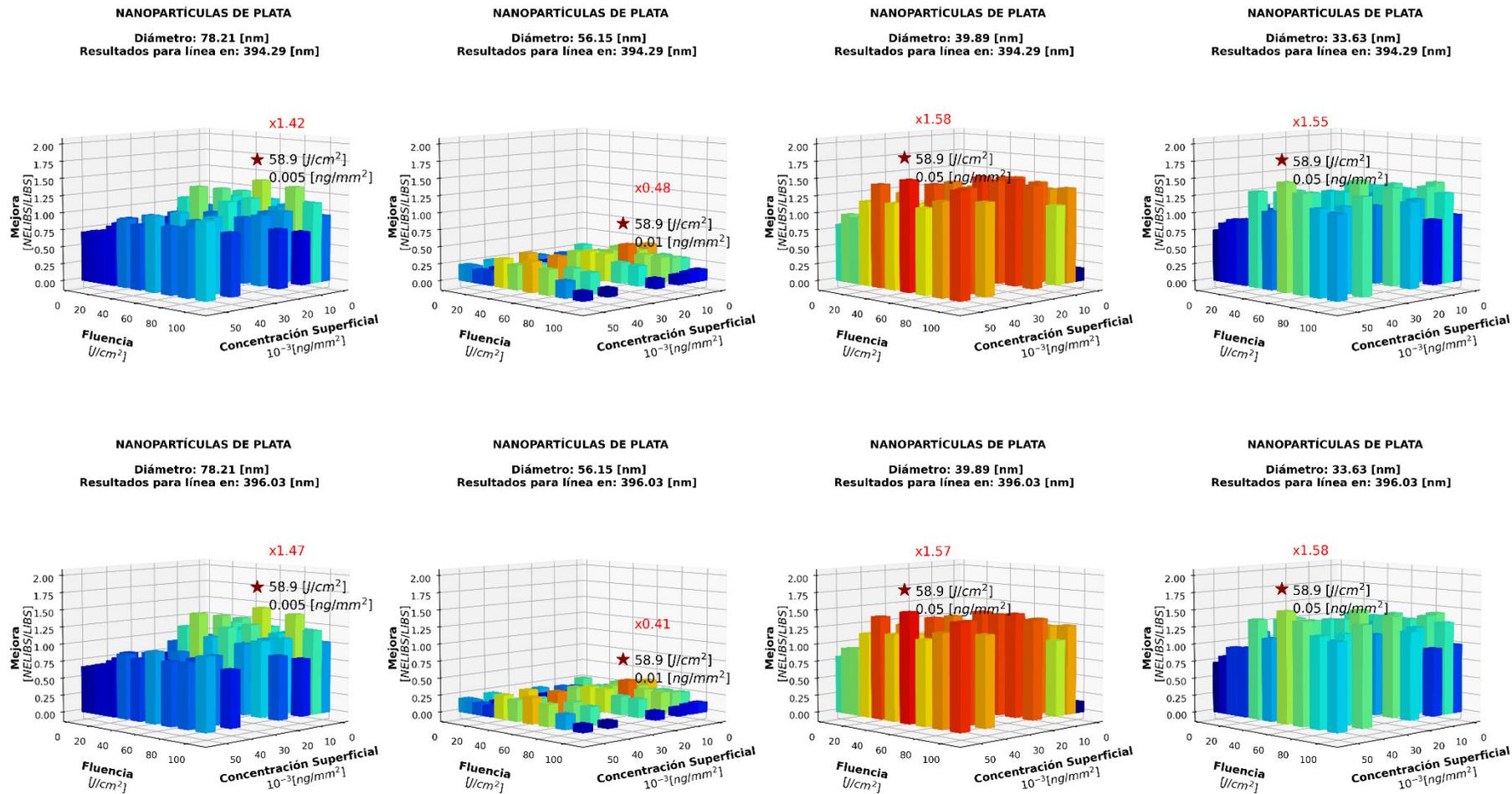


Figura 28.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas de Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Ag NPs, comparando la media de intensidad de cada grupo.

7.7. ANEXO 7: Gráficas de los resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para Au NPs

7.7.1. RELACIÓN DE MEJORA MÍNIMO-A-MÍNIMO

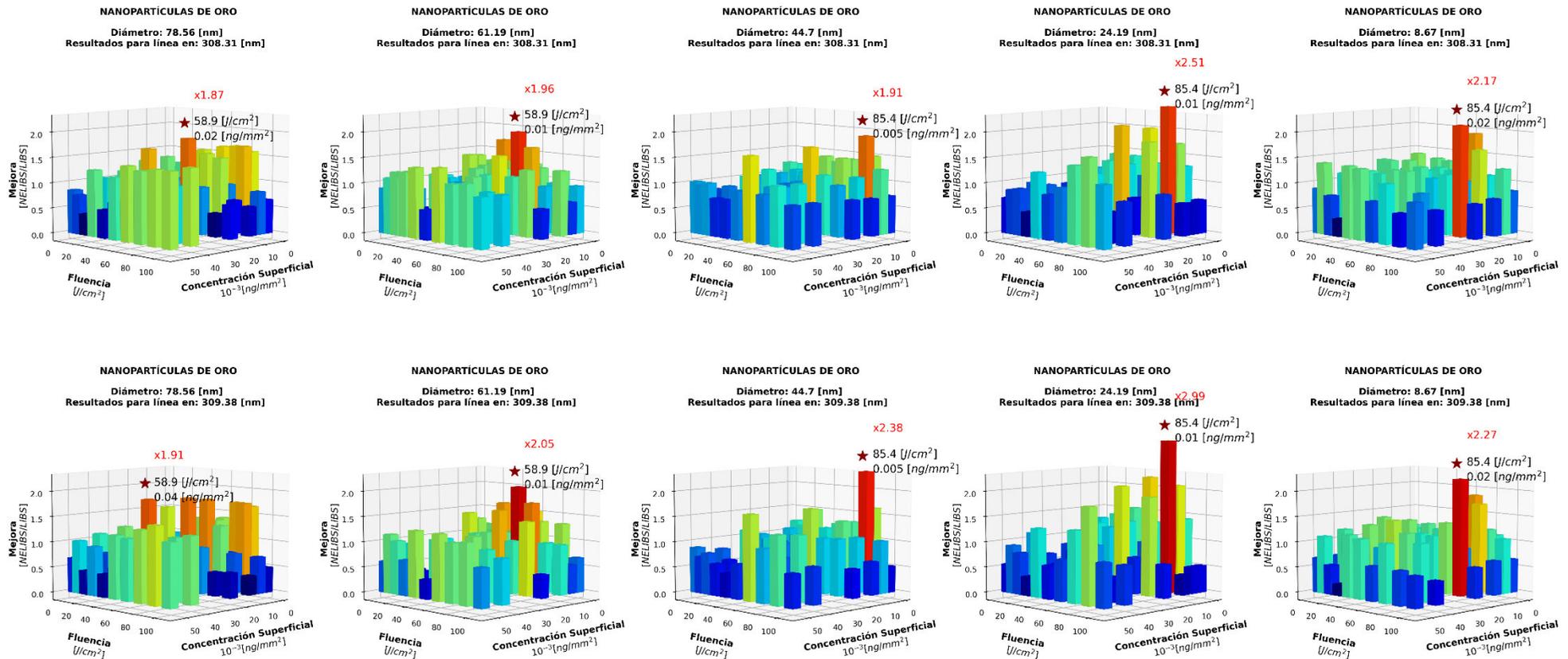


Figura 29.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Au NPs, comparando los mínimos de intensidad de cada grupo.

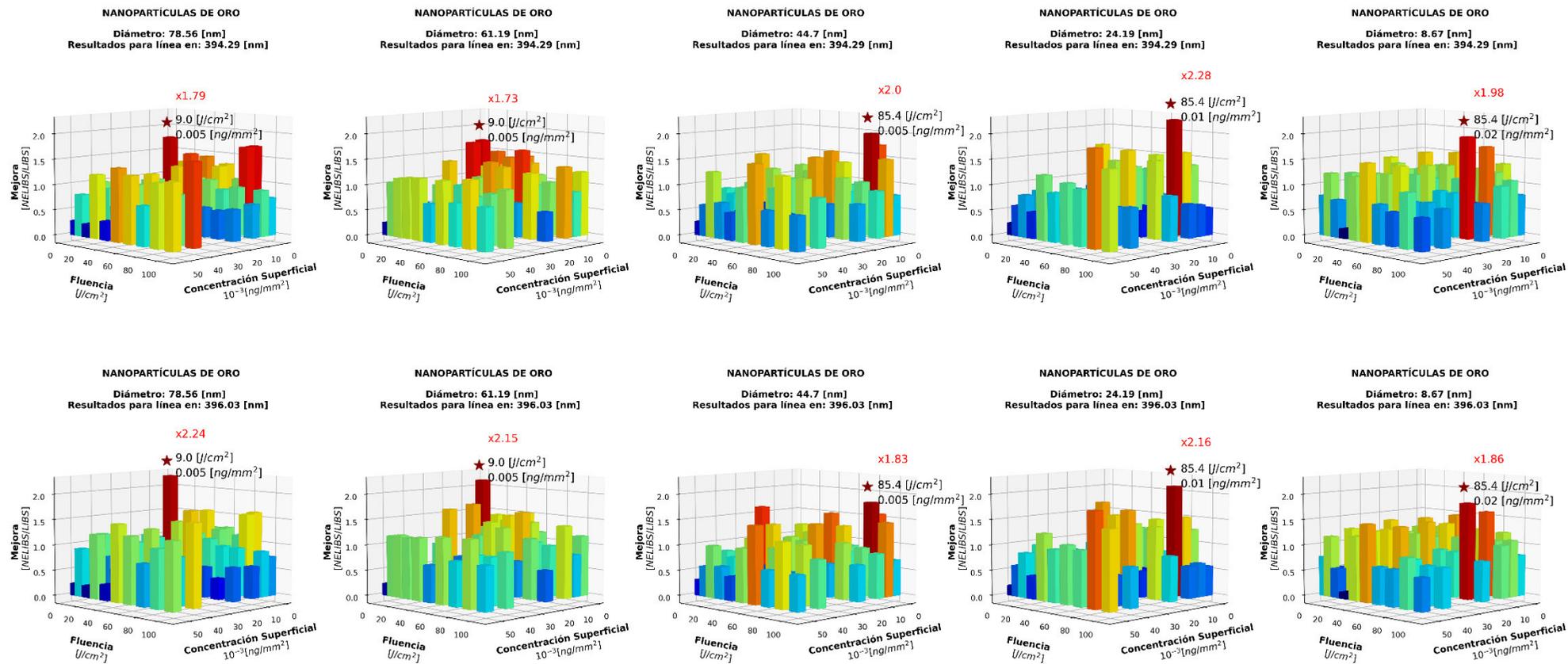


Figura 30.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Au NPs, comparando los mínimos de intensidad de cada grupo.

7.7.2. RELACIÓN DE MEJORA MÁXIMO-A-MÁXIMO

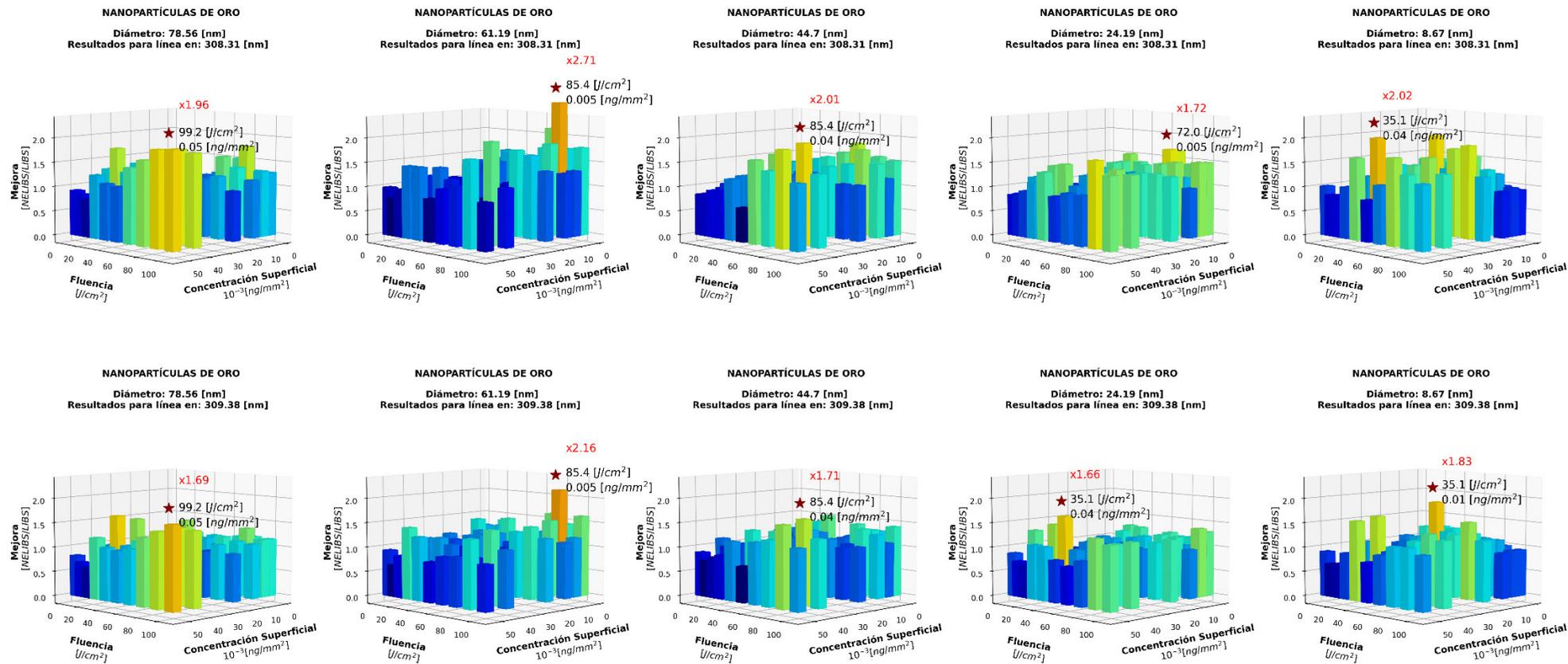


Figura 31.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Au NPs, comparando los máximos de intensidad de cada grupo.

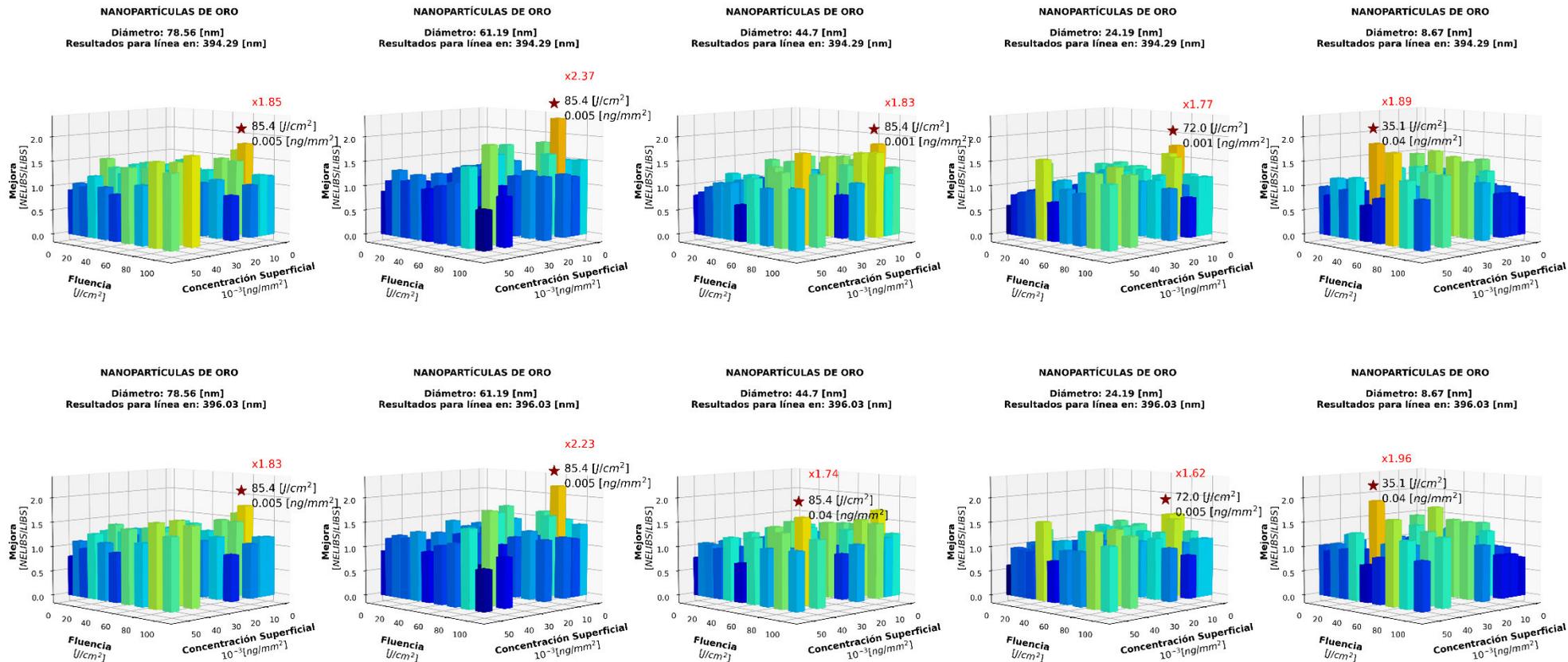


Figura 32.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Au NPs, comparando los máximos de intensidad de cada grupo.

7.7.3. RELACIÓN DE MEJORA MEDIANA-A-MEDIANA

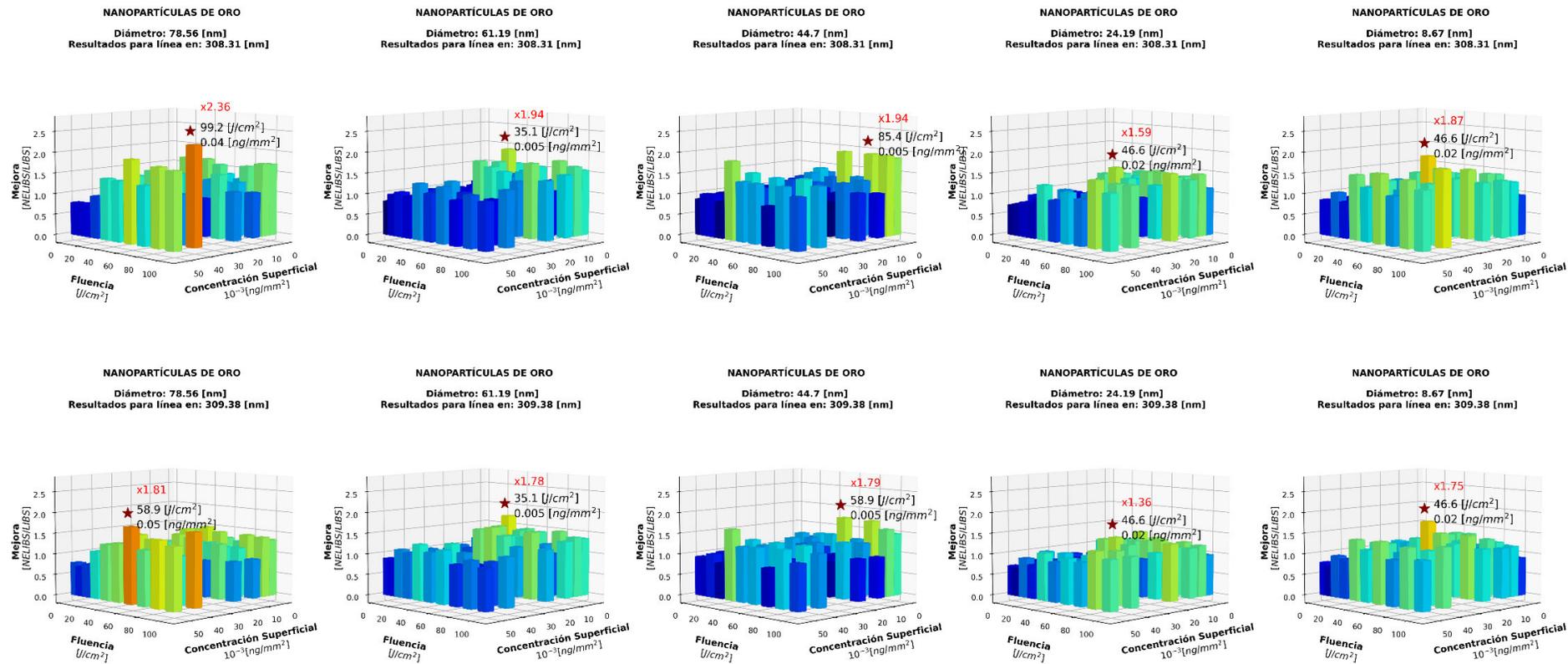


Figura 33.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Au NPs, comparando la mediana de intensidad de cada grupo.

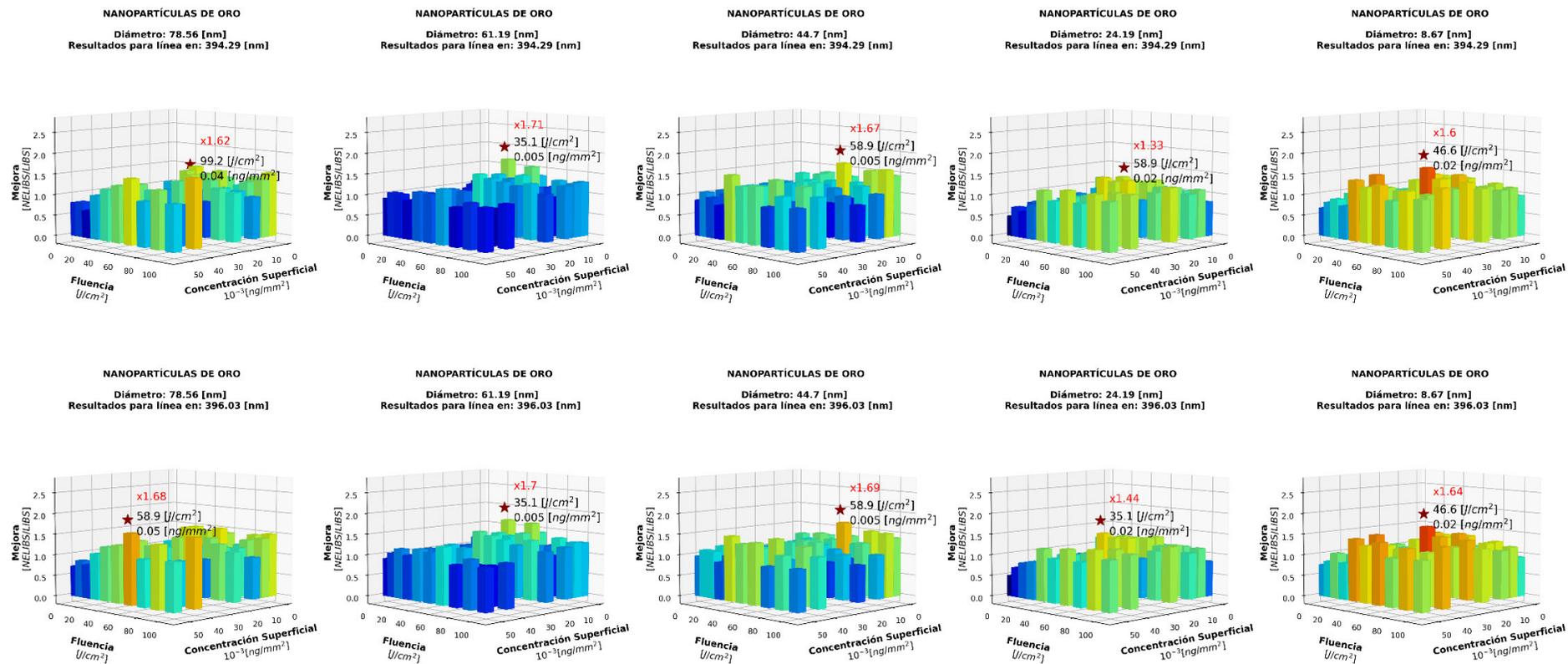


Figura 34.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Au NPs, comparando la mediana de intensidad de cada grupo.

7.7.4. RELACIÓN DE MEJORA MEDIA-A-MEDIA

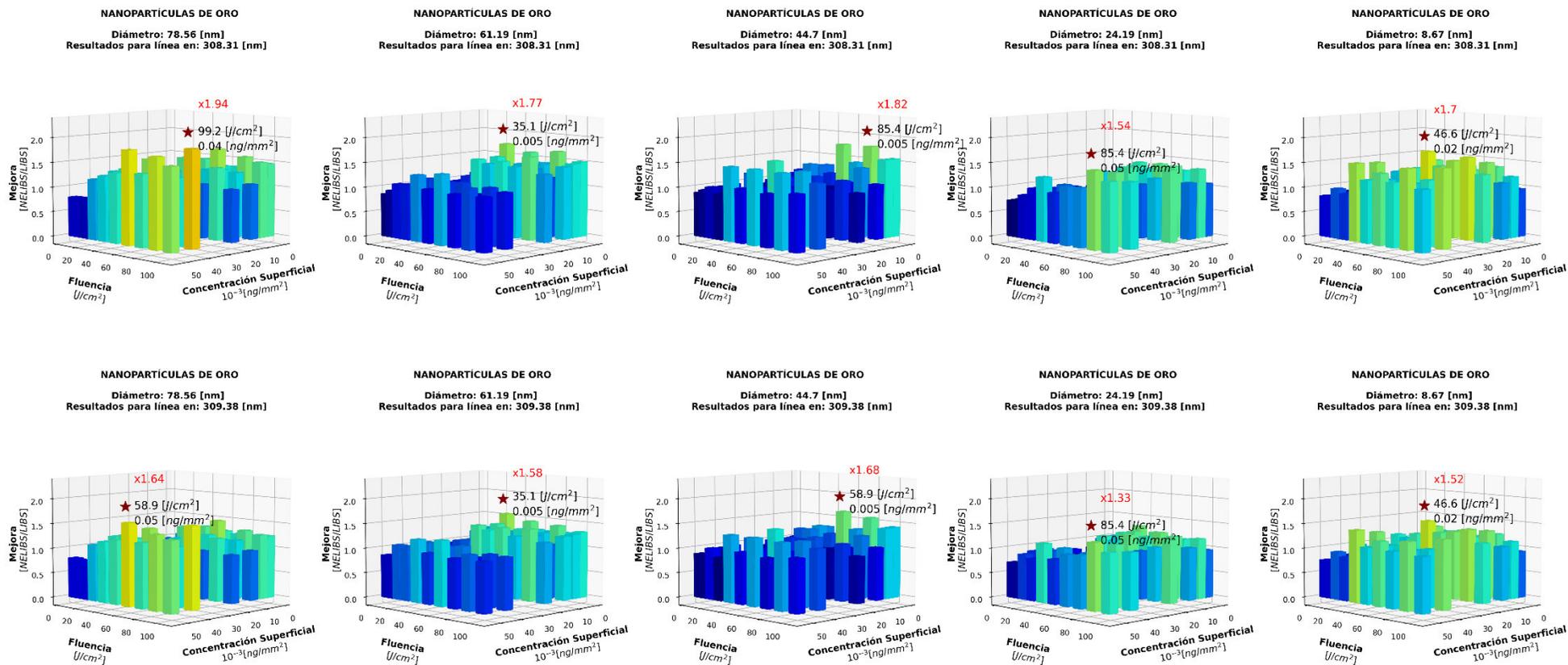


Figura 35.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm y Al 309.38 nm en Au NPs, comparando la media de intensidad de cada grupo.

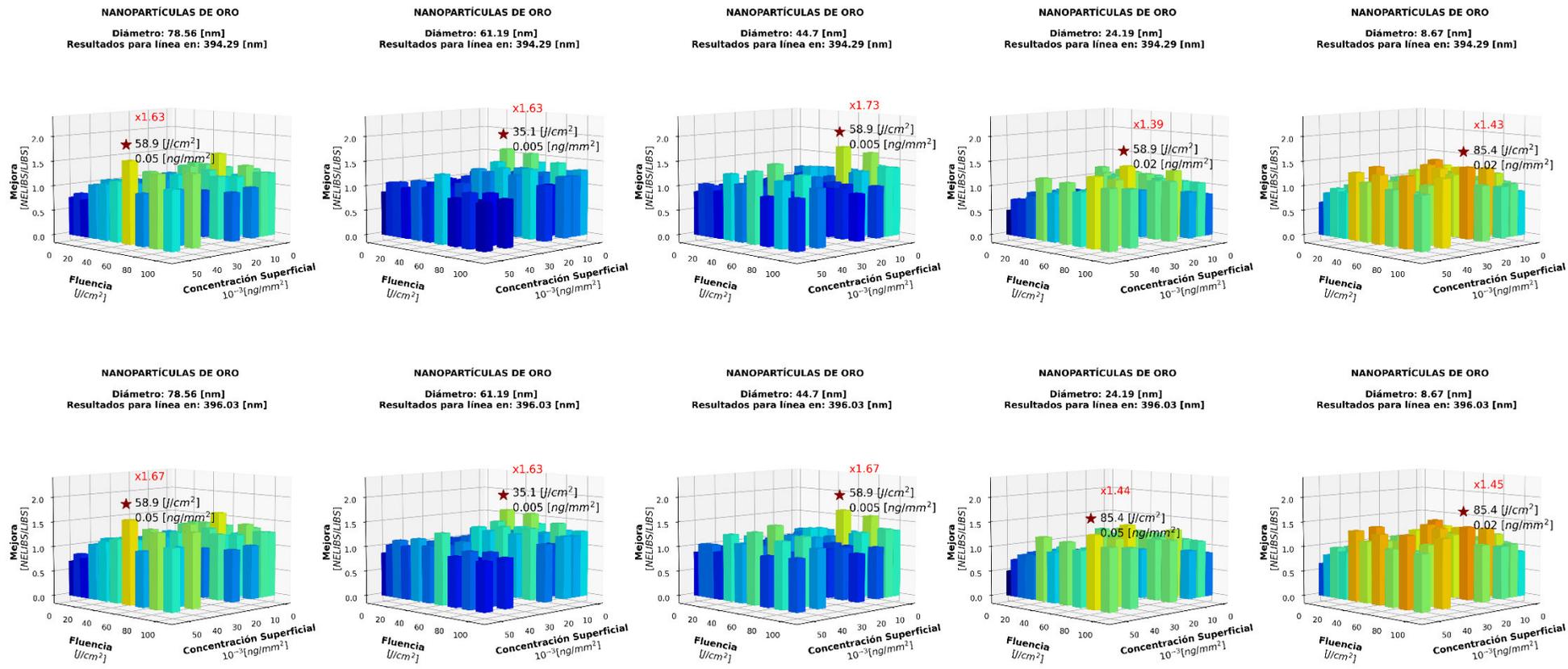


Figura 36.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en Au NPs, comparando la media de intensidad de cada grupo.

7.8. ANEXO 8: Gráficas de los resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para N-GQDs

7.8.1. RELACIÓN DE MEJORA MÍNIMO-A-MÍNIMO

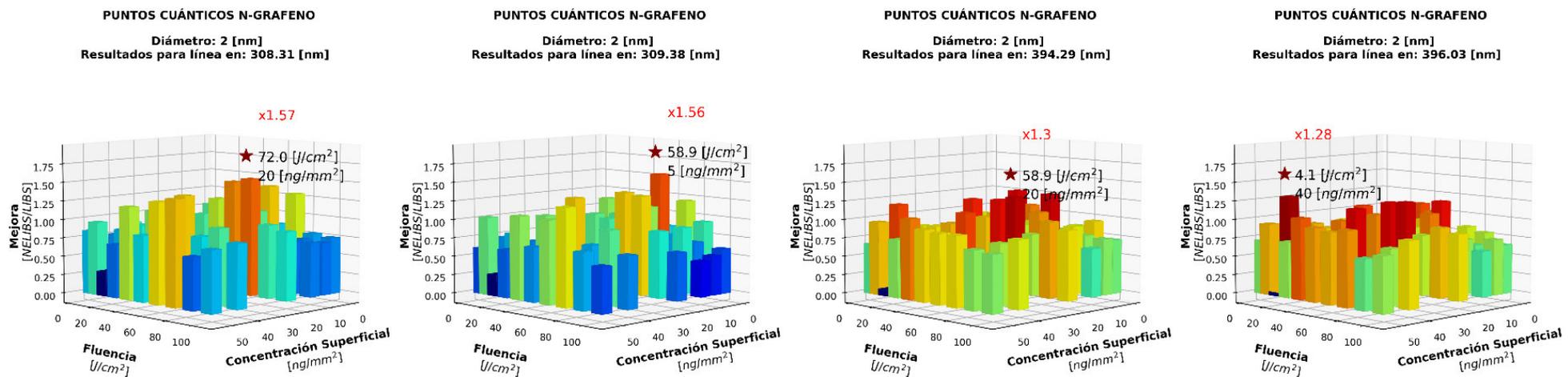


Figura 37.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm, Al 309.38 nm, Al 394.29 nm y Al 396.03 en N-GQDs, comparando los mínimos de intensidad de cada grupo.

7.8.2. RELACIÓN DE MEJORA MÁXIMO-A-MÁXIMO

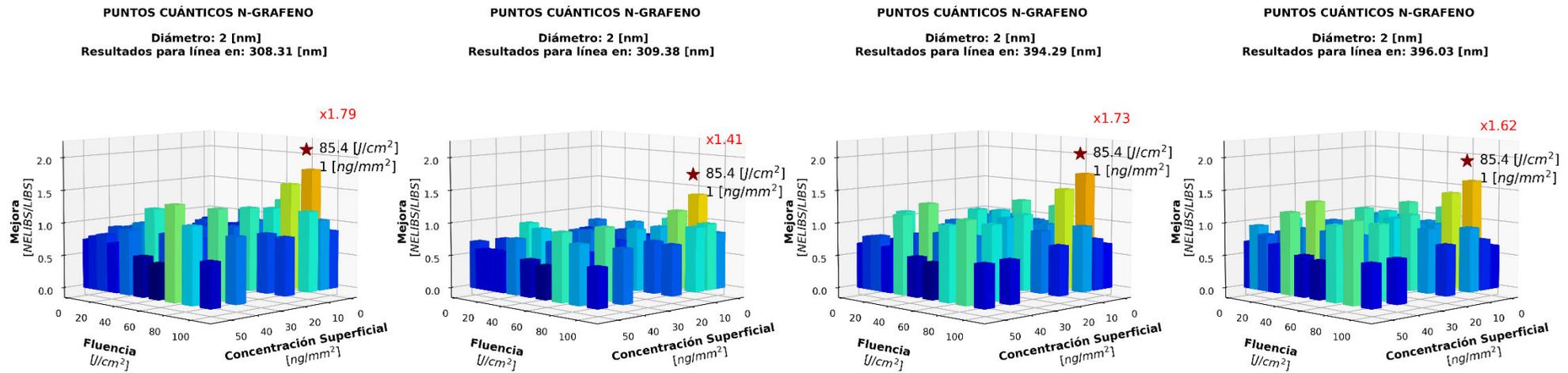


Figura 38.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm, Al 309.38 nm, Al 394.29 nm y Al 396.03 en N-GQDs, comparando los máximos de intensidad de cada grupo.

7.8.3. RELACIÓN DE MEJORA MEDIANA-A-MEDIANA

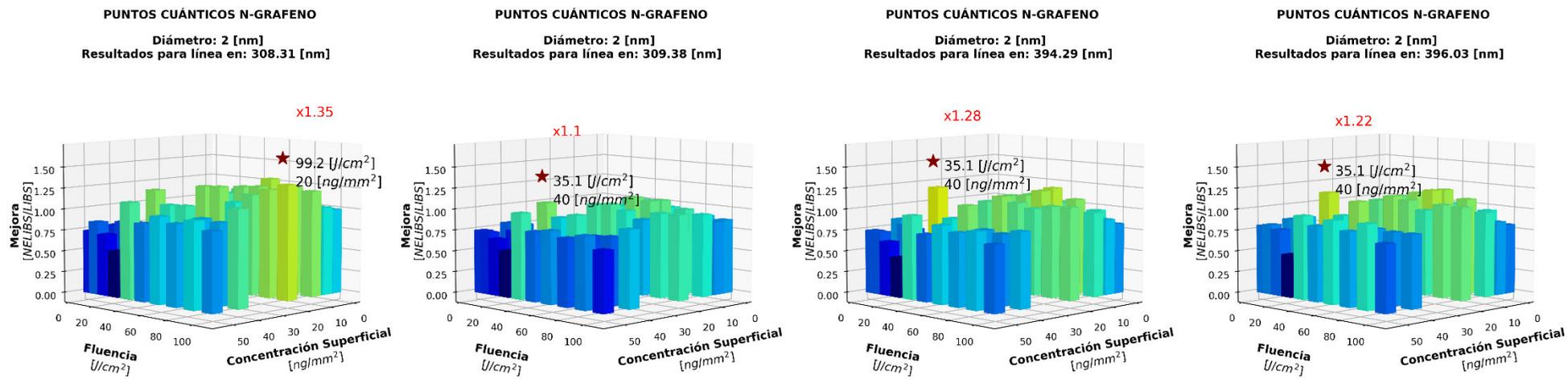


Figura 39.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm, Al 309.38 nm, Al 394.29 nm y Al 396.03 nm en N-GQDs, comparando la mediana de intensidad de cada grupo.

7.8.4. RELACIÓN DE MEJORA MEDIA-A-MEDIA

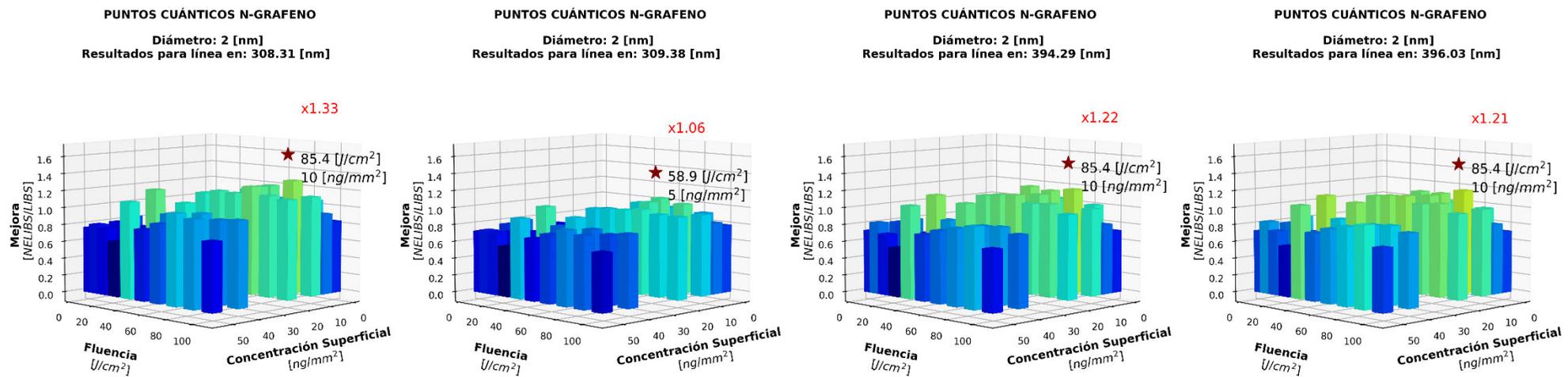


Figura 40.- Resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para las líneas Al 308.31 nm, Al 309.38 nm, Al 394.29 nm y Al 396.03 en N-GQDs, comparando la media de intensidad de cada grupo.

7.9.ANEXO 9: Tablas de los resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para el análisis de Cadmio en pastillas de granos molidos de Cacao

El color verde en las tablas indica aumento en la señal y el rojo indica una reducción mayor a 20%

Tabla 11.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con AG NPs sin diluir. Pastillas de grano molido.

ID	LÍNEAS ESPECTRALES DE INTERÉS PARA EL CADMIO							
	326.11 [nm]	340.37 [nm]	346.62 [nm]	361.05 [nm]	643.85 [nm]	228.80 [nm]	226.50 [nm]	214.44 [nm]
CD11	0.91	0.91	0.92	0.89	0.96	0.62	0.71	0.81
CD10	1.13	1.28	1.31	1.75	3.49	1.32	1.29	1.23
CD9	1.06	1.31	1.51	2.21	4.9	1.62	1.48	1.31
CD8	1.44	1.76	2.36	7.36	2.27	1.86	1.45	1.06
CD7	1.28	1.35	2.03	5.77	2.06	1.66	1.36	1.15
CD6	1.1	0.93	0.98	0.95	0.76	1	1	0.98
CD5	1.01	1.02	1	0.98	0.85	0.97	0.96	0.95
CD4	0.97	0.97	1	0.96	0.83	0.97	1.03	0.99
CD3	1	0.96	1.09	1	0.94	1.01	0.94	0.95
CD2	0.93	0.9	0.91	1	0.86	0.91	0.93	1
CD1	0.97	0.98	0.98	0.91	1	0.97	1.01	1.04

Tabla 12.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con Au NPs sin diluir. Pastillas de grano molido.

ID	LÍNEAS ESPECTRALES DE INTERÉS PARA EL CADMIO							
	326.11 [nm]	340.37 [nm]	346.62 [nm]	361.05 [nm]	643.85 [nm]	228.80 [nm]	226.50 [nm]	214.44 [nm]
CD11	0.92	0.92	0.97	0.76	0.62	0.62	0.71	0.85
CD10	1.05	1.07	1.01	0.97	0.95	0.98	0.97	1
CD9	0.98	0.92	0.94	0.91	0.77	0.9	0.92	0.99
CD8	1.16	1.07	1.07	1.06	1.05	0.93	0.91	0.98
CD7	1.1	1	1.09	0.93	1.01	1	1.01	1.08
CD6	1.2	1.03	1.1	1.02	0.85	1.13	1.06	1.02
CD5	1.01	1.04	1.08	1.01	0.84	1.08	0.95	0.99
CD4	1.03	1	1.1	1.04	0.99	1.05	1.03	1.06
CD3	1.09	1.07	1.15	1.07	1.23	1.15	1.08	1.03
CD2	1.05	1.13	1.09	1.05	1.03	1.04	0.95	1.03
CD1	1.09	1.1	1.09	1	1.21	1.08	1.15	1.04

Tabla 13.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con AG NPs diluidas. Pastillas de grano molido.

ID	LÍNEAS ESPECTRALES DE INTERÉS PARA EL CADMIO							
	326.11 [nm]	340.37 [nm]	346.62 [nm]	361.05 [nm]	643.85 [nm]	228.80 [nm]	226.50 [nm]	214.44 [nm]
CD11	0.97	0.96	1.07	1.06	1.37	0.66	0.78	0.93
CD10	1	1.06	0.97	1.01	1.07	1	1	1.05
CD9	1.05	0.97	0.97	0.91	0.58	0.75	0.85	0.95
CD8	1.13	1.07	0.88	0.96	1.03	1.01	1.04	1.05
CD7	1.03	1.03	1.06	1.2	1.06	1.02	1.01	0.98
CD6	1	0.94	0.91	0.96	0.83	0.98	1.03	0.97
CD5	0.96	1	0.97	0.97	0.8	0.95	0.88	0.94
CD4	0.98	0.93	1	0.94	0.92	1	1.01	1.02
CD3	1.04	1.04	1.15	0.89	0.81	1.09	0.99	1.05
CD2	1.01	0.99	0.96	0.97	0.93	1.04	0.97	0.99
CD1	1.07	1.04	1.04	0.96	0.99	0.94	1	1

Tabla 14.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con Au NPs diluidas. Pastillas de grano molido.

ID	LÍNEAS ESPECTRALES DE INTERÉS PARA EL CADMIO							
	326.11 [nm]	340.37 [nm]	346.62 [nm]	361.05 [nm]	643.85 [nm]	228.80 [nm]	226.50 [nm]	214.44 [nm]
CD11	0.97	0.85	0.85	0.81	0.72	0.67	0.74	0.87
CD10	1.04	1.07	0.99	1.08	1.27	1.08	1.04	1.11
CD9	0.96	0.91	0.89	0.88	0.65	0.8	0.89	0.96
CD8	1.03	1.09	1.02	0.84	0.95	0.95	1.04	0.96
CD7	0.99	0.95	1.04	0.96	0.92	0.94	0.97	0.98
CD6	1.05	0.95	0.9	0.96	0.9	1.09	1.08	0.97
CD5	0.98	1.03	1	0.96	0.87	0.98	0.98	0.93
CD4	1	0.95	0.97	1.04	0.93	0.97	1	1.06
CD3	1.06	0.96	1.06	0.97	0.94	1.09	0.96	0.97
CD2	0.93	0.94	1.02	0.97	1.06	0.97	0.88	1.02
CD1	0.98	1.06	0.98	0.88	0.98	1.06	1.1	1.04

7.10. ANEXO 10: Tablas de los resultados de la relación Intensidad NELIBS/Intensidad LIBS para el análisis de Cadmio en pastillas de polvo de Cacao

El color verde en las tablas indica aumento en la señal y el rojo indica una reducción mayor a 20%

Tabla 15.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con AG NPs sin diluir. Pastillas de polvo.

ID	LÍNEAS ESPECTRALES DE INTERÉS PARA EL CADMIO							
	326.11 [nm]	340.37 [nm]	346.62 [nm]	361.05 [nm]	643.85 [nm]	228.80 [nm]	226.50 [nm]	214.44 [nm]
CD11	0.87	0.87	1.06	0.95	0.92	0.76	0.81	0.94
CD10	0.96	1.11	1.13	1.18	1.35	0.88	0.93	0.97
CD9	1.03	1.14	1.13	1.37	1.38	1.06	1.07	1.03
CD8	1.01	1.16	1.34	1.62	1.11	1.12	1.04	1.03
CD7	0.9	0.99	0.75	0.65	0.71	0.7	0.82	0.96
CD6	0.9	0.99	0.98	0.86	0.65	0.83	0.85	0.92
CD5	1.07	1.01	0.97	0.93	0.53	0.85	0.89	0.91
CD4	0.9	0.94	1	0.92	0.33	0.96	0.98	0.93
CD3	0.91	1.05	0.97	0.9	0.46	0.97	0.88	0.99
CD2	0.94	0.96	0.96	0.93	0.38	0.98	1.01	0.97
CD1	0.94	0.98	0.99	0.97	0.73	0.98	0.9	1.01

Tabla 16.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con Au NPs sin diluir. Pastillas de polvo.

ID	LÍNEAS ESPECTRALES DE INTERÉS PARA EL CADMIO							
	326.11 [nm]	340.37 [nm]	346.62 [nm]	361.05 [nm]	643.85 [nm]	228.80 [nm]	226.50 [nm]	214.44 [nm]
CD11	0.99	0.98	1.02	0.94	1.02	1.03	0.99	1.03
CD10	0.99	1.01	0.93	0.85	0.62	0.78	0.78	0.9
CD9	1.05	1.02	0.99	0.97	0.82	1	1.07	1.04
CD8	0.96	1.1	1.05	0.99	1.07	1.09	1.17	1.05
CD7	0.99	1.04	0.92	0.76	0.92	0.91	1.01	1.04
CD6	1.07	0.97	1.06	0.96	0.87	0.98	0.97	1.06
CD5	1.09	1.11	0.99	1.01	0.61	0.94	1	1.04
CD4	1.02	1.14	1.09	1.03	0.5	1.05	1.02	1.05
CD3	1.06	1.15	1.06	1.05	0.87	1.08	1.02	0.97
CD2	1.04	1.19	1.14	1.08	0.64	1.05	1.1	1.03
CD1	1.03	1.05	1.01	1.08	1.34	1.08	1.02	1.08

Tabla 17.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con Ag NPs diluidas. Pastillas de polvo.

ID	LÍNEAS ESPECTRALES DE INTERÉS PARA EL CADMIO							
	326.11 [nm]	340.37 [nm]	346.62 [nm]	361.05 [nm]	643.85 [nm]	228.80 [nm]	226.50 [nm]	214.44 [nm]
CD11	0.91	0.85	0.9	0.86	0.65	0.84	0.9	0.95
CD10	0.98	0.99	0.92	0.93	0.85	0.84	0.89	0.94
CD9	0.98	0.98	0.88	0.87	0.65	0.78	0.85	0.88
CD8	0.9	0.98	0.88	0.83	0.9	0.95	1.03	0.98
CD7	0.86	0.94	0.86	0.53	0.7	0.72	0.85	0.98
CD6	0.96	0.91	0.97	0.86	0.41	0.69	0.69	0.87
CD5	1.06	0.98	0.94	0.91	0.38	0.81	0.89	0.86
CD4	0.96	0.96	0.97	0.89	0.29	0.99	0.93	0.99
CD3	0.91	1.02	0.89	0.91	0.39	1.01	0.95	0.98
CD2	0.89	1	0.99	0.89	0.37	0.93	1.06	0.97
CD1	1.08	0.95	1.04	0.94	0.63	0.96	0.86	1.01

Tabla 18.- Comparación de intensidades NELIBS/LIBS para cada concentración de cadmio y línea de cadmio en estudio. NELIBS realizado con Au NPs diluidas. Pastillas de polvo.

ID	LÍNEAS ESPECTRALES DE INTERÉS PARA EL CADMIO							
	326.11 [nm]	340.37 [nm]	346.62 [nm]	361.05 [nm]	643.85 [nm]	228.80 [nm]	226.50 [nm]	214.44 [nm]
CD11	0.89	0.88	0.93	0.8	0.76	0.84	0.85	0.95
CD10	0.96	0.93	0.95	0.9	0.9	0.79	0.83	0.92
CD9	0.9	0.9	0.9	0.78	0.54	0.75	0.82	0.84
CD8	0.99	0.96	0.98	0.98	0.98	0.99	1.05	0.9
CD7	0.99	0.96	0.83	0.69	0.72	0.71	0.84	0.96
CD6	0.93	0.95	0.96	0.83	0.43	0.76	0.71	0.87
CD5	1.01	0.94	0.89	0.9	0.39	0.76	0.82	0.89
CD4	0.88	0.96	0.94	0.89	0.31	1.06	0.97	0.94
CD3	0.94	0.99	0.99	0.98	0.41	0.95	0.91	0.95
CD2	0.87	0.88	0.92	0.89	0.34	0.97	1	1.01
CD1	0.98	0.96	1	0.93	0.66	0.97	1.01	1.03

7.11. ANEXO 11: Tablas de los resultados del cálculo para la distancia entre partículas y el factor de empaquetamiento.

Tabla 19.- Cálculo de la distancia interparticular, D, para cada combinación de dispersión superficial y tipo de nanopartícula.

ID	Distancia entre partículas – D [nm]					
	DS1	DS2	DS3	DS4	DS5	DS6
TAU1	2566.3	1147.68	811.53	573.84	405.77	362.93
TAU2	11960.02	5348.68	3782.09	2674.34	1891.04	1691.4
TAU3	30042.72	13435.51	9500.34	6717.76	4750.17	4248.68
TAU4	48117.01	21518.58	15215.94	10759.29	7607.97	6804.77
TAU5	69997.12	31303.66	22135.03	15651.83	11067.52	9899.09
TAG2	14453.64	6463.87	4570.64	3231.93	2285.32	2044.05
TAG3	18671.67	8350.22	5904.50	4175.11	2952.25	2640.57
TAG4	31182.55	13945.26	9860.79	6972.63	4930.39	4409.88
TAG5	51260.22	22924.27	16209.91	11462.13	8104.95	7249.29
TQD1	3.08	1.38	0.97	0.69	0.49	0.44

Tabla 20.- Factor de empaquetamiento calculado para cada combinación de dispersión superficial y tipo de nanopartícula.

ID	Factor de Empaquetamiento - f_{EMP}					
	DS1	DS2	DS3	DS4	DS5	DS6
TAU1	0.00338	0.00755	0.01068	0.01511	0.02137	0.02389
TAU2	0.00202	0.00452	0.0064	0.00905	0.01279	0.0143
TAU3	0.00149	0.00333	0.00471	0.00665	0.00941	0.01052
TAU4	0.00127	0.00284	0.00402	0.00569	0.00804	0.00899
TAU5	0.00112	0.00251	0.00355	0.00502	0.0071	0.00794
TAG2	0.00233	0.0052	0.00736	0.01041	0.01472	0.01645
TAG3	0.00214	0.00478	0.00676	0.00955	0.01351	0.01511
TAG4	0.0018	0.00403	0.00569	0.00805	0.01139	0.01273
TAG5	0.00153	0.00341	0.00482	0.00682	0.00965	0.01079
TQD1	0.64902	1.45126	2.05239	2.90252	4.10478	4.58928

Tabla 21.- Cálculo del error estándar para las distancias interparticulares en cada combinación de dispersión superficial y tipo de nanopartícula.

ID	Error Estándar en la distancia entre partículas – D [nm]					
	DS1	DS2	DS3	DS4	DS5	DS6
TAU1	724.17	323.86	229	161.93	114.5	102.41
TAU2	2073.03	927.09	655.55	463.54	327.77	293.17
TAU3	1368.01	611.79	432.6	305.9	216.3	193.47
TAU4	1151	514.74	363.98	257.37	181.99	162.78
TAU5	175.52	78.5	55.5	39.25	27.75	24.82
TAG2	2590.32	1158.43	819.13	579.21	409.57	366.33
TAG3	1718	768.31	543.28	384.16	271.64	242.96
TAG4	818.67	366.12	258.89	183.06	129.44	115.78
TAG5	831.08	371.67	262.81	185.84	131.41	117.53

Tabla 22.- Error estándar calculado para el factor de empaquetamiento en cada combinación de dispersión superficial y tipo de nanopartícula.

ID	Error Estándar del Factor de Empaquetamiento - f_{EMP}					
	DS1	DS2	DS3	DS4	DS5	DS6
TAU1	0.00145	0.00325	0.0046	0.0065	0.00919	0.01028
TAU2	0.00063	0.00141	0.00199	0.00281	0.00398	0.00445
TAU3	0.00048	0.00107	0.00151	0.00213	0.00301	0.00337
TAU4	0.00042	0.00095	0.00134	0.0019	0.00269	0.003
TAU5	0.00005	0.00012	0.00017	0.00024	0.00034	0.00038
TAG2	0.00074	0.00165	0.00234	0.00331	0.00468	0.00523
TAG3	0.00044	0.00097	0.00138	0.00195	0.00275	0.00308
TAG4	0.00027	0.00059	0.00084	0.00119	0.00168	0.00188
TAG5	0.00027	0.0006	0.00085	0.0012	0.0017	0.0019

7.12. ANEXO 12: Gráficas de los resultados de las mediciones de concentración de cadmio para pastillas de granos molinos.

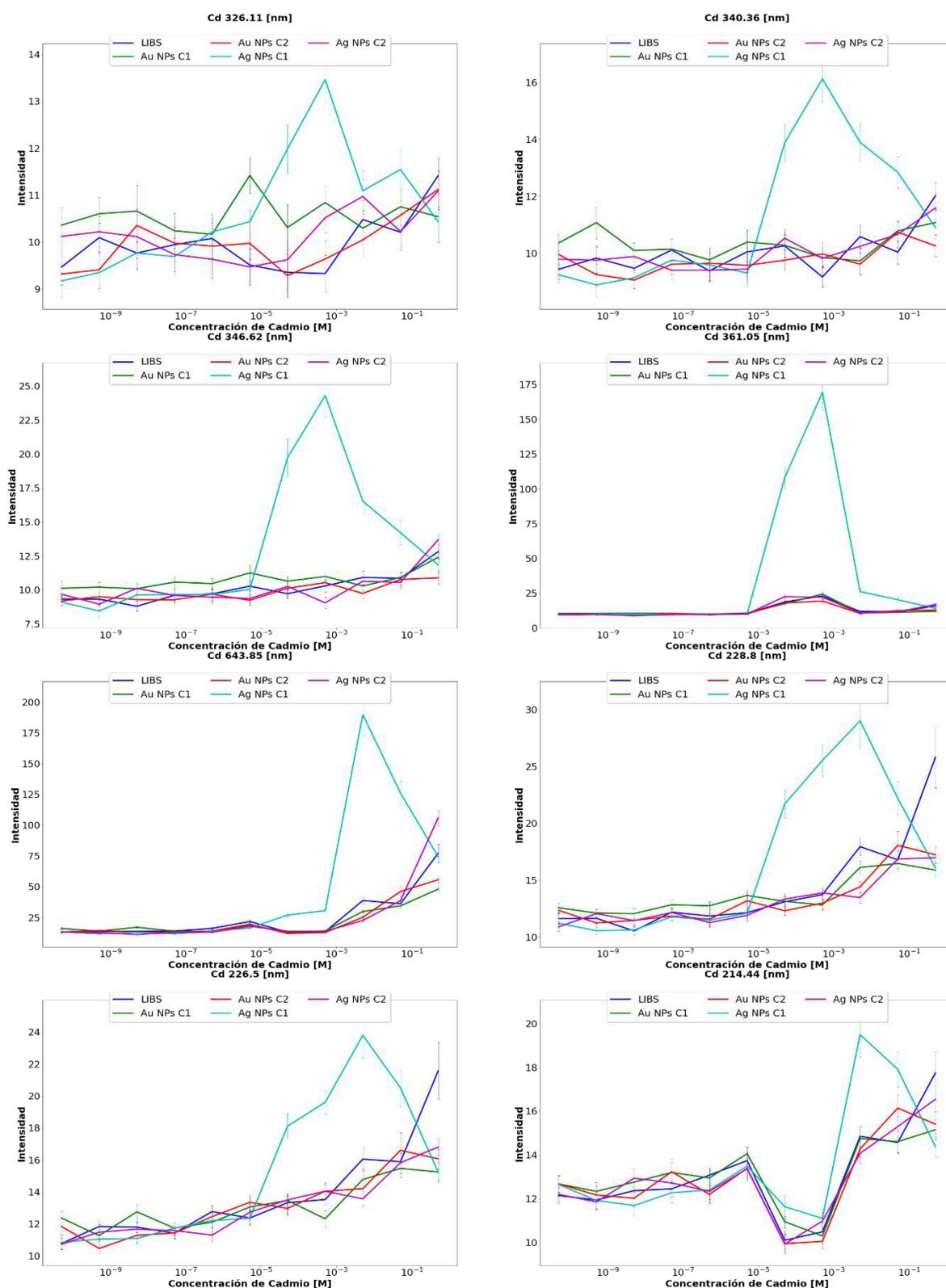


Figura 41.- Gráficos de la intensidad vs. concentración de cadmio con líneas de la respectiva desviación estándar para cada línea CD. Pastillas de granos molinos.

7.13. ANEXO 13: Gráficas de los resultados de las mediciones de concentración de cadmio para pastillas de granos molinos.

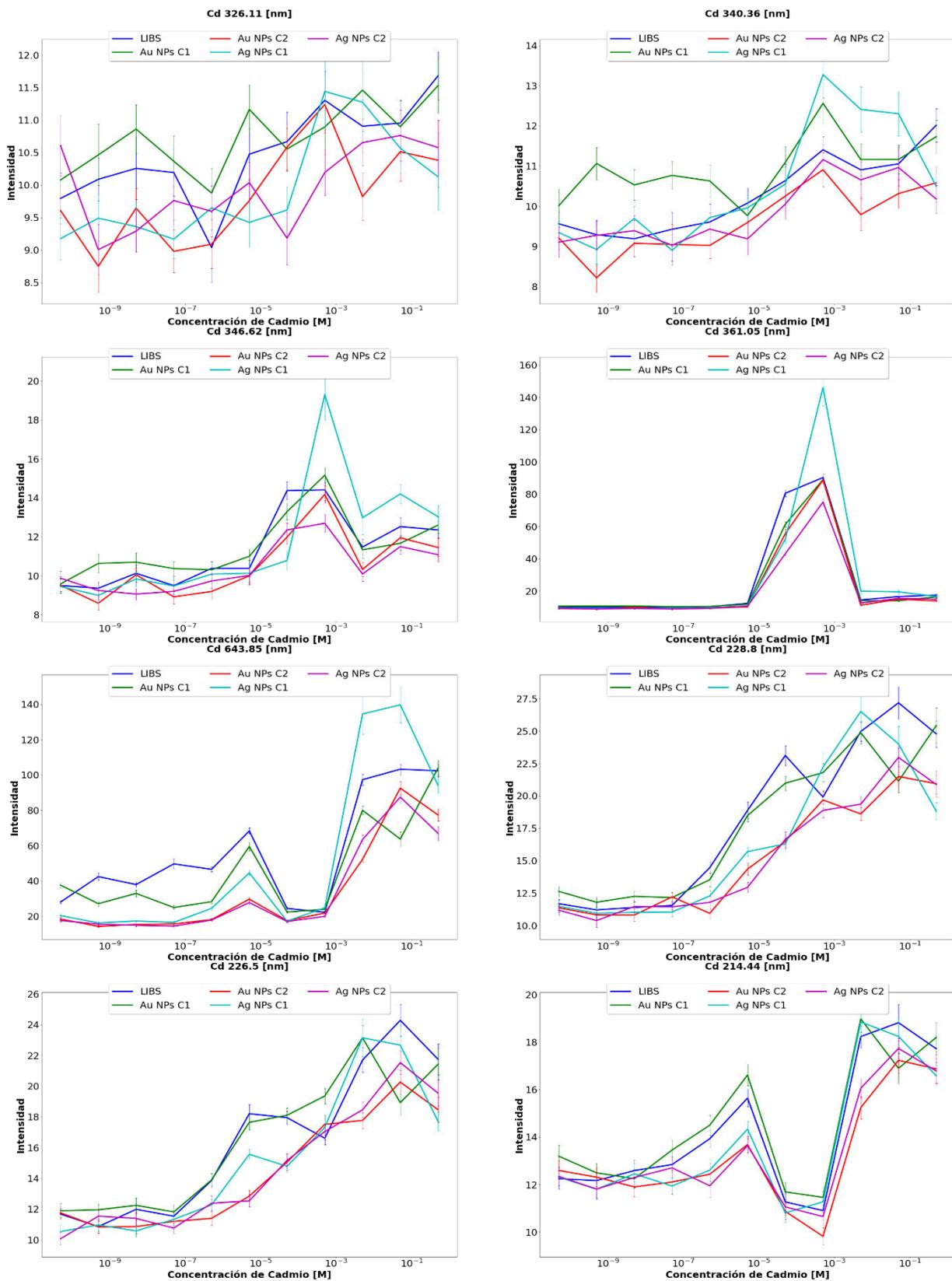


Figura 42.- Gráficos de la intensidad vs. concentración de cadmio con líneas de la respectiva desviación estándar para cada línea CD. Pastillas de polvo.