

# COMPARACIÓN DE TAMAÑO Y DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑO DE NANOPARTÍCULAS POR MICROSCOPIA DE TRANSMISIÓN DE ELECTRONES (MTE)

Hilda E. Esparza Ponce<sup>1</sup>, Rubén J. Lazos Martínez<sup>2</sup>, Carlos E. Ornelas Gutiérrez<sup>1</sup> y Norma González Rojano<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Centro de Investigación en Materiales Avanzados. Miguel de Cervantes 120, Chihuahua, Chih., MEXICO 31109 Tel. + 52 614 4391103. Correos electrónicos: [hilda.esparza@cimav.edu.mx](mailto:hilda.esparza@cimav.edu.mx), [carlos.ornelas@cimav.edu.mx](mailto:carlos.ornelas@cimav.edu.mx)

<sup>2</sup> Centro Nacional de Metrología. km 4.5 Carr. A Los Cués. El Marqués, Qro., MEXICO 76241 Tel. + 52 442 2110575. Correos electrónicos: [rlazos@cenam.mx](mailto:rlazos@cenam.mx), [ngonzalez@cenam.mx](mailto:ngonzalez@cenam.mx)

**Resumen:** El tamaño de las partículas en la nanoescala y su distribución son características que han adquirido importancia con el surgimiento de las nanotecnologías. La determinación de estos parámetros aún no alcanza la uniformidad requerida para su utilización confiable, como se ha demostrado en varias ocasiones. Con la intención de establecer una técnica de medición uniforme, algunos organismos internacionales han organizado una comparación entre laboratorios sobre los parámetros mencionados medidos por microscopía de transmisión de electrones. Este trabajo da cuenta de los resultados obtenidos en México al medir muestras previamente preparadas de nanopartículas de oro, explica el proceso correspondiente y los compara con los obtenidos en comparaciones similares.

Palabras clave: Nanotecnología, nanopartícula, microscopía de transmisión de electrones.

## 1. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología, es una tecnología emergente que está teniendo un auge acelerado a nivel mundial debido al impacto económico de sus productos: su valor se ha centuplicado en una década. Su impacto es creciente y sostenido en la sociedad que se refleja tanto en la aparición de productos novedosos como por las posibles consecuencias en la salud humana y el ambiente. En México más de 60 instituciones académicas están realizando investigación y desarrollo tecnológico en esta disciplina y más de 100 industrias en México ya han lanzado al mercado productos con base nanotecnológica. Como toda nueva tecnología, ésta requiere de normas, regulaciones, laboratorios de ensayo y calibración calificados soportados en una infraestructura de mediciones sólida, confiable y uniforme que propicie el comercio internacional con equidad y evite las repercusiones adversas a los consumidores, la salud y al medio ambiente. Dicha infraestructura debería contener patrones y métodos de medida equivalentes a los de otras economías, mecanismos eficaces y eficientes para la disseminación de estos patrones, esquemas de gestión y transferencia de conocimientos en la materia a las industrias, normalizadores, reguladores, laboratorios de

calibración y ensayos, a los consumidores y a la sociedad en general.

En el ámbito de las nanotecnologías, las nanopartículas son los objetos más simples entre los nano-objetos siendo es el tamaño su característica primordial, y mejor, la distribución de los tamaños de partículas en la muestra que la contiene; de hecho una nanopartícula está definida como un objeto con sus tres dimensiones en la nanoescala, el intervalo entre 1 nm y 100 nm aproximadamente. De hecho, las regulaciones iniciales sobre el tema apuntan a la protección de la salud de los operarios expuestos a atmósferas conteniendo nano-objetos no confinados en ambientes fabriles. Especialmente tienen la intención de especificar límites al contenido de nanopartículas en el ambiente atendiendo a su tamaño en la nanoescala. No obstante se encuentran en la actualidad dificultades para implementarlas sobre todo porque no se dispone aún de métodos confiables, validados, para determinar ese tamaño [1]. La comunidad internacional ha llevado a cabo varios ejercicios de comparación para tal efecto [2; 3] sin que hasta el momento se hayan encontrado resultados satisfactorios, sobre todo porque los resultados dependen de la técnica utilizada. Estas técnicas incluyen microscopía de transmisión de electrones

(MTE), microscopía de barrido con electrones, microscopía de fuerza atómica, difracción dinámica de luz y dispersión de rayos X a ángulos pequeños.

El Comité Técnico ISO/TC 229 *Nanotechnologies*, en conjunto con el *Working Party on Manufactured Nanomaterials* de la OCDE, en concordancia con el *Versailles Project on Advanced Materials and Standards (VAMAS)* y otras iniciativas internacionales, emprendieron la organización de una serie de comparaciones para el desarrollo de un protocolo para la medición del tamaño de partículas y su distribución mediante MTE considerando 5 casos de estudio. Los objetivos primarios de este protocolo son: a) obtener la forma, el tamaño y la distribución de tamaño de nano-objetos diversos; y, b) representar estas distribuciones utilizando modelos de referencia convencionales. México decidió participar en el caso A, que se refiere a la medición del tamaño de nanopartículas de oro, como un proyecto conjunto entre el Centro de Investigación en Materiales Avanzados y el Centro Nacional de Metrología, aprovechando la infraestructura y competencia del primero en microscopía, y la experiencia del segundo en comparaciones internacionales.

Los mensurandos de interés para la comparación incluyeron el tamaño de partícula y la distribución de su tamaño, cuantificados en términos del diámetro equivalente, el área, el diámetro de Feret y el factor de forma, con sus respectivas estimaciones de la amplitud de la distribución de densidad de probabilidad en cada caso.

### Objetivos de la comparación

Es de gran interés para las nanotecnologías determinar el tamaño y distribución de tamaño de nanopartículas, tanto para la manufactura de productos, como en cuanto a sus potenciales efectos en la salud y el ambiente, pero dichas determinaciones no siempre son rápidas, fáciles ni de costo accesible.

La microscopía de transmisión de electrones ha demostrado ser una excelente herramienta para caracterizar el tamaño, la distribución del tamaño y la morfología de las nanopartículas. Sin embargo, la ventaja ganada con la capacidad para “ver” estas nanopartículas demanda por un lado actividades adicionales como la preparación de la muestra, el establecimiento de los parámetros instrumentales, el análisis de imagen, entre otros. Esta ventaja tiene

su contraparte en el costo y lentitud de la determinación.

En este contexto, el Grupo de Estudio sobre distribución del tamaño de partícula por MTE del Grupo de Trabajo adjunto JWG2 del ISO/TC 229, definió como objetivos de esta comparación para el caso A – nanopartículas discretas esféricas, los siguientes.

- Controlar automáticamente la captura de la imagen y la utilización de las herramientas para el análisis de partícula.
- Confirmar la calidad de los datos con métodos estadísticos.
- Seleccionar métodos para determinar las distribuciones óptimas del tamaño de partícula.
- Normalizar el análisis estadístico y la estimación de la incertidumbre de medida.

Las nanopartículas discretas esféricas son consideradas como una de las morfologías menos complejas, por lo que se espera que los mensurandos a determinar para esta muestra tengan una reproducibilidad relativamente alta. La preparación de la muestra es una de las mayores contribuciones en la incertidumbre de medición, por lo que en esta primera aproximación el laboratorio coordinador preparó todas las muestras para la comparación [4].

## 2. PRINCIPIO DE OPERACIÓN DEL MTE

Un MTE sigue los principios de un microscopio óptico en sentido general. El MTE hace uso de un haz de electrones, en lugar de un haz de luz, que es acelerado para incidir en la muestra y formar una imagen detrás de ella. Quizá la característica más importante de un microscopio es su poder de resolución, su capacidad para distinguir entre dos objetos cercanos. Uno de los principales factores que la limitan es la difracción, fenómeno que ocurre debido a la naturaleza ondulatoria de los componentes del haz incidente, ya sea la luz o los electrones, y que consiste en que las ondas no siguen trayectorias rectas cuando pasan por el borde de un sólido, y por tanto las “sombras” de los sólidos no se distinguen con nitidez perfecta.

Los efectos de la difracción dependen de la longitud de onda del haz incidente, véase por ejemplo [5]. La longitud de onda de un electrón, dada por la ecuación de de Broglie, puede alcanzar hasta 0.04 nm cuando es acelerado por una diferencia de

potencial de 1 kV, cinco órdenes de magnitud más pequeña que la longitud de onda de la luz en el extremo inferior del espectro visible. Entre otros numerosos efectos relevantes de los cuales depende la resolución de un MTE, se encuentran la monocromaticidad del haz (que depende primariamente de la fuente de electrones), de las aberraciones por las lentes electromagnéticas de alineación y convergencia, de las características de la pantalla que recopila los electrones, etc.

### 3. MÉTODOS

#### 3.1 Selección y preparación de la muestra

El material utilizado como muestra para determinar la distribución de tamaño de partícula fue el material de referencia RM8012 del NIST, el cual contiene partículas de oro con un valor nominal de 30 nm [6]. El laboratorio que coordinó la comparación preparó la muestra depositando el material sobre rejillas de silicio funcionalizadas, colocando aproximadamente 0.8  $\mu\text{L}$  en la superficie de la rejilla, y dejándola secar posteriormente a temperatura ambiente.

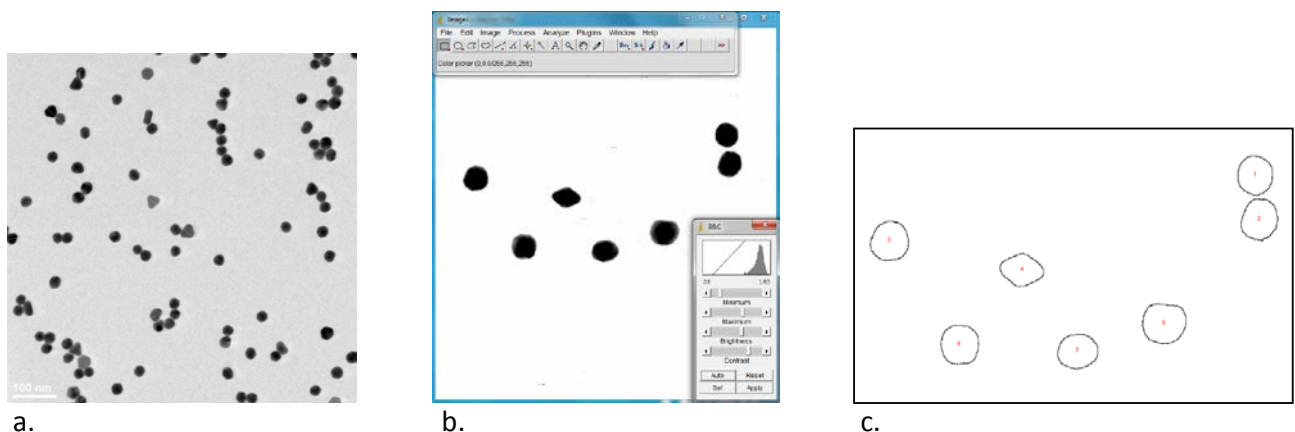
#### 3.2 Parámetros instrumentales

Para la observación del material, la rejilla fue colocada en un portamuestras de una sola inclinación e introducida en la pre-cámara del microscopio de transmisión de electrones. La rejilla fue introducida al MTE igualando las presiones de la pre-cámara y la cámara, y aplicando entonces una

tensión eléctrica de 200 kV. Las partículas fueron observadas en modo de transmisión y las imágenes se tomaron a 25 kX. La corriente del haz de electrones fue de 164  $\mu\text{A}$ , la excitación de la lente objetiva entre -129 y -225, el tamaño de la apertura objetiva No.2 de alto contraste fue de 60  $\mu\text{m}$  y el tiempo de exposición para la toma de imágenes de 0.8 segundos. Las imágenes tomadas se guardaron y respaldaron para su análisis mediante el software de análisis de imágenes *ImageJ* versión 1.48.

#### 3.3 Calibración

La calibración del MTE, como medio para que las mediciones realizadas con él fueran trazables a las unidades del SI correspondientes, no pudo llevarse a cabo por la falta de un patrón de medida validado. No obstante, pudo asegurarse su desempeño operacional utilizando un dispositivo fabricado con un semiconductor de silicio y germanio en capas múltiples, en el cual puede observarse la distancia entre planos de la red cristalina del silicio, cuyo valor declarado por el fabricante es de 0.313 560 136 nm con una incertidumbre de medida menor a 0.5 % de ese valor. Debe notarse que no se encuentran validaciones de estos valores, por lo que debe considerarse que en este trabajo el uso del símbolo "nm" en los resultados de medición no implica garantía de trazabilidad metrológica a la unidad SI de longitud.



**Figura 1.** a. Aspecto de una imagen sin procesar donde son notables algunos aglomerados de partículas que se descartarían durante su análisis. b. Conjunto de partículas en una imagen con ajuste de brillo y contraste. c. La imagen de las mismas partículas, numeradas, después del análisis con *ImageJ*.

### 3.4 Análisis de las imágenes.

Para el análisis de tamaño y distribución de tamaño de las partículas se utilizó una copia de cada imagen. Primero se estableció la relación entre el número de píxeles y la longitud de la barra de referencia proporcionada en la imagen a 25 kX. El brillo y el contraste se ajustaron procurando la mejor definición del contorno de las partículas mediante el sombreado de las mismas para proceder al análisis. La figura 1 muestra imágenes de las distintas etapas del proceso.

Se seleccionó entonces un área conteniendo las partículas más dispersas, y se descartaron las que aparecieron unidas, las que no se distinguían claramente del fondo, y aquellas cuyas áreas fueron menores a 10 nm<sup>2</sup>. De esta manera se obtuvieron 23 imágenes conteniendo 712 partículas, que una vez depuradas bajo los criterios mencionados resultaron en 526 partículas medidas.

### 3.5 Análisis de los datos

#### Los mensurandos

Mediante el mismo software *ImageJ* se cuantificaron el área de las partículas, el diámetro de Feret y el diámetro mínimo de Feret. El diámetro de Feret, *Feret*, se entiende como la distancia entre dos tangentes paralelas en ambos lados de la imagen de una partícula. El diámetro mínimo de Feret, *Feret<sub>min</sub>*, es el correspondiente cuando los lados opuestos son los más cercanos.

El tamaño de la partícula se asumió como el diámetro equivalente *D*, entendido como el diámetro de un círculo con la misma área *A* de la imagen

proyectada, esto es,  $D = \sqrt{\frac{4A}{\pi}}$ .

Adicionalmente se consideró como mensurando el factor de forma calculado como la razón del diámetro de Feret al diámetro mínimo de Feret a partir de las mismas imágenes.

Es muy importante señalar que en todos los casos el mensurando se entiende como el promedio obtenido de todas las imágenes disponibles, y no como el promedio obtenido de una sola.

#### Modelos de distribución

Para la distribución de las partículas se consideraron inicialmente los modelos normal y log-normal, en vista de experiencias anteriores, véase por ejemplo [2, 3], y sólo subrayaremos que esta distribución se obtiene con los logaritmos de los valores originales y este nuevo conjunto de valores sigue una distribución normal. Para los fines de este trabajo, los cálculos y resultados que utilizan directamente los datos originales se referirán como

en el “espacio de longitud”, y a los que tratan con valores transformados según su logaritmo se denominarán en el “espacio log”.

La primera aproximación para decidir el modelo apropiado consistió de una inspección de los histogramas de los datos en ambos espacios y la mejor aproximación de los parámetros de sus estadísticas descriptivas a los de una distribución normal, entre otros que el coeficiente de asimetría fuese lo más cercano a cero.

La selección formal del modelo se apoyó en el mejor ajuste a una normal considerando los resultados de regresiones lineales de los valores de las funciones de probabilidad de cada modelo, entendidas como el acumulado de las respectivas distribuciones de densidad de probabilidad. Para esta parte del proceso los datos experimentales se normalizaron en ubicación y escala a fin de comparar distribuciones con media cero y varianza unitaria, tanto en el espacio de longitud como en el espacio log. Ambos modelos fueron probados de esta forma para los mensurandos considerados, resultando que el mejor modelo es el log-normal, con excepción del factor de forma para el cual el histograma no sugiere una distribución normal ni log-normal.

#### Consistencia de los datos

Considerando que el tamaño de partícula es el valor promedio de las partículas no excluidas en una imagen, y con la finalidad de asegurar que los resultados de las distintas imágenes correspondan a muestras de una sola distribución, desde el punto de vista estadístico, se hicieron pruebas de hipótesis tomando como hipótesis nula “que todas las imágenes tengan el mismo promedio”. Para ello se utilizó el estadístico rango en la distribución de Student a un nivel de significancia de  $\alpha = 0.05$  [7]. En este contexto, la hipótesis se confirma cuando ninguna de las diferencias entre las medias de las imágenes excede el valor  $w = q_{1-\alpha}(t, \nu) * s / \sqrt{n}$ , expresión en la que  $q_{1-\alpha}(t, \nu)$  representa el percentil de la distribución de Student para *t* observaciones, *ν* grados de libertad y nivel de significancia  $\alpha$ , *s* la raíz cuadrada de la media de las varianzas de las imágenes, ponderada con el número de partículas en cada imagen, y *n* el número de imágenes consideradas.

Hubo casos en que la hipótesis no pudo ser confirmada con la totalidad de los datos originales, por lo que se identificaron y eliminaron las imágenes con valores atípicos, de hecho solamente una para

el área y el *Feret*, repitiéndose el proceso hasta obtener consistencia. No fue necesario eliminar imágenes para *D* ni para el factor de forma.

**Incertidumbre de las medidas**

Los modelos de medición utilizados fueron:

a. Para el área y el diámetro de Feret  $y = \bar{y} + e_{cal} + e_{res} + e_{threshold} + e_{rep}$ , donde *y* representa el área o el diámetro de Feret,  $\bar{y}$  es el mejor estimado,  $e_{cal}$  el error derivado de la calibración,  $e_{res}$  el error cometido por la resolución finita de las lecturas,  $e_{threshold}$  el error cometido por la falta de nitidez de las imágenes de las partículas, y  $e_{rep}$  el error por repetibilidad y reproducibilidad.

Cabe mencionar que estos cuatro errores tienen media cero pero varianza distinta de cero, por lo cual no implican corrección numérica al mejor estimado pero contribuyen a la incertidumbre de las medidas.

b. Para el diámetro equivalente

$$D = \sqrt{\frac{4A}{\pi}} + e_{rep}$$

siendo  $e_{rep}$  el error por

repetibilidad y reproducibilidad con las mismas consideraciones previas para los errores.

c. Para el factor de forma  $ff = \frac{Feret}{Feret_{min}} + e_{rep}$ ,

siendo  $e_{rep}$  el error por repetibilidad y reproducibilidad con las mismas consideraciones previas para los errores.

GUM [8]. En cada caso la contribución a la incertidumbre de las medidas por repetibilidad y reproducibilidad, *r&R*, se estimó por la desviación estándar de las medias de las imágenes dividida entre la raíz cuadrada del número de imágenes no excluidas. Esta consideración es muy relevante pues si el mensurando se definiera en términos del promedio obtenido de una sola imagen, en lugar del promedio obtenido con las 23 imágenes, el valor de la incertidumbre se elevaría por un factor entre 4 y 5 aproximadamente.

Para la estimación de la incertidumbre del factor de forma se supuso que la incertidumbre de *Feret<sub>min</sub>* es la misma que la de *Feret*, en cuyo caso se consideró una correlación total entre los resultados de estas dos mediciones.

Dado que la contribución dominante, *r&R*, en cada caso es aproximadamente normal en el espacio correspondiente, salvo estrictamente para el factor de forma se puede suponer que las distribuciones de los mensurandos son aproximadamente normales, lo que soporta la validez de que un valor del factor de cobertura *k* = 2, estrictamente 2.06, corresponda a un nivel de confianza de 95 % aproximadamente. Las tablas 1 y 2 muestran las contribuciones a la incertidumbre de medida para el área y para el diámetro equivalente respectivamente.

La incertidumbre estándar combinada de las medidas se estimó de acuerdo a la denominada

**Tabla 1.** Contribuciones a la incertidumbre de medida del área. *Thresholding* se refiere a la falta de nitidez de las imágenes de las partículas.

contribución		variación	unidad *	cuantificación	distribución	incertidumbre estándar	unidad
Calibración							
	patrón de medida	0.003	nm <sup>2</sup>	estimado	normal (2s)	0.0015	nm <sup>2</sup>
	resolución en el proceso de calibración	0.15	nm <sup>2</sup>	estimado	uniforme	0.09	nm <sup>2</sup>
	escala	0.15	nm <sup>2</sup>	estimado	uniforme	0.09	nm <sup>2</sup>
<i>Thresholding</i>		0.15	nm <sup>2</sup>	estimado	uniforme	0.09	nm <sup>2</sup>
Resolución		0.15	nm <sup>2</sup>	estimado	uniforme	0.09	nm <sup>2</sup>
	r&R	3.361	nm <sup>2</sup>	estadística	normal (1s)	3.361	nm <sup>2</sup>
valor del patrón de medida 0.3135 nm							
escala		2.56	pixel/nm	incertidumbre estándar combinada =		<b>3.37</b>	nm <sup>2</sup>
		0.39	nm/pixel	factor de cobertura =		<b>2.06</b>	
		0.15	nm <sup>2</sup> /pixel	<b>incertidumbre expandida =</b>		<b>6.9</b>	nm <sup>2</sup>
				incertidumbre relativa =		1.2%	

\*El símbolo "nm" utilizado en este trabajo no implica garantía de trazabilidad metrológica a la unidad SI de longitud.

**Tabla 2.** Contribuciones a la incertidumbre de medida del diámetro equivalente.

contribución	variación	unidad *	cuantificación	distribución	coeficiente de sensibilidad	unidad	incertidumbre estándar	unidad		
Area	6.9	nm <sup>2</sup>	medidas de área	normal (2s)	0.0236	1/nm	0.163	nm		
r&R	0.116	nm	estadística	normal (1s)	1	1	0.116	nm		
							incertidumbre estándar combinada =	<b>0.20</b>	nm	
							factor de cobertura =	<b>2.06</b>		
patrón de medida	0.3135	nm								
escala	2.56	pixel/nm								
	3.19	nm/pixel								
área	574.00	nm <sup>2</sup>								
							<b>incertidumbre expandida =</b>	<b>0.41</b>	nm	
							incertidumbre relativa =	1.5%		

\*El símbolo "nm" utilizado en este trabajo no implica garantía de trazabilidad metrológica a la unidad SI de longitud.

**Tabla 3.** Comparación entre los resultados utilizando los modelos normal y log-normal para el diámetro equivalente *D*, el diámetro de Feret, el área y el factor de forma.

	<i>D</i>	<i>Feret</i>	<i>A</i>	Factor de forma
media longitud	27.02 nm	29.54 nm	573.6 nm <sup>2</sup>	1.14
desv std longitud	2.09 nm	2.64 nm	89.8 nm <sup>2</sup>	0.089
media log	27.04 nm	29.55 nm	574.0 nm <sup>2</sup>	1.14
desv std log	2.08 nm	2.60 nm	88.6 nm <sup>2</sup>	0.081
residuos de la regresión, modelo normal	0.12	0.012	0.017	—
residuos de la regresión, modelo log normal	0.005	0.005	0.004	—
Distribución preferida	log	log	log	Normal, como primera aproximación
muestras excluidas	ninguna	una	una	ninguna

**Tabla 4.** Resultados de la medición para el diámetro equivalente *D*, el diámetro de Feret, el área y el factor de forma, obtenidos de 23 imágenes conteniendo 526 partículas en total.

	<i>D</i>	<i>Feret</i>	<i>A</i>	Factor de forma
mejor estimado	27.04 nm	29.55 nm	574.0 nm <sup>2</sup>	1.14
incertidumbre expandida de medida *	0.41 nm	0.95 nm	6.9 nm <sup>2</sup>	0.008
desviación estándar de la distribución	2.1 nm	2.6 nm	91 nm <sup>2</sup>	0.089
incertidumbre relativa de medida	1.5 %	3.2 %	1.2 %	0.71 %

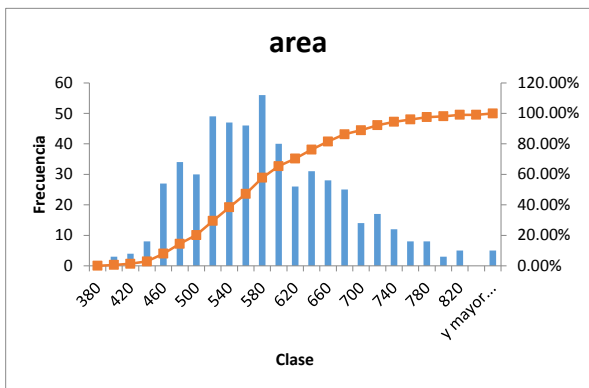
\* La incertidumbre expandida está expresada a un nivel de confianza de 95 % aproximadamente. El símbolo "nm" utilizado en este trabajo no implica garantía de trazabilidad metrológica a la unidad SI de longitud.



**Expresión de los resultados**

Los resultados se expresaron en el espacio de longitud como la transformación inversa del logaritmo de la media en el espacio log, salvo para el factor de forma. Las distribuciones se describen en términos de sus dos primeros momentos, por medio de la media y la desviación estándar obtenida por el promedio de las varianzas de cada imagen ponderada con el número de partículas en cada imagen.

Como se declaró, el uso del símbolo “nm” en los resultados de medición de este trabajo no implica garantía de trazabilidad metrológica a la unidad SI de longitud.



**Figura 2.** Histograma de las mediciones de área de 526 partículas contenidas en 23 imágenes. Los resultados de la estadística descriptiva de los mismos datos se muestran en el cuadro de la derecha.

**4 RESULTADOS**

En la Figura 1 se observan algunas imágenes tomadas a 25kX, que fueron procesadas como se mencionó en el apartado sobre análisis de las imágenes. La Figura 2 muestra el histograma y los resultados de la estadística descriptiva para el área, en donde es notable la asimetría de la distribución, cuantificada por el valor del coeficiente de asimetría de 0.62 obtenido en su estadística descriptiva. La tabla 3 muestra los resultados en el espacio de longitud y el espacio log, en donde destaca que las diferencias entre los resultados entre ambos modelos no son significativas. La tabla 4 muestra los resultados finales para los cuatro mensurandos bajo estudio.

area	
Media	576.900561
Error típico	3.98671937
Mediana	564.1935
Moda	557.556
Desviación estándar	91.4341723
Varianza de la muestra	8360.20787
Curtosis	0.1243722
Coefficiente de asimetría	0.61871844
Rango	496.216
Mínimo	384.674
Máximo	880.89
Suma	303449.695
Cuenta	526

**5. CONCLUSIONES**

La medición del tamaño y la distribución del tamaño de nanopartículas de oro discretas esféricas se realizó por microscopía de transmisión de electrones, en una primera etapa partiendo de una muestra ya preparada en un sustrato con una superficie de cargas positivas para mejorar la dispersión y reducir el número de partículas que se tocan entre sí, eliminando la contribución a la incertidumbre de medición debida a la preparación.

El uso de una herramienta de análisis automatizado, como el *ImageJ*, del tamaño de partícula es esencial para obtener en tiempos razonables las distribuciones del tamaño de partícula por MTE. Los mensurandos medidos por este análisis fueron el tamaño de partícula y la distribución de su tamaño, cuantificados en términos del diámetro equivalente,

el área, el diámetro de Feret y el factor de forma de las nanopartículas de oro. El análisis estadístico de los datos probó que el modelo de distribución log-normal se ajusta mejor para los mensurandos considerados a excepción del factor de forma. La consistencia de los datos fue evaluada, sin embargo en el análisis se eliminaron valores atípicos resultantes de partículas aglomeradas. La precisión de las medidas fue el factor que más contribuyó a las respectivas incertidumbres de medida.

Las nanopartículas poseen propiedades químicas y físicas únicas que surgen de sus dimensiones en la nanoescala, lo que es de interés actual por sus potenciales aplicaciones industriales y sus implicaciones en la salud y el medio ambiente. Por lo que la medición confiable y con exactitud suficiente de tamaño y distribución de tamaño son parámetros de interés fundamental.

La MTE es uno de los primeros métodos utilizados para determinar los mensurandos antes mencionados, aun cuando presenta un alto costo y lentitud como inconvenientes. Sin embargo, dado que se presentan numerosos factores que influyen en las medidas del tamaño de las nanopartículas, es importante desarrollar protocolos validados, utilizando materiales de referencia que permitan lograr trazabilidad metrológicas a la unidad SI de longitud, y que detallen cómo y con qué certidumbre se determina el tamaño y la distribución del tamaño de la nanopartícula mediante esta técnica de medición.

### REFERENCIAS

- [1] Linsinger T., Roebben G., Gilliland D., Calzolari L., Rossi F., Gibson N., Klein C. *Requirements on measurements for the implementation of the European Commission definition of the term "nanomaterial"*. JRC Reference Report (2012).
- [2] Meli F., Klein T., Buhr E., Frase C. G., Gleber G., Krumery M., Duta A., Duta S., Korpelainen V., Bellotti R., Picotto G. B., Boyd R. D., and Cuenat A. *Meas. Sci. Technol.* 23. (2012) 125005
- [3] Rice S. B., Chan C., Brown S. C., Eschbach P., Han L., Ensor D. S., Stefaniak A. B., Bonevich J., Vladoar A. E., Hight Walker A. R., Zheng J., Starnes C., Stromberg A., Ye J., and Grulke E. *A. Metrologia* **50** (2013) 663-678.
- [4] ISO/TC 229 *Nanotechnologies – Protocol for particle size distributions y transmission electron microscopy*. En preparación.
- [5] Hecht, E. & Zajac, A. *Óptica*. Massachusetts, E. U. A.: Addison-Wesley Iberoamericana (1974).
- [6] NIST National Institute of Standards and Technology. *Report of Investigation Reference Material 8012 Gold Nanoparticles, Nominal 30 nm Diameter* (2007).
- [7] Natrella M. G. *Experimental Statistics*. NIST Handbook 91, (1963), pp. 3-40.
- [8] NMX-CH-140-IMNC-2002. *Guía para la expresión de incertidumbre en mediciones*.