

# Práctica 1. Influencia del tamaño de partícula en las propiedades físicas de nanopartículas de Au

---

Esta actividad introduce a los estudiantes en el estudio de las propiedades únicas de los materiales en escala nanométrica a través de la exploración de las propiedades ópticas dependientes del tamaño que exhiben las nanopartículas de oro.

## 1.1 Introducción

Un nanómetro es 10.000 veces más pequeño que el diámetro de un pelo humano. ¿Te imaginas lo que significa el producir y emplear materiales a escala nanométrica? La nanociencia investiga las propiedades tan especiales que presentan estos materiales. Entendiendo estas propiedades y aprendiendo cómo emplearlas en diferentes aplicaciones, los científicos e ingenieros pueden desarrollar nuevos tipos de sensores y dispositivos. Esta tecnología está teniendo un enorme impacto en el diagnóstico de enfermedades, en el procesado y almacenamiento de información, etc.

Las propiedades físicas y químicas son dependientes del tamaño dentro de un cierto intervalo de tamaños específicos para cada material y propiedad. Cuando una partícula de oro metálico presenta un tamaño similar a la longitud de onda de la luz visible (400 – 750 nm), interactúa con la luz de forma muy interesante. El color de una solución de nanopartículas de oro depende del tamaño y forma de las

nanopartículas. Consideremos una analogía: el golpe de una cuchara sobre una botella de cristal parcialmente llena de agua genera un sonido. Variando el volumen de agua en la botella, el tono del sonido cambiará. Por lo tanto, el tono del sonido depende del volumen de agua. De manera similar, el volumen y la forma de la nanopartícula determinan cómo va a interactuar con la luz. En consecuencia, determinarán también el color de la solución de nanopartículas. Por ejemplo, mientras que una gran muestra de oro (como las empleadas en joyería) es de color amarillo, una solución de partículas nanométricas de oro puede presentar un amplio abanico de colores, dependiendo del tamaño de las nanopartículas.

*¿Por qué las nanopartículas de oro no son amarillas y pueden ser verdes, rojas o azules?*

Los metales no absorben la luz visible; en cambio, pueden devolver casi toda la luz que les llega gracias a que algunos de sus electrones no están unidos a átomos individuales, sino que están 'libres' para moverse. Estos electrones móviles hacen de 'coraza' para la luz visible que llega, impidiendo que penetre. Bueno, estrictamente hablando, **la luz es capaz de penetrar en el metal unos pocos nanómetros**, pero, a efectos prácticos, toda la luz se refleja en el metal llegando a nuestros ojos y por eso los vemos brillantes.

En el caso del oro, no todos los electrones son libres y aquellos que se encuentran ligados a los átomos son los responsables de la tonalidad dorada de este elemento. Al reducir el tamaño de las partículas a escala nanométrica, la luz ya es capaz de penetrar el metal. La pequeña penetración de la luz en los metales es suficiente para que llegue a toda la nanopartícula y todos **los electrones empiezan a moverse colectivamente por efecto de esta luz**. Se desplazan juntos de un lado a otro de la nanopartícula de forma oscilatoria al 'ritmo' que les marque la onda de la luz.

Las nanopartículas de oro, cuanto más pequeñas presentarán un color más rojizo. Las nanopartículas de tamaño mediano (~ 90 nm) absorben luz de longitud de onda grande (rojo) pero dejan pasar el resto (azul) y por eso se ven azuladas. Las nanopartículas muy pequeñas absorben luz de longitud de onda pequeña (azul), llegando a nuestros ojos el resto (rojo) y por eso se ven rojizas. Por esto, cuanto más pequeñas sean las nanopartículas, más rojizas las veremos (siempre y cuando veamos la nanopartícula desde el lado opuesto al lado desde el que se ilumina).

*Espectroscopia y el tamaño de las nanopartículas*

El espectro visible de una solución de oro coloidal aporta información acerca del tamaño y la uniformidad de sus partículas:

El tamaño de partícula está relacionado con la posición del pico,  $\lambda_{\max}$ . Para las nanopartículas de Au de 12-13 nm de diámetro, el pico correspondiente al máximo aparece a una longitud de onda de 520 nm. De todas formas, la posición de  $\lambda_{\max}$  puede variar de una muestra a otra en función del tamaño de las nanopartículas, tal como se muestra en la siguiente tabla:

**Tabla 1.1** Relación entre el tamaño de partícula y la posición del pico de máxima absorbancia.

Tamaño de partícula / nm	$\lambda_{\max}$ / nm
< 12	< 520
12	520
> 12	> 520

La anchura del pico a media altura (*peak width at half maximum* – PWHM) indica cómo es la distribución de los tamaños de partícula. Cuanto más estrecho sea el pico, mayor será el tamaño de partícula. En esta práctica, el intervalo en el que nos moveremos será  $\pm 1.5$  nm, y la anchura de pico (PWHM) debe encontrarse entre 80 y 90 nm.

En esta práctica, se explorarán estas propiedades dependientes del tamaño de las nanopartículas de oro y se investigará el efecto de añadir diferentes sustancias a una solución de nanopartículas de oro.

## 1.2 Reactivos

$\text{HAuCl}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ ,  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ , NaCl, azúcar, vinagre y agua destilada

## 1.3 Materiales

Vaso de precipitados de 50 ml (2), vidrio de reloj (2), tubos de ensayo (4), gradilla para tubos de ensayo (1), probeta (1), pipeta de 20 ml (1), pipetas Pasteur (3), placa calefactora (1) y agitador magnético (1), bote guardamuestras (1).

## 1.4 Procedimiento

### Disoluciones de partida (están preparadas):

Disolución 1.0 mM de  $\text{HAuCl}_4 \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$ : Disolver 0.1 g del sólido en 500 ml de agua destilada

Disolución 38.8 mM de  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$ : Disolver 0.5 g del sólido en 50 ml de agua destilada

### ***Apartado A Síntesis de nanopartículas de Au de 13 nm de diámetro por el método Turkevich<sup>1,2</sup>.***

- \_1. Añadir 20 ml de la disolución del ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) en un vaso de precipitados de 50 ml. Poner la *mosca* (o imán) en su interior y calentar en la placa calefactora hasta ebullición con agitación constante.
- \_2. Una vez que empieza la ebullición, añadir mediante una pipeta Pasteur 2 ml de la disolución de trisodio;2-hidroxipropano-1,2,3-tricarboxilato;dihidratado ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ). Mantener la mezcla en ebullición y con agitación hasta que la solución adquiera un color rojizo profundo (tras 10 minutos aproximadamente). Mientras la solución esté en agitación, añadir agua destilada según sea conveniente, para mantener el volumen total de la mezcla cercano a los 22 ml. ¿Observas algún cambio en la solución?
- \_3. Cuando la solución presente un color rojizo profundo, apagar la placa calefactora y el agitador.
- \_4. Dejar enfriar la mezcla hasta temperatura ambiente y transvasa la disolución a un bote porta-muestras para emplearla en el siguiente apartado de la práctica.

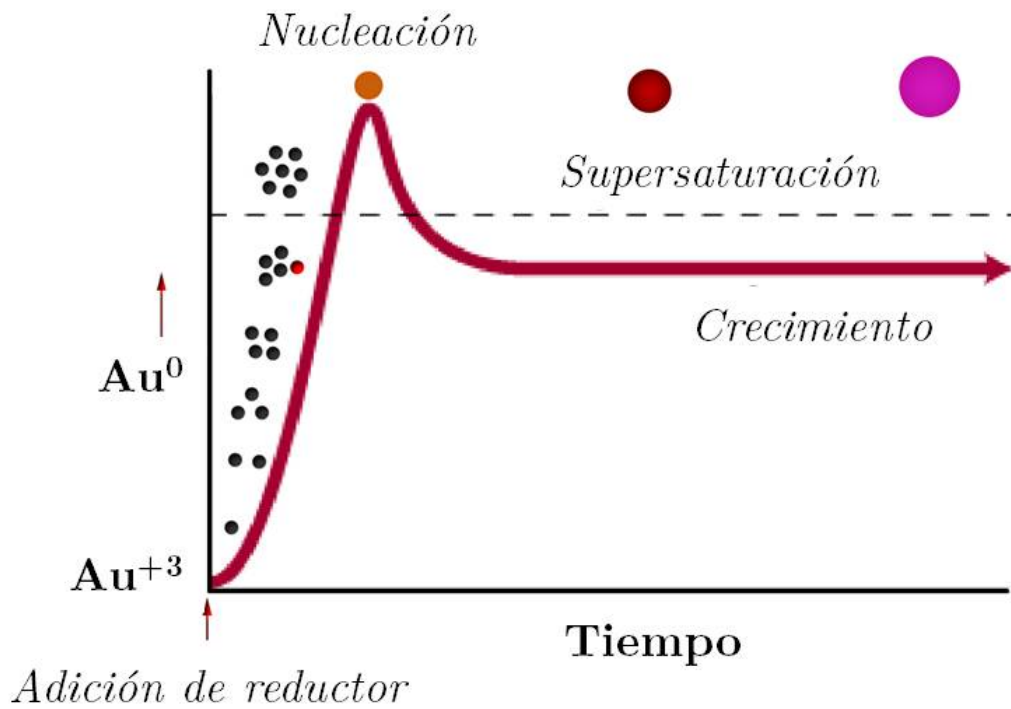
Antes de la adición del agente reductor, en la disolución tendremos cationes de oro,  $\text{Au}^{+3}$ . Cuando añadimos el  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  (agente reductor) se forman los átomos de oro metálico y su concentración aumenta rápidamente hasta llegar al punto de saturación de la disolución. A partir de este punto, las partículas se van formando en el proceso conocido como nucleación. De esta forma, los átomos de oro que están

---

<sup>1</sup> Turkevich, J., Stevenson, P.C. and Hillier, J. "A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold." *Discuss Faraday Soc.*, 11 (1951) 55-75.

<sup>2</sup> Kimling, J.; Maier, M.; Okenve, B.; Kotaidis, V.; Ballot, H.; Plech, A. "Turkevich Method for Gold Nanoparticle Synthesis Revisited" *J. Phys. Chem. B* 110 (2006) 15700–15707.

presentes en la disolución se unen a los centros de nucleación dando lugar a un crecimiento de las partículas, tal como se explica en la figura 1.1.

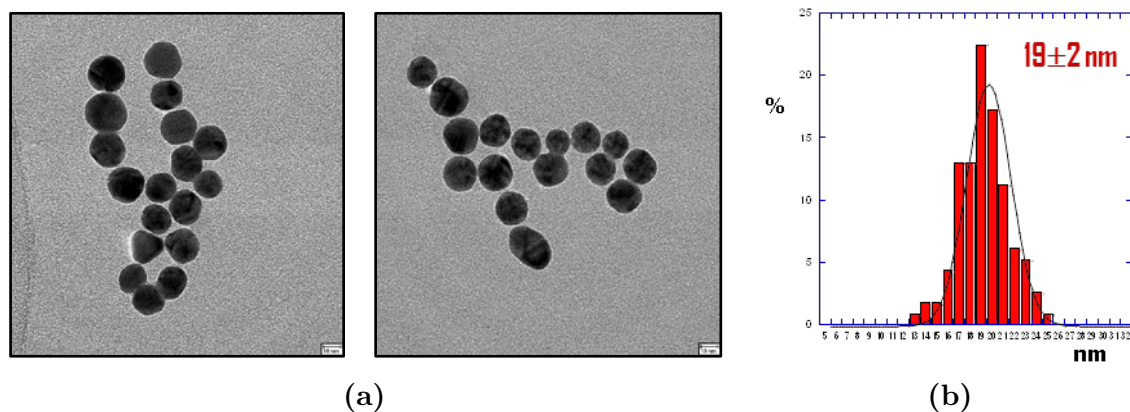


**Figura 1.1** (a) Proceso de crecimiento de las partículas de oro a partir de una disolución de cationes de  $Au^{+3}$ .



**Figura 1.2** Disolución inicial de oro (a) y aspecto final de la misma tras la formación de las nanopartículas.

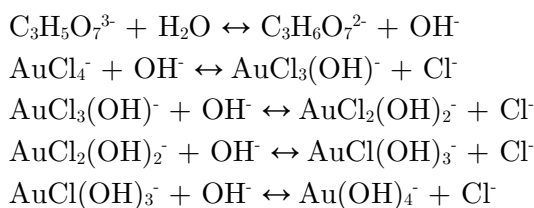
En función del control del proceso de crecimiento podremos obtener nanopartículas de diferentes tamaños que podrán ser visualizadas mediante microscopía electrónica de transmisión – TEM (figura 1.3).



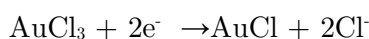
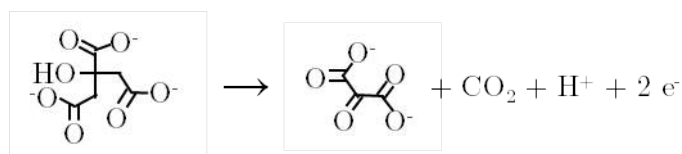
**Figura 1.3** (a) Imágenes de microscopía TEM obtenidas para nanopartículas de Au con diferentes tamaños y (b) distribución de tamaños.

El  $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$  al ser adicionado a la disolución de ácido tetracloroaurico también actúa como amortiguador en función de su cantidad y concentración. El proceso de nucleación y la posterior cristalización ocurre muy rápido a temperaturas elevadas. Sin embargo, la presencia del amortiguador fomenta el crecimiento de las partículas, por lo que es importante controlar ambos factores (temperatura y amortiguador), que actúan independientemente, a fin de regular el tamaño de las nanopartículas. El proceso de formación de las nanopartículas de oro conlleva una serie de pasos que se detallan a continuación:

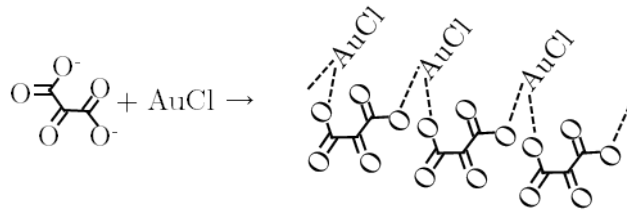
- a) Hidrólisis del  $\text{HAuCl}_4$  y el anión citrato.



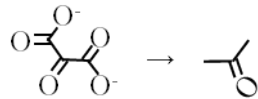
- b) Reacción redox entre el  $\text{HAuCl}_4$  y el anión citrato



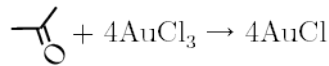
c) Complejación del anión acetato dicarboxilato (AAD) y el AuCl



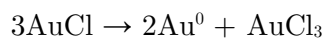
d) Descomposición del AAD en acetona



e) Reacción redox entre el AuCl<sub>3</sub> y la acetona



f) Desproporción del AuCl.



***Apartado B Empleo de nanopartículas como sensores químicos selectivos.***

- \_1. En un vaso de precipitados de 50 ml disolver 0.5 g de NaCl en 10 ml de agua destilada.
- \_2. En otro vaso de precipitados de 50 ml, disolver 2 g de azúcar en 10 ml de agua destilada.
- \_3. En 4 tubos de ensayo, verter 3 ml (con pipeta Pasteur) de la solución de nanopartículas de oro preparada en el apartado A. Añadir, de nuevo mediante una pipeta Pasteur, 3 ml de agua destilada en cada uno de los 4 tubos de ensayo. Guardar uno de los tubos de ensayo con nanopartículas de Au y agua destilada como control para comparar con los tubos de ensayo de los siguientes experimentos.
- \_4. Con una pipeta Pasteur, añadir 5 – 10 gotas (de una en una y poco a poco) de la solución de NaCl en uno de los tubos de ensayo que contienen 3ml de nanopartículas de Au y agua destilada. Apunta lo que observas. ¿Qué ha ocurrido en la solución de nanopartículas?

- \_5. Con otra pipeta Pasteur, añadir 5 – 10 gotas (de una en una y poco a poco) de la solución de azúcar en otro de los tubos de ensayo que contienen 3ml de nanopartículas de Au y agua destilada. Apunta lo que observas. ¿Qué ha ocurrido en la solución de nanopartículas?
- \_6. ¿Qué predices que ocurriría si se añaden unas gotas de vinagre? ¿Crees que se producirá algún cambio de color? Realiza el experimento añadiendo 5 – 10 gotas de vinagre.



**Figura 1.4** Efecto del aditivo sobre las nanopartículas:

- (a) muestra control;  
(b) NaCl;  
(c) azúcar;  
(d) vinagre;  
(e) ácido acético (80 %);  
(f) HCl (12 N).

### **Apartado C** Estudio de las soluciones de nanopartículas de Au mediante espectroscopia UV-visible

En esta tercera parte de la práctica, se estudiará la agregación de las soluciones de nanopartículas preparadas en el apartado B a través de la absorción UV-visible mediante un espectrofotómetro. Esto va a permitir a los estudiantes asociar la longitud de onda absorbida (medida del espectro) con el color observado en la solución.

#### *1.4.C.1 Precauciones a tener en cuenta*

- Tome las cubetas por la parte superior evitando dejar restos de grasa o suciedad en la cubeta que podrían afectar a la lectura de la absorbancia.
- Asegúrese que antes de introducir las cubetas en el espectrofotómetro se encuentran perfectamente limpias y secas ya que de lo contrario, al tratarse de disoluciones que contienen ácido, podrían dañar el equipo.



1.4.C.2 *Determinación del tamaño de partícula y su distribución mediante análisis colorimétrico*

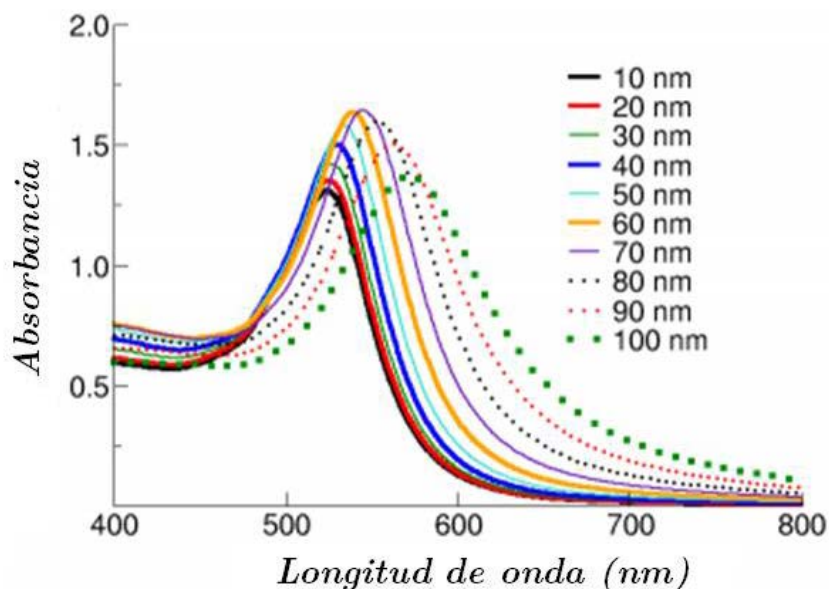
Se van a medir 5 muestras: agua destilada y alícuotas de las soluciones de los 4 tubos de ensayo preparados en el apartado B.

- \_1. Añadir unos ml de disolución en la cubeta. Es importante que la concentración de la solución sea tal que el máximo del pico de absorbancia se encuentre entre 0.3 y 1. Comprobar que trabajamos con la concentración adecuada haciendo una medida a situando la longitud de onda a 520 nm, que estará próxima al máximo de absorbancia. Si la absorbancia es demasiado elevada, diluir con agua destilada.
- \_2. Medir la absorbancia **cada 5 nm entre 400 y 700 nm** para las 5 muestras.
- \_3. Dibujar la evolución de la absorbancia frente a la longitud de onda. Compara la posición del pico de máxima absorbancia con los datos de las figuras 1.6 y 1.7.
- \_4. Rellena la siguiente tabla y extrae tus propias conclusiones, comentando cómo es el tamaño de partícula y su distribución para cada una de las muestras.

Medida	$\lambda_{\max}$ (nm)	Tamaño (nm)	Anchura a media altura (nm)	Distribución (nm)
Agua destilada				
Tubo 1 NPs Au				
Tubo 2 NPs Au + NaCl				
Tubo 3 NPs Au + azúcar				
Tubo 4 NPs Au + vinagre				

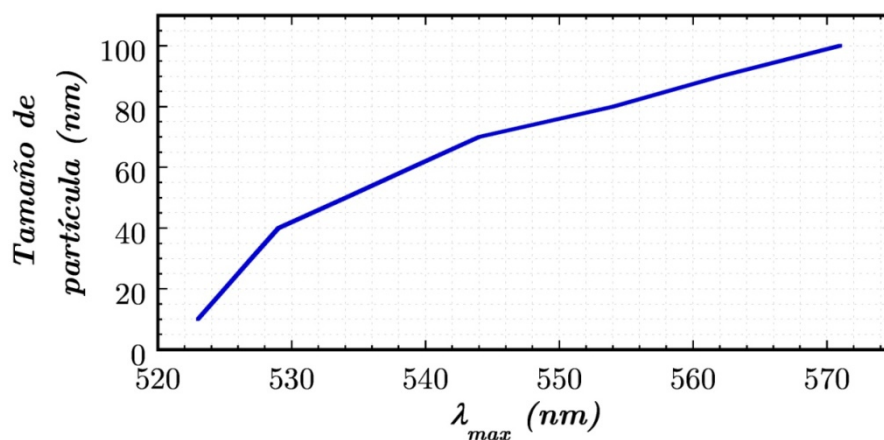
*¿Cómo calcular el tamaño de partícula a partir de la longitud de onda máxima registrada en el espectro de UV/visible?*

En el caso de las nanopartículas de oro, a medida que el tamaño de partícula aumenta, la longitud de onda del máximo se traslada a mayores valores, tal como se aprecia en la figura 1.4.



*Figura 1.5* Movimiento del pico de máxima absorbancia en función del tamaño de partícula de las nanopartículas de Au.

Para poder relacionar más fácilmente el tamaño de partícula con la longitud de onda del máximo que has obtenido puedes usar el siguiente gráfico (figura 1.5):

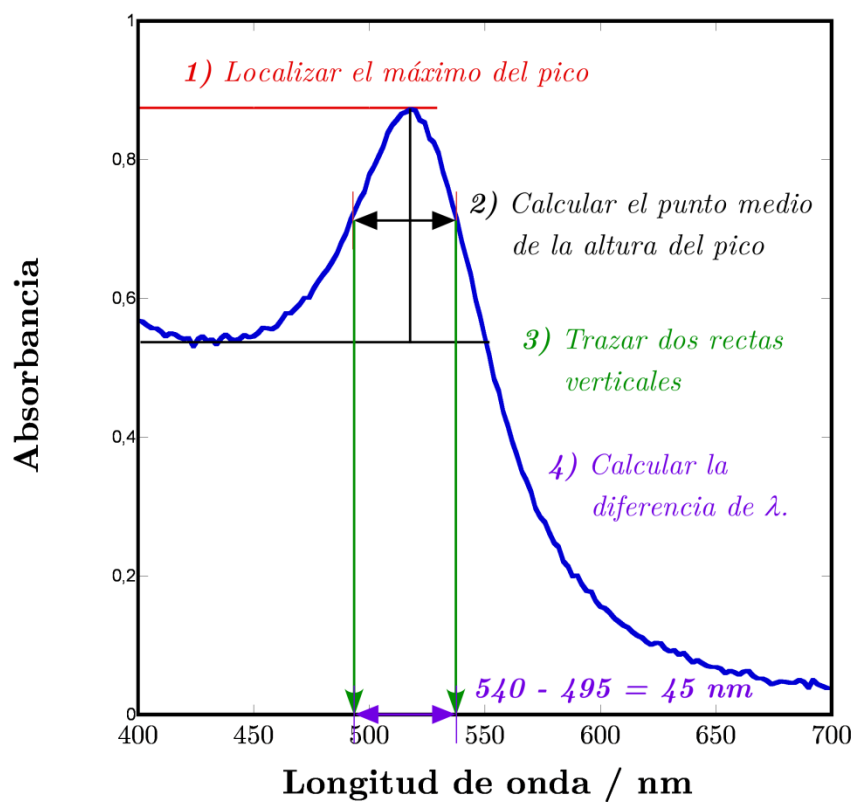


*Figura 1.6* Variación de la longitud de onda del máximo del pico correspondiente a las nanopartículas con el tamaño de partícula.

*¿Cómo calcular la anchura a media altura a partir de un espectro UV/visible?*

A través de la anchura a media altura es posible conocer la distribución de tamaños de las nanopartículas obtenidas. Cuanto mayor sea dicho parámetro, mayor distribución de tamaños se habrá obtenido, es decir, a lo largo de la síntesis se habrán obtenido nanopartículas de muchos tamaños diferentes. Si el pico es más estrecho, los tamaños de las nanopartículas sintetizadas serán más homogéneos.

El procedimiento que se sigue para calcular la anchura a media altura es el que se presenta en la figura 1.6.



*Figura 1.7 Esquema para el cálculo de la anchura a media altura.*

Se localiza el máximo del pico a analizar y a partir de él se calcula la mitad del pico. Una vez localizado dicho punto se traza una línea horizontal y se marcan los dos puntos en los que dicha recta horizontal corta con el pico. A partir de ambos puntos se trazan sendas rectas verticales y se leen las longitudes de onda de ambos puntos. La anchura a media altura se corresponde con la resta de ambas longitudes de onda (longitud de onda mayor menos la longitud de onda menor).

## 1.5 Cuestiones

1. Basándote en el hecho de que los aniones citrato cubren la superficie de cada nanopartícula, explica qué mantiene las nanopartículas aisladas en la solución original.
2. ¿Por qué añadir la solución de la sal produce diferente efecto que añadir azúcar?
3. ¿Qué ocurre al añadir el vinagre?
4. Cómo se puede aplicar el efecto observado en el apartado B para detectar los enlaces de biomoléculas como el ADN o los anticuerpos que se unen entre ellas o con otras moléculas? ¿Cómo pueden emplearse estas moléculas para producir la agregación de las nanopartículas?
5. En bibliografía se describe que una NP de oro de 14 nm contiene alrededor de 49000 átomos de Au. Demuéstralo asumiendo que cada átomo de oro es un cubo de 0.3 nm de lado. (Volumen de una esfera =  $4/3 \pi r^3$ )

