



**UNIVERSIDAD DE MURCIA**  
**ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO**  
**TESIS DOCTORAL**

Estudio de la Formación y Agregación de Nanopartículas de Oro  
Mediante Técnicas Ópticas y Electroquímicas.

**D.<sup>a</sup> Carmen María Almagro Gómez**  
**2024**





**UNIVERSIDAD DE MURCIA**  
**ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO**  
**TESIS DOCTORAL**

Estudio de la Formación y Agregación de Nanopartículas de Oro  
Mediante Técnicas Ópticas y Electroquímicas.

Autor: D.<sup>a</sup> Carmen María Almagro Gómez

Director/es: D. José Ginés Hernández Cifre  
D. Joaquín Ángel Ortuño Sánchez-Pedreño





**DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD  
DE LA TESIS PRESENTADA PARA OBTENER EL TÍTULO DE DOCTOR**

*Aprobado por la Comisión General de Doctorado el 19-10-2022*

D./Dña. Carmen María Almagro Gómez

doctorando del Programa de Doctorado en

Química Básica y Aplicada

de la Escuela Internacional de Doctorado de la Universidad Murcia, como autor/a de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor y titulada:

Estudio de la formación y agregación de nanopartículas de oro mediante técnicas ópticas y electroquímicas

y dirigida por,

D./Dña. José Ginés Hernández Cifre

D./Dña. Joaquín Ángel Ortuño Sánchez-Pedreño

D./Dña.

**DECLARO QUE:**

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la Ley de Propiedad Intelectual (R.D. legislativo 1/1996, de 12 de abril, por el que se aprueba el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, modificado por la Ley 2/2019, de 1 de marzo, regularizando, aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

*Si la tesis hubiera sido autorizada como tesis por compendio de publicaciones o incluyese 1 o 2 publicaciones (como prevé el artículo 29.8 del reglamento), declarar que cuenta con:*

- La aceptación por escrito de los coautores de las publicaciones de que el doctorando las presente como parte de la tesis.*
- En su caso, la renuncia por escrito de los coautores no doctores de dichos trabajos a presentarlos como parte de otras tesis doctorales en la Universidad de Murcia o en cualquier otra universidad.*

Del mismo modo, asumo ante la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad del contenido de la tesis presentada, en caso de plagio, de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

En Murcia, a 30 de Septiembre de 2024

*Carmen María Almagro*

Fdo.: Carmen María Almagro Gómez (DNI. ██████████)

*Esta DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD debe ser insertada en la primera página de la tesis presentada para la obtención del título de Doctor.*

Información básica sobre protección de sus datos personales aportados	
Responsable:	Universidad de Murcia. Avenida teniente Flomesta, 5. Edificio de la Convalecencia. 30003; Murcia. Delegado de Protección de Datos: dpd@um.es
Legitimación:	La Universidad de Murcia se encuentra legitimada para el tratamiento de sus datos por ser necesario para el cumplimiento de una obligación legal aplicable al responsable del tratamiento. art. 6.1.c) del Reglamento General de Protección de Datos
Finalidad:	Gestionar su declaración de autoría y originalidad
Destinatarios:	No se prevén comunicaciones de datos
Derechos:	Los interesados pueden ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación, oposición, limitación del tratamiento, olvido y portabilidad a través del procedimiento establecido a tal efecto en el Registro Electrónico o mediante la presentación de la correspondiente solicitud en las Oficinas de Asistencia en Materia de Registro de la Universidad de Murcia





UNIVERSIDAD DE  
**MURCIA**

D. José Ginés Hernández Cifre, Profesor Titular de Universidad del Área de Química Física en el Departamento de Química Física, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Estudio de la formación y agregación de nanopartículas de oro mediante técnicas ópticas y electroquímicas", realizada por D<sup>a</sup>. Carmen María Almagro Gómez, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 3 de septiembre de 2024

HERNANDEZ  
Z CIFRE  
JOSE GINES  
-  
Firmado digitalmente por  
HERNANDEZ  
CIFRE JOSE GINES  
Fecha: 2024.09.03  
09:45:24 +02'00'





UNIVERSIDAD DE  
**MURCIA**

D. Joaquín Ángel Ortuño Sánchez-Pedreño, Catedrático de Universidad del Área de Química Analítica en el Departamento de Química Analítica, AUTORIZA:

La presentación de la Tesis Doctoral titulada "Estudio de la formación y agregación de nanopartículas de oro mediante técnicas ópticas y electroquímicas ", realizada por D<sup>a</sup>. Carmen María Almagro Gómez, bajo mi inmediata dirección y supervisión, y que presenta para la obtención del grado de Doctor por la Universidad de Murcia.

En Murcia, a 2 de Septiembre de 2024

*JAOSP*



# **AGRADECIMIENTOS**

La culminación de esta Tesis Doctoral no hubiera sido posible sin el apoyo y la contribución de muchas personas, a quienes me gustaría expresar mi más profundo agradecimiento.

En primer lugar, quiero agradecer a mis directores de tesis, gracias por el apoyo, los ánimos y sobre todo por permitirme disfrutar de la experiencia de mi Tesis Doctoral, siempre teniendo en cuenta el hecho de que además de doctoranda soy madre. He tenido la fortuna de poder conciliar la investigación con mi familia y eso ha sido gracias a vosotros. D. José Ginés Hernández Cifre, gracias por darme la oportunidad de culminar mi formación académica con esta Tesis Doctoral, por hacerme tan fácil el trabajo, tanto en el laboratorio como en la escritura, por aceptar cada propuesta e idea, y por estar en Agosto tratando de resolver los retos que Word nos ha ido ofreciendo. D. Joaquín Ortuño Sánchez-Pedreño, gracias por aparecer en mi camino allá por 2013, proporcionando enseñanza en cada comentario, por esa capacidad de relacionar conceptos aparentemente alejados, encontrando siempre la solución al problema. Gracias por responder siempre a cada pregunta con un “esa pregunta es muy interesante”, porque esas cinco palabras han supuesto, en muchas ocasiones, un subidón de autoestima muy necesario. Sin ti esta Tesis no hubiera sido lo mismo. Gracias a los dos por cada minuto de vuestro tiempo, porque es sin duda lo más valioso que tenemos.

Consuelo, como decía mi profesor de Filosofía en el instituto, “en el nombre está el ser” y desde luego que para mí has sido consuelo en incontables ocasiones. Nunca podré estar lo suficientemente agradecida contigo, me has ayudado en absolutamente todo desde que nos conocimos estudiando el grado. Siempre tienes una palabra de ánimo, de apoyo, un truco para el power point, una frase de Taylor Swift, una anécdota de la Historia (sobre todo de la alemana), una receta o un vídeo de *Tik Tok* para levantar el ánimo...Desde luego que eres única y me siento muy afortunada de que formes partes de mi vida, gracias.

Gracias a todos mis compañeros/as, por compartir conmigo este viaje académico y por su amistad. José Víctor, gracias por tener siempre ideas que proponer, ganas de mejorar, de saber más, incansable lector de artículos, gracias por todas las conversaciones.

Agradezco a todo el Departamento de Química Física de la Universidad de Murcia, por proporcionarme los recursos y el ambiente para llevar a cabo esta investigación. Estoy muy contenta de haber podido realizar mi Tesis Doctoral en este Departamento, sois un ejemplo a seguir. Eduardo, contigo he tenido la oportunidad de trabajar y ha sido una gran experiencia.

Gracias por aceptar todas mis propuestas, tanto las referentes al laboratorio de química como las relacionadas con la docencia y por todos tus consejos. ¡No me extraña que seas la persona más buscada del Departamento, eres conocimiento andando por los pasillos!

Finalmente, quiero dedicar un agradecimiento muy especial a mi familia. A mis padres, por su amor incondicional, su fe en mí y por inculcarme los valores de la perseverancia y el esfuerzo, por renunciar a muchas cosas para que hoy esté aquí, ojalá pueda enseñar tanto a mis hijos como vosotros me habéis enseñado a mí. Elena, gracias por estar siempre ahí cuando te pido algo, por ayudarme y apoyarme, por tu sinceridad y predisposición, sin ti la vida no sería lo mismo.

Ismael, a ti y a los peques, gracias por vuestra paciencia, sacrificio y por ser mi mayor fuente de motivación y fortaleza. Gracias por tener siempre una sonrisa, por aguantarme en todas mis andanzas, por nunca decir que no y por elegir compartir tu vida conmigo, gracias por ser mi faro entre la niebla, este logro es tanto tuyo como mío.

La autora de esta Tesis y los co-directores de la misma desean expresar su agradecimiento al Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades del Gobierno de España por la concesión de ayudas al proyecto CTQ2017-85425-P sobre “Desarrollos computacionales para propiedades hidrodinámicas y conformacionales de macromoléculas y nanopartículas” al que fue asignada la ayuda para la Formación de personal Investigador disfrutada por la autora de esta Tesis (PRE2018-085276). También agradecer el apoyo de la Fundación Séneca, órgano oficial para la investigación científica de la Comunidad Autónoma de la Región de Murcia, cuya financiación a través del proyecto de investigación 20933/PI/18 sobre “Desarrollo de metodologías para la caracterización estructural de macromoléculas y nanopartículas en disolución. Aplicaciones a sistemas biológicos y materiales sintéticos” ha contribuido al desarrollo de esta Tesis.

A todos ustedes, muchas gracias.

*“I am among those who think science has a  
great beauty”*

*Marie Curie*



# ÍNDICE





# Índice

<b>Glosario.....</b>	<b>1</b>
Acrónimos.....	3
Símbolos.....	4
Griegos.....	4
Latinos.....	4
<b>Preámbulo. Objetivos y organización de la Tesis. ....</b>	<b>7</b>
Objetivos.....	10
Organización de la Tesis.....	10
<b>Capítulo 1.</b>	
<b>Introducción. Fundamentos teóricos y técnicas instrumentales.....</b>	<b>11</b>
1.1. Definición y aplicaciones de nanopartículas.....	13
1.2. Síntesis de nanopartículas.....	15
1.3. Agregación de nanopartículas.....	17
1.4. Doble capa eléctrica.....	19
1.5. Teoría DLVO.....	21
1.6. Técnicas instrumentales.....	25
1.6.1. Dispersión dinámica de luz (DLS).....	25
1.6.2. Potencial zeta.....	30
1.6.3. Espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis).....	31
1.6.3.1. Resonancia de plasmón de superficie.....	32
1.6.3.2. Descripción de la técnica de espectroscopía UV-Vis.....	33
1.6.4. Potenciometría con electrodos selectivos de iones.....	35
1.6.4.1. Medición potenciométrica.....	36

## Capítulo 2.

### Estudio de la influencia de cationes de gran tamaño en la cinética de agregación de nanopartículas de oro recubiertas con citrato. .... 39

Resumen. ....	41
2.1. Introducción. ....	42
2.2. Materiales y métodos. ....	44
2.2.1. Reactivos y preparación de disoluciones. ....	44
2.2.2. Instrumentación. ....	44
2.3. Resultados y discusión. ....	45
2.4. Conclusiones. ....	55

## Capítulo 3.

### Estudio de la agregación de nanopartículas de oro en presencia del copolímero termosensible PNIPAA<sub>M48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>. .... 57

Resumen. ....	59
3.1. Introducción. ....	60
3.2. Materiales y métodos. ....	62
3.2.1. Reactivos. ....	62
3.2.2. Preparación de disoluciones. ....	62
3.2.3. Instrumentación. ....	63
3.3. Resultados y discusión. ....	63
3.3.1. Efecto de la variación de la fuerza iónica en la suspensión de Ct-AuNPs. ....	64
3.3.2. Efecto de la variación de la temperatura y la fuerza iónica en la disolución de Cop-48/6. ....	65
3.3.3. Efecto de la variación de la fuerza iónica en el “nanocomposite” (Ct-AuNPs + Cop-48/6). ....	68
3.3.4. Efecto de la variación de la temperatura en el “nanocomposite” (Ct-AuNPs + Cop-48/6). ....	72
3.4. Conclusiones. ....	73

## Capítulo 4.

### **Monitorización potenciométrica de tetracloroaurato(III) con un electrodo selectivo de iones en tiempo real y su aplicación a la reducción mediada por yoduro de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> por hidroxilamina. .... 77**

Resumen.....	79
4.1. Introducción.....	80
4.2. Materiales y métodos.....	82
4.2.1. Reactivos.....	82
4.2.2. Preparación de disoluciones.....	82
4.2.3. Instrumentación. ....	83
4.2.4. Preparación de los electrodos selectivos de iones.....	83
4.2.5. Calibración de los electrodos selectivos de iones.....	84
4.2.5.1. Procedimiento general para la calibración de los electrodos por incremento de concentración. ....	84
4.2.5.2. Procedimiento general para la calibración de los electrodos por dilución.....	85
4.2.6. Procedimiento de medida para la monitorización potenciométrica de la cinética de reducción del tetracloroaurato(III) por hidroxilamina catalizada por yoduro. ....	85
4.3. Resultados y discusión. ....	86
4.3.1. Respuesta potenciométrica de los electrodos al anión tetracloroaurato(III).....	86
4.3.2. Monitorización de la cinética de reacción de tetracloroaurato(III) en presencia de hidroxilamina y yoduro. ....	89
4.3.2.1. Monitorización potenciométrica de la reacción con electrodos selectivos de iones.....	90
4.3.3. Medidas espectrofotométricas y DLS. ....	93
4.3.4. Mecanismo propuesto. ....	95
4.4. Conclusiones. ....	96

<b>Capítulo 5. Conclusiones.</b> .....	<b>97</b>
<b>Bibliografía.</b> .....	<b>101</b>
<b>Anexo.</b> .....	<b>123</b>

# **GLOSARIO**





**ACRÓNIMOS**

AuNP, nanopartícula de oro

CCC, concentración crítica de coagulación

Cop-48/6, copolímero dibloque PNIPAAm<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>(+) Cl(-)

Ct-AuNP, nanopartícula de oro recubierta con citrato

DLCA, agregación limitada por difusión

DLS, dispersión dinámica de luz

DLVO, teoría Derjaguin, Landau, Verwey, Overbeek

DOS, dioctil sebacato

EDTA, ácido etilendiaminotetraacético

ISE, electrodo selectivo de iones

LCST, temperatura de disolución crítica inferior

NP, nanopartícula

NPOE, 2-nitrofenil octil éter

PNIPAAm<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>(+), catión del copolímero dibloque cloruro de poli(N-isopropilacrilamida)-bloque-poli(3-acrilamidopropil) trimetilamonio

PVC, cloruro de polivinilo

RLCA, agregación limitada por reacción

SPR, resonancia de plasmón de superficie

TCP, fosfato de tricresilo

TDMACl, cloruro de tridodecilmetilamonio

TEM, microscopía electrónica de transmisión

THF, tetrahidrofurano

UV-vis, espectroscopía ultravioleta-visible

## SÍMBOLOS

### GRIEGOS

$\alpha$ , eficiencia de asociación (“attachment efficiency”)

$\varepsilon$ , constante dieléctrica del medio

$\kappa$ , inversa de la longitud de Debye (inverso del espesor de la doble capa eléctrica)

$\lambda$ , longitud de onda

$\eta$ , viscosidad de la disolución

$\eta_0$ , viscosidad del disolvente

$\mu$ , movilidad electroforética

$\zeta$ , potencial zeta

### LATINOS

a, radio de una partícula

A, absorbancia

c, concentración

C, concentración

d, distancia entre partículas

$d_f$ , dimensión fractal

$d_h$ , diámetro hidrodinámico

D, coeficiente de difusión traslacional

$D_h$ , diámetro hidrodinámico

H, constante de Hamaker

I, intensidad de luz dispersada

I, fuerza iónica

$I_0$ , intensidad de luz incidente

$k_B$ , constante de Boltzmann

$K_{ij}$ , coeficiente de selectividad

$k$ , constante cinética

$n$ , concentración en número de partículas

$R_h$ , radio hidrodinámico

$t$ , tiempo

$T$ , temperatura

$V$ , volumen

$V_A$ , energía potencial generadora de la fuerza atractiva de Van der Waals

$V_{inf}$ , volumen molar parcial estándar de un catión a dilución infinita

$V_R$ , energía potencial generadora de la fuerza repulsiva electrostática

$V_{St}$ , volumen molar hidrodinámico de un catión a dilución infinita





# **PREÁMBULO**

**OBJETIVOS Y ORGANIZACIÓN DE LA TESIS**



## OBJETIVOS Y ORGANIZACIÓN DE LA TESIS

El trabajo que constituye esta Tesis Doctoral forma parte de las actividades del Grupo de Investigación “Polímeros” (E045-04) del Departamento de Química Física de la Universidad de Murcia y del Grupo de Investigación “Métodos Automáticos de Análisis. Sensores Químicos” (E044-02) del Departamento de Química Analítica de la Universidad de Murcia.

Aunque la principal línea de trabajo del Grupo “Polímeros” es el desarrollo e implementación de metodologías computacionales para el cálculo de propiedades de macromoléculas y nanopartículas en disolución, en los últimos diez años, este Grupo ha potenciado una línea de trabajo experimental orientada a la caracterización químico-física de sistemas constituidos por macromoléculas y nanopartículas en disolución diluida que es la línea en la que se enmarca esta Tesis. Para ello, el Grupo “Polímeros” ha recibido financiación del Ministerio de Ciencia, Innovación y Universidades a través del proyecto CTQ2017-85425 que es el proyecto al que se adscribe el contrato predoctoral con el que ha contado la autora de esta Tesis. Por otro lado, la concesión por parte de la Fundación Séneca de la Región de Murcia del proyecto 20933/PI/18 ha permitido un mayor desarrollo de la línea experimental del Grupo.

Por su parte, el Grupo “Métodos Automáticos de Análisis. Sensores Químicos” posee una amplia experiencia en el desarrollo y aplicación de sensores electroquímicos para la detección de iones en disolución, principalmente de electrodos selectivos de iones. Esta experiencia ha sido fundamental para iniciar una línea de trabajo orientada al desarrollo de sensores que permitan el seguimiento de las reacciones de formación de nanopartículas metálicas.

La implementación de nuevas líneas de trabajo experimental y las consiguientes técnicas instrumentales implica un evidente esfuerzo que se hace más notable en el Grupo “Polímeros” que hasta hace poco era eminentemente teórico. Ciertamente, casi todas las técnicas vienen hoy en día listas para su utilización inmediata. Para ello, cuentan con sofisticados “softwares” mediante los cuales el ordenador al que están conectados no solamente controla el instrumento, sino que se encarga también del análisis de los datos experimentales. El calibrado, control y mantenimiento de toda esta instrumentación en un entorno de investigación científica requiere una notable dedicación. Partiendo de estas consideraciones, parte del trabajo de esta Tesis se dedicó a objetivos de implementación (los mencionados calibrados, controles y mantenimientos) de las técnicas experimentales utilizadas, para su posterior aplicación a los problemas sobre detección de nanopartículas de oro y sus agregados abordados en esta Tesis.

## OBJETIVOS

Los principales objetivos de esta Tesis Doctoral son:

- Caracterización de diversos factores que afectan a la agregación de nanopartículas de oro: fuerza iónica, tamaño de los iones salinos, presencia de polímero.
- Estudio de la cinética de agregación de nanopartículas de oro mediante técnicas ópticas y electroquímicas.
- Desarrollo de un electrodo selectivo para el ion oro(III) que permita la monitorización potenciométrica de la concentración de tetracloroaurato(III) durante el proceso de reducción del ácido tetracloroáurico, precursor habitual en la formación de nanopartículas de oro.

## ORGANIZACIÓN DE LA TESIS

Establecidos en la sección anterior los objetivos generales, indicamos a continuación cómo se desarrollan éstos entre los diferentes capítulos que componen la Tesis.

El Capítulo 1 es un capítulo introductorio dedicado a describir aspectos generales de las nanopartículas metálicas (tipología, síntesis y aplicaciones), a exponer la teoría que explica el fenómeno de agregación de las nanopartículas y a presentar los fundamentos e instrumentación de las dos técnicas ópticas utilizadas principalmente en esta Tesis para estudiar la agregación de nanopartículas de oro: la dispersión dinámica de luz y la espectrofotometría ultravioleta-visible. Además, se realiza una introducción a la determinación potenciométrica de aniones con electrodos selectivos de iones, técnica que se utiliza también en esta Tesis.

El Capítulo 2 está dedicado a estudiar y caracterizar la influencia de cationes de gran tamaño en la cinética de agregación de nanopartículas de oro.

El Capítulo 3 se centra en el estudio de la agregación de nanopartículas de oro cuando éstas se recubren de un copolímero termosensible que presenta una temperatura crítica de disolución.

El Capítulo 4 está dedicado al desarrollo de electrodos selectivos para tetracloroaurato(III) y su utilización para la monitorización potenciométrica de tetracloroaurato(III) en su reacción de reducción en presencia de hidroxilamina y yoduro.

El Capítulo 5 recoge las conclusiones más relevantes de esta Tesis.

# **CAPÍTULO 1**

**INTRODUCCIÓN:  
FUNDAMENTOS TEÓRICOS y TÉCNICAS  
INSTRUMENTALES**



## FUNDAMENTOS TEÓRICOS Y TÉCNICAS INSTRUMENTALES

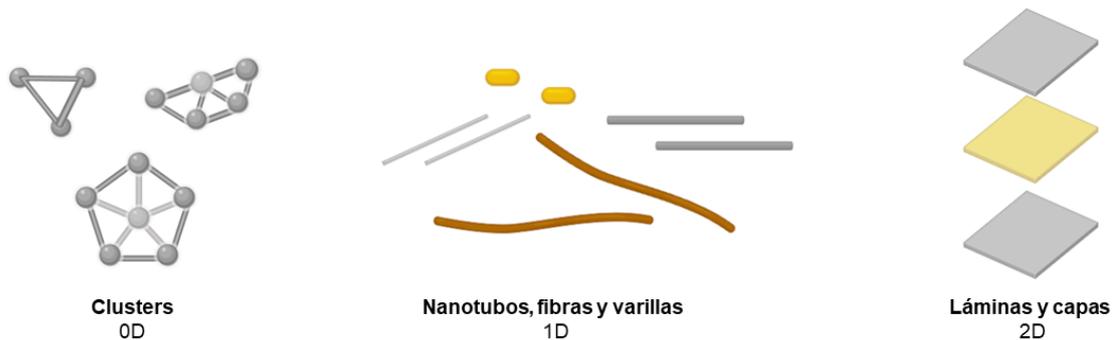
### 1.1. DEFINICIÓN Y APLICACIONES DE NANOPARTÍCULAS

El prefijo “nano” significa enano en griego y en el sistema métrico decimal hace referencia a la mil millonésima parte de la unidad. En el caso particular de unidades de longitud, el nanómetro es la mil millonésima parte del metro:  $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$ .

En su revisión más reciente de 2023 (ISO 80004-1:2023), la Organización Internacional de Normalización (ISO, “*International Organization for Standardization*”) definió nano-escala como *el rango de longitud que abarca, aproximadamente, desde 1 a 100 nm*, nanomaterial como *un material con cualquier dimensión externa en el rango de la nano-escala o que tiene estructura interna o superficial en el rango de la nano-escala*, nano-objeto como *una porción discreta de material con una, dos o tres de sus dimensiones externas en el rango de la nano-escala*, y nanopartícula (“*nanoparticle*”) como *un nano-objeto con todas sus dimensiones externas en el rango de la nano-escala*, reservando el término nanofibra (“*nanofibre*”) a *nano-objetos con dos dimensiones externas en la nano-escala y la tercera dimensión significativamente más larga* (no necesariamente en la nano-escala) y nanoplaca (“*nanoplate*”) a *nano-objetos con una dimensión externa en la nano-escala y las otras dos dimensiones externas significativamente más grandes* (no necesariamente en el rango de la nano-escala). La especificación ISO 80004-1:2023, se puede consultar en <https://www.iso.org/obp/ui/es/#iso:std:iso:80004:-1:ed-1:v1:en>.

Por otro lado, la Comisión Europea en sus recomendaciones de 2011 define técnicamente nanomaterial como un *material natural, secundario o fabricado, que contenga partículas, sueltas o formando un agregado o aglomerado y en el que el 50% o más de las partículas en la granulometría numérica presente una o más dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendido entre 1 nm y 100 nm* (Diario Oficial de la Unión Europea 20.10.2011, L275/38 <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/EN/TXT/?uri=CELEX:32011H0696>), sin hacer especial distinción entre nanopartícula, nanofibra y nanoplaca. Según esta consideración, cualquier material que tenga una de sus dimensiones en el intervalo de 1 nm a 100 nm podría ser calificado como nanopartícula. Este es el criterio adoptado también por la Unión Internacional de Química Pura y Aplicada (IUPAC, *International Union of Pure and Applied Chemistry*) que define nanopartícula como una partícula de cualquier forma con alguna de sus tres dimensiones en el rango de la nano-escala, es decir, entre 1 y 100 nm (Vert et al., 2012). En cualquier caso, en función del número de dimensiones (largo, ancho y alto o espesor) que tenga el nano-objeto dentro del rango de la nano-escala (entre 1 y 100 nm), se puede clasificar en una de las

categorías que se ilustran en la Figura 1.1 (obsérvese que la nomenclatura hace referencia al número de dimensiones del objeto superiores al rango de la nano-escala):



**Figura 1.1.** Representación de nanopartículas 0D (nanopartículas), 1D (nanofibras) y 2D (nanoplacas).

- 0D (Cero dimensional): Son materiales cuyas tres dimensiones se encuentran dentro de la nano-escala. Es el caso de las nanopartículas propiamente dichas, los nanocristales y los nanoclusteres.
- 1D (Unidimensional): Son materiales con dos de sus dimensiones (altura y anchura) dentro de la nano-escala. Es el caso de los nanotubos y las nanofibras.
- 2D (Bidimensional): Son materiales con solo una dimensión (espesor) dentro de la nano-escala. Es el caso de las nanocapas y las nanoláminas.

Las nanopartículas pueden ser naturales (como los virus) o aparecer como resultado de actividades humanas (como los nanotubos de carbono). Aunque los materiales constituidos por nanoestructuras se han utilizado por la humanidad desde hace siglos (valga como ejemplo la famosa copa de Licurgo romana del siglo IV D.C. formada por un vidrio que contiene nanopartículas de cobre, plata y oro que le confieren un color variable según desde donde sea iluminada), ni se conocía la naturaleza de estos materiales ni se podían manipular con precisión. Es en la actualidad cuando somos capaces de sintetizar y manipular con precisión objetos a escala nanométrica, lo que ha dado lugar a la aparición de una nueva disciplina, la nanotecnología. Podemos situar el arranque de la nanotecnología en 1959 cuando Richard Feynman, premio Nobel de Física en 1965, impartió una conferencia titulada “*There is plenty of room at the bottom*” en la que sugería la posibilidad de que en el futuro tuviésemos la capacidad de construir máquinas moleculares con precisión atómica.

Debido a su tamaño submicroscópico, las nanopartículas poseen características únicas y pueden encontrar aplicaciones prácticas en diversos ámbitos, como la medicina, la ingeniería, la catálisis y la recuperación del medio ambiente (Altammar, 2023). En particular, las nanopartículas de metales nobles (principalmente oro y plata) exhiben unas excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas, que son intrínsecas a su tamaño nanométrico. En las últimas décadas se ha incrementado su interés debido a su biocompatibilidad y a la baja toxicidad de algunas de ellas. Centrándonos en las nanopartículas de oro (AuNPs), éstas presentan excelentes propiedades químicas y ópticas (Liz-Marzán, 2004) por lo que tienen muchas aplicaciones en distintos campos como la biomedicina (Kohout et al., 2018). Así, por ejemplo, debido a sus propiedades ópticas pueden ser activadas en presencia de luz láser para ser usadas en terapias fototérmicas (Chuang et al., 2022). Sus propiedades ópticas también las hacen excelentes biosensores (Dondapati et al., 2010; Liu et al., 2018; Yang et al. 2023). Además, las AuNPs pueden ser producidas de forma controlada con distintos tamaños y formas y pueden ser fácilmente funcionalizadas con un amplio abanico de ligandos (anticuerpos, polímeros, fármacos, etc.), por lo que son empleadas para la elaboración de nanoestructuras útiles para el transporte y la vectorización selectiva de fármacos y macromoléculas terapéuticas (Rastogi et al., 2012; Siddique y Chow, 2020). Otros campos de aplicación de las AuNPs son la catálisis (Ansar et al., 2018) y la remediación medioambiental (Biao et al., 2018).

## 1.2. SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS

Los procedimientos para la síntesis de nanopartículas se pueden dividir en dos grandes grupos (Wang y Xia, 2004), cuyos principios básicos se describen a continuación.

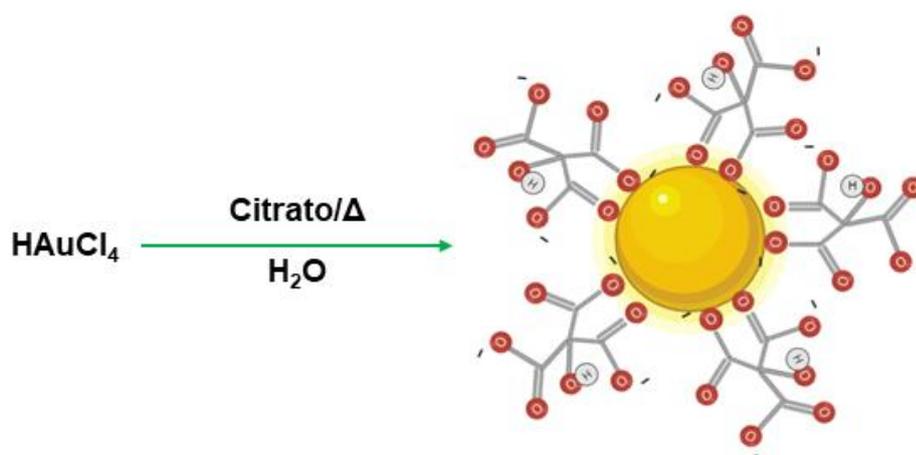
- Procedimiento de “arriba-abajo” o “top-down”. En este tipo de síntesis se comienza con un material de tamaño macroscópico que se disgrega en unidades de menor tamaño, habitualmente mediante métodos físicos, hasta dar lugar a nanopartículas. Ejemplos de este tipo de procedimientos son la molienda y la deposición química de vapor.
- Procedimiento de “abajo-arriba” o “bottom-up”. En este tipo de síntesis las nanopartículas se ensamblan a partir de átomos o moléculas, utilizando generalmente procedimientos químicos, hasta conseguir un conglomerado de tamaño nanométrico. Es el método más habitual para la obtención de nanopartículas metálicas. Así, se generan átomos metálicos mediante la reducción de una sal del metal, los cuales, al unirse, formarán pequeños núcleos (centros de nucleación) que dan lugar a “clústeres” que continuarán creciendo mientras se mantenga activo el suministro de átomos, hasta alcanzar un tamaño

nanométrico. La Figura 1.2 ilustra la formación de AuNPs mediante este procedimiento de reducción, nucleación y crecimiento.



**Figura 1.2.** Esquema de la síntesis de nanopartículas de oro por reducción de una sal de oro (procedimiento “abajo-arriba”).

El procedimiento “abajo-arriba” de reducción es el más utilizado para sintetizar AuNPs. Ya en 1857, M. Faraday preparó oro coloidal por reducción de cloruro de oro(III),  $\text{AuCl}_3$ , con fósforo (Faraday, 1857). Las AuNPs así formadas podrían sufrir agregación y, eventualmente, precipitación, si no se estabilizan mediante algún agente (molécula) que recubra su superficie. El procedimiento más clásico para sintetizar por reducción y estabilizar AuNPs de entre 10 nm y 30 nm es la síntesis de Turkevich (Turkevich et al., 1951), mejorada posteriormente por Frens (Frens, 1973), que consiste en la reducción de ácido tetracloroáurico ( $\text{HAuCl}_4$ ) con citrato de sodio ( $\text{C}_6\text{H}_7\text{NaO}_7$ ), molécula que juega el doble papel de reductor y estabilizante. Así, si el citrato se encuentra en exceso, puede recubrir la superficie de las nanopartículas formadas dotándolas de carga negativa y evitando su agregación debido a la repulsión electrostática. La Figura 1.3 ilustra el recubrimiento de las AuNPs por citrato.



**Figura 1.3.** Ilustración de la formación y recubrimiento de AuNPs con citrato.

Además del citrato, se han empleado otras muchas moléculas y macromoléculas como agente reductor y estabilizante (Brust et al., 1994; Tyagi et al., 2011; Wu et al., 2008; Al-jawad et al., 2018; Zhu et al., 2022).

Actualmente, los denominados métodos biológicos de síntesis, muchos de los cuales entran en el ámbito de la Química Verde (Anastas y Eghbali, 2010; Lozano y García-Verdugo, 2023), están en expansión por ser menos perjudiciales para el medio ambiente. En las técnicas biológicas se emplean reactivos de baja o nula toxicidad, rápidamente biodegradables, y cuya generación de productos de desecho es limitada, obteniéndose AuNPs a bajas temperaturas. Así, las AuNPs se pueden sintetizar utilizando tanto microorganismos y sus subproductos (biocatalizadores), como plantas y extractos de plantas (Iravani, 2011; Nadeem et al., 2017; Polyakova et al., 2017).

En cualquier caso, el procedimiento de reducción es el más habitual para la síntesis y estabilización de AuNPs (Daruich de Souza, 2019) ya que permite un buen control del tamaño y una fácil funcionalización para diversas aplicaciones (Zabetakis et al., 2012; Patil et al., 2022).

### **1.3. AGREGACIÓN DE NANOPARTÍCULAS**

Las suspensiones coloidales son termodinámicamente inestables ya que las partículas coloidales poseen una elevada relación superficie/volumen y, por tanto, una elevada energía superficial que tiende a reducirse mediante el ensamblaje de éstas (Thanh et al., 2014). Dependiendo de la intensidad de la interacción entre las nanopartículas (NPs), su ensamblaje puede dar lugar a aglomerados (conjuntos de nanopartículas débilmente unidas) o agregados (conjunto de nanopartículas fuertemente unidas) que, eventualmente, pueden flocular y precipitar.

La agregación incontrolada puede influir negativamente en la funcionalidad de las NPs por lo que su control es de gran importancia para determinar las aplicaciones prácticas (Krumpfer et al., 2013). Así, por ejemplo, la reactividad de las NPs se ve alterada al quedar menos superficie expuesta, lo que es importante en ciertos ámbitos como la catálisis. La agregación también influye en la movilidad de las NPs, disminuyendo su capacidad para alcanzar el objetivo para el que fueron desarrolladas. Por ejemplo, en biomedicina es fundamental que las NPs mantengan el tamaño con que fueron diseñadas para mantener su funcionalidad, siendo así capaces de atravesar las membranas de las células diana.

Un procedimiento habitual para evitar la agregación de las nanopartículas es su recubrimiento con pequeñas moléculas cargadas (positiva o negativamente), que inducen una

estabilización electrostática, como ya se ha comentado al hablar de la síntesis de Turkevich en la que las moléculas de citrato actuaban de estabilizadores de las NPs formadas. Sin embargo, si el medio acuoso que contiene las NPs tiene una fuerza iónica suficientemente elevada, como ocurre en muchos sistemas biológicos, el apantallamiento de la repulsión electrostática podría resultar en agregación. Por ejemplo, la agregación inducida por la adición de una sal es un proceso bien conocido en las suspensiones de nanopartículas metálicas en general, y de oro, en particular (Pamies et al., 2014). Un procedimiento muy común para evitar la agregación consiste en el recubrimiento de las NPs con un polímero lo que provoca una repulsión de tipo estérico (Popa et al., 2007; Collado-González et al., 2015). No obstante, la agregación controlada de NPs puede ser también beneficiosa para diversas aplicaciones (Stolarczyk et al., 2016).

En cualquier caso, entender y controlar la agregación de NPs es esencial para resolver cuestiones relacionadas con su aplicabilidad (Shrestha et al., 2020). En ello juega un papel fundamental el estudio de la estabilidad de suspensiones coloidales y de la cinética de agregación de NPs, en particular de AuNPs, por lo que muchos autores se han dedicado desde hace tiempo a abordar este asunto (Kim et al., 2008; Keene y Tyner, 2011).

Son muchas las fuerzas que pueden actuar sobre las NPs en un medio líquido y determinar su estabilidad. Entre ellas, destacan (Shrestha et al., 2020):

- Interacciones de Van der Waals entre los constituyentes de las NPs.
- Interacciones electrostáticas que tienen su origen en la doble capa eléctrica que rodea las NPs.
- Interacciones de tipo hidrófilo/hidrófobo según la afinidad de la NP por el disolvente o medio dispersante.

Además, si las NPs están recubiertas con polímeros, también se podrían producir otro tipo de interacciones:

- Interacciones estéricas debido al solapamiento de los polímeros adsorbidos sobre las NPs.
- Formación de puentes entre NPs mediados por cadenas de polímero.

Cuando dos nanopartículas se aproximan lo suficiente y colisionan pueden unirse (agregar), lo que hace que el sistema se vuelva inestable, o bien repelerse, lo que hace que el sistema sea estable. La principal fuerza de atracción entre NPs es la de Van der Waals que es inversamente proporcional al cuadrado de la distancia entre las partículas. El origen de esta fuerza está en los

campos electromagnéticos fluctuantes que se generan debido a la polarización de las nubes electrónicas de los átomos constituyentes, es decir, que esta fuerza se debe a la interacción entre dipolos fluctuantes. Sin embargo, si las partículas se aproximan más de cierta distancia crítica de forma que las nubes electrónicas de los átomos constituyentes comiencen a solapar, se produce la denominada repulsión de Born. El efecto conjunto atractivo y repulsivo de dos partículas cuando se aproximan en el espacio se suele caracterizar mediante potenciales de tipo Lennard-Jones.

Las fuerzas repulsivas entre dos NPs a distancias mayores que la distancia crítica a la que se produce la repulsión de Born se deben a la doble capa eléctrica que se forma en torno a las partículas en disolución. Debido a la importancia de la doble capa en el comportamiento de las suspensiones coloidales y de los sistemas de nanopartículas, a continuación, se describen las características de esta doble capa.

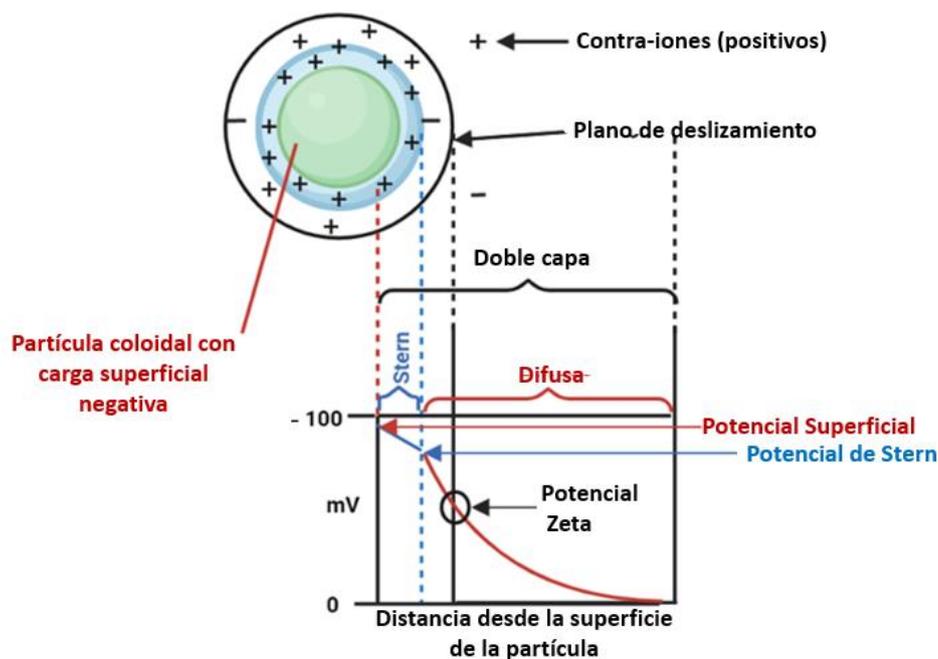
#### **1.4. DOBLE CAPA ELÉCTRICA**

Es habitual que partículas coloidales dispersas en medio acuoso porten carga eléctrica en su superficie. Ocurre, por ejemplo, con agregados de macromoléculas de naturaleza polielectrolítica (como alginato o pectina), con nanopartículas metálicas recubiertas de moléculas cargadas estabilizantes (como nanopartículas de oro y plata recubiertas de citrato), y también con combinaciones de nanopartículas metálicas y polímeros cargados. En medio acuoso, además de los iones provenientes de las partículas coloidales pueden existir iones procedentes de la disolución de algún electrolito que se añada para modular la fuerza iónica.

El potencial eléctrico generado por la carga de la partícula coloidal influye en la distribución que presentan esos iones procedentes del electrolito en la región de líquido que rodea a la partícula, apareciendo un perfil de concentración iónica desde la superficie de la partícula hasta el seno de la disolución. A su vez, la distribución de iones influirá en la variación del potencial eléctrico con la distancia a la superficie de la partícula.

En términos generales, la concentración de contraiones (iones de carga opuesta a la carga de la partícula) en torno a la superficie de la partícula es mayor que la concentración de contraiones en el seno de la disolución. El perfil de concentración generado está íntimamente relacionado con el modo en que varía el potencial eléctrico desde la superficie de la partícula hasta el seno de la disolución. Los perfiles de concentración iónica y de potencial eléctrico permiten la distinción de varias zonas en la región de líquido que rodea a la partícula coloidal. Así, los contraiones adyacentes a la partícula están fuertemente unidos (adsorbidos) a su superficie formando una capa compacta e inmóvil denominada capa de Stern, mientras que los

contraiones que no están en contacto directo con la superficie mantienen su capa de solvatación, por lo que no están firmemente unidos a la partícula (presentan movilidad) y se encuentran formando la denominada capa difusa. Esta estructura es lo que se conoce como doble capa eléctrica (Wu, 2022). La Figura 1.4 muestra la estructura de la doble capa y los potenciales eléctricos que se definen en ella.



**Figura 1.4.** Representación de la doble capa eléctrica y del potencial zeta.

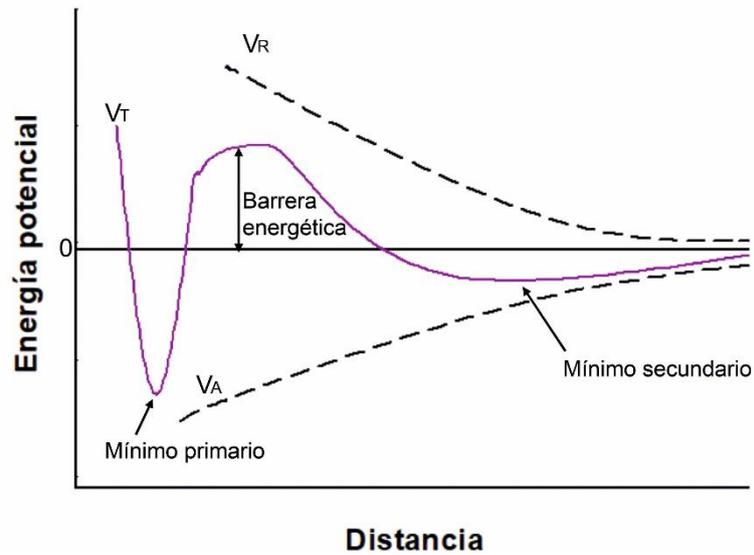
En la capa de Stern el potencial decrece linealmente con la distancia a la superficie de la partícula, mientras que en la capa difusa el potencial presenta un decaimiento de tipo aproximadamente exponencial. El valor del potencial eléctrico en la frontera entre la capa de Stern y la capa difusa se denomina potencial de Stern, mientras que el valor del potencial en la frontera entre la zona interna y la zona externa de la capa difusa se denomina potencial zeta,  $\zeta$ . Esta segunda frontera, que es la separación entre los iones que acompañan el desplazamiento de la partícula y los iones libres, no es un lugar tan bien definido como la frontera entre los iones adsorbidos y la capa difusa y se la suele denominar plano de deslizamiento o superficie de cizalla hidrodinámica por ser la superficie de contacto efectiva entre la partícula coloidal y el disolvente, responsable a su vez de la hidrodinámica de la partícula.

La repulsión de naturaleza electrostática que aparece cuando se aproximan dos NPs y solapan sus respectivas dobles capas se debe fundamentalmente al potencial eléctrico existente sobre el plano de deslizamiento, es decir, al potencial zeta, cuyo valor es, como se verá más adelante, de gran relevancia para determinar la estabilidad de una suspensión coloidal.

Tanto el espesor de la capa difusa como la intensidad de la fuerza repulsiva decrecen al aumentar la fuerza iónica del medio, como consecuencia de la disminución del valor absoluto del potencial zeta. Cuando este potencial es cero (punto isoeléctrico), las NPs pueden aproximarse sin experimentar la repulsión electrostática de sus dobles capas.

## 1.5. TEORÍA DLVO

La teoría DLVO (Derjaguin, Landau, Vervey, Overbeek) combina la fuerza de atracción de Van der Waals y la fuerza de repulsión electrostática de la doble capa eléctrica para predecir la interacción entre partículas coloidales y explicar su agregación y la estabilidad cinética de las dispersiones coloidales (Derjaguin, 1939; Derjaguin y Landau, 1941; Verwey, 1947; Verwey y Overbeek, 1948). La fuerza de Van der Waals decrece como la inversa del cuadrado de la distancia entre partículas mientras que la fuerza eléctrica de repulsión debida a la doble capa disminuye exponencialmente. Por tanto, a medida que las partículas se acercan, la fuerza de repulsión supone una barrera energética que las partículas que se aproximan deben superar para dar lugar a una colisión efectiva que resulte en una asociación estable. Si la energía térmica de las partículas excede la energía de la barrera, éstas pueden colisionar con una energía suficientemente elevada y agregar. La Figura 1.5 ilustra la energía potencial,  $V_T$ , resultante de la suma de la energía potencial generadora de la fuerza atractiva de Van der Waals,  $V_A$ , y de la energía potencial generadora de la fuerza repulsiva electrostática,  $V_R$ , en función de la distancia entre dos partículas coloidales. Por tanto,  $V_T = V_A + V_R$ . Para dos partículas esféricas que se aproximan  $V_A \sim \frac{-H}{d}$  y  $V_R \sim e^{-\kappa d}$ , donde  $H$  es la constante de Hamaker,  $d$  es la distancia entre partículas, y  $1/\kappa$  es la denominada longitud de Debye que es una medida del grosor de la capa difusa en la doble capa eléctrica. A una distancia de dos longitudes de Debye, el potencial eléctrico es un dos por ciento del potencial en la superficie de la partícula. Cuanto menor es la longitud de Debye, menor repulsión electrostática existe entre las partículas y más se pueden aproximar. La intensidad de las fuerzas de Van der Waals se refleja en la denominada constante de Hamaker,  $H$ , que tiene valores típicos entre  $0,3 \times 10^{-20}$  J y  $10 \times 10^{-20}$  J (Shrestha et al., 2020).



**Figura 1.5.** Curva de potencial en función de la distancia entre partículas según se deduce de la teoría DLVO.

Como se observa en la Figura 1.5, el potencial resultante de la suma del potencial atractivo de Van der Waals y el potencial repulsivo de la doble capa da lugar a una curva de potencial que tiene un mínimo secundario (que daría lugar a una asociación débil de las partículas), una barrera de energía y un mínimo primario (que daría lugar a una asociación fuerte de las partículas). La teoría DLVO predice que la altura de la barrera y la profundidad del pico secundario aumentan con el tamaño de la partícula. Las NPs siempre van a estar aproximándose y colisionando debido al movimiento browniano (aleatorio) que les induce la energía térmica del sistema, es decir, el continuo choque con las moléculas de disolvente. Para que la suspensión de NPs sea cinéticamente estable, la barrera de energía debe ser bastante superior a la energía térmica del sistema, típicamente superior a  $10k_B T$  (donde  $k_B$  es la constante de Boltzmann y  $T$  es la temperatura absoluta) (Shrestha et al., 2020). De este modo, las partículas rebotan tras el contacto entre ellas y pueden permanecer dispersas por el medio o, en todo caso, formar asociaciones muy débiles. Sin embargo, en el caso de que las partículas posean energía suficiente para atravesar la barrera y alcanzar el mínimo primario profundo (en el que las fuerzas de atracción superan a las de repulsión a distancias pequeñas) las partículas agregarán de forma irreversible. Este proceso se denomina coagulación. Por el contrario, cuando la barrera de energía es demasiado alta para superarla, las partículas del coloide pueden rebotar o permanecer en el mínimo secundario, en el que las partículas se mantienen unidas mucho más débilmente que en el mínimo primario. En el mínimo secundario las fuerzas de atracción son débiles (de naturaleza física) y las partículas forman aglomerados que pueden disgregarse con facilidad. Así, la asociación en el mínimo secundario es un proceso reversible

en el que las partículas que forman el aglomerado se dispersan fácilmente. Este proceso de asociación débil se denomina floculación.

En el marco de la teoría DLVO hay dos posibles mecanismos mediante los cuales las NPs agregan: mecanismo de agregación limitada por difusión (*“Diffusion Limited Cluster Aggregation”*, DLCA), cuya etapa limitante es la simple difusión de las partículas bajo el movimiento browniano, provocando cinéticas de agregación rápidas ya que toda colisión entre partículas da lugar a la unión entre ellas, y mecanismo de agregación limitada por reacción (*“Reaction Limited Cluster Aggregation”*, RLCA) cuya etapa limitante es la interacción entre las partículas, lo que da lugar a cinéticas de agregación lentas ya que no todas las colisiones son efectivas y llevan asociadas la unión entre las partículas. Así, si la barrera energética es inferior a la energía térmica, las partículas que chocan se asociarán tras la primera colisión (Meakin, 1983). Por el contrario, si la barrera energética es del orden de la energía térmica, no todas las colisiones son favorables para el proceso de agregación (Kolb y Jullien, 1984).

La eficacia de las colisiones en el proceso de agregación se cuantifica a través del parámetro denominado “eficiencia de asociación” o *“attachment efficiency”*,  $\alpha$ , que expresa la probabilidad de que se produzca una coagulación o asociación irreversible de dos partículas tras su colisión (Wilcoxon et al. 1989; Olivier y Sorensen, 1990). Así, si la eficiencia de asociación es  $\alpha = 1$ , significa que no hay barrera de energía y todas las colisiones resultan en agregación irreversible. En general,  $\alpha < 1$  y cuanto más próximo sea su valor a la unidad, mayor es la eficacia de la colisión y más rápida es la cinética de agregación. De este modo, la velocidad de agregación podría ser descrita por la siguiente ecuación (Ecuación 1.1) (Shrestha et al., 2020):

$$\frac{dn}{dt} = \alpha \left( \frac{4k_B T}{3\eta} \right) n^2 \quad \text{Ecuación 1.1.}$$

donde  $n$  es la concentración en número de partículas y  $\eta$  es la viscosidad dinámica del medio.

Por otro lado, el parámetro  $\alpha$  está relacionado con el mecanismo de agregación y la dimensión fractal,  $d_f$ , del agregado formado (Ecuación 1.2) (Trinh et al., 2009):

$$\alpha = z/d_f \quad \text{Ecuación 1.2.}$$

donde  $z$  es un parámetro directamente relacionado con el mecanismo de agregación (DLCA o RLCA).

Como se observa, a mayor valor de  $d_f$ , menor  $\alpha$ . La dimensión fractal de un objeto,  $d_f$ , está relacionada con la “capacidad de llenado” del espacio y por lo tanto es una medida de la densidad del agregado formado, es decir, de cómo de compacto es el agregado. Valores de  $d_f$

de aproximadamente 1,8 están relacionados con agregados abiertos (producidos normalmente por el mecanismo DLCA), mientras que valores de  $d_f$  cercanos a 2,1 corresponden a estructuras más compactas (normalmente producidas por el mecanismo RLCA) (Trinh et al., 2009). Esto es, si  $\alpha$  es elevado, la probabilidad de que la colisión de dos partículas coloidales dé lugar a su asociación y a la formación de un agregado es próxima a 1, lo que implica la formación de agregados abiertos, poco compactos y con  $d_f$  inferior a 2, por lo que el agregado puede considerarse un objeto fractal. Esto es lo que ocurre en un mecanismo DLCA donde la agregación está controlada por la difusión de las partículas, lo que significa que en el momento que colisionan, se unen. En cambio, si  $\alpha$  es pequeño, la probabilidad de que la colisión de dos partículas coloidales provoque su asociación y la formación de un agregado es menor que 1, lo que implica la formación de agregados muy compactos, con dimensión fractal en torno a 2. Esto es lo que ocurre típicamente en un mecanismo RLCA donde la agregación está controlada por la interacción que se produce entre las dos partículas que colisionan. No todas las colisiones son efectivas, lo que permite la formación de una estructura más compacta.

La cinética de agregación se puede caracterizar monitorizando la variación del radio hidrodinámico promedio de los agregados ( $R_h$ ) en función del tiempo. La “eficiencia de asociación” ( $\alpha$ ) y la evolución temporal de  $R_h$  están relacionados mediante la siguiente ley de potencia que se cumple a tiempos suficientemente largos (Ecuación 1.3) (Weitz et al., 1984):

$$R_h \propto R_h(0)t^\alpha \quad \text{Ecuación 1.3.}$$

donde  $R_h(0)$  es el valor del radio hidrodinámico inicial de las partículas coloidales.

Como ya se ha mencionado, al añadir un electrolito a una suspensión coloidal aumenta la fuerza iónica del medio, las cargas superficiales que estabilizan las partículas coloidales sufren apantallamiento electrostático, disminuye el grosor de la doble capa eléctrica (disminuye la longitud de Debye), disminuye también la altura de la barrera de potencial que hay que superar para alcanzar el mínimo primario, y las partículas tienen más facilidad para agregar de forma irreversible. Por tanto, cuando se añade un electrolito, el parámetro  $\alpha$  aumenta, y su valor será mayor cuanto mayor sea la concentración de electrolito.

La concentración de coagulación crítica (CCC) es la concentración de electrolito que conduce a un valor de  $\alpha$  prácticamente igual a 1, indicando que no hay barrera de energía y que, por tanto, todas las colisiones son efectivas. Es decir, este valor de la concentración de electrolito es el responsable de que se produzca la transición entre un mecanismo RLCA puro (donde hay barrera energética, no todas las colisiones resultan en asociación y la cinética de agregación es lenta) a un mecanismo DLCA puro (donde no existe barrera energética, todas las

colisiones resultan en asociación y la cinética de agregación es rápida). La CCC es más pequeña conforme aumenta la carga de los iones ( $CCC \propto Z^{-6}$ , donde  $Z$  es la carga del ion), ya que, a mayor carga, se necesita menor concentración de electrolito para alcanzar la fuerza iónica crítica que provoca el apantallamiento efectivo de la carga superficial de las partículas.

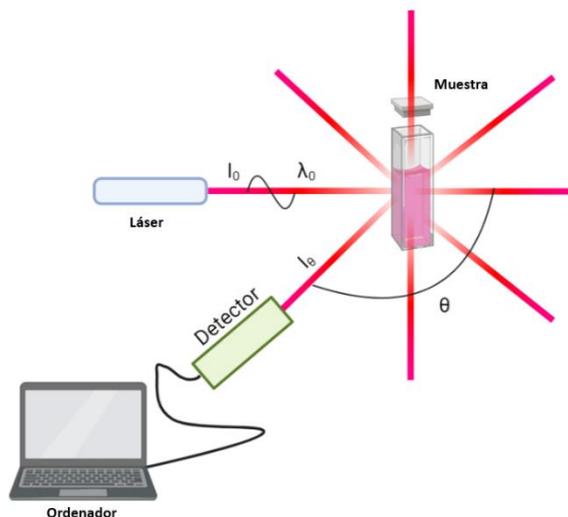
## 1.6. TÉCNICAS INSTRUMENTALES

Las técnicas instrumentales que se van a usar en esta Tesis se pueden clasificar en técnicas ópticas y electroquímicas. Para obtener información sobre el tamaño de las NPs y sus agregados, las técnicas utilizadas son la Dispersión Dinámica de Luz (DLS, del inglés "*Dynamic Light Scattering*"), cuya información proporcionada incluye el potencial zeta, y la espectroscopía ultravioleta-visible (UV-vis), todas ellas técnicas instrumentales ópticas. Por otro lado, se va a utilizar la Potenciometría, que es una técnica electroquímica, con el fin de realizar por primera vez el estudio cinético de una reacción de reducción de tetracloroaurato(III) con hidroxilamina catalizada por yoduro. A continuación, se exponen brevemente el fundamento y las características más relevantes de las técnicas mencionadas anteriormente.

### 1.6.1. DISPERSIÓN DINÁMICA DE LUZ (DLS)

Al ser iluminada con luz visible (u otras radiaciones electromagnéticas), la materia puede dispersar una parte de la luz incidente en todas las direcciones del espacio sin cambio en la longitud de onda (el fenómeno de dispersión de luz no es un fenómeno espectroscópico). Los conceptos básicos de la dispersión de la luz por la materia fueron expuestos a finales del siglo XIX por J. Tyndall (Tyndall, 1869) y J.W. Strutt, más conocido como Lord Rayleigh, (Strutt, 1871) mientras que su aplicación a la caracterización de moléculas (esencialmente macromoléculas y nanopartículas) fue establecida por P.J.W. Debye (Debye, 1947), y posteriormente por B.H. Zimm (Zimm, 1948) a mediados del siglo XX.

El esquema de funcionamiento de la técnica DLS, también llamada espectroscopía de correlación de fotones (PCS, "*Photon Correlation Spectroscopy*") o dispersión de luz cuasielástica (QELS, "*Quasi Elastic Light Scattering*"), se describe en la Figura 1.6. La muestra (disolución o suspensión) se ilumina con luz láser de intensidad  $I_0$  y longitud de onda  $\lambda_0$ . En un plano perpendicular a la dirección de polarización de la luz láser se observa la intensidad de luz dispersada,  $I_\theta$ , a uno o más ángulos  $\theta$ , definidos por la prolongación del rayo incidente y la dirección de observación. El detector está colocado a una distancia  $r$  de la muestra.

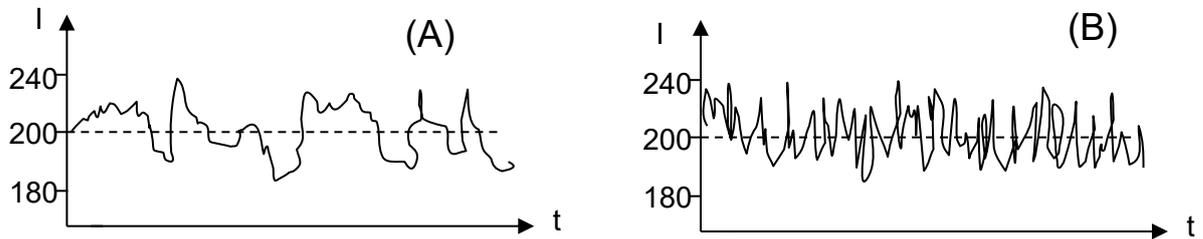


**Figura 1.6.** Esquema de un montaje para aplicar la técnica de dispersión de luz.

Si se observa con precisión la intensidad de luz dispersada a un ángulo fijo,  $I_\theta$ , manteniendo inalterables todas las condiciones experimentales, se puede apreciar que ésta no tiene un valor constante, sino que fluctúa en torno a un valor medio. Esta fluctuación no es achacable a factores tales como fluctuaciones de temperatura, ruido electrónico, etc., sino que tiene su origen en el movimiento browniano de las partículas en suspensión. Aún en ausencia de cualquier perturbación, las partículas de soluto en el seno de un fluido están sometidas a este movimiento browniano (azaroso) cuyo origen y teoría básica explicó A. Einstein (Einstein, 1905). La técnica DLS se basa en el análisis de la fluctuación de la intensidad de luz dispersada por las partículas de soluto. La consolidación teórica e instrumental de esta técnica se debe, sobre todo, a R. Pecora (Pecora, 1964; Berne y Pecora, 1975).

Debido al movimiento browniano, en un determinado volumen de la disolución, el número de partículas y la distancia entre ellas fluctúa en torno a su valor medio. En concreto, el llamado "volumen iluminado", que es la confluencia del finísimo rayo láser incidente con el también muy fino haz de luz dispersada en la dirección de observación, es muy pequeño, y en él, la fluctuación sobre la media es, en términos relativos, suficientemente importante. Estas fluctuaciones en número y distancia producen variaciones en la cantidad de luz dispersada y en la interferencia entre los rayos dispersados por las partículas. Evidentemente, la velocidad de las fluctuaciones

depende de la movilidad browniana de las partículas, reflejada en el valor de su coeficiente de difusión traslacional,  $D$  (Figura 1.7).

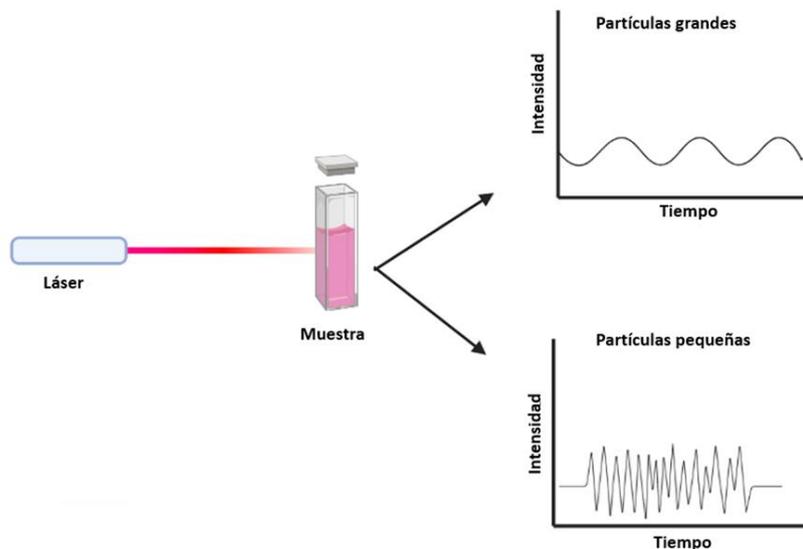


**Figura 1.7.** Ilustración de la fluctuación temporal de la intensidad de luz dispersada en DLS. (A) Fluctuación lenta: partículas menor movilidad, menor  $D$ . (B) Fluctuación rápida: partículas mayor movilidad, mayor  $D$ .

Por tanto, del análisis de la rapidez de las fluctuaciones se puede obtener información del coeficiente de difusión y, a partir de éste, es posible obtener el tamaño o distribución de tamaños de las partículas en disolución a través de la ecuación de Stokes-Einstein, válida para partículas esféricas (Ecuación 1.4):

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta_0 R_h} \quad \text{Ecuación 1.4.}$$

donde  $\eta_0$  es la viscosidad del disolvente y  $R_h$  es el radio hidrodinámico de la partícula. En definitiva, a mayor rapidez de las fluctuaciones, mayor es valor del coeficiente de difusión y menor el tamaño de las partículas (a igualdad de los otros parámetros de la ecuación de Stokes-Einstein), y viceversa (Figura 1.8).

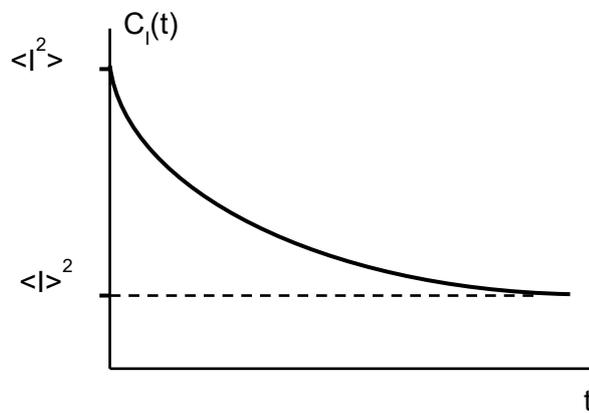


**Figura 1.8.** Relación entre rapidez de fluctuación en intensidad y el tamaño de partícula.

El análisis de las fluctuaciones se realiza a través de la función de autocorrelación temporal. Siendo  $I(t)$  la intensidad que fluctúa con el tiempo en torno a un valor medio  $\langle I \rangle$ , se define la función de correlación  $C_I(t)$  como el producto de dos valores de  $I$  separados por un intervalo  $t$ , promediado sobre todas las elecciones posibles del instante inicial,  $t_0$  (Ecuación 1.5):

$$C_I(t) = \langle I(t_0)I(t_0 + t) \rangle_{t_0} \quad \text{Ecuación 1.5.}$$

El valor de  $C_I(t)$  decrece con el intervalo de tiempo  $t$  (Figura 1.9): a valores muy pequeños de  $t$ ,  $I(t_0)$  e  $I(t_0+t)$  tendrán valores muy parecidos y  $C_I(t) \approx \langle I(t_0)^2 \rangle_{t_0}$ , mientras que a valores grandes de  $t$ ,  $I(t_0)$  e  $I(t_0+t)$  tendrán valores totalmente independientes y  $C_I(t) \approx \langle I(t_0) \rangle^2_{t_0}$ .



**Figura 1.9.** Típico aspecto de la función de autocorrelación de la intensidad de luz dispersada.

El ajuste de la función de autocorrelación  $C_I(t)$  a una exponencial simple proporciona el valor de  $D$  que aparece como uno de los parámetros de la función  $C_I(t)$  ajustada:  $C_I(t) \propto e^{(-2q^2Dt)}$  donde  $q = (4\pi n / \lambda_0) \sin(\theta/2)$ , siendo  $n$  el índice de refracción del disolvente.

En el caso de que no todas las partículas tengan el mismo tamaño, la función de correlación es más compleja (es multimodal), por lo que debe ajustarse a una función exponencial múltiple a partir de la cual se puede construir una función de distribución del radio hidrodinámico. El área de los picos de esta función de distribución primaria es proporcional a la intensidad de luz dispersada por la población de partículas cuyo tamaño corresponde a ese pico (función de distribución en intensidad). Puesto que las partículas más grandes dispersan mucha más luz que las más pequeñas (la intensidad dispersada es proporcional a  $R_h^6$ ), la función de distribución en intensidad está sesgada hacia las partículas de tamaño mayor, no reflejando adecuadamente

la población de partículas de un tamaño determinado. Por eso, en ocasiones, la función de distribución en intensidad se transforma, utilizando la teoría de G. Mie (Mie, 1908), en las denominadas función de distribución en volumen y función de distribución en número. En estas distribuciones, el área y la altura de los picos reflejan mejor la población de partículas de un determinado tamaño existentes en la suspensión.

Sin embargo, hay que tener en cuenta que para realizar estas transformaciones es necesario hacer las siguientes suposiciones: i) las partículas son esféricas, ii) todas las partículas tienen una densidad homogénea y equivalente, y iii) no hay errores en la función de distribución en intensidad. Los dos primeros requisitos se suelen cumplir, pero el tercero no se cumple estrictamente nunca ya que la técnica de DLS posee una incertidumbre inherente que implica un ensanchamiento de los picos de la función de distribución en intensidad entre el 10% y el 15%, aunque la muestra sea perfectamente monodispersa. Además, la transformación entre funciones de distribución requiere el conocimiento de las propiedades ópticas de las partículas de soluto, información de la que no siempre se dispone. Por tanto, la función de distribución en intensidad es la que debe tenerse en consideración para caracterizar el tamaño de partícula, siendo especialmente útil para detectar agregación puesto que es muy sensible a las partículas de mayor tamaño. Por otro lado, las distribuciones en volumen y en número son adecuadas para estimar las poblaciones relativas de las distintas familias de partículas. En concreto, la distribución en número pone de relieve la presencia de las partículas más pequeñas, mientras que la distribución en volumen refleja la porción en masa de cada familia de partículas.

Para la medida de distribución de tamaño de las nanopartículas en disolución mediante la técnica de DLS se utilizó el equipo Zetasizer Nano-ZS de Malvern Instruments Ltd. (Reino Unido) (Figura 1.10) que está equipado con un láser de 4 mW de He/Ne que emite a 632,8 nm, y un fotodetector que mide la intensidad de luz dispersada a un ángulo respecto a la prolongación de la dirección incidente de 173° (retrodispersión o “backscattering”).



**Figura 1.10.** Equipo Zetasizer Nano-ZS de Malvern utilizado.

### 1.6.2. POTENCIAL ZETA

El valor del potencial zeta, definido anteriormente al explicar la doble capa eléctrica, se utiliza como indicador de la estabilidad de una suspensión coloidal. Si todas las partículas en suspensión tienen un potencial zeta muy positivo o muy negativo tenderán a repelerse entre sí por lo que no tendrán tendencia a agregar y la suspensión será estable. Se asume que partículas con potencial zeta mayor de 30 mV o menor de -30 mV son estables, mientras que un potencial zeta comprendido entre ambos valores implica una suspensión coloidal inestable en la que las partículas acabarán agregando y precipitando (Berne y Pecora, 1975).

Como ya se ha mencionado, la fuerza iónica del medio, que depende de la concentración y valencia de los iones dispersos en el medio, influye en el espesor de la doble capa y en el valor del potencial zeta. Así, cuanto mayor es la fuerza iónica, más delgada es la doble capa y más próximo a cero (más pequeño en valor absoluto) es el potencial zeta. Esto es consecuencia del apantallamiento eléctrico producido por los contraiones próximos a la superficie de la partícula.

La técnica que se utiliza para medir el potencial zeta se fundamenta en el efecto denominado electroforesis que consiste en el desplazamiento de una partícula cargada a través de un medio como consecuencia de la aplicación de un campo eléctrico. En ese proceso aparecen fuerzas viscosas o de fricción que se oponen al movimiento de las partículas hasta que se alcanza un régimen estacionario en el que las dos fuerzas se contrarrestan y la partícula se mueve a velocidad constante. Esta velocidad depende de la intensidad del campo eléctrico (o gradiente de potencial eléctrico), de la constante dieléctrica del medio,  $\epsilon$ , de la viscosidad del medio,  $\eta$ , y del potencial zeta,  $\zeta$ . La movilidad electroforética,  $\mu$ , se obtiene midiendo la velocidad de las partículas en un experimento de electroforesis lo que se consigue utilizando la técnica DLS. La movilidad electroforética se transforma en potencial zeta,  $\zeta$ , a través de la ecuación de Henry (Ecuación 1.6):

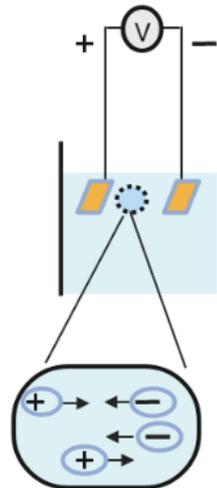
$$\mu = \frac{2\epsilon\zeta f(\kappa R)}{3\eta} \quad \text{Ecuación 1.6.}$$

donde  $f(\kappa R)$  es la denominada función de Henry que depende de la longitud de Debye inversa,  $(\kappa)$ , y del radio de la partícula,  $R$  ( $\kappa R$  es, por tanto, el cociente entre el radio de la partícula y la longitud de Debye). En disolventes polares con fuerza iónica moderada suele ser válido utilizar la aproximación de Smoluchowski  $f(\kappa R) = 1,5$ .

La movilidad electroforética se mide utilizando el mismo equipo Zetasizer Nano-ZS de Malvern Instruments Ltd. descrito anteriormente que permite aplicar la técnica de dispersión de

luz electroforética (ELS, “*Electrophoretic Light Scattering*”) (Ware, 1964), la cual es una variante de la técnica denominada velocimetría Doppler de láser (LDV, “*Laser Doppler Velocimetry*”). Para ello, el equipo Zetasizer Nano-ZS lleva a cabo la medida en la zona central de la celda para evitar influencias perturbadoras de las paredes y detecta el rayo dispersado a  $12,8^\circ$ .

Experimentalmente, el procedimiento se lleva a cabo en las siguientes etapas: 1) introducir una dispersión coloidal en una celda que contiene dos electrodos, 2) aplicar una diferencia de potencial eléctrico a los electrodos cuya consecuencia es la migración de las partículas que tienen potencial zeta neto hacia el electrodo de carga opuesta, 3) iluminar una zona de la disolución con luz láser y medir la velocidad de migración aprovechando el efecto Doppler en la luz dispersada, 4) transformar la velocidad en movilidad electroforética, y 5) utilizar la ecuación de Henry para calcular el potencial zeta. El esquema de una celda típica para medir movilidad electroforética es la que se ilustra en la Figura 1.11.



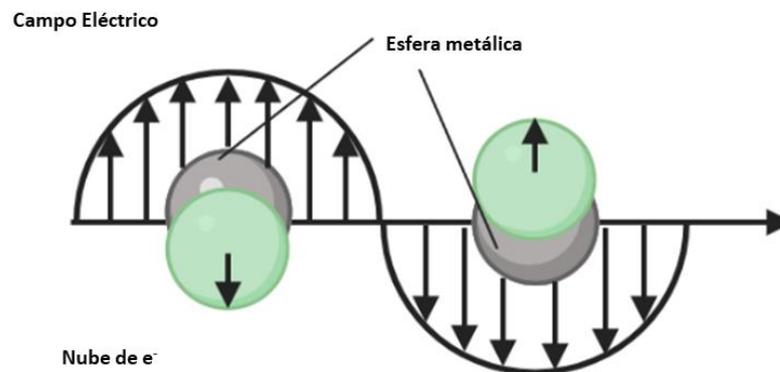
**Figura 1.11.** Esquema de un proceso de electroforesis para medir potencial zeta.

### 1.6.3. ESPECTROSCOPIA ULTRAVIOLETA-VISIBLE

Una propiedad óptica de gran relevancia en nanopartículas metálicas es que éstas presentan un máximo de absorbancia a un valor de longitud de onda que depende del tamaño de la nanopartícula (Kelly, 2003). Esta propiedad tiene su origen en el fenómeno denominado resonancia de plasmón de superficie y se puede utilizar para caracterizar tamaños de nanopartículas y monitorizar su agregación mediante la técnica de espectroscopía ultravioleta-visible (UV-vis). Antes de describir la técnica se va a describir el fenómeno de resonancia de plasmón de superficie (SPR, “*Surface Plasmon Resonance*”).

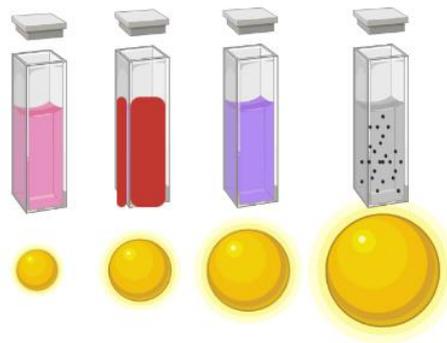
### 1.6.3.1. RESONANCIA DE PLASMÓN DE SUPERFICIE

Cuando la radiación electromagnética incide sobre las NPs, los electrones libres de la banda de conducción de la superficie pueden absorber dicha radiación, excitarse y sufrir oscilaciones colectivas respecto a sus posiciones de equilibrio (Suarasan et al., 2013) vibrando a una frecuencia determinada tal y como se ilustra en la Figura 1.12. La onda generada es un plasmón y el fenómeno se denomina resonancia del plasmón de superficie (Kelly et al., 2003; Hutter y Fendler, 2004).



**Figura 1.12.** Resonancia de plasmón de superficie por la interacción de los electrones de la banda de conducción con la radiación electromagnética.

Cuando ocurre el fenómeno SPR, la partícula absorbe ciertas longitudes de onda de la radiación incidente y refleja las restantes, adoptando así el color correspondiente a estas últimas. En el caso de las AuNPs, el color de sus suspensiones es muy diferente al habitual del oro metálico macroscópico, variando del rojo al violeta-azulado. Este fenómeno fue observado por M. Faraday en 1857 quien atribuyó el color rojo resultante a la obtención de partículas de tamaño muy pequeño (Faraday, 1857). G. Mie (Mie, 1908) determinó que el color del oro coloidal era una manifestación del fenómeno de SPR descrito anteriormente y dependiente del tamaño de partícula, como refleja la Figura 1.13.



**Figura 1.13.** Variación del color de una suspensión de AuNPs en función de su tamaño. Si las AuNPs son excesivamente grandes, precipitan y la disolución se vuelve incolora.

La longitud de onda de resonancia del plasmón de las AuNPs (máximo del espectro de absorbancia) se encuentra dentro del rango del espectro visible, tomando valores entre 500 nm y 600 nm según el tamaño de la nanopartícula (Kelly et al, 2003; Hutter y Fendler, 2004). El color de la disolución variará, por tanto, entre el rojo y el violeta-azulado que son los colores cuya longitud de onda es “complementaria” a la absorbida. Las nanopartículas de menor tamaño presentan el máximo de absorbancia (también denominado pico de plasmón) a menor longitud de onda que las partículas grandes. Así, las nanopartículas coloidales monodispersas de pequeño tamaño tienen una banda de absorción intensa para los colores azul y amarillo del espectro visible, por lo que adoptan un color rojo en disolución. La coloración se tornará a púrpura o violeta si se producen cambios en la disolución por aglomeración de las AuNPs. Por tanto, la longitud de onda a la que aparece el pico de plasmón se desplaza a valores mayores al aumentar el tamaño de la nanopartícula (desplazamiento al rojo). El cambio de rojo a violeta-azulado que se aprecia en la suspensión de AuNPs corresponde a cambios de tamaño de las nanopartículas entre 5 nm y 100 nm (Kelly et al, 2003).

### 1.6.3.2. DESCRIPCIÓN DE LA TÉCNICA DE ESPECTROSCOPIA UV-VIS

La espectroscopía UV-vis es una técnica que permite evaluar la cantidad de luz absorbida en el rango del ultravioleta al visible del espectro por una muestra en función de la longitud de onda. Cuando un material transparente es irradiado con una radiación electromagnética de una determinada longitud de onda, parte de la energía puede absorberse en función de la cantidad y naturaleza de la sustancia que compone dicho material. Cuando se produce absorción de la radiación, la intensidad de la radiación que emerge del material como intensidad transmitida,  $I_t$ ,

disminuye respecto a la intensidad de la radiación incidente,  $I_0$ . La absorbancia del material,  $A$ , se define a través de la Ecuación 1.7:

$$A = -\log(I_t/I_0) \quad \text{Ecuación 1.7.}$$

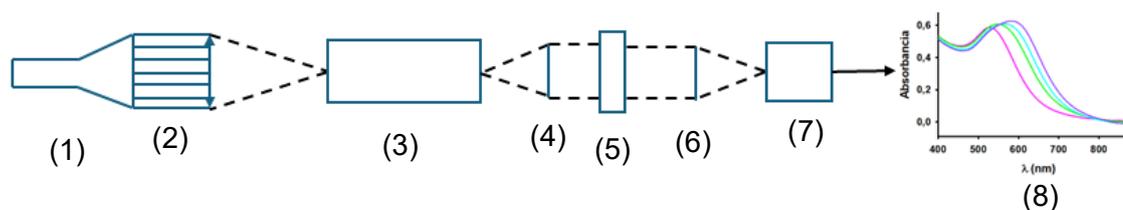
Si el material es una disolución diluida, el valor de  $A$  depende linealmente de la concentración según la ley de Lambert-Beer:  $A = \epsilon lc$ , donde  $\epsilon$  es la absortividad molar (o coeficiente de extinción molar) del soluto,  $l$  es la longitud de disolución atravesada por el rayo luminoso y  $c$  es la concentración molar de la disolución.

Por tanto, mediante la técnica de espectroscopía UV-vis se puede determinar la concentración de una sustancia en disolución. En esta Tesis, sin embargo, la técnica de espectroscopía UV-vis se utiliza para identificar el desplazamiento del pico de plasmón consecuencia de la agregación de las AuNPs estudiadas. Un desplazamiento al rojo de la longitud de onda a la que aparece el pico de plasmón, así como un ensanchamiento de éste, es indicativo de que se ha producido agregación.

Para obtener los espectros de absorción UV-vis de las muestras de AuNPs se ha utilizado un espectrofotómetro UV-vis T92+ de la casa PG Instruments Ltd (Figura 1.14). El equipo está compuesto por un haz de doble rendija variable de 0,1 nm a 5 nm, tiene un rango de medida de 190 nm a 900 nm y un rango fotométrico de -4 a 4 Abs. La Figura 1.15 muestra un esquema de la estructura y funcionamiento de un espectrofotómetro como el utilizado en este trabajo.



**Figura 1.14.** Espectrofotómetro T92+ para la medición de espectros UV-vis.



**Figura 1.15.** Estructura de un espectroscopio UV-vis: (1) Lámpara o fuente de luz, (2) rendija 1, (3) monocromador, (4) rendija 2, (5) cubeta con muestra, (6) rendija 3, (7) detector y traductor, (8) registro de señal en un espectro.

#### 1.6.4. POTENCIOMETRÍA CON ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES

Para la síntesis de nanopartículas de oro mediante el procedimiento de “abajo-arriba” o “bottom-up”, se suele utilizar ácido tetracloroáurico como reactivo precursor. Su reacción con un reductor adecuado en condiciones experimentales apropiadas da lugar a átomos de oro que se van ensamblando hasta alcanzar el tamaño nanométrico.

En esta Tesis Doctoral se propone por vez primera, según nuestro conocimiento, la monitorización potenciométrica del anión tetracloroaurato(III) en una reacción de reducción de dicho anión, con el objeto de obtener información cinética de dicha reacción.

La potenciometría con electrodos selectivos de iones es una técnica muy útil para la monitorización de reacciones químicas debido a su sencillez, respuesta rápida y alta selectividad y sensibilidad (Mikhelson, 2013). La investigación en electrodos selectivos de iones constituye un campo muy activo en las últimas décadas (Zdrachek y Bakker, 2021).

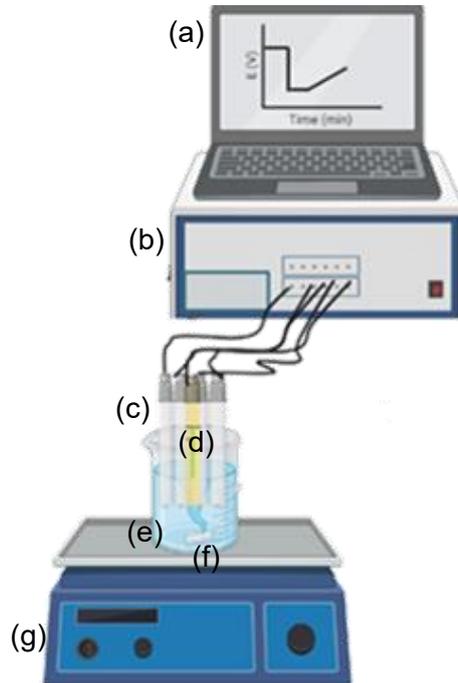
Los electrodos selectivos de aniones basados en intercambiadores de aniones disueltos en una membrana polimérica plastificada siguen normalmente el orden de selectividad de Hofmeister, que implica una mayor respuesta de potencial hacia los aniones monovalentes de mayor tamaño (Bakker et al., 1997 y Wojciechowski et al., 2010). En el caso de aniones inorgánicos comunes este orden sería:  $\text{ClO}_4^-$ ;  $\text{SCN}^-$ ;  $\text{I}^-$ ;  $\text{NO}_3^-$ ;  $\text{Br}^-$ ;  $\text{Cl}^-$ ;  $\text{HCO}_3^-$ ;  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ ;  $\text{SO}_4^{2-}$ ;  $\text{F}^-$ ;  $\text{H}_2\text{PO}_4^-$ . La serie de Hofmeister se mantiene en multitud de procesos fisicoquímicos muy diferentes entre sí, con el denominador común de implicar sistemas de dos fases (Gregory et al., 2022).

En términos termodinámicos la selectividad de este tipo de electrodos está directamente relacionada con la energía libre de Gibbs asociada al proceso de transferencia del ion primario (analito) y de los iones interferentes, desde el agua a la fase orgánica (membrana del electrodo selectivo). Este parámetro se traduce en el correspondiente valor del coeficiente de reparto del ion entre ambas fases y, en términos electroquímicos, en el correspondiente valor del potencial estándar de transferencia del ion.

El anión tetracloroaurato(III) es más voluminoso que todos los aniones inorgánicos comunes y mucho más que el anión cloruro que está presente a alta concentración en disoluciones de tetracloroaurato(III). Por esta razón, se pensó en desarrollar un electrodo selectivo para dicho anión con la finalidad de aplicarlo a la monitorización potenciométrica de reacciones de reducción de tetracloroaurato(III). Existe algún precedente de un electrodo selectivo para dicho anión que se utilizó para la determinación analítica de oro en minerales (Ortuño et al., 1986). La construcción de nuevos electrodos, en este caso con disolución interna para evitar derivas en el potencial, su calibración y aplicación a la monitorización potenciométrica de tetracloroaurato(III) se describen en el capítulo 4.

#### **1.6.4.1. MEDICIÓN POTENCIOMÉTRICA**

La instrumentación empleada para llevar a cabo medidas potenciométricas suele constar de una célula en la que se encuentra la disolución de la muestra, en la que se sumergen el electrodo selectivo y un electrodo de referencia, este último a ser posible de doble unión líquida. Los electrodos se conectan a un potenciómetro. La célula se mantiene en agitación constante y a alta velocidad con objeto de homogeneizar la muestra de forma rápida cuando se varíe la concentración de analito en el seno de la disolución, así como de acelerar el transporte a través de la capa estacionaria próxima al electrodo. Puede considerarse que en esta capa el transporte es por difusión y que el espesor de dicha capa disminuye al aumentar la agitación.



**Figura 1.16.** Esquema de la instrumentación y montaje para la realización de medidas potenciométricas: (a) ordenador portátil, (b) potenciómetro multicanal, (c) electrodos de selectivos, (d) electrodo de referencia, (e) muestra, (f) núcleo de agitación y (g) agitador magnético.

Actualmente, el tipo más abundante de electrodos selectivos de iones es el constituido por membranas poliméricas plastificadas que contienen un polímero, habitualmente cloruro de polivinilo (PVC), un disolvente que actúa como plastificante, un intercambiador de iones lipofílico disuelto en la membrana y, en algunos casos, un ionóforo selectivo.



# **CAPÍTULO 2**

**ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE CATIONES DE  
GRAN TAMAÑO EN LA CINÉTICA DE AGREGACIÓN  
DE NANOPARTÍCULAS DE ORO RECUBIERTAS  
CON CITRATO**



## ESTUDIO DE LA INFLUENCIA DE CATIONES DE GRAN TAMAÑO EN LA CINÉTICA DE AGREGACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO RECUBIERTAS CON CITRATO

### RESUMEN

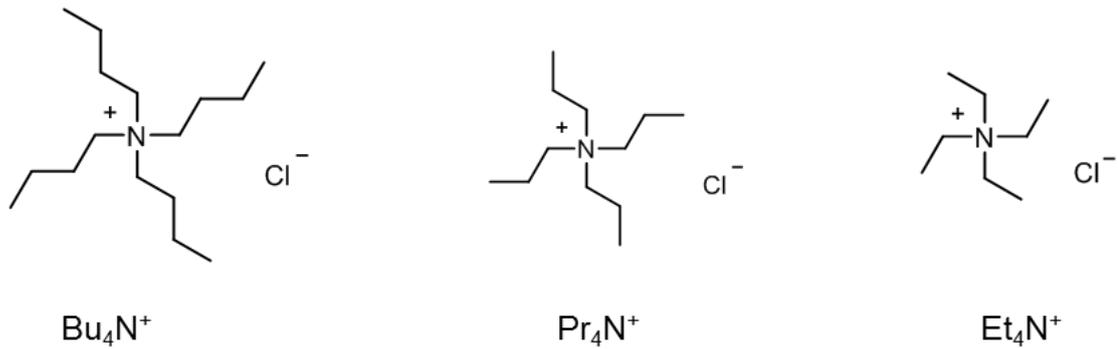
Las nanopartículas de oro recubiertas con citrato (Ct-AuNPs) poseen carga eléctrica negativa en su superficie, lo que provoca su repulsión cuando se aproximan en el espacio. Cuando se añade un electrolito al medio, los contraiones (en este caso cationes) de éste tienden a neutralizar las cargas superficiales. Dicho apantallamiento electrostático facilita la agregación de las Ct-AuNPs. En este capítulo se realiza un estudio de la estabilidad y la cinética de agregación de Ct-AuNPs cuando a una suspensión de estas nanopartículas se le adiciona alguna de las siguientes sales solubles que contienen cationes de gran tamaño: cloruro de tetrabutilamonio, cloruro de tetrapropilamonio y cloruro de tetraetilamonio. Estos cationes monovalentes tienen un tamaño mucho mayor que los cationes empleados normalmente para llevar a cabo las investigaciones sobre agregación de nanopartículas ( $\text{Na}^+$  o  $\text{K}^+$ ). En el estudio que se ha llevado a cabo, la cinética de agregación de las Ct-AuNPs se ha monitorizado mediante dispersión de luz dinámica (DLS) y espectroscopia ultravioleta-visible (UV-vis). Además, se ha medido el potencial zeta y se han tomado imágenes de microscopía electrónica de transmisión ("*Transmission Electron Microscopy*", TEM).

Con los resultados obtenidos se ha demostrado que los cationes grandes utilizados producen una rápida agregación que es más notable cuanto mayor es el tamaño de dicho catión. Así, los resultados indican que los cationes más grandes apantallan más eficazmente la superficie de las Ct-AuNPs, lo que puede atribuirse a la menor hidratación de estos cationes. Por otro lado, el mayor efecto desestabilizador producido por los cationes de mayor tamaño concuerda con la serie directa de Hofmeister. Los cationes más grandes tienen un efecto más acusado debido a que en disolución se encuentran más pobremente solvatados que los cationes pequeños, lo que da lugar a que interactúen más eficazmente con la superficie negativa de las Ct-AuNPs.

## 2.1. INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de oro (AuNPs) en disolución forman suspensiones coloidales que no son estables termodinámicamente, y por ello, tienden a flocular. Por ello, para la aplicación de nanopartículas en distintos campos, es imprescindible conocer y controlar su agregación. Con el fin de evitar la agregación, las nanopartículas se suelen recubrir con pequeñas moléculas cargadas eléctricamente que las estabilizan. Un agente de recubrimiento (o “*capping*”) muy común es el citrato de sodio, ya que es barato, no es tóxico y actúa tanto de agente de recubrimiento como de agente reductor en el proceso de síntesis de AuNPs. Las moléculas de citrato son capaces de adsorberse sobre la superficie de las AuNPs (tal y como ya se indicó en el Capítulo 1) dotándolas de carga superficial negativa debido a los grupos carboxilo (Grys et al., 2020), lo que impide la agregación debido a la fuerza de repulsión electrostática que se genera conforme las AuNPs se aproximan. Además de por moléculas pequeñas, las AuNPs también se pueden recubrir por cadenas de polímero que inducen una estabilización estérica o forman nanocompuestos (“*nanocomposites*”) que evitan la agregación (Collado-González et al., 2015). Sin embargo, aunque las AuNPs se recubran con agentes estabilizantes, si el medio en el que se encuentran presenta una fuerza iónica suficientemente elevada, la carga superficial de las AuNPs puede ser apantallada, evitándose el efecto de la fuerza de repulsión electrostática (Pamies et al., 2014; Christau et al., 2017). Por tanto, es importante realizar un estudio de la agregación de las AuNPs inducida por la presencia de electrolitos en el que se varíe tanto la concentración como las características de éstos (Barreto et al., 2015; Alba-Molina et al., 2017) ya que el proceso de floculación y su cinética no sólo dependen de la fuerza iónica del medio (relacionada con la concentración y la valencia de los electrolitos), sino que en dicho proceso también influyen las características de los electrolitos, como por ejemplo el tamaño de los iones (Pfeiffer et al., 2014; Liu et al., 2014; Oncsik et al., 2015; Perera et al., 2016 y Hu et al., 2020).

La mayoría de los estudios sobre agregación de AuNPs inducida por la presencia de sales utilizan cationes pequeños como  $\text{Li}^+$ ,  $\text{Na}^+$  o  $\text{K}^+$ . En este capítulo, la cinética de agregación de las Ct-AuNPs se ha estudiado en presencia de cationes monovalentes grandes, en concreto: tetrabutil-, tetrapropil- y tetraetil- amonio ( $\text{Bu}_4\text{N}^+$ ,  $\text{Pr}_4\text{N}^+$ ,  $\text{Et}_4\text{N}^+$ ) lo que, además, ha permitido poner de manifiesto el papel que tiene el tamaño del catión en el proceso de agregación. Las estructuras de los cationes utilizados en este trabajo se muestran en la Figura 2.1.



**Figura 2.1.** Estructura de las sales de amonio cuaternarias utilizadas en este trabajo.

Para llevar a cabo el estudio, se utilizaron suspensiones comerciales de AuNPs recubiertas con citrato de sodio, Ct-AuNPs. A estas suspensiones se les adicionó un volumen determinado de disolución acuosa de cada una de las sales de tetraalquilamonio descritas anteriormente (Figura 2.1), de forma que la concentración de trabajo de la sal fue 0,5 M. Esta concentración se eligió con el fin de lograr una agregación apreciable durante un tiempo de medición de 1 hora. La cinética de agregación se siguió mediante DLS, técnica con la que se obtuvo la distribución del tamaño de las nanopartículas y sus agregados, y mediante espectroscopía UV-vis, técnica que pone de manifiesto la presencia de agregación a través del desplazamiento del pico de plasmón, tal y como se comentó en el Capítulo 1. Por otra parte, se determinó la carga superficial de los agregados con la medida del potencial zeta,  $\zeta$ . Por último, también se tomaron algunas imágenes mediante la técnica de microscopía de transmisión de electrones (TEM).

La agregación de las Ct-AuNPs en presencia de las sales de amonio empleadas en este trabajo no se ha estudiado previamente en la literatura, aunque estas sales de amonio sí que se han utilizado para la preparación de AuNPs y su posterior uso en diferentes aplicaciones (Siddiq et al., 2019a; Siddiq et al., 2019b; Jagtap et al., 2012; Morita et al., 2023). Tras evaluar el efecto de estos cationes de amonio cuaternario sobre la cinética de agregación de las Ct-AuNPs, se observó que, por un lado, cuanto mayor es el catión, más rápida es la cinética de agregación y, por otro lado, según su efecto desestabilizador, los cationes de tetraalquilamonio siguen la serie clásica Hofmeister (Gregory et al., 2022). Finalmente, se pudo concluir que el mayor efecto desestabilizador de los cationes más grandes se debe a que éstos se encuentran más débilmente hidratados que los cationes de menor tamaño.

## 2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.2.1. REACTIVOS Y PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

Las Ct-AuNPs utilizadas fueron adquiridas a Merck KGaA (Darmstadt, Alemania) en forma de suspensión acuosa a una concentración  $5 \times 10^{13}$  partículas/cm<sup>3</sup>. Previamente a su utilización se comprobó en el equipo DLS su diámetro hidrodinámico,  $d_h$ , obteniéndose un valor de 20 nm.

Se prepararon disoluciones acuosas 1 M de las siguientes sales de tetraalquilamonio: cloruro de tetrabutilamonio,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2)_4\text{N}(\text{Cl})$  (Aldrich, 97,0% de pureza), cloruro de tetrapropilamonio,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2)_4\text{N}(\text{Cl})$  (Fluka, 98% de pureza), y cloruro de tetraetilamonio,  $(\text{CH}_3\text{CH}_2)_4\text{N}(\text{Cl})$ , (Fluka, 99% de pureza). Todas estas disoluciones se filtraron con filtros de nylon de 0,45  $\mu\text{m}$  antes de su utilización.

### 2.2.2. INSTRUMENTACIÓN

El tamaño hidrodinámico se midió por DLS usando el equipo Malvern Zetasizer Nano-ZS (Malvern Instruments Ltd., Malvern, UK) descrito en el Capítulo 1. El software del instrumento calcula la función de distribución de tamaño en intensidad a partir de la fluctuación de intensidad de la luz dispersada con el tiempo, tal y como se describió en el Capítulo 1. Un algoritmo integrado en el software del equipo Malvern Zetasizer analiza las funciones de autocorrelación temporal con el fin de determinar el coeficiente de difusión traslacional de las partículas,  $D$ , que está relacionado con su radio hidrodinámico,  $R_h$ , mediante la ecuación de Stokes-Einstein (Ecuación 1.4, Capítulo 1).  $R_h$  es el radio de la esfera compacta que tiene el mismo valor de  $D$  que la partícula. En este trabajo se utilizó el diámetro hidrodinámico,  $d_h = 2R_h$ , que es la magnitud suministrada directamente por el software del equipo Malvern Zetasizer. El potencial zeta,  $\zeta$ , que da información sobre la cantidad de carga en la superficie de las nanopartículas, también se midió con el instrumento Malvern Zetasizer Nano-ZS.

Una de las propiedades más notables de las AuNPs es su capacidad de absorber y dispersar la luz en la región del visible debido al fenómeno de resonancia de plasmón superficial (SPR) descrito en el Capítulo 1. Como ya se indicó en dicho capítulo, el fenómeno SPR se manifiesta como una fuerte banda de absorción en la región visible a una longitud de onda que depende del tamaño de las AuNPs y de su estado de agregación (Zheng et al., 2016). Así pues, se registraron espectros de absorción utilizando un espectrofotómetro T92+ (PG Instruments, Lutterworth, UK). El rango de barrido seleccionado fue desde 400 nm a 900 nm con un intervalo

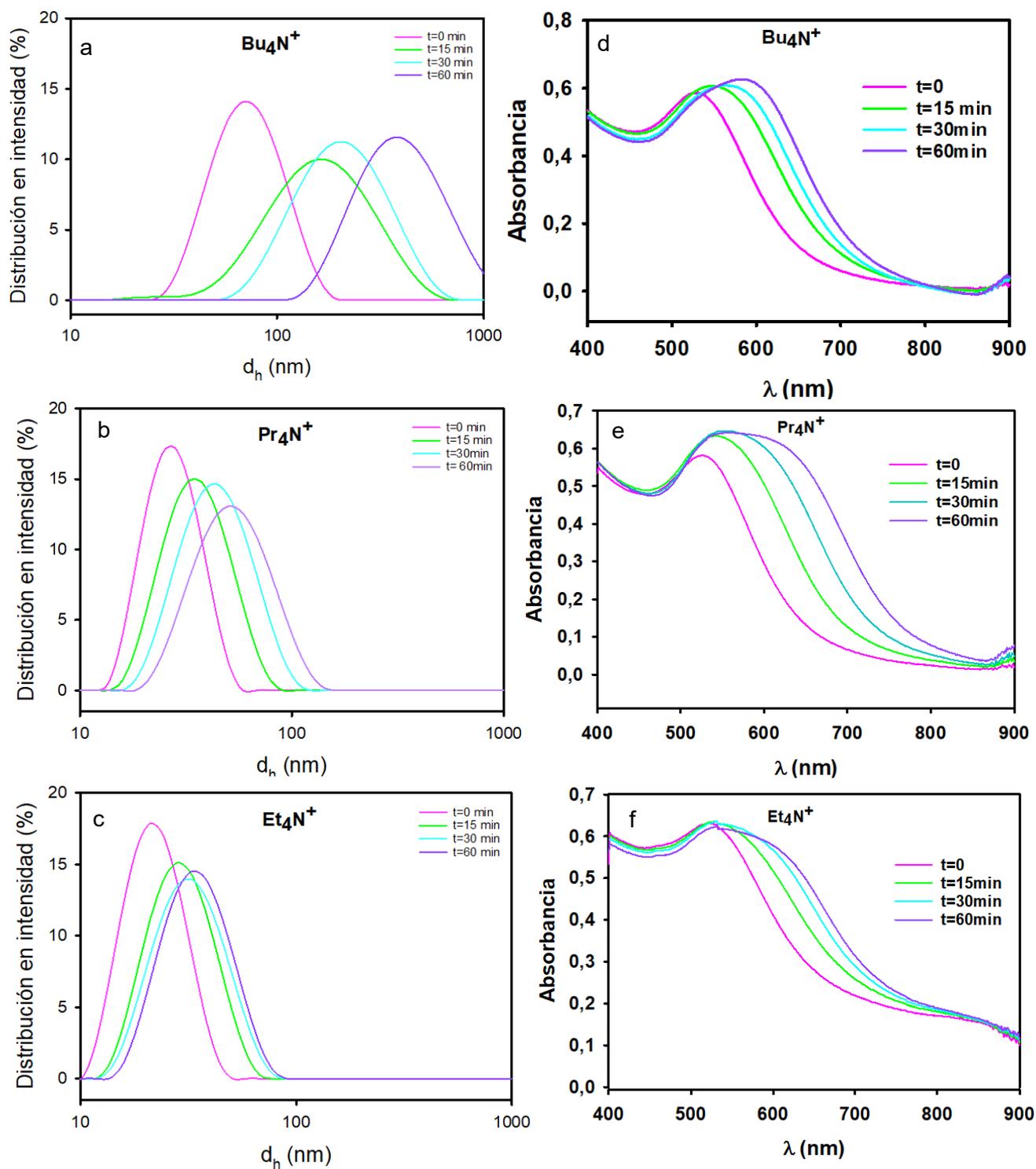
de barrido de 1 nm. Los resultados obtenidos con esta técnica se presentaron en términos de absorbancia.

El análisis realizado por TEM se llevó a cabo con un microscopio electrónico Philips Technai-12 con un voltaje de aceleración de 120 kV, utilizando una cámara Megaview II para la adquisición de imágenes. Las muestras se prepararon vertiendo con un cuentagotas 10  $\mu$ L de la disolución de nanopartículas en una rejilla de cobre/níquel recubierta de una malla Formvar/carbono y dejándola secar a temperatura ambiente. El exceso de película se eliminó con papel absorbente.

### 2.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para estudiar el efecto de los cationes de tetraalquilamonio en el proceso de agregación de las Ct-AuNPs, se llevaron a cabo una serie de experimentos en los que se utilizó 1 mL de disolución 1 M de cada catión ensayado ( $\text{Bu}_4\text{N}^+$ ,  $\text{Pr}_4\text{N}^+$ ,  $\text{Et}_4\text{N}^+$ ) que se añadió a 1 mL de disolución de Ct-AuNPs cuya concentración era  $5 \times 10^{13}$  partículas/mL, manteniendo así constantes en todos los experimentos las concentraciones finales de Ct-AuNPs ( $2,5 \times 10^{13}$  partículas/mL) y sal (0,5 M).

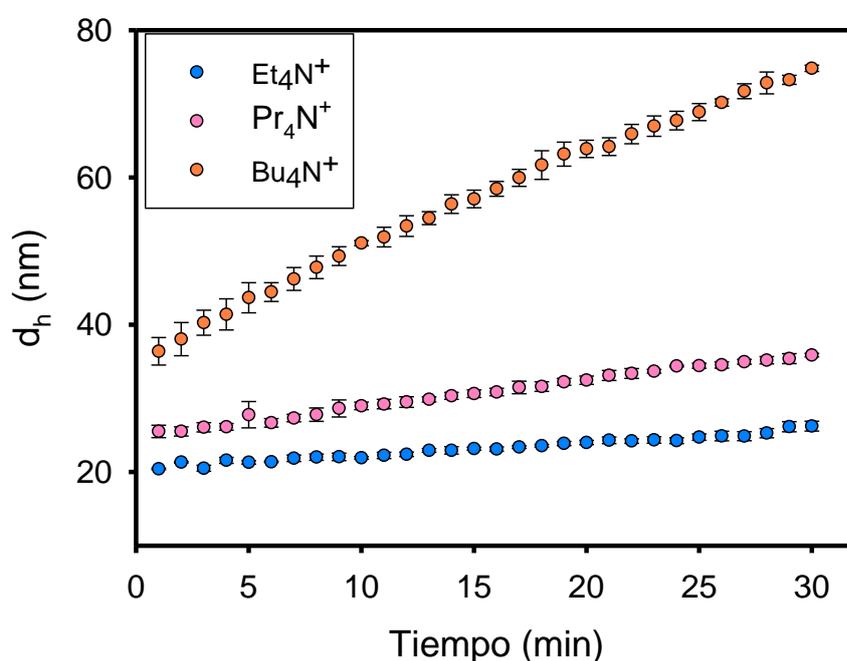
La Figura 2.2 muestra la evolución temporal (0 min, 15 min, 30 min, 60 min) tanto de la función de distribución de tamaño (diámetro hidrodinámico) en intensidad, como del espectro de absorción de las Ct-AuNPs para cada tipo de catión amonio utilizado en este trabajo. Puede observarse que los picos de la función de distribución, así como los picos de plasmón, se desplazan hacia un mayor tamaño y una mayor longitud de onda, respectivamente, a medida que transcurre el tiempo, siendo el desplazamiento más acusado cuanto mayor es el tamaño del catión.



**Figura 2.2.** Evolución temporal (0 min, 15 min, 30 min, 60 min) de las funciones de distribución DLS ((a), (b), (c)) y de los espectros UV-vis ((d), (e), (f)) de las Ct-AuNPs en presencia de  $\text{Bu}_4\text{N}^+$  ((a), (d)),  $\text{Pr}_4\text{N}^+$  ((b), (e)), y  $\text{Et}_4\text{N}^+$  ((c), (f)). Concentración de sal: 0,5 M en todos los casos.

Tanto el desplazamiento a mayor tamaño del pico de la función de distribución como el desplazamiento a mayor longitud de onda, o desplazamiento al rojo, de los espectros UV-vis son indicativos de agregación. Así, la longitud de onda del pico de plasmón pasa de 520 nm, característico de las Ct-AuNPs de  $d_h \approx 20$  nm, a 600 nm. Por otro lado, se puede apreciar la existencia de agregados de Ct-AuNPs desde el inicio de las medidas DLS y UV-vis (Figuras 2.2 y 2.3). La razón es que el proceso de agregación es más rápido que el tiempo que se deja a los instrumentos para equilibrar la temperatura. La existencia de estos agregados iniciales se hace más evidente en DLS porque es una técnica más sensible al tamaño (además, el tiempo de equilibrado de temperatura para esta técnica fue mayor). Existe una diferencia en el tamaño inicial de los agregados para los distintos cationes, siendo el tamaño inicial de los agregados mayor para el  $\text{Bu}_4\text{N}^+$ , que es el catión de mayor tamaño de los tres estudiados.

La Figura 2.3 muestra la evolución temporal del diámetro hidrodinámico medio ( $\langle d_h \rangle$ ) de las Ct-AuNPs. Para cada tipo de catión, se realizaron tres experimentos independientes, obteniéndose una muy buena reproducibilidad como indican las pequeñas barras de desviación estándar en la Figura 2.3.



**Figura 2.3.** Evolución temporal del diámetro hidrodinámico promedio de los agregados en presencia de  $\text{Bu}_4\text{N}^+$ ,  $\text{Pr}_4\text{N}^+$  y  $\text{Et}_4\text{N}^+$ .

El aumento de tamaño (es decir, la agregación) de las Ct-AuNPs es mayor y más rápido a medida que el catión presente en la disolución es más grande ( $\text{Bu}_4\text{N}^+ > \text{Pr}_4\text{N}^+ > \text{Et}_4\text{N}^+$ ). De hecho, cuanto mayor es el catión, mayor es el tamaño inicial medido de las Ct-AuNPs ya que la agregación es tan rápida que al mezclar las Ct-AuNPs con las diferentes sales se produce la agregación de forma inmediata. Como era de esperar, el catión de mayor tamaño que es también el más débilmente hidratado,  $\text{Bu}_4\text{N}^+$ , puede interactuar en mayor medida con la carga superficial negativa de cada Ct-AuNP, produciendo una rápida agregación de las nanopartículas. Se realizó el ajuste lineal por mínimos cuadrados para cada gráfica de la Figura 2.3. En la Tabla 2.1 se recogen los valores obtenidos de este ajuste para la pendiente media junto con su desviación estándar para cada catión estudiado.

Como se observa en la Figura 2.3, el catión de mayor tamaño utilizado,  $\text{Bu}_4\text{N}^+$ , provoca la agregación más rápida. Así, la pendiente para  $\text{Pr}_4\text{N}^+$  es aproximadamente dos veces mayor que la de  $\text{Et}_4\text{N}^+$ , mientras que la pendiente para  $\text{Bu}_4\text{N}^+$  es unas siete veces mayor. En resumen, a medida que disminuye el tamaño del catión ( $\text{Bu}_4\text{N}^+ > \text{Pr}_4\text{N}^+ > \text{Et}_4\text{N}^+$ ) también lo hace su efecto desestabilizador y, por lo tanto, los agregados son más pequeños y necesitan más tiempo para crecer y, eventualmente, precipitar.

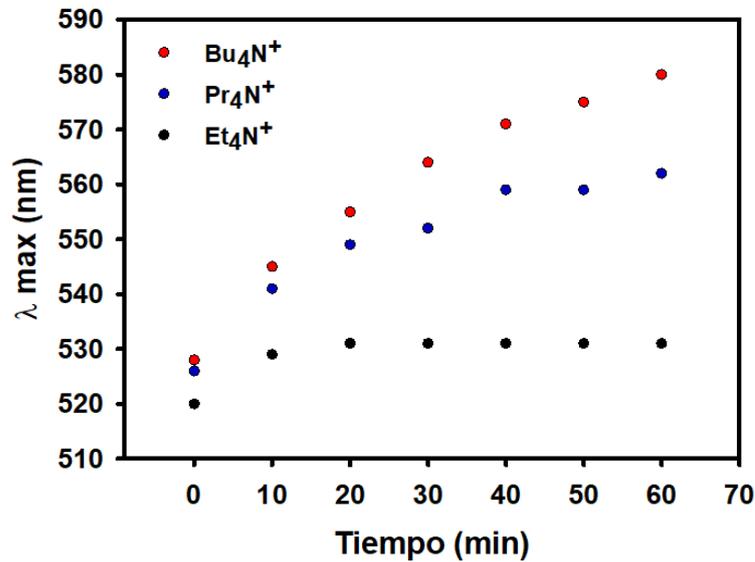
**Tabla 2.1.**

Pendientes y sus desviaciones estándar asociadas a cada catión estudiado.

Catión	Pendiente (nm/min)
$\text{Bu}_4\text{N}^+$	$1,30 \pm 0,19$
$\text{Pr}_4\text{N}^+$	$0,370 \pm 0,006$
$\text{Et}_4\text{N}^+$	$0,176 \pm 0,006$

La Figura 2.4 muestra la evolución temporal de la longitud de onda a la que aparece el pico de plasmón,  $\lambda_{\text{max}}$ . Como se aprecia, esta longitud de onda se desplaza hacia valores más altos en todos los casos, lo que es indicativo de que en todos ellos se produce agregación y ésta aumenta conforme transcurre el tiempo. Sin embargo, este “desplazamiento al rojo” es significativamente mayor para la suspensión que contiene  $\text{Bu}_4\text{N}^+$ , siendo muy débil para la que contiene  $\text{Et}_4\text{N}^+$ . De nuevo, se mantiene la tendencia mostrada en la Figura 2.3 para el tamaño

de los cationes:  $\text{Bu}_4\text{N}^+ > \text{Pr}_4\text{N}^+ > \text{Et}_4\text{N}^+$ . Esto confirma que la agregación de las Ct-AuNPs se ve favorecida en presencia de cationes grandes.



**Figura 2.4.** Evolución temporal de la longitud de onda a la que aparece el pico de plasmón de las Ct-AuNPs en presencia de  $\text{Bu}_4\text{N}^+$ ,  $\text{Pr}_4\text{N}^+$  y  $\text{Et}_4\text{N}^+$ .

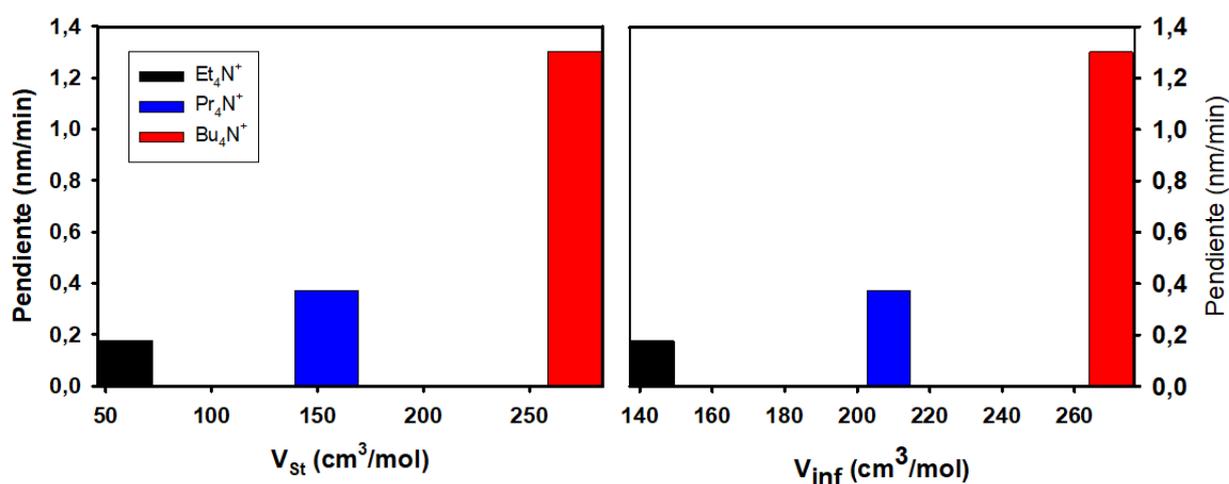
Para asignar un valor numérico al tamaño del catión se puede utilizar el volumen molar en agua de los cationes de tetraalquilamonio (Marcus, 2008). En ese trabajo se reportan dos valores de volumen: los volúmenes molares parciales estándar de los cationes acuosos a dilución infinita, ( $V_{inf}$ ), y los volúmenes molares hidrodinámicos (Stokes), basados en los radios de Stokes obtenidos a partir de las conductividades iónicas a dilución infinita ( $V_{St}$ ). La Tabla 2.2 recoge estos dos valores de volumen catiónico.

**Tabla 2.2.**

Volumen molar de cada catión (Marcus, 2008).

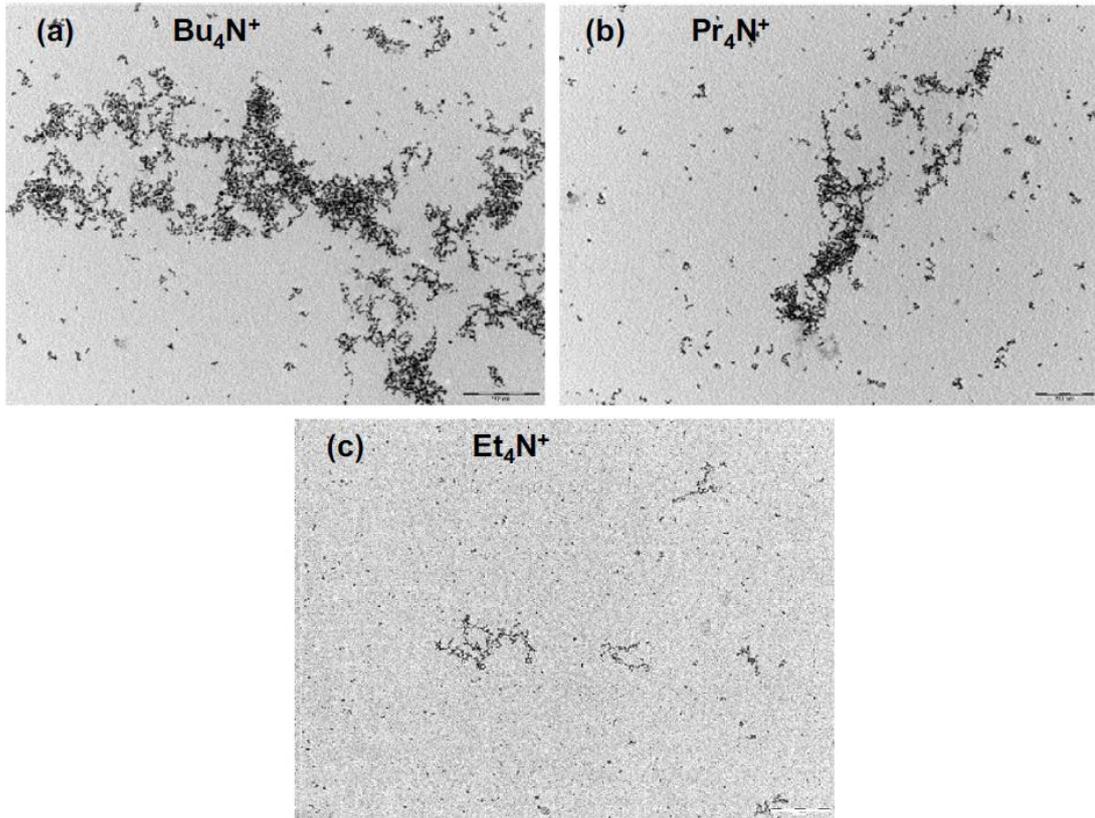
Catión	$V_{inf}$ ( $\text{cm}^3\text{mol}^{-1}$ )	$V_{St}$ ( $\text{cm}^3\text{mol}^{-1}$ )
$\text{Bu}_4\text{N}^+$	270,2	273,8
$\text{Pr}_4\text{N}^+$	208,9	154,3
$\text{Et}_4\text{N}^+$	143,6	57,2

Como se aprecia en la Tabla 2.2, hay una gran diferencia entre el volumen de Stokes del  $\text{Bu}_4\text{N}^+$  (que es similar a su volumen estándar) y el volumen de Stokes de los otros dos cationes de tetraalquilamonio, lo que puede explicar la gran diferencia en el comportamiento del  $\text{Bu}_4\text{N}^+$  respecto a  $\text{Pr}_4\text{N}^+$  y  $\text{Et}_4\text{N}^+$ . La Figura 2.5 ilustra cómo las pendientes de la Figura 2.3 varían con el volumen molar del catión, lo que es una forma de relacionar cuantitativamente el tamaño del catión (volumen del catión) y la cinética de agregación (pendiente de la variación lineal del tamaño del agregado Ct-AuNP con el tiempo). Por la ausencia de suficientes valores no se ha efectuado un ajuste de los mismos a una función. Sin embargo, mientras que el aumento de tamaño entre cationes consecutivos es similar, el aumento de pendiente es mucho mayor al pasar de tetrapropilamonio a tetrabutilamonio que de tetraetilamonio a tetrapropilamonio.



**Figura 2.5.** Valores de las pendientes de la Figura 2.3. en función del volumen del catión.

La Figura 2.6 muestra imágenes TEM de la suspensión de Ct-AuNPs en presencia de los cationes  $\text{Bu}_4\text{N}^+$  (Figura 2.6a),  $\text{Pr}_4\text{N}^+$  (Figura 2.6b), y  $\text{Et}_4\text{N}^+$  (Figura 2.6c), 30 min después de la adición de la correspondiente sal 0,5 M. Como se aprecia, las Ct-AuNPs forman agregados grandes y aparentemente poco compactas en todos los casos. Por otra parte, dichos agregados parecen ser mayores cuanto mayor es el catión tetraalquilamonio añadido al medio, lo que concuerda con los resultados de la Figura 2.3.

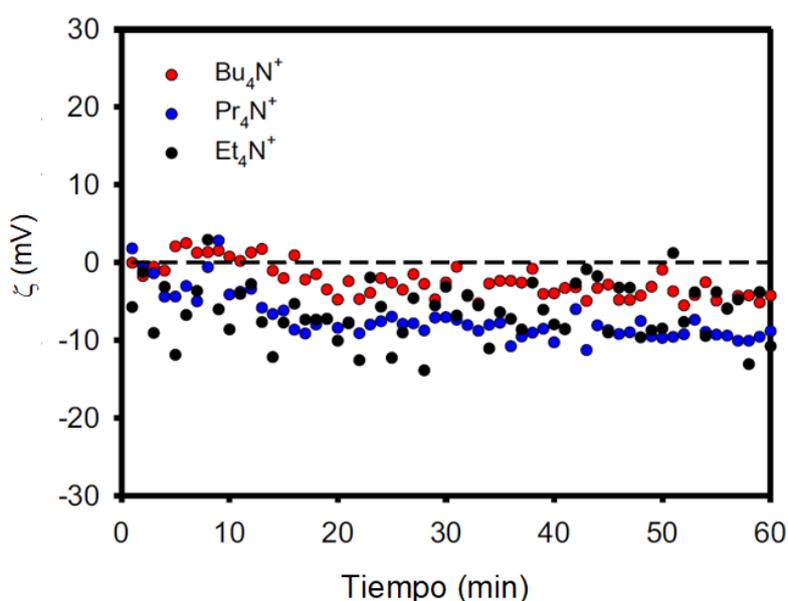


**Figura 2.6.** Imagen TEM de Ct-AuNPs con: (a) $\text{Bu}_4\text{N}^+$ , aumento 59Kx, escala 200 nm, (b) $\text{Pr}_4\text{N}^+$ , aumento 59Kx, escala 200 nm, (c) $\text{Et}_4\text{N}^+$ , aumento 46Kx, escala 200 nm.

Tal como se expuso en el Capítulo 1, la teoría DLVO (Verwey, 1947), predice que el proceso de agregación de partículas coloidales y nanopartículas está controlado por uno de los dos mecanismos siguientes: i) DLCA, cuando la agregación está controlada puramente por difusión, es decir, por movimiento browniano, que da lugar a una cinética de agregación rápida porque cada colisión es efectiva lo que favorece los agregados no compactos, y ii) RLCA, cuando la agregación está limitada por reacción, lo que ocurre cuando la barrera energética entre las partículas que se aproximan es del mismo orden o superior a la energía térmica, dando lugar a una cinética de agregación lenta porque no toda colisión es eficaz, lo que favorece la formación de agregados compactos. La rápida agregación de las Ct-AuNPs estudiadas (consecuencia del fuerte apantallamiento electrostático producido por la alta concentración empleada) junto con el tipo de estructura revelada por las imágenes TEM permite llegar a la conclusión de que la cinética de agregación en los sistemas objeto de estudio está controlada fundamentalmente por el mecanismo DLCA.

Como ya se comentó en el Capítulo 1, para un mecanismo DLCA puro es de esperar que se cumpla, en todo momento, una ley de potencia del tipo  $R_h \sim t^\alpha$ , (análogamente para  $d_h = 2R_h$ ), donde  $\alpha$  es la “eficiencia de asociación” que está relacionada con la probabilidad de unión irreversible tras la colisión (Olivier y Sorensen, 1990). Sin embargo, la dependencia temporal derivada de la Figura 2.3. no sigue una ley de potencia clara y parece estar más bien relacionada con un mecanismo RLCA (Olivier y Sorensen, 1990; Wilcoxon et al., 1989). Por tanto, a partir de los resultados obtenidos experimentalmente, no se puede concluir cuál es el mecanismo (DLCA o RLCA) que sigue la cinética de agregación de las Ct-AuNPs estudiadas. De hecho, este fenómeno es relativamente habitual y son muchos los casos en los que la cinética de agregación de partículas coloidales no puede describirse mediante mecanismos DLCA o RLCA sencillos (Wilcoxon et al., 1989). Incluso en casos en los que se encuentra una ley de potencia, se han observado valores de  $\alpha$  superiores a los esperados cuando las partículas se juntan bajo la influencia de factores distintos al movimiento browniano (Liu et al., 2010).

Por último, se midió el potencial zeta de las diferentes suspensiones de Ct-AuNPs. En medio acuoso, el potencial zeta es una buena aproximación del potencial eléctrico en la superficie de las nanopartículas. La Figura 2.7 muestra la evolución del potencial zeta de las Ct-AuNPs en presencia de los tres cationes de amonio estudiados.



**Figura 2.7.** Evolución del potencial zeta de las Ct-AuNPs en presencia de los cationes estudiados ( $Bu_4N^+$ ,  $Pr_4N^+$  y  $Et_4N^+$ ).

Las partículas con potencial zeta superior a +30mV o inferior a -30mV suelen considerarse estables a largo plazo porque la repulsión eléctrica suele ser suficiente para evitar la agregación. Por tanto, a medida que el potencial zeta se acerca a 0 mV, la suspensión coloidal se vuelve menos estable y se produce la floculación. Evidentemente, en todos nuestros casos el potencial zeta está, aproximadamente, entre 0 mV y -10 mV, lo que indica que la agregación se producirá en cualquier caso. Sin embargo, para la sal con el catión más pequeño ( $\text{Et}_4\text{N}^+$ ), el valor del potencial zeta es mayor (en valor absoluto) porque su capacidad para apantallar la carga superficial de las nanopartículas es menor. Por lo tanto, el proceso de agregación será lento, y la suspensión puede ser relativamente estable. Por otro lado, las suspensiones con el catión más grande ( $\text{Bu}_4\text{N}^+$ ) tienen valores de potencial zeta alrededor de cero, lo que indica un fuerte apantallamiento de la carga superficial de las nanopartículas que provoca una rápida y fuerte agregación. En base a estos resultados se puede afirmar que la estabilidad de la suspensión disminuye al aumentar el tamaño del catión.

El hecho de que los cationes más grandes favorezcan la agregación de las nanopartículas cargadas negativamente indica una mayor afinidad de los cationes de mayor tamaño con la superficie de las nanopartículas que puede atribuirse a la hidratación dependiente del tamaño de los cationes. Así, los cationes más grandes, poco hidratados, interactúan más eficazmente con la superficie cargada negativamente y favorecen la agregación. Por tanto, la estructura acuosa que forma la primera capa de solvatación de los cationes de tetraalquilamonio es más débil para los cationes más grandes (Slusher y Cummings, 1997) según el orden de volumen  $\text{Bu}_4\text{N}^+ > \text{Pr}_4\text{N}^+ > \text{Et}_4\text{N}^+$ . Además, hay que tener en cuenta que la hidrofobicidad de estos cationes orgánicos aumenta conforme mayor es su tamaño (Slusher y Cummings, 1997). En resumen, los cationes más pequeños se hidratan mejor (se asocian más fuertemente a las moléculas de agua), mientras que los cationes más grandes se deshidratan fácilmente lo que facilita su adhesión a la superficie de la nanopartícula. Esta adhesión da lugar a una caída del potencial superficial de la nanopartícula (Figura 2.7) y, por tanto, a una disminución de la estabilidad coloidal (Hu et al., 2020).

De los resultados anteriores se puede concluir que el poder desestabilizador de los cationes tetraalquilamonio para inducir la agregación de Ct-AuNPs sigue el mismo orden que su tamaño, es decir,  $\text{Bu}_4\text{N}^+ > \text{Pr}_4\text{N}^+ > \text{Et}_4\text{N}^+$ , lo que concuerda con el orden de los cationes establecido por la serie directa de Hofmeister (Oncsik et al., 2015; Gregory et al., 2022).

Antes de concluir, merece la pena realizar algunos comentarios sobre la concentración crítica de coagulación (CCC), es decir, la concentración de iones mínima necesaria para inducir la

coagulación o agregación irreversible de las nanopartículas. La determinación de la CCC es un método común para evaluar el efecto de los iones salinos en la agregación de nanopartículas ya que su valor está relacionado con el poder desestabilizador de un determinado ion. En este trabajo, no se determinó la CCC porque el objetivo principal era únicamente evaluar el efecto del tamaño del ion. Para ello, se eligió una serie homóloga de iones (los cationes tetraalquilamonio) y se fijó una concentración de estos lo suficientemente alta (0,5 M), claramente mayor que la CCC, como para garantizar una fuerte agregación de Ct-AuNPs durante el tiempo de medición, 1 h (el mismo para todos los casos estudiados). A partir de los datos obtenidos, se evaluó la influencia de un determinado catión en la agregación de nanopartículas mediante argumentos cinéticos. Así, según las pendientes obtenidas de los gráficos que representan el tamaño de los agregados frente al tiempo (Tabla 2.1y Figura 2.3a), se encontró que el catión  $\text{Bu}_4\text{N}^+$  provocaba una agregación más fuerte que  $\text{Pr}_4\text{N}^+$  y ésta a su vez, una agregación más fuerte que  $\text{Et}_4\text{N}^+$ , lo que se encuentra en perfecta correspondencia con el volumen de dichos cationes como se muestra en la Tabla 2.2. Como ya se ha citado con anterioridad, este comportamiento sigue la serie directa de Hofmeister para cationes y concuerda en cierto modo con los resultados obtenidos por otros autores utilizando diferentes cationes y/o nanopartículas (Oncsik et al., 2015; Perera et al., 2016; Hu et al., 2020). Así, en la referencia (Oncsik et al., 2015), los autores estudiaron el efecto de varios cationes monovalentes sobre la estabilidad de nanopartículas de látex de poliestireno cargadas negativamente, concluyendo que los cationes de mayor tamaño provocaban una mayor agregación de las nanopartículas, siguiendo dichos cationes la típica serie directa de Hofmeister. Curiosamente, el catión más grande ensayado por esos autores fue el tetrametilamonio que es el catión más pequeño de la serie homóloga de cationes tetraalquilamonio estudiada en este capítulo. Por otra parte, en la referencia (Perera et al., 2016), los autores estudiaron el efecto de varios cationes sobre la agregación de Ct-AuNPs, encontrando que el valor de CCC es menor para los cationes más grandes, es decir, que los cationes más grandes favorecían la agregación. Por último, más recientemente, en la referencia (Hu et al., 2020), los autores estudiaron el efecto de los cationes de metales alcalinos en la agregación de nanopartículas de oro y concluyeron, de nuevo, que la CCC disminuye al aumentar el tamaño del catión a lo largo de la serie de los cationes alcalinos, es decir, los cationes más grandes son más eficaces para producir la agregación de AuNPs. Las conclusiones que se derivan de los trabajos de todos estos autores están en buen acuerdo con los resultados presentados en este capítulo sobre el efecto que tiene el tamaño de los cationes en la agregación de las nanopartículas.

## 2.4. CONCLUSIONES

En este capítulo se ha estudiado el efecto de los cationes grandes monovalentes de tetraalquilamonio sobre la cinética de agregación de Ct-AuNPs. Los resultados obtenidos muestran que la velocidad de agregación de las Ct-AuNPs depende del tamaño del catión presente en la disolución. Así, cuando la concentración de estos iones en el medio es la misma, las Ct-AuNPs agregan más rápidamente (la cinética de agregación es más rápida) en presencia del catión  $\text{Bu}_4\text{N}^+$ , que es el catión de mayor tamaño de los tres estudiados, como reflejan las pendientes de los gráficos de tamaño frente a tiempo. El pequeño error derivado de la desviación estándar de las pendientes (menos del 10% en el supuesto más desfavorable) corrobora esta conclusión, que también está de acuerdo con los resultados encontrados en la bibliografía.

Finalmente, el poder desestabilizador de los cationes tetraalquilamonio sobre las Ct-AuNPs sigue el mismo orden que sus volúmenes,  $\text{Bu}_4\text{N}^+ > \text{Pr}_4\text{N}^+ > \text{Et}_4\text{N}^+$  lo que significa que sigue la serie directa de Hofmeister. Una posible razón del mayor efecto desestabilizador asociado a los cationes más grandes es su hidratación más débil, lo que favorece una interacción más intensa con la superficie de las nanopartículas.



# **CAPÍTULO 3**

**ESTUDIO DE LA AGREGACIÓN DE  
NANOPARTÍCULAS DE ORO EN PRESENCIA DEL  
COPOLÍMERO TERMOSENSIBLE**

**PNIPAAM<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>**



## ESTUDIO DE LA AGREGACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ORO EN PRESENCIA DEL COPOLÍMERO TERMOSENSIBLE PNIPAAM<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>

### RESUMEN

Una vez mostradas en el capítulo anterior las consecuencias de adicionar un electrolito a una suspensión de nanopartículas de oro recubiertas con citrato (Ct-AuNPs), en este capítulo se estudia la influencia que sobre la agregación de Ct-AuNPs tiene la presencia de un copolímero termosensible. Para ello, se caracterizó el “nanocomposite” resultante de la combinación de Ct-AuNPs con el copolímero dibloque cloruro de poli(N-isopropilacrilamida)-bloque-poli(3-acrilamidopropil) trimetilamonio o PNIPAAM<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>(+) que es de naturaleza catiónica en disolución acuosa por lo que tiene facilidad para interaccionar con la superficie cargada negativamente de las Ct-AuNPs. Así, se estudió la capacidad de este copolímero para evitar la agregación de las Ct-AuNPs cuando la fuerza iónica del medio es elevada. Además, puesto que el copolímero es termosensible, se determinó la influencia de la temperatura en el “nanocomposite” formado. Se obtuvo que el copolímero tiene una temperatura de disolución crítica más baja (“*Lower Critical Solution Temperature*” LCST) de aproximadamente 42°C, por lo que a temperaturas mayores se vuelve hidrofóbico, formando con facilidad redes poliméricas que atrapan las Ct-AuNPs y dan lugar a la formación del “nanocomposite”.

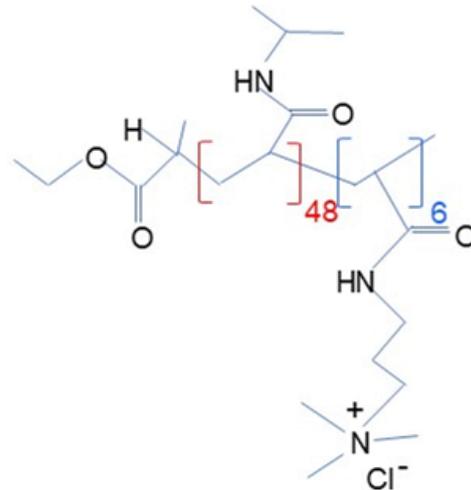
Para evaluar la agregación de las nanopartículas en presencia de las cadenas del copolímero se llevaron a cabo estudios variando la fuerza iónica del medio de reacción y la temperatura, utilizando las siguientes técnicas: espectroscopía visible ultravioleta (UV-vis), dispersión dinámica de luz (DLS) y microscopía electrónica de transmisión (TEM). Para la concentración de trabajo de PNIPAAM<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>(+) utilizada, el copolímero es capaz de recubrir de forma eficaz las Ct-AuNPs, formando redes que las atrapan, evitando así la formación de agregados.

### 3.1. INTRODUCCIÓN

Como ya se ha comentado, las nanopartículas de oro son sencillas de sintetizar y tienen muchas aplicaciones en distintos campos como la biomedicina (Kohout et al., 2018), la catálisis (Ansar et al., 2018), los sensores colorimétricos (Liu et al., 2018) o la remediación medioambiental (Biao et al., 2018). Dado que las nanopartículas en disolución tienden a agregar, se suelen recubrir con moléculas de pequeño tamaño cargadas eléctricamente que las estabilizan como consecuencia de las repulsiones electrostáticas que se generan. Sin embargo, si el medio en el que se encuentran las nanopartículas tiene una fuerza iónica,  $I$ , suficientemente elevada, las interacciones electrostáticas se apantallan y las nanopartículas agregan, efecto que suele ser no deseado (Pamies et al., 2014). Para evitar la agregación de las nanopartículas, se puede añadir algún polímero que se adsorba sobre su superficie, formándose así nanopartículas de tipo “core-shell” (Chatterjee et al., 2014) o algún tipo de estructura reticular que atrapa y protege las nanopartículas (Collado-González et al., 2015).

Un tipo de polímero que resulta interesante para evitar la agregación de nanopartículas es el polímero termosensible poli(N-isopropilacrilamida), o PNIPAAm, cuyas propiedades estructurales pueden ajustarse mediante la temperatura (Li et al., 2021). Cuando el PNIPAAm de alto peso molecular se disuelve en agua experimenta un cambio estructural, pasando de una conformación de ovillo al azar a una conformación globular siempre y cuando la temperatura supere su temperatura de disolución crítica más baja, LCST  $\approx 32$  °C (Wu y Wang, 1998). Para el PNIPAAm de bajo peso molecular, su valor LCST depende tanto de la longitud de la cadena como de la concentración de polímero (Pamies et al., 2009).

Por otro lado, los copolímeros dibloque formados por un bloque de PNIPAAm y un bloque de naturaleza catiónica pueden interactuar fácilmente con la superficie de citrato cargada negativamente que recubre a las nanopartículas de oro (Pamies et al., 2016). Un polímero que puede cumplir adecuadamente el papel de bloque catiónico es el cloruro de poli(3-acrilamidopropil) trimetilamonio, o PAMPTMA(+), (Pamies et al., 2010; Cardoso et al., 2014). En este trabajo, como agente de recubrimiento para las Ct-AuNPs, se ha utilizado una variante del copolímero dibloque termosensible y anfífilico cloruro de poli(N-isopropilacrilamida)-bloque-poli(3-acrilamidopropil) trimetilamonio formado por 48 monómeros de NIPAAm y 6 monómeros de AMPTMA(+), cuya abreviatura es PNIPAAm<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>(+) y al que, a partir de ahora, nos referiremos como Cop-48/6 (Figura 3.1). El bloque catiónico corto permite una interacción eficaz con las Ct-AuNPs sin enmascarar las características termosensibles del bloque PNIPAAm.



**Figura 3.1.** Estructura química del copolímero PNIPAAm<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>(+) o Cop-48/6.

El principal objetivo del trabajo expuesto en este capítulo es dilucidar cómo interaccionan las Ct-AuNPs con el copolímero PNIPAAm<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>(+) y evaluar la capacidad de este copolímero para evitar la agregación de dichas nanopartículas cuando la fuerza iónica del medio en el que se encuentran es elevada, ampliando de esta forma el campo de aplicación de las nanopartículas de oro en condiciones desfavorables. Además, dado que el copolímero PNIPAAm<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>(+) tiene una naturaleza termosensible, se determinó la influencia, no solo de la fuerza iónica, sino también de la temperatura en los tres sistemas que se manejan en este estudio: la suspensión de Ct-AuNPs, la disolución de copolímero y el “nanocomposite” formado tras mezclar la suspensión de Ct-AuNPs y la disolución del copolímero. Las técnicas instrumentales utilizadas para el estudio fueron la dispersión dinámica de luz (DLS), la espectroscopía visible ultravioleta (UV-vis) y, la microscopía de transmisión electrónica (TEM). Se pudo concluir que el “nanocomposite” obtenido evita la agregación de las Ct-AuNPs. La formación de este tipo de “nanocomposites” puede ser útil tanto en catálisis como en la recuperación de nanopartículas de oro.

## 3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 3.2.1. REACTIVOS

Las Ct-AuNPs utilizadas fueron adquiridas en Merck KGaA (Darmstadt, Alemania) en forma de suspensión acuosa de concentración  $6 \times 10^{12}$  partículas/cm<sup>3</sup>. Antes de comenzar con el estudio se comprobó en el equipo de DLS del laboratorio que el diámetro hidrodinámico,  $D_h$ , de las Ct-AuNPs era 20 nm.

El copolímero catiónico dibloque Cop-48/6 fue sintetizado y proporcionado por el grupo del Profesor Nyström del Departamento de Química de la Universidad de Oslo, en Noruega. Los detalles del proceso de síntesis, que se basa en el método de polimerización radicalaria por transferencia de átomo ("*Atom Transfer Radical Polymerization*", ATRP), aparecen descritos en la bibliografía (Pamies et al., 2009; Pamies et al., 2010; Dedinaite et al., 2010). El resultado de esta síntesis es un copolímero muy monodisperso cuyo peso molecular, determinado por la técnica de fraccionamiento de flujo de campo asimétrico ("*Asymmetric Flow Field-Flow Fractionation*", AFFFF), fue  $M = 8190$  g/mol (Pamies et al., 2010). La estructura química de este copolímero dibloque catiónico es la que aparece reflejada en la Figura 3.1.

El cloruro de sodio, NaCl, utilizado para modificar la fuerza iónica del medio, fue adquirido a Panreac (Barcelona, Spain) con una pureza del 99%. El agua utilizada en todos los casos se purificó mediante un sistema Milli-Q (Millipore, Bedford, MA, USA).

### 3.2.2. PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES

Se preparó una disolución acuosa de Cop-48/6 inicial de concentración 0,1% m/m. Para realizar los experimentos se tomaban 1,5 mL de esta disolución y se añadían a 0,5 mL de la suspensión de Ct-AuNPs con lo que la concentración de trabajo de Cop-48/6 era 0,075% m/m (Fernández Espín, 2017). Esta concentración de trabajo es la adecuada para evitar la agregación de las Ct-AuNPs tal y como se mostrará a continuación. Según resultados anteriores (Fernández Espín, 2017), concentraciones inferiores de copolímero no evitan la agregación de las Ct-AuNPs.

Para variar la fuerza iónica del medio,  $I$ , se utilizó cloruro de sodio (NaCl). Aunque rigurosamente, la fuerza iónica del medio también depende de la concentración de Cop-48/6, ya que es un polielectrolito, en la práctica, la fuerza iónica del medio,  $I$ , vendrá referida en base a la concentración de NaCl.

### 3.2.3. INSTRUMENTACIÓN

El tamaño hidrodinámico se midió por DLS usando el equipo Zetasizer Nano-ZS descrito en el Capítulo 1. De los tres tipos de distribuciones de tamaño que proporciona el software del equipo (ver Capítulo 1), en este trabajo se han usado las distribuciones en intensidad y en volumen. Como se expuso en el Capítulo 1, la distribución en intensidad enfatiza las especies que dispersan luz más intensamente, es decir, las partículas de mayor tamaño, mientras que la distribución en volumen se deriva de la anterior y tiende a enfatizar las especies con mayor número de partículas.

Como ya se ha comentado en capítulos anteriores, la resonancia de plasmón de superficie (SPR) característica de las Ct-AuNPs aparece como una fuerte banda de absorción en la región visible del espectro electromagnético que se puede utilizar para detectar la agregación de las Ct-AuNPs. Los espectros de absorción se obtuvieron utilizando un espectrofotómetro UV-vis T92+ de PG Instruments como el descrito en el Capítulo 1. El rango de barrido seleccionado abarcó desde 400 nm a 850 nm, siendo el intervalo de medida de 1 nm. Las medidas se realizaron a una temperatura de  $(25 \pm 3)$  °C. Dado que no se puede fijar una temperatura exacta con el instrumento utilizado, se considera que este rango de variación no influye en las conclusiones que se extraen del estudio, por lo que, a efectos prácticos, se considera que todas las medidas de absorbancia se realizaron a 25 °C.

El análisis realizado con TEM se llevó a cabo con un microscopio electrónico Jeol 1011 (JEOL, Tokyo, Japan) operando con un voltaje de 195 kV, usando una cámara Gatan Bioscan modelo 792 (Gatan, Pleasanton, CA, USA) para la adquisición de imágenes. Las muestras se prepararon con el mismo procedimiento descrito en el Capítulo 2, es decir, depositando con una micropipeta 10  $\mu$ L de disolución de nanopartículas en una rejilla de cobre/níquel con revestimiento de Formvar/carbon y dejándola secar a temperatura ambiente. Por último, el exceso de muestra se retiró con papel absorbente.

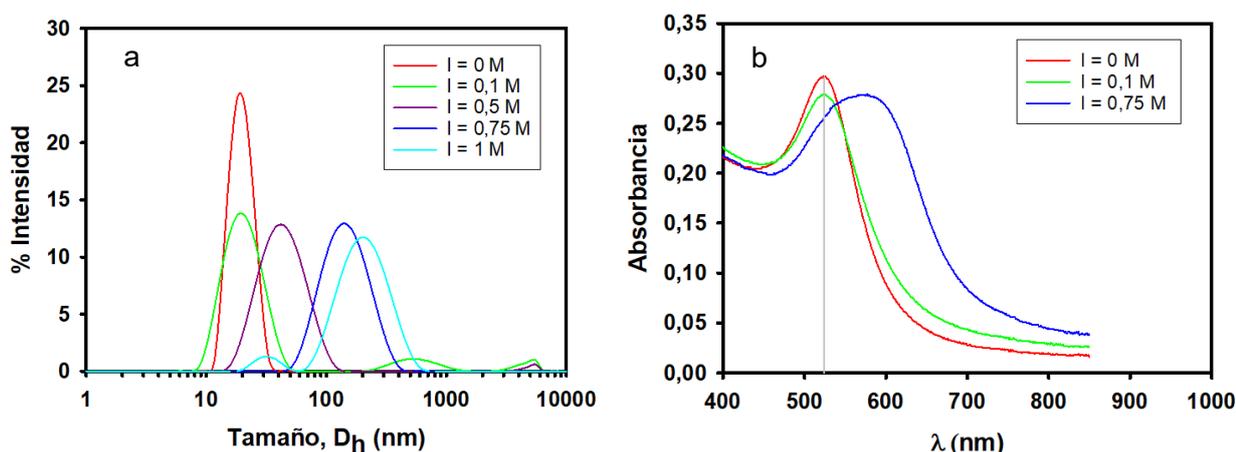
### 3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Para entender mejor el comportamiento del “nanocomposite” (CT-AuNPs + Cop-48/6) obtenido al mezclar la suspensión de Ct-AuNPs con la disolución de copolímero Cop-48/6, en primer lugar, se estudió por separado el comportamiento de cada sistema al variar la fuerza iónica mediante la adición de NaCl. Así mismo, como el Cop-48/6 es sensible a la temperatura, se determinó la influencia de ésta en su comportamiento, obteniéndose su LCST. Una vez caracterizados de forma independiente los sistemas que constituyen el “nanocomposite”, se estudió el comportamiento de éste en función de la fuerza iónica y la temperatura.

### 3.3.1. EFECTO DE LA VARIACIÓN DE LA FUERZA IÓNICA EN LA SUSPENSIÓN DE Ct-AuNPs

Al aumentar la fuerza iónica del medio, la superficie de las Ct-AuNPs, que se encuentra cargada negativamente, es apantallada por los contraiones de la sal y, en consecuencia, se produce la agregación de las Ct-AuNPs (Pamies et al, 2014). Para caracterizar este proceso, se utilizaron las técnicas de DLS y espectroscopía UV-vis, cuyas medidas se realizaron todas a 25°C (el tamaño de las Ct-AuNPs no depende de la temperatura (Pamies et al., 2016) y 24 horas después de añadir la sal.

La Figura 3.2a ilustra la evolución de la distribución de tamaños en intensidad (similar a la distribución en volumen para muestras monodispersas) al aumentar la fuerza iónica desde un valor  $I = 0$  M a un valor  $I = 1$  M. En ella se observa cómo, en el rango de concentración de NaCl que va de 0 M a 0,1 M, el tamaño de las Ct-AuNPs prácticamente no varía. Sin embargo, cuando la concentración de sal aumenta a 0,5 M el tamaño aumenta ligeramente, mientras que por encima de 0,5 M aparecen tamaños de nanopartículas en torno a 100 nm lo que indica que hay mucha agregación. En este estudio, se eligió  $I = 0,75$  M como caso más desfavorable para comprobar la capacidad de Cop-48/6 para evitar la agregación de Ct-AuNPs. La razón es que ese valor provoca una fuerte agregación, pero los agregados permanecen en suspensión el tiempo suficiente para realizar las medidas.



**Figura 3.2.** (a) Distribuciones de tamaño en intensidad de las Ct-AuNPs en concentraciones variables de NaCl. (b) Espectros UV-vis de las Ct-AuNPs en diferentes concentraciones de NaCl. Las mediciones se realizaron a 25°C y 24 h después de la adición de sal.

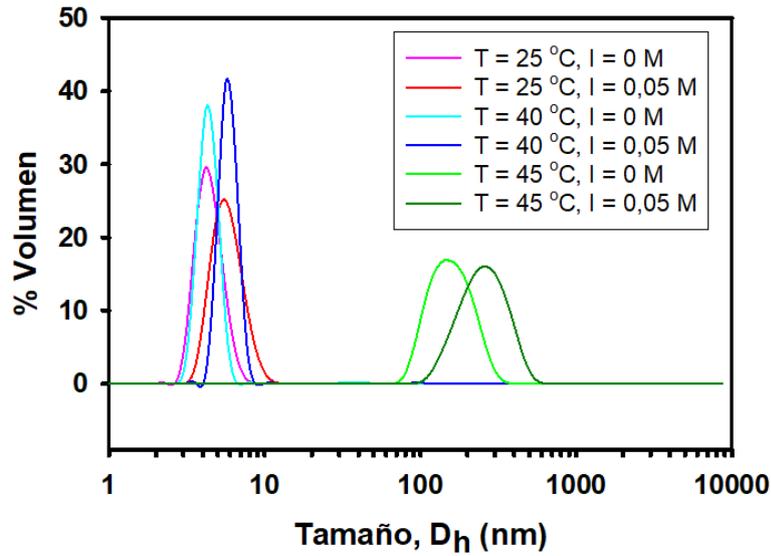
La Figura 3.2b muestra el correspondiente espectro UV-vis, el cual corrobora los resultados obtenidos mediante DLS. Para el rango de fuerza iónica entre 0 M y 0,1 M, la longitud de onda correspondiente al pico de plasmón se mantiene en torno a 520 nm (línea gris), característico de las nanopartículas de oro cuyo diámetro hidrodinámico es aproximadamente 20 nm (Pamies et al, 2014 y Collado-González et al., 2015). Ello indica que no ha ocurrido agregación de forma apreciable. Por otro lado, cuando la fuerza iónica es 0,75 M el pico de plasmón se desplaza a mayor longitud de onda (fenómeno conocido como desplazamiento al rojo o “redshift”) lo que significa que se forman agregados de gran tamaño. Además, debido a la polidispersidad de los agregados, el pico es más ancho.

### **3.3.2. EFECTO DE LA VARIACIÓN DE LA TEMPERATURA Y LA FUERZA IÓNICA EN LA DISOLUCIÓN DE Cop-48/6**

Con el fin de estudiar el comportamiento del copolímero Cop-48/6 en función de la temperatura, se hizo uso de una disolución de copolímero 0,01% m/m. A mayor concentración, las cadenas de copolímero agregan fuertemente y la LCST no se puede determinar adecuadamente. Se estudió el rango de temperaturas de 25 °C a 60 °C en intervalos de 5 °C. El tiempo de equilibrio para cada temperatura fue de 10 min. Se realizó un estudio previo donde se determinó que 10 min es suficiente para que el agregado de copolímero alcanzase un tamaño estable.

Se estudió también la influencia de la fuerza iónica del medio en el Cop-48/6, seleccionando un valor de  $I = 0,05$  M. Valores mayores de fuerza iónica provocan una fuerte asociación de las cadenas del copolímero con lo que no se puede determinar claramente un valor para la LCST.

La Figura 3.3 muestra la distribución de tamaño en volumen para cada temperatura estudiada sin ( $I = 0$  M) y con ( $I = 0,05$  M) adición de sal. En este caso, se utilizó la distribución en volumen en lugar de la distribución en intensidad porque en la distribución en intensidad aparecen pequeños picos que, aunque son poco relevantes (ya que no aparecen en la distribución en volumen), hacen que la gráfica no sea tan clara de interpretar. En general, en los sistemas donde el copolímero está presente, bien la disolución de copolímero solo o bien el “nanocomposite”, es preferible utilizar la distribución en volumen.



**Figura 3.3.** Distribución en volumen del Cop-48/6 al variar la temperatura y la fuerza iónica.

En lo que respecta a la influencia de la temperatura, en el rango de 25 °C a 40 °C se observa que el pico relevante se encuentra entre 3 nm y 5 nm. Este es el tamaño aproximado esperado para las cadenas de copolímero individuales, suponiendo que presenten una conformación de ovillo al azar y su radio hidrodinámico ( $R_h$ ) sea similar al radio de giro. Este último puede estimarse utilizando la relación para polímeros vinílicos flexibles (Ecuación 3.1):

$$R_g = \left( C_\infty \times n_{c-c} \times \frac{d_{c-c}^2}{6} \right)^{1/2} \quad \text{Ecuación 3.1.}$$

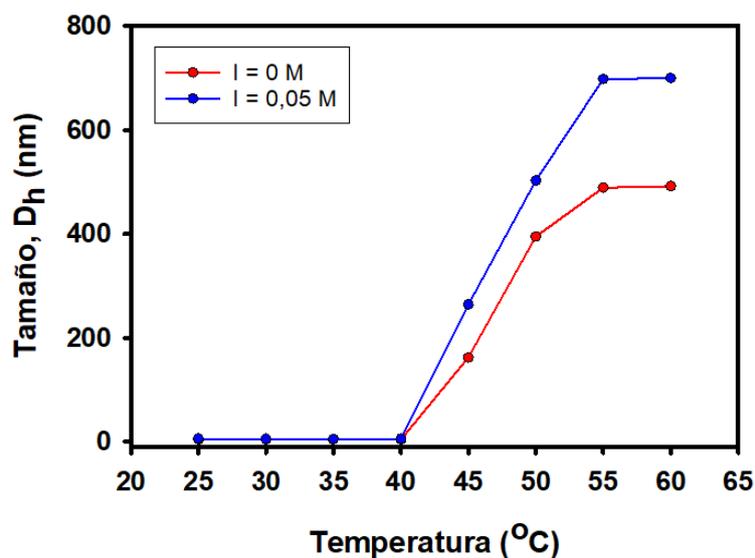
donde  $C_\infty$  es la razón característica,  $n_{c-c}$  es el número de enlaces carbono-carbono de la cadena principal y  $d_{c-c}$  es la longitud de los enlaces carbono-carbono (Pamies et al., 2007). La razón característica es el cociente entre el tamaño real de la cadena polimérica y el que tendría si ésta fuera totalmente flexible y se pudiera describir mediante el modelo matemático de cadena libremente articulada.  $C_\infty$  es, por tanto, un parámetro que caracteriza la flexibilidad del polímero, siendo 1 para una cadena polimérica totalmente flexible y mayor que 1 conforme menos flexible es la cadena.

Asumiendo  $C_\infty = 10,6$  para el PNIPAAM (que es el bloque principal del Cop-48/6) (Zeng et al., 1999),  $n_{c-c} = 54$  (48 monómeros en el bloque PNIPAAM más 6 monómeros en el bloque PAMPTMA), y  $d_{c-c} = 0,154$  nm (longitud típica de los enlaces C-C), el radio de giro ( $R_g$ ) obtenido para una cadena de copolímero Cop-48/6 es 1,5 nm, lo que implica un diámetro de 3 nm que es lo que se observa en la Figura 3.3. Por lo tanto, la mayoría de las cadenas del copolímero son ovillos al azar por debajo de 40 °C, lo que indica que el rango de temperatura estudiada está

por debajo de la LCST. Sin embargo, a 45 °C los picos relevantes aparecen para valores del diámetro hidrodinámico entre 100 nm y 1000 nm, lo que corresponde claramente a agregados o redes (marañas) de cadenas de copolímero. Esto indica que 45 °C está por encima de la LCST. A temperaturas inferiores a la LCST, el copolímero tiene un carácter predominantemente hidrofílico y sus cadenas se encuentran bien disueltas en agua, pero cuando la temperatura alcanza el valor de la LCST, el copolímero se vuelve hidrofóbico en su conjunto debido a que el bloque termosensible de PNIPAAm, que es mucho mayor y tiene más preponderancia que el bloque hidrofílico PAMPTMA (+), se vuelve hidrofóbico con lo que las diferentes cadenas agregan a consecuencia de las interacciones hidrofóbicas que se producen entre ellas.

En relación a la influencia de la fuerza iónica, se puede apreciar que un ligero aumento de ésta provoca un ligero aumento del tamaño de los agregados que se forman cuando la temperatura es superior a la LCST. De forma análoga a lo que sucede con las nanopartículas, el apantallamiento de la carga positiva del copolímero por los aniones salinos favorece que las distintas cadenas puedan asociarse. De hecho, se sabe que un aumento de la fuerza iónica favorece la asociación de cadenas en copolímeros de la familia PNIPAAm<sub>n</sub>-b-PAMPTMA<sub>m</sub>(+) e incluso puede disminuir la LCST de éstas (Bayati et al., 2012).

En la Figura 3.4 se muestra la evolución del  $D_h$  del copolímero con la temperatura tanto en ausencia de sal,  $I = 0$  M, como en presencia de sal,  $I = 0,05$  M. Para asignar un valor único al diámetro hidrodinámico, se utilizó el valor máximo de la función de distribución en volumen que corresponde a la población principal.

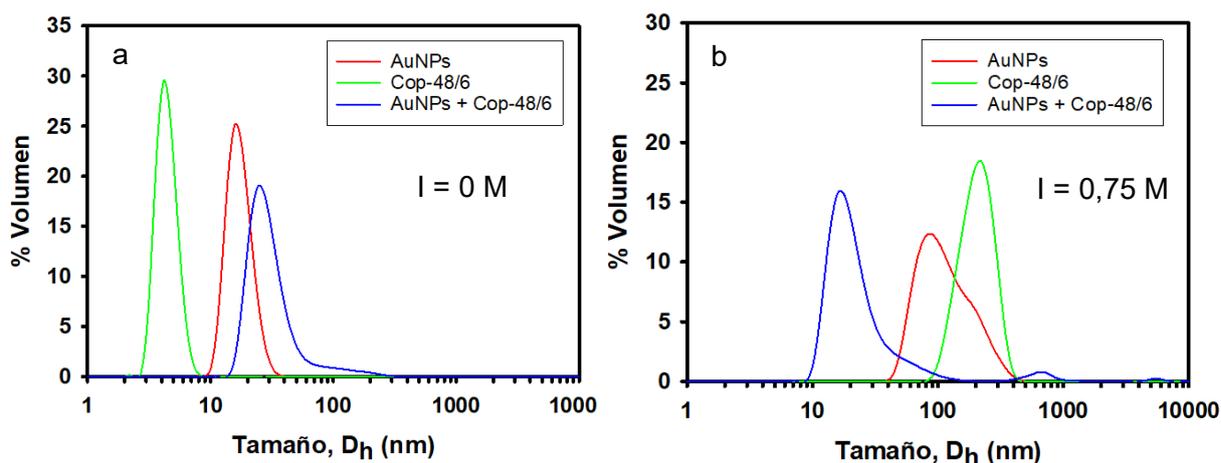


**Figura 3.4.** Evolución del diámetro hidrodinámico de Cop-48/6 con la temperatura tanto en ausencia (gráfica roja) como en presencia (gráfica azul) de NaCl.

Independientemente de la fuerza iónica, se observa un incremento brusco de tamaño entre 40 °C y 45 °C, por lo que se puede deducir que la LCST se encuentra en ese rango de temperatura, pudiéndose estimar su valor en torno a 42 °C. Como se ha mencionado en la introducción de este capítulo, la LCST para PNIPAAM de elevado peso molecular es 32 °C (es decir, a partir de esa temperatura cadenas largas de PNIPAAM se vuelven hidrofóbicas). Es lógico que el copolímero Cop-48/6 presente un valor de LCST superior a 32 °C debido a que el bloque PAMPTMA(+) hace que el copolímero mantenga cierto carácter hidrofílico y el bloque PNIPAAM no es lo suficientemente grande como para enmascarar el efecto del bloque PAMPTMA(+). Como señalan algunos autores, la relación de las longitudes de los bloques hidrofílico e hidrofóbico influye en las asociaciones que se producen entre cadenas debido al papel protector del bloque hidrofílico (Bayati et al., 2012; Maleki et al., 2011). Por otra parte, a partir de la LCST, se observa un incremento de tamaño más pronunciado y la formación de agregados más grandes en presencia de sal porque, como ya se ha señalado, el apantallamiento de la carga positiva del copolímero favorece la asociación entre cadenas (Bayati et al., 2012).

### **3.3.3. EFECTO DE LA VARIACIÓN DE LA FUERZA IÓNICA EN EL “NANOCOMPOSITE” (Ct-AuNPs + Cop-48/6)**

Para una mejor comparación, la Figura 3.5a representa sobre una misma gráfica las funciones de distribución de tamaño en volumen de la suspensión de las Ct-AuNPs, de la disolución de Cop-48/6, y del “nanocomposite” (Ct-AuNPs + Cop-48/6) obtenido después de mezclar ambos sistemas a 25 °C y en un medio de fuerza iónica  $I = 0$  M. Se observa que el pico correspondiente al “nanocomposite” aparece a un tamaño ligeramente superior al pico correspondiente a las Ct-AuNPs, ya que las Ct-AuNPs recubiertas con copolímero son estructuras de mayor tamaño. Además, existen algunos agregados de Cop-48/6 con Ct-AuNPs atrapadas. Por otro lado, la mayoría de las cadenas de la disolución de copolímero forman ovillos al azar que son de menor tamaño que las Ct-AuNPs de la suspensión comercial.

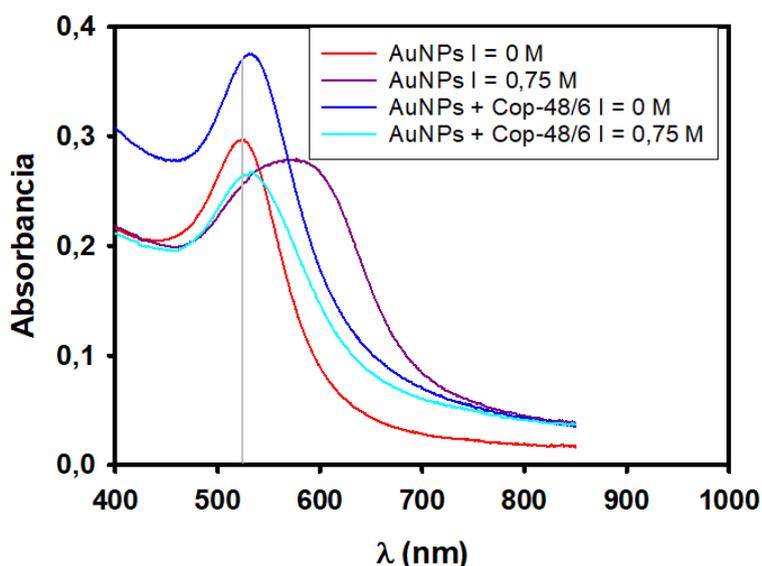


**Figura 3.5.** Distribución de tamaño en volumen del “nanocomposite” (Ct-AuNPs + Cop-48/6) a la temperatura 25 °C. (a) Sin adición de sal, y (b) con NaCl 0,75 M. Para una comparación más clara, también se representan las distribuciones de Ct-AuNPs y Cop-48/6.

A un valor de  $I = 0,75$  M (el caso más favorable considerado para la agregación de Ct-AuNPs) y 25 °C (Figura 3.5b), la agregación se produce tanto en la suspensión de Ct-AuNPs como en la disolución Cop-48/6. Bajo estas condiciones, las cadenas del copolímero en disolución forman principalmente agregados o redes (no aparece ningún pico alrededor de 3 nm), aunque 25 °C está por debajo de la LCST. Tanto la elevada fuerza iónica que apantalla la carga del copolímero como la alta concentración de copolímero favorecen la asociación entre cadenas. Sin embargo, las estructuras del “nanocomposite” (Ct-AuNPs + Cop-48/6) mantienen aproximadamente el mismo tamaño que a  $I = 0$  M. Esto indica que el copolímero evita la agregación de las Ct-AuNPs, ya sea debido a la formación de estructuras tipo “core shell” en las que Ct-AuNPs individuales se encuentran recubiertas por cadenas de copolímero o a la formación de redes de copolímero en las que las Ct-AuNPs quedan atrapadas. Por otro lado, las cadenas del copolímero que forman parte del “nanocomposite” no agregan de forma apreciable porque sus cargas ya están apantalladas por las Ct-AuNPs atrapadas, por lo que el aumento de la fuerza iónica tiene poco efecto sobre ellas. Ciertamente, a  $I = 0,75$  M aparecen algunas estructuras de gran tamaño debido al apantallamiento producido por los iones salinos que siempre favorece el crecimiento de las redes poliméricas. Las estructuras grandes que aparecen en el “nanocomposite” son más evidentes en la distribución en intensidad (que no se muestra aquí). Como se pondrá de manifiesto por espectroscopia UV-vis, estas grandes estructuras corresponden a redes de copolímero (siempre existentes a cualquier condición de trabajo) y no a agregados de Ct-AuNPs.

La agregación de Ct-AuNPs en el “nanocomposite” se puede determinar mediante espectroscopia UV-vis ya que el pico de plasmón se debe únicamente a las Ct-AuNPs, no al copolímero, y su posición depende del tamaño de las mismas. La Figura 3.6 recoge los

espectros UV-vis procedentes de la suspensión de Ct-AuNPs y del “nanocomposite” tanto en ausencia de sal,  $I = 0$  M, como en presencia de elevada concentración de sal favorable a la agregación,  $I = 0,75$  M. En todos los casos la temperatura de trabajo fue  $25$  °C. Se observa que el pico de plasmón aparece aproximadamente a la misma longitud de onda en la suspensión original de Ct-AuNPs y en los dos sistemas en los que se forma el “nanocomposite” (véase la línea gris continua), lo que indica que las Ct-AuNPs tienen aproximadamente el mismo tamaño en los tres sistemas. Sin embargo, el pico de plasmón está claramente desplazado al rojo en la suspensión de Ct-AuNPs cuando  $I = 0,75$  M, lo que indica una fuerte agregación de las nanopartículas. Ciertamente, en el “nanocomposite” (gráficas azules), el pico de plasmón aparece ligeramente desplazado al rojo, fenómeno que puede atribuirse a la proximidad de las nanopartículas atrapadas en las redes de copolímero y no a la formación de agregados inducida por la elevada fuerza iónica. Por tanto, algunas nanopartículas deben estar lo suficientemente cerca como para producir un ligero desplazamiento al rojo del pico de plasmón (Sönnichsen et al., 2005), pero conservan su individualidad. Por otro lado, la posición del pico de plasmón en los dos espectros correspondientes al “nanocomposite” es exactamente la misma, lo que indica que la adición de sal no provocó ningún cambio en el tamaño de las Ct-AuNPs, lo que permite concluir que las Ct-AuNPs no agregan cuando se forma el nanocomposite.

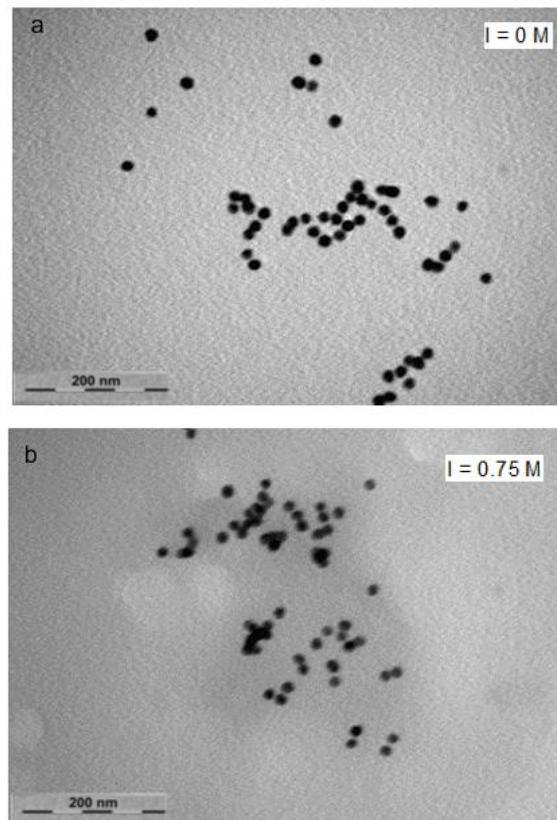


**Figura 3.6.** Espectro UV-vis del “nanocomposite” (Ct-AuNPs + Cop-48/6) a  $25$  °C variando la concentración de NaCl. Para una comparación más clara, también se muestra el espectro UV-vis de las Ct-AuNPs.

Las conclusiones anteriores se ven confirmadas por las imágenes TEM. Así, la Figura 3.7a corresponde al “nanocomposite” cuando el valor de la fuerza iónica es  $I = 0$  M. En la imagen se

aprecia que algunas Ct-AuNPs están dispersas individualmente por la disolución. Estas nanopartículas deben estar recubiertas por cadenas de copolímero formando estructuras de tipo “core-shell”. Por otra parte, también se observan grupos de Ct-AuNPs que, aunque están próximas entre sí, conservan su individualidad. Estas Ct-AuNPs deben estar atrapadas en redes de copolímero. La Figura 3.7b corresponde al “nanocomposite” a  $I = 0,75$  M. Se observa una imagen similar a la de la Figura 3.7a: algunas Ct-AuNPs se encuentran dispersas y otras se encuentran agrupadas preservando su individualidad. Esto concuerda con la Figura 3.5, donde la distribución en volumen del “nanocomposite” es bastante similar en las Figuras 3.5a y 3.5b, y con la Figura 3.6, donde el pico de plasmón mantiene su posición en los dos sistemas donde está presente el “nanocomposite”. Algunas Ct-AuNPs parecen estar más cerca en la Figura 3.7b que en la Figura 3.7a, lo cual puede ser debido a que cuando la fuerza iónica es elevada se forman redes de copolímero más compactas.

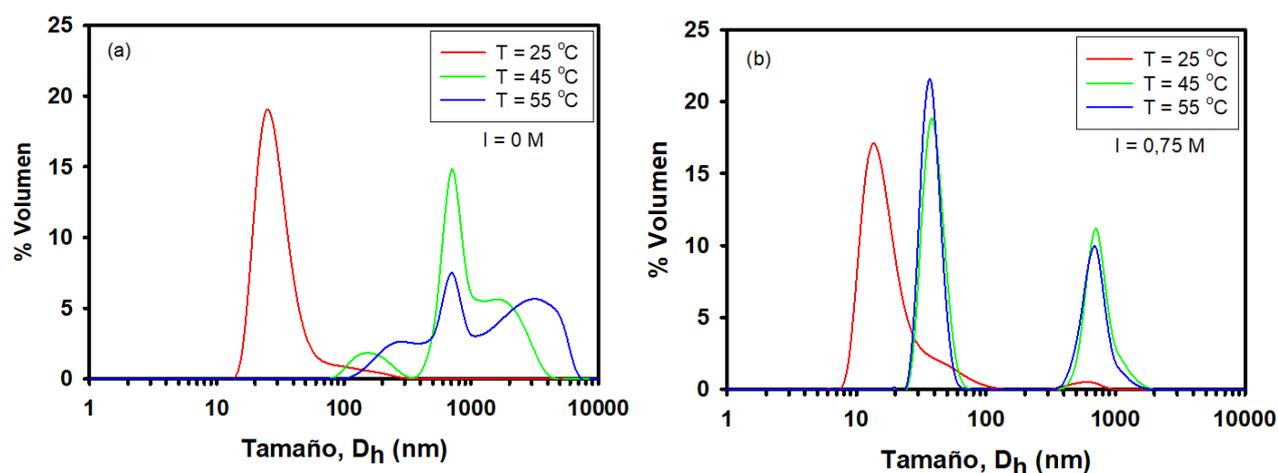
Las imágenes TEM también sugieren que las Ct-AuNPs atrapadas están adheridas a la superficie de las redes de Cop-48/6, de lo contrario la mayoría de las imágenes mostrarían regiones con una densidad muy alta de Ct-AuNPs y no se podría apreciar la individualidad de éstas.



**Figura 3.7.** Imágenes TEM del “nanocomposite” (Ct-AuNPs + Cop-48/6): (a)  $I = 0$  M, (b)  $I = 0,75$  M.

### 3.3.4. EFECTO DE LA VARIACIÓN DE LA TEMPERATURA EN EL “NANOCOMPOSITE” (Ct-AuNPs + Cop-48/6)

También se estudió el comportamiento del “nanocomposite” (Ct-AuNPs + Cop-48/6) al aumentar la temperatura, tanto a  $I = 0$  M (Figura 3.8a) como a  $I = 0,75$  M (Figura 3.8b).

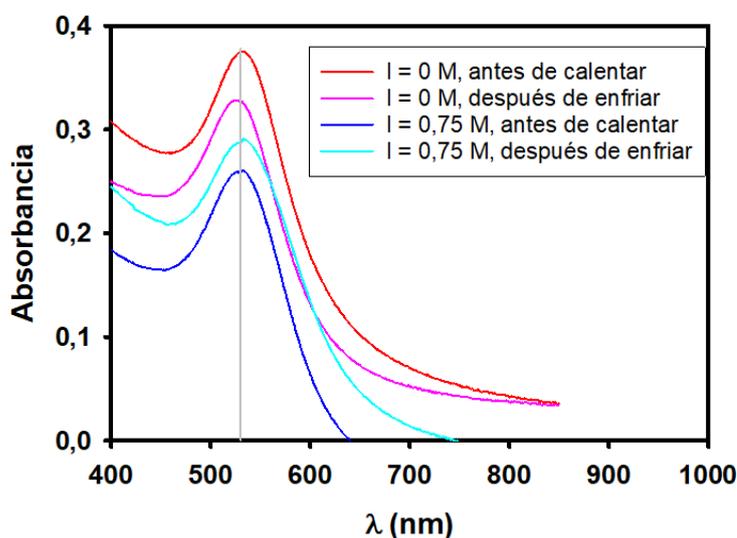


**Figura 3.8.** Distribución de tamaño en volumen del “nanocomposite” (Ct-AuNPs + Cop-48/6) a distinta temperatura. (a) Sin adición de sal, (b) con NaCl 0,75 M.

A 25 °C, por debajo de la LCST del copolímero (42 °C), se obtuvieron las mismas distribuciones representadas en la Figura 3.5. Como ya se comentó, a esta temperatura aparecen tanto estructuras tipo “core-shell” como pequeñas redes de polímero con nanopartículas atrapadas. Para  $I = 0,75$  M pueden aparecer redes algo mayores favorecidas por el apantallamiento. Sin embargo, al aumentar la temperatura por encima de la LCST, aparecen picos a valores de tamaño muy grande (1000 nm), tanto a  $I = 0$  M como a  $I = 0,75$  M, porque las cadenas del copolímero se vuelven hidrófobas, lo que favorece su asociación en mucha mayor medida que la fuerza iónica, y se forman grandes redes poliméricas. Curiosamente, las distribuciones correspondientes a una temperatura superior a la LCST y a una  $I = 0,75$  M presentan, además de un pico a 1000 nm, otro pico a tamaño inferior a 100 nm (aunque, por supuesto, a valor más grande que el pico correspondiente a la distribución con temperatura inferior a la LCST). Puede que una fuerza iónica excesivamente elevada dificulte la asociación por hidrofobicidad, pero este es un extremo que no se ha comprobado (el estudio de la influencia de la temperatura sobre el copolímero se llevó a cabo a una fuerza iónica pequeña de 0,05 M).

Se utilizó espectroscopía UV-vis para determinar si se producía agregación de Ct-AuNPs debido al proceso de calentamiento. Como sólo era posible trabajar a 25 °C, se registró el

espectro del “nanocomposite” antes de calentarlo y después de enfriarlo. La Figura 3.9 muestra claramente que el pico de plasmón aparece a la misma longitud de onda en todos los casos. Por lo tanto, independientemente de la fuerza iónica, las Ct-AuNPs no agregan durante el proceso de aumento y disminución de la temperatura.



**Figura 3.9.** Espectro UV-vis del “nanocomposite” (Ct-AuNPs + Cop-48/6) a 25 °C variando la concentración de NaCl antes de calentar y después de enfriar.

### 3.4. CONCLUSIONES

El PNIPAA<sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>(+), o Cop-48/6, es un copolímero anfifílico y termosensible cargado positivamente con una LCST de unos 42 °C que forma agregados o redes al aumentar la temperatura y/o la fuerza iónica del medio. A una temperatura superior a la LCST, Cop-48/6 se vuelve hidrofóbico debido al bloque PNIPAA<sub>48</sub> y se produce la asociación entre cadenas. Por otro lado, el aumento de la fuerza iónica apantalla el bloque cargado PAMPTMA<sub>6</sub>(+) disminuyendo su hidrofiliidad y favoreciendo la asociación entre cadenas.

Cuando se añade una disolución de Cop-48/6 a una suspensión de Ct-AuNPs, la atracción electrostática entre las Ct-AuNPs y las cadenas de copolímero provoca la formación tanto de estructuras “core-shell” como de redes de copolímero con Ct-AuNPs atrapadas individualmente. Por tanto, no se produce la agregación esperada de Ct-AuNPs al aumentar la fuerza iónica. Las Ct-AuNPs conservan también su individualidad cuando se aumenta la temperatura y se forman grandes redes de copolímero. Las Ct-AuNPs se encuentran principalmente esparcidas en la superficie de esas redes de tal manera que están cerca, pero no con el contacto necesario para formar agregados, lo que explica el ligero desplazamiento al rojo del pico de plasmón.

En resumen, el recubrimiento de nanopartículas de oro con el copolímero dibloque catiónico termosensible Cop-48/6 da lugar a un comportamiento de agregación peculiar que se puede modular con la temperatura y la fuerza iónica, dando lugar a un “nanocomposite” en el que aparecen Ct-AuNPs individuales, en vez de aglomeradas, esparcidas sobre redes poliméricas cuyo tamaño varía con la temperatura. Así, se forman estructuras de unos 1000 nm cuando la temperatura supera la LCST.

El tamaño y la polidispersidad del “nanocomposite” ofrecen la posibilidad de generar redes poliméricas que contengan pequeñas nanopartículas metálicas dispersas e inmovilizadas en su superficie independientemente de la salinidad y la temperatura del medio, lo que puede tener ventajas en campos como la catálisis o la captura y retirada de nanopartículas de un determinado medio. Hay que tener en cuenta que, en principio, otras nanopartículas metálicas distintas a las de oro (por ejemplo, las de plata o las de diferentes óxidos de metales de transición) también podrían formar este tipo de “nanocomposites”.

El papel de las nanopartículas metálicas como materiales catalíticos es bien conocido, así como la importancia de la estabilización y el soporte de las nanopartículas catalíticas, lo cual, además, es crucial para la recuperación del catalizador tras su uso (Astruc et al., 2005). En este sentido, el tipo de “nanocomposite” estudiado en este capítulo es un buen candidato a ser utilizado como catalizador semiheterogéneo y hasta podría considerarse como un nanoreactor. Así, las redes de Cop-48/6 son plantillas apropiadas para anclar y estabilizar altas concentraciones de nanopartículas de pequeño tamaño que mantendrán su individualidad independientemente de las condiciones del medio. Además, el tamaño de las estructuras reticulares podría ajustarse variando la temperatura. Tanto el efecto de aumentar la temperatura como el de aumentar el tamaño de la red pueden ser positivos para algunos procesos químicos. Por último, debido a su gran tamaño y peso molecular, el “nanocomposite” podría recuperarse fácilmente por centrifugación.

Es también destacable, que el amplio uso actual de nanopartículas metálicas constituye una grave amenaza para el medio ambiente y la salud humana (Martínez et al., 2021). Precisamente, el pequeño tamaño y la forma esférica de muchas nanopartículas, que son características cruciales para muchas de sus aplicaciones, son también en parte el origen de su toxicidad (Sukhanova et al., 2018). Una estrategia para disminuir este problema es diseñar nanopartículas con baja toxicidad (Buchman et al., 2019) pero eso no siempre es posible y muchas nanopartículas pequeñas se liberan diariamente al medio ambiente. En la actualidad, existe una creciente preocupación por los problemas medioambientales causados por el uso indiscriminado

de nanopartículas (Martínez et al., 2021). En este sentido, la formación de “nanocomposites” como los estudiados en este capítulo puede ser de interés en la búsqueda de una solución. Así, las nanopartículas mantienen su tamaño pequeño en esos “nanocomposites”, tal y como se requiere para algunas aplicaciones como la catálisis, pero quedan fuertemente atrapadas en grandes estructuras, lo que podría evitar o disminuir la toxicidad del material (ya que no puede penetrar en las células vivas). Además, la formación de grandes estructuras reticulares que atrapan nanopartículas puede utilizarse para recoger nanopartículas dispersas y eliminarlas del medio mediante sedimentación gravitacional o centrifugación, preferiblemente antes de que se liberen al medio ambiente. De este modo, la formación de “nanocomposites” de tamaño superior a 1000 nm puede utilizarse como estrategia de limpieza de nanopartículas tóxicas.



# **CAPÍTULO 4**

**MONITORIZACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE  
TETRACLOROAURO(III) EN TIEMPO REAL CON UN  
ELECTRODO SELECTIVO DE IONES Y SU  
APLICACIÓN A LA REDUCCIÓN DE  $\text{HAuCl}_4$  POR  
HIDROXILAMINA CATALIZADA POR YODURO**



## **MONITORIZACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE TETRACLOROAURO(III) CON UN ELECTRODO SELECTIVO DE IONES EN TIEMPO REAL Y SU APLICACIÓN A LA REDUCCIÓN DE HAuCl<sub>4</sub> POR HIDROXILAMINA CATALIZADA POR YODURO**

### **RESUMEN**

Se han desarrollado tres electrodos selectivos de iones para el anión tetracloroaurato(III) que han permitido efectuar la monitorización potenciométrica de la reacción de reducción de dicho anión en presencia de hidroxilamina y yoduro. Se construyeron tres membranas diferentes de cloruro de polivinilo plastificadas que contenían cloruro de tridodecilmetilamonio como intercambiador de aniones. Estas membranas difieren en el plastificante utilizado: 2-nitrofenil octil éter (NPOE), dioctil sebacato (DOS) y fosfato de tricresilo (TCP), respectivamente. La respuesta potenciométrica de los electrodos hacia la concentración de tetracloroaurato(III) se estudió mediante dos métodos. En el primer método, utilizado habitualmente en la calibración de electrodos selectivos de iones, se realizaron incrementos sucesivos en la concentración de tetracloroaurato(III) en la muestra y se esperó a que el potencial se estabilizara después de cada incremento de la concentración. El segundo método de calibración se desarrolló para aproximarse a la reacción de reducción del tetracloroaurato(III) en la que se produce una disminución continua de la concentración de tetracloroaurato(III) con el tiempo. Para ello se procedió a efectuar una dilución continua de una concentración inicial de tetracloroaurato(III) bombeando una disolución diluyente, mientras se mantenía constante el volumen total de la muestra. Este método dio una excelente respuesta lineal de potencial frente a la concentración de tetracloroaurato(III). Los electrodos calibrados mediante este procedimiento se utilizaron para la monitorización potenciométrica de la cinética de una nueva reacción: la reducción de tetracloroaurato(III) por hidroxilamina catalizada por yoduro en medio ácido. A partir de los resultados experimentales obtenidos, se ha propuesto un mecanismo para esta reacción.

## 4.1. INTRODUCCIÓN

Los electrodos selectivos de iones (ISEs) son una de las clases más importantes de sensores químicos. Presentan varias ventajas, como un amplio rango de linealidad, bajo límite de detección, alta selectividad, respuesta rápida, bajo coste económico y permiten mediciones en disoluciones turbias. Se han utilizado en diversos campos analíticos, como el análisis clínico, la industria medioambiental y alimentaria, la industria agrícola y la fabricación industrial (Mikhelson, 2013).

Debido a sus excelentes capacidades, los ISEs se han utilizado para la monitorización potenciométrica de la cinética de diversas reacciones químicas. A pesar de las ventajas y de la variedad de esta clase de sensores químicos, las referencias sobre su uso para la monitorización cinética de reacciones químicas no son tan abundantes y variadas como cabría esperar. Los ISEs pueden agruparse en tres clases principales según el tipo de membrana utilizada: de membrana de vidrio, de membrana cristalina y de membrana líquida o su versión actual, de membrana polimérica plastificada. A continuación, se comenta una selección significativa de los artículos de investigación publicados sobre la monitorización cinética de diversos tipos de reacciones químicas con electrodos selectivos de iones de las tres clases mencionadas.

El electrodo de pH es el electrodo de vidrio más conocido y se ha utilizado en el estudio cinético de algunas reacciones enzimáticas mediante el método "pH-stat titration", como la hidrólisis enzimática de la urea catalizada por ureasa (Rousseau y Atkinson, 1980), y más recientemente, en ensayos de degradación enzimática de polímeros de origen biológico (Miksch et al., 2021). El electrodo selectivo de fluoruro, que es un ISE de membrana monocristalina, se ha utilizado en la determinación analítica de ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) mediante la reacción de desplazamiento de fluoruro por EDTA en complejos de aluminio (Pentari et al., 1991), así como en ensayos de fosfatasa ácida y alcalina potenciométricos basados en la hidrólisis enzimática de monofluorofosfato (Koncki et al., 2005). Un electrodo selectivo de picrato de membrana líquida se ha utilizado para la determinación de creatinina mediante la monitorización potenciométrica de la cinética de la reacción entre creatinina y picrato (reacción de Jaffé) (Diamandis et al., 1977). Los electrodos selectivos de iones basados en membranas poliméricas plastificadas, como el desarrollado en este capítulo, son actualmente los más numerosos. Ejemplos de la utilización de ISEs de este tipo en la monitorización potenciométrica de reacciones químicas son: el de un electrodo selectivo desarrollado para hexafluoroantimoniato(V) que se utilizó para la determinación cinético-potenciométrica de yoduro y cobre basada en la reacción de reducción de hexafluoroantimoniato(V) por hidroxilamina catalizada por yoduro (Sánchez-Pedreño et al., 1992a) y  $Cu^{2+}$  (Sánchez-Pedreño et al., 1992b),

así como un electrodo selectivo desarrollado para acetilcolina que se aplicó a la monitorización de la hidrólisis enzimática de acetilcolina catalizada por acetilcolinesterasa (Cuartero et al., 2012).

Otro uso interesante de los ISEs es su capacidad para monitorizar la dinámica de crecimiento de nanopartículas. Así, se ha utilizado un electrodo selectivo de plata de membrana polimérica plastificada que contiene un ionóforo de plata para estudiar la reacción de precipitación de plata, inducida por hidroquinona, sobre semillas de nanopartículas de oro (Chumbimuni-Torres et al., 2009). Por otro lado, se ha utilizado un electrodo selectivo de nitrato, uno de los ISEs de membrana polimérica más empleados, en la síntesis de nanopartículas de cobre y plata utilizando polioliol (Carey et al., 2015). En este caso, los autores descubrieron que en la reacción estudiada se producía la reducción del nitrato, procedente del nitrato de cobre (precursor de las nanopartículas de cobre), a nitrito. Mediante la monitorización de la concentración de  $\text{NO}_x^-$  ( $x=2$  y  $3$ ) en propilenglicol, se pudo seguir el proceso de síntesis de las nanopartículas de cobre y plata.

El ion tetracloroaurato(III) ha alcanzado importancia recientemente por varias razones. El ácido tetracloroáurico es el precursor habitual en la síntesis de nanopartículas de oro (AuNPs), para cuya formación se han empleado diversos reductores (Daruich de Souza et al., 2019). Las reacciones del tetracloroaurato(III) con varios nucleófilos en disolución acuosa han sido objeto de un artículo de revisión (Đurović et al., 2014). En otro campo de aplicación, se ha demostrado que el uso de bacteriófagos para la biosorción y biorreducción de tetracloroaurato(III) es útil en el desarrollo de estrategias para la extracción de oro respetuosas con el medio ambiente (Setyawati et al., 2014). En el campo de la medicina moderna, se han revisado los efectos del ácido tetracloroáurico sobre la estructura de las membranas celulares y los correspondientes modelos moleculares (Suwalsky et al., 2009), evaluando una serie de compuestos de Au(III) como posibles agentes anticancerígenos.

Los diversos aspectos mencionados anteriormente, nos condujeron a intentar monitorizar potenciométricamente el anión tetracloroaurato(III), desarrollando para ello un electrodo selectivo de iones. La detección de tetracloroaurato(III) proporcionaría una vía para monitorizar reacciones y procesos químicos en los que este anión esté involucrado y aportar así información cinética para elucidar sus mecanismos de reacción. El potencial estándar de transferencia del ión tetracloroaurato(III) desde agua a una membrana de cloruro de polivinilo plastificada con 2-nitrofenil octil éter (NPOE) se determinó previamente por miembros del grupo de investigación "Métodos Automáticos de Análisis. Sensores Químicos" (Molina et al., 2010). Este parámetro está directamente relacionado con la energía estándar de Gibbs correspondiente al proceso de

transferencia mencionado, así como con el coeficiente de partición del ion correspondiente entre las dos fases (Samec et al., 1977).

El valor del potencial estándar de transferencia encontrado para el ion tetracloroaurato(III), 51 mV, es mucho mayor que el encontrado para la transferencia del anión cloruro del agua al NPOE (Wilke y Zerihun, 2001) -521 mV. Esto implica que la selectividad potenciométrica de un electrodo de membrana basada en NPOE como plastificante conteniendo disuelto un intercambiador de aniones convencional debería ser muy alta hacia el anión tetracloroaurato(III) frente a cloruro. De este modo se podría monitorizar la disminución de la concentración del anión tetracloroaurato(III), incluso a bajas concentraciones, en presencia de una elevada concentración de cloruro, procedente del medio clorhídrico en el que se preparan las disoluciones de tetracloroaurato(III).

En este capítulo se muestra el desarrollo de tres electrodos selectivos de tetracloroaurato(III) utilizando membranas de PVC plastificadas con NPOE, 2-octil sebacato (DOS) y fosfato de tricresilo (TCP), respectivamente. Estos electrodos se han utilizado para la monitorización potenciométrica de una nueva reacción, la reducción de tetracloroaurato(III) por hidroxilamina catalizada por yoduro.

## **4.2. MATERIALES Y MÉTODOS**

### **4.2.1. REACTIVOS**

Cloruro de polivinilo (PVC) de alto peso molecular, 2-nitrofenil octil éter (NPOE), 2-octil sebacato (DOS), fosfato de tricresilo (TCP), cloruro de tridodecilmetilamonio (TDMACl) y tetrahidrofurano (THF) fueron de calidad Selectophore, suministrados por Sigma. Ácido tetracloroáurico(III) trihidratado 99% de Sigma-Aldrich. Todos los demás reactivos utilizados fueron de grado reactivo analítico.

### **4.2.2. PREPARACIÓN DE DISOLUCIONES**

Se prepararon las siguientes disoluciones, todas ellas con agua Mili-Q. Disolución 0,1 M de ácido clorhídrico y disolución 0,01 M de tetracloroaurato(III), que se preparó pesando 0,0398 g de ácido tetracloroáurico(III) trihidratado que se disolvió en HCl 0,1 M hasta un volumen final de 10 mL. Disoluciones de trabajo más diluidas se prepararon por dilución exacta con HCl 0,1 M. Disolución 0,1 M de yoduro potásico y disolución 5 M de clorhidrato de hidroxilamina.

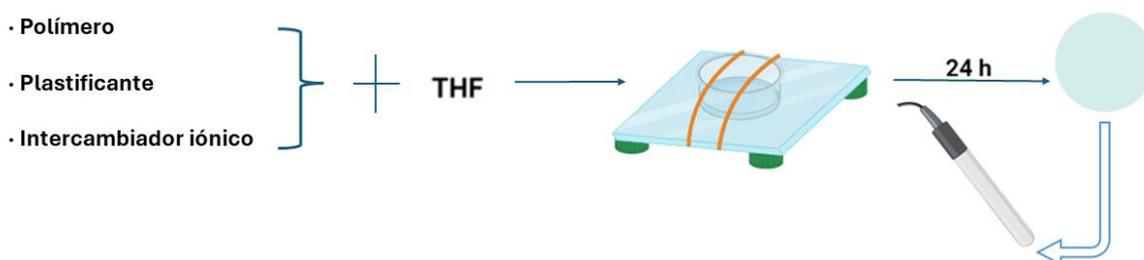
### 4.2.3. INSTRUMENTACIÓN

Para las medidas potenciométricas se utilizaron los siguientes instrumentos y dispositivos: tres cuerpos de electrodos selectivos de iones Fluka, un electrodo de referencia Ag/AgCl Orion 900200 de doble unión conteniendo disolución de KCl  $1 \times 10^{-2}$  M en el compartimento externo. Un potenciómetro multicanal con sistema de registro de datos desarrollado en el taller electrónico de la Universidad de Murcia. Durante la adquisición de las respuestas potenciométricas, la disolución de trabajo se mantuvo en agitación constante mediante un agitador magnético.

También se realizaron medidas tanto de DLS como de absorbancia, con los equipos descritos en capítulos anteriores.

### 4.2.4. PREPARACIÓN DE LOS ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES

Se prepararon tres membranas con distintas composiciones utilizando para ello tres plastificantes diferentes (NPOE, TCP o DOS), PVC y TDMACl como intercambiador de aniones. Las membranas se prepararon disolviendo aproximadamente 200 mg del plastificante correspondiente, 100 mg de PVC y 1,5-2,0 mg del intercambiador de aniones, en 3 mL de tetrahidrofurano (THF). Esta disolución se vertió en un anillo de vidrio (Fluka, diámetro interior 28 mm, altura 30 mm), fijado sobre una placa de vidrio borosilicatado (Fluka) y se dejó reposar toda la noche para la total evaporación del THF, obteniéndose así la membrana polimérica plastificada intercambiadora de aniones (Figura 4.1). Las composiciones exactas de las membranas se recogen en la Tabla 4.1.



**Figura 4.1.** Esquema del procedimiento para la preparación de la membrana.

**Tabla 4.1.**

Composición de las membranas estudiadas.

Membrana	PVC (% m/m)	DOS (% m/m)	TCP (% m/m)	NPOE (% m/m)	TDMA-Cl (% m/m)
1	33,01	66,34			0,65
2	33,06		66,48		0,46
3	33,00			66,53	0,50

Se cortó una porción circular de 6 mm de diámetro con un sacabocados y se incorporó en el cuerpo de electrodo selectivo. Como disolución para el electrodo de referencia interno Ag/AgCl de dicho electrodo se utilizó KCl 0,01 M. Los electrodos así preparados con cada una de las tres membranas se acondicionaron en una disolución de ácido tetracloroáurico  $5 \times 10^{-5}$  M en medio HCl 0,1 M con objeto de sustituir el anión cloruro del intercambiador por el anión tetracloroaurato(III). La duración del acondicionamiento inicial fue de aproximadamente 24 horas. Tanto el almacenamiento de los electrodos como un breve acondicionamiento efectuado entre experimentos se realizaron sumergiendo los ISEs en esta última disolución.

#### 4.2.5. CALIBRACIÓN DE LOS ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES

##### 4.2.5.1. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA CALIBRACIÓN DE LOS ELECTRODOS POR INCREMENTOS DE CONCENTRACIÓN

Los tres electrodos selectivos de tetracloroaurato(III),  $[AuCl_4]^-$ , junto con el electrodo de referencia, se sumergieron en 50 ml de HCl 0,1 M. Se activó la agitación y se registró el potencial hasta que se alcanzó un valor constante. A continuación, se efectuaron adiciones consecutivas de pequeños volúmenes apropiados de disoluciones de ácido tetracloroáurico con micropipetas para cubrir un intervalo de concentraciones finales entre  $1 \times 10^{-7}$  y  $1 \times 10^{-5}$  M. Después de cada adición se esperó hasta que los valores de potencial se estabilizaran. Los potenciales obtenidos tras cada adición se representaron frente al logaritmo de la concentración molar final de tetracloroaurato(III) con objeto de obtener las gráficas de calibrado de los electrodos.

#### 4.2.5.2. PROCEDIMIENTO GENERAL PARA LA CALIBRACIÓN DE LOS ELECTRODOS POR DILUCIÓN

Los tres electrodos selectivos y el electrodo de referencia se sumergieron en 50 mL de disolución HCl 0,1 M y se esperó hasta la estabilización del potencial. Después se añadieron 250  $\mu\text{L}$  de la disolución de tetracloroaurato(III)  $1 \times 10^{-2}$  M y se esperó hasta la nueva estabilización del potencial. Para la calibración se utilizó un procedimiento en el cual la concentración de tetracloroaurato(III) se fue disminuyendo progresivamente mediante dilución. Para ello se fue añadiendo disolución de HCl 0,1 M a la disolución de la muestra manteniendo un caudal constante de 10 mL/min, utilizando para ello una bomba peristáltica. Al mismo tiempo se iba extrayendo de forma continua parte de la disolución resultante con el mismo caudal, utilizando para ello otro canal de la bomba peristáltica en sentido inverso. De este modo, el volumen total de la muestra se mantuvo constante. La muestra se agitaba magnéticamente a gran velocidad para garantizar una mezcla rápida. El proceso de dilución y registro se mantuvo durante un tiempo de 1000 s.

El gráfico potencial-tiempo (E-t) de cada electrodo registrado desde el momento en que se conectó la bomba peristáltica se utilizó para obtener la correspondiente gráfica de calibrado de potencial frente al logaritmo de la concentración (E-log C). Para ello, la variación de la concentración con el tiempo (gráfico C-t), correspondiente al intervalo de tiempo de medida, se calculó a partir de la Ecuación 4.1 (Horvai et al., 1976):

$$C = C_0 e^{\left(\frac{-Qt}{V}\right)} \quad \text{Ecuación 4.1.}$$

donde  $C_0$  es la concentración inicial de tetracloroaurato(III),  $5 \times 10^{-5}$  M,  $Q$  es el caudal,  $t$  es el tiempo y  $V$  es el volumen inicial.

#### 4.2.6. PROCEDIMIENTO DE MEDIDA PARA LA MONITORIZACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE LA CINÉTICA DE REDUCCIÓN DEL TETRACLOROAURO(III) POR HIDROXILAMINA CATALIZADA POR YODURO

Los tres ISEs y el electrodo de referencia se sumergieron en 50 mL de disolución HCl 0,1 M con agitación constante durante 50 s. A continuación, se añadieron 250  $\mu\text{L}$  de la disolución de  $[\text{AuCl}_4]^-$   $1 \times 10^{-2}$  M. Cuando el potencial se estabilizó, se añadieron 400  $\mu\text{L}$  de la disolución de

clorhidrato de hidroxilamina 5 M, seguido de 5  $\mu$ L de la disolución de KI 0,1 M. La reacción se dejó transcurrir aproximadamente durante 12 min, tiempo durante el cual se registró el potencial.

### 4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El Au(III) en un medio acuoso que contiene anión cloruro se encuentra presente en forma de varios complejos clorohidroxilados de fórmula general  $[AuCl_{4-i}(OH)_i]^-$ , con  $i = 0 - 4$ . La proporción de los distintos complejos depende de la concentración de cloruro en el medio y del pH. Se han descrito las reacciones de hidrólisis del  $[AuCl_4]^-$  que dan lugar a los diferentes complejos y sus correspondientes constantes de equilibrio (Mironov y Makotchenko, 2009).

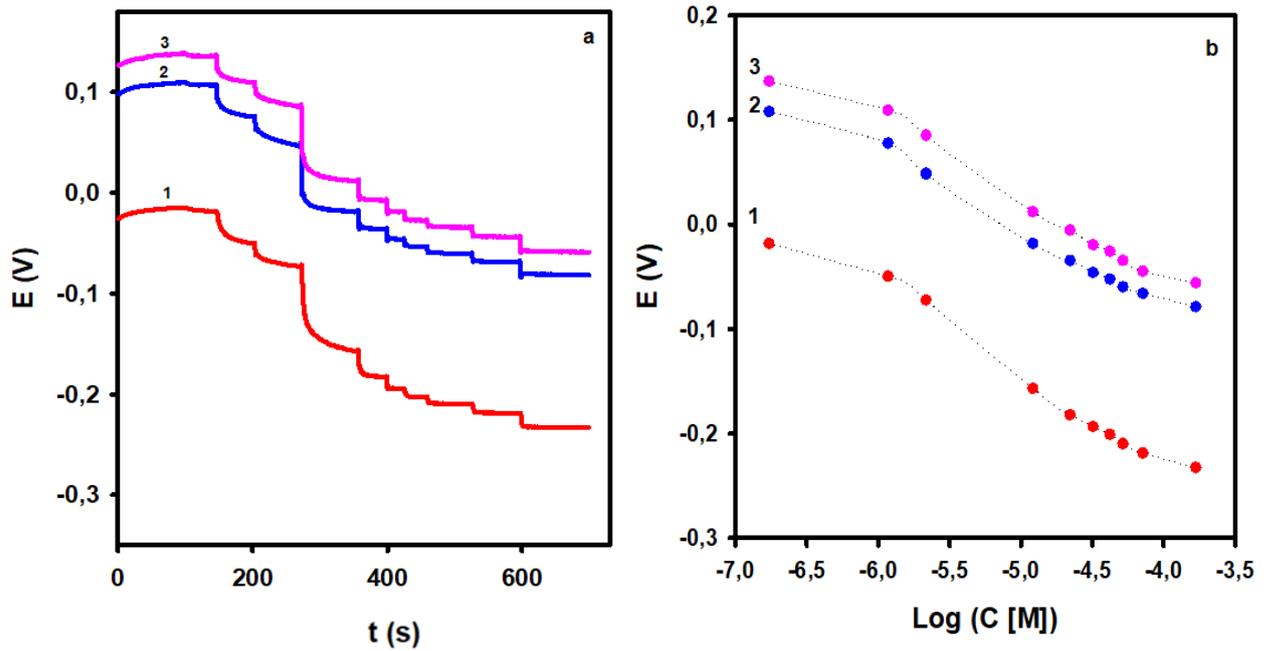
Con objeto de conseguir que prácticamente todo el Au(III) se encuentre en forma del anión tetracloroaurato(III), se utilizó en el presente trabajo un medio HCl 0,1 M. Según el primer equilibrio de hidrólisis:



el valor calculado para la relación  $[AuCl_4^-]/[AuCl_3(OH)^-]$  con dicha concentración de HCl es  $10^{4,13}$ .

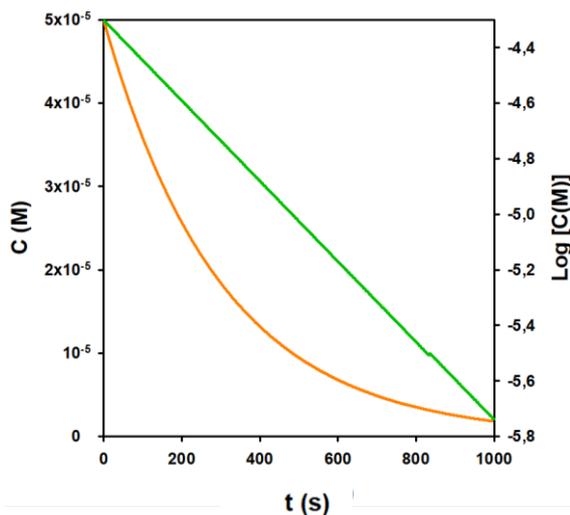
#### 4.3.1. RESPUESTA POTENCIOMÉTRICA DE LOS ELECTRODOS AL ANIÓN TETRACLORO AURATO(III)

En primer lugar, se ensayó un procedimiento de calibración de los electrodos mediante la utilización de incrementos consecutivos de la concentración de  $[AuCl_4]^-$  en el medio HCl 0,1 M. Se utilizó un intervalo de concentración de  $1 \times 10^{-7}$  M a  $1,2 \times 10^{-4}$  M. La respuesta dinámica de los electrodos, obtenida como se describe en el apartado 4.2.6, se muestra en la Figura 4.2a. Los tres electrodos proporcionan una respuesta rápida a los incrementos de concentración de tetracloroaurato(III) ensayados, a partir de una concentración aproximada  $1 \times 10^{-5}$  M, mientras que la respuesta es más lenta a concentraciones inferiores. Las curvas de calibrado obtenidas representando el potencial alcanzado tras cada inyección frente al logaritmo de la concentración final obtenida de tetracloroaurato(III) se muestran en la Figura 4.2b. Los valores de la pendiente de las gráficas de calibrado no son constantes en todo el intervalo de concentración ensayado, siendo algo más elevados en una zona de concentración intermedia.



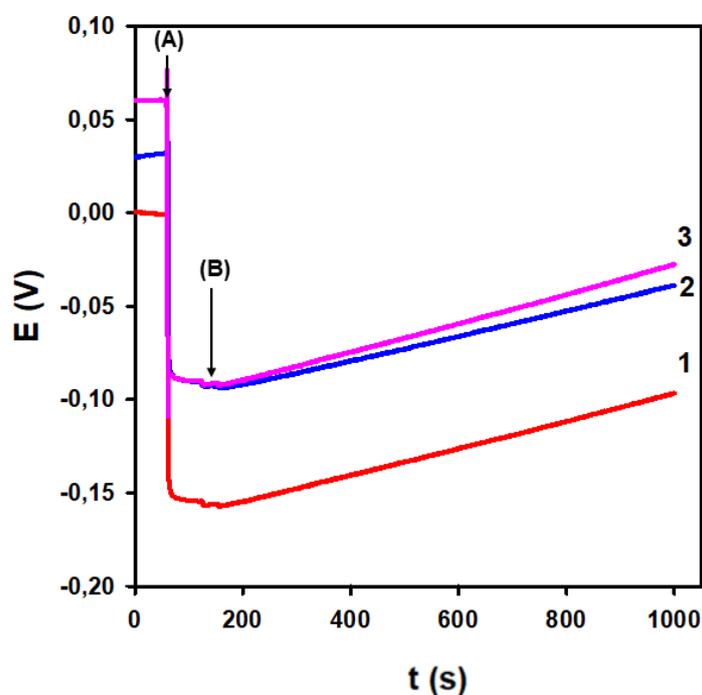
**Figura 4.2.** a) Respuesta dinámica de los tres electrodos selectivos de iones a incrementos en la concentración de  $[AuCl_4]^-$ : electrodo 1 (rojo), electrodo 2 (azul) y electrodo 3 (rosa). b) Gráfica de calibrado E frente a Log C correspondiente.

En el presente trabajo se ensayó además otro procedimiento de calibración, basado en una dilución continua de una disolución inicial de tetracloroaurato(III), que se aproxima a la variación de concentración que tiene lugar en la reacción de reducción del tetracloroaurato(III) que se pretende monitorizar. El perfil C-t correspondiente, obtenido como se describe en 4.2.5.2, se muestra en la Figura 4.3.



**Figura 4.3.** Perfil de concentración de tetracloroaurato(III)-tiempo obtenido mediante el proceso de dilución continua. C vs. t (izquierda, naranja) y Log C vs. t (derecha, verde).

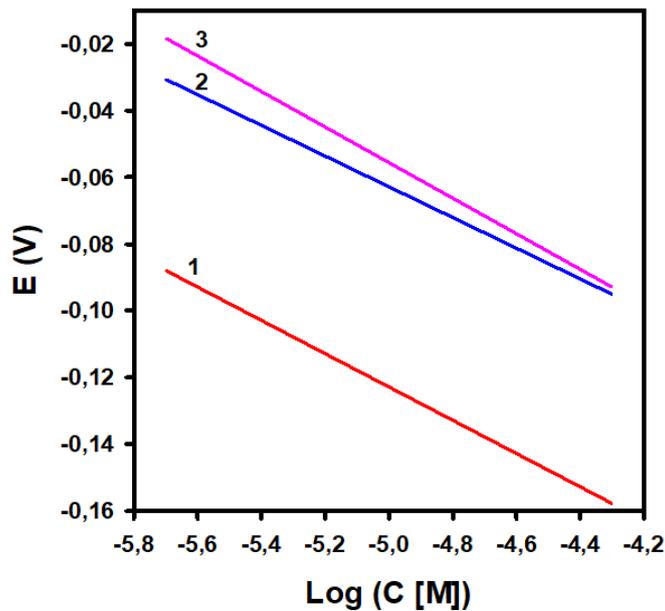
La Figura 4.4 muestra los registros experimentales E-t obtenidos con los tres electrodos durante el procedimiento completo descrito en 4.2.5.2. Los valores de potencial iniciales de los electrodos corresponden a su respuesta a una disolución de HCl 0,1 M. Cuando se inyectaron 250  $\mu$ L de tetracloroaurato(III)  $1 \times 10^{-2}$  M para alcanzar una concentración final de  $5 \times 10^{-5}$  M (flecha A), se observó una disminución rápida y pronunciada del potencial, que corresponde a la respuesta de los electrodos al anión tetracloroaurato(III). Una vez estabilizados los valores de potencial de los electrodos, se inició el proceso de dilución (flecha B). Como puede observarse, el potencial de los electrodos comienza a aumentar desde el inicio de la dilución, como corresponde a la disminución de la concentración de tetracloroaurato(III).



**Figura 4.4.** Registro de potencial vs. tiempo durante el procedimiento completo de calibración por dilución continua para los electrodos 1 (rojo), 2 (azul) y 3 (rosa). Disolución inicial, 50 mL HCl 0,1 M. (A) Inyección de 250  $\mu$ L de disolución  $1 \times 10^{-2}$  M de tetracloroaurato(III) (concentración final  $5 \times 10^{-5}$  M). (B) Inicio de la dilución con HCl 0,1 M.

Para construir las gráficas de calibrado correspondientes mostradas en la Figura 4.5, se representó el potencial durante la etapa de dilución,  $E(t)$  frente al  $\text{Log } C(t)$  correspondiente, mostrado anteriormente. Como puede observarse se obtuvo una relación lineal entre  $E$  y  $\text{Log } C$  para los tres electrodos en todo el intervalo de concentración ensayado ( $5 \times 10^{-5}$  -  $2 \times 10^{-6}$  M). Las pendientes obtenidas de las rectas de calibrado fueron -49,8, -46,0 y -53,2 mV/década de concentración, para los electrodos 1, 2 y 3, respectivamente.

Puesto que la respuesta lineal se extiende hasta la concentración más baja ensayada de tetracloroaurato(III) ( $2 \times 10^{-6}$  M) y puesto que ésta se encuentra en presencia de una concentración molar de cloruro  $5 \times 10^4$  veces superior, puede concluirse que la selectividad de los tres electrodos selectivos de aniones hacia  $[\text{AuCl}_4]^-$  frente a  $\text{Cl}^-$  es muy alta.



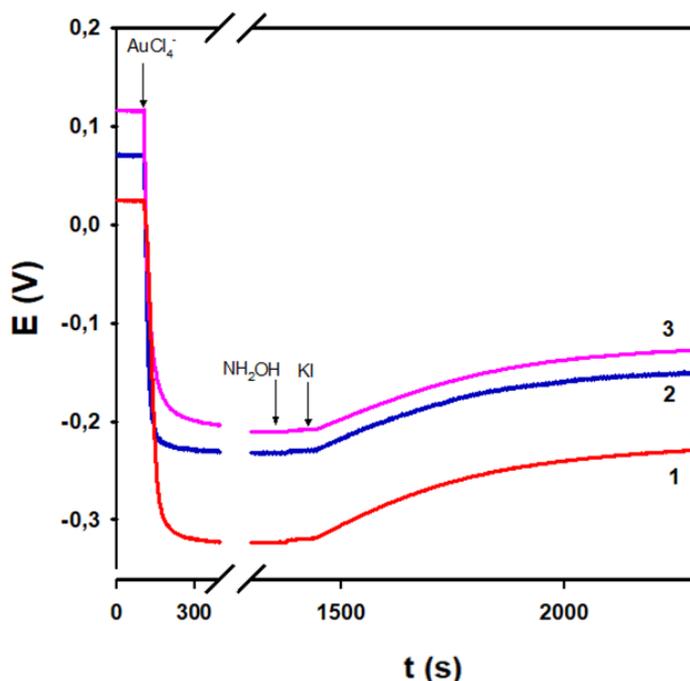
**Figura 4.5.** Gráficas de calibrado para los electrodos 1 (rojo), 2 (azul) y 3 (rosa) obtenidas por el procedimiento de dilución continua.

#### 4.3.2. MONITORIZACIÓN DE LA CINÉTICA DE REACCIÓN DE TETRACLOROAURO(III) EN PRESENCIA DE HIDROXILAMINA Y YODURO

En este trabajo se observó, mediante la utilización de los electrodos selectivos desarrollados, que el anión tetracloroaurato(III) experimenta una disminución continua de concentración tras la adición de hidroxilamina y yoduro. A continuación, se muestran los resultados de este estudio y, en base a ellos, la propuesta de un mecanismo para dicha reacción.

#### 4.3.2.1. MONITORIZACIÓN POTENCIOMÉTRICA DE LA REACCIÓN CON ELECTRODOS SELECTIVOS DE IONES

En la Figura 4.6 se muestra el registro del potencial en función del tiempo correspondiente al seguimiento de la reducción de  $[\text{AuCl}_4]^-$ , realizado como se describe en el apartado 4.2.6. Después de inyectar la disolución de  $[\text{AuCl}_4]^-$  sobre una disolución de  $\text{HCl}$  0,1 M, para alcanzar una concentración de  $[\text{AuCl}_4]^-$  de  $5 \times 10^{-5}$  M, se observó una disminución rápida del potencial de todos los electrodos, lo que se debe a su respuesta potenciométrica correspondiente al aumento en la concentración de  $[\text{AuCl}_4]^-$  en el medio. Una vez estabilizado el potencial, se inyectó la disolución de hidroxilamina para alcanzar una concentración de  $4 \times 10^{-2}$  M, y no se observó ningún cambio de potencial en ninguno de los electrodos. Sin embargo, cuando a continuación se inyectó la disolución de yoduro para alcanzar una concentración de  $1 \times 10^{-5}$  M, se observó un aumento continuo del potencial de todos los electrodos. Este aumento de potencial se atribuyó a la disminución de la concentración de  $[\text{AuCl}_4]^-$  debido a su reacción de reducción. Puesto que no se observó ningún aumento de potencial en un experimento análogo tras la adición de yoduro sin adición previa de hidroxilamina, se planteó la hipótesis de que el agente reductor del tetracloroaurato(III) es la hidroxilamina y que el yoduro actúa como catalizador.



**Figura 4.6.** Registro de potencial vs. tiempo obtenido en 50 mL  $\text{HCl}$  0,1 M y después de la adición de: 250  $\mu\text{L}$  de disolución de  $[\text{AuCl}_4]^-$   $1 \times 10^{-2}$  M; 400  $\mu\text{L}$  de disolución de  $\text{NH}_2\text{OH}^+$  5 M; 5  $\mu\text{L}$  de disolución de  $\text{I}^-$  0,1 M. Electrodo: 1 (rojo), 2 (azul) y 3 (rosa).

Como puede observarse en la Figura 4.6, el potencial final no ha retornado al valor inicial obtenido en HCl 0,1 M. Esto puede deberse a que el producto de reducción del  $[\text{AuCl}_4]^-$  sea  $[\text{AuCl}_2]^-$  y no  $\text{Au}^0$ , y a que los electrodos respondan también potenciométricamente a  $[\text{AuCl}_2]^-$ . Este anión es más voluminoso que  $\text{Cl}^-$ , por lo que debe obtenerse respuesta potenciométrica al mismo en el medio clorhídrico. El anión  $[\text{AuCl}_2]^-$  es también el producto de reducción del  $[\text{AuCl}_4]^-$  propuesto por otros autores en otras condiciones experimentales diferentes a las nuestras (Elding y Olsson, 1982; Soni y Mehrotra, 2003).

En el caso de que la respuesta de nuestros electrodos selectivos se deba a ambos aniones,  $[\text{AuCl}_4]^-$  y  $[\text{AuCl}_2]^-$ , la ecuación que describe la respuesta potencial sería del tipo Nikolsky-Eissenman (Umezawa et al., 2002) (Ecuación 4.2).

$$E(t) = E^0 + S \log([\text{AuCl}_4^-] + K_{ij} [\text{AuCl}_2^-]) \quad \text{Ecuación 4.2.}$$

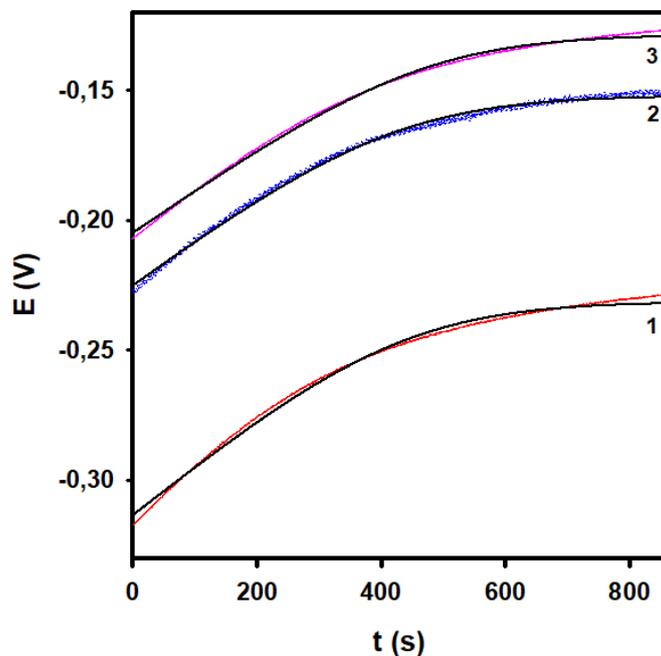
donde  $K_{ij}$  es el coeficiente de selectividad del electrodo hacia  $[\text{AuCl}_4]^-$  ( $i$ ) frente a  $[\text{AuCl}_2]^-$  ( $j$ ).

Si se considera que la cinética de reacción es de pseudo primer orden con respecto a  $[\text{AuCl}_4]^-$  se obtiene la Ecuación 4.3 para la dependencia del potencial con el tiempo, donde  $C_0$  es la concentración inicial de tetracloroaurato(III) y  $k$  es la constante de velocidad. Reagrupando términos, se obtiene la Ecuación 4.4.

Para comprobar la validez de las hipótesis planteadas, los valores experimentales de  $E(t)$  obtenidos tras la adición de hidroxilamina y yoduro se ajustaron a la Ecuación 4.4 para los tres electrodos utilizados. Los resultados de los ajustes fueron excelentes, como se muestra en la Figura 4.7 en la que se superponen los registros experimentales y los correspondiente a su ajuste a la Ecuación 4.4. La Tabla 4.2 recoge los valores de los parámetros obtenidos en el ajuste: pendiente ( $S$ ), coeficiente de selectividad ( $K_{ij}$ ), constante cinética ( $k$ ) y coeficiente de determinación ( $r^2$ ).

$$E(t) = E^0 + S \log(C_0 e^{-kt} + K_{ij} C_0 (1 - e^{-kt})) \quad \text{Ecuación 4.3.}$$

$$E(t) = E^0 + S \log[C_0 (e^{-kt} + K_{ij} (1 - e^{-kt}))] \quad \text{Ecuación 4.4.}$$



**Figura 4.7.** Registros experimentales E-t obtenidos con los electrodos 1 (rojo), 2 (azul) y 3 (rosa) y las curvas correspondientes a sus ajustes a la Ecuación 4.4 (negro).

Los valores obtenidos con los tres electrodos para la constante cinética son muy similares. Por otra parte, los coeficientes de selectividad ( $K_{ij}$ ) de los tres electrodos no fueron muy diferentes entre sí, lo que significa que el plastificante de la membrana utilizado tiene poca influencia en la selectividad de los correspondientes electrodos hacia  $[\text{AuCl}_4]^-$  con respecto a  $[\text{AuCl}_2]^-$ . Los valores obtenidos del coeficiente de selectividad muestran que los electrodos 1, 2 y 3 son aproximadamente 33, 29 y 43, ( $1/K_{ij}$ ) veces, respectivamente, más selectivos hacia  $[\text{AuCl}_4]^-$  que hacia  $[\text{AuCl}_2]^-$ . Esto se debe al mayor tamaño del primero, que es lo que gobierna en general la respuesta potenciométrica de electrodos selectivos de iones del tipo desarrollado.

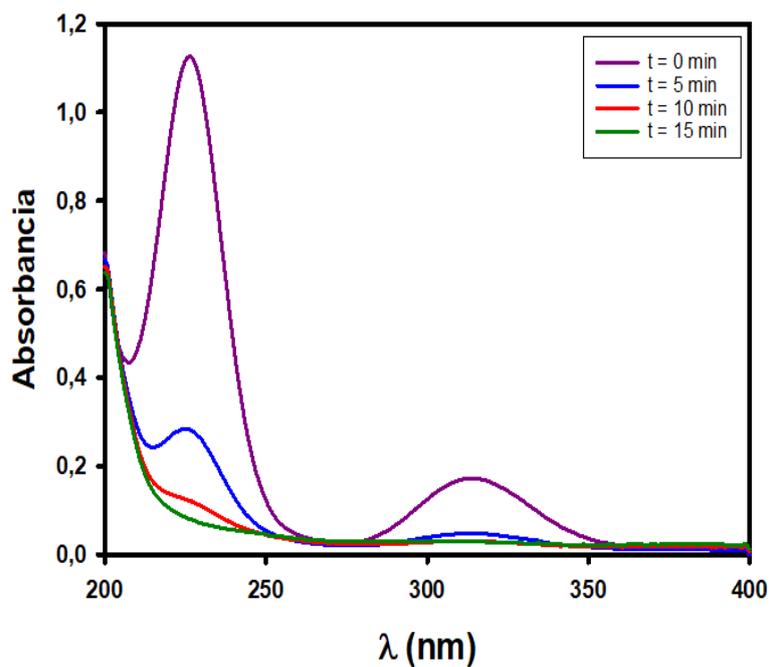
**Tabla 4.2.** Valores de los parámetros obtenidos con la Ecuación 4.4.

Electrodo	E° (V)	S (V/dec)	$K_{ij}$	$k$ (s <sup>-1</sup> )	$r^2$
1	-0,546	-0,054	0,030	8,20x10 <sup>-3</sup>	0,996
2	-0,441	-0,050	0,035	8,10x10 <sup>-3</sup>	0,997
3	-0,404	-0,046	0,023	8,20x10 <sup>-3</sup>	0,998

### 4.3.3. MEDIDAS ESPECTROFOTOMÉTRICAS Y DLS

La reacción de reducción del tetracloroaurato(III) en presencia de clorhidrato de hidroxilamina y yoduro se estudió también por espectrofotometría UV-vis y por DLS (técnicas descritas en el Capítulo 1) utilizando las mismas concentraciones empleadas en el estudio potenciométrico. Para ello se efectuaron los espectros UV-vis de 200-400 nm a diferentes tiempos desde la mezcla de todos los reactivos. Los espectros obtenidos a 0, 5, 10 y 15 min se muestran en la Figura 4.8. Inicialmente ( $t = 0$  min), cuando todo el Au(III) se encuentra en forma de tetracloroaurato(III), se observan dos picos a 213 nm y 325 nm. Estos valores coinciden con los obtenidos por Mironov et al. (2009) (en dicho trabajo los espectros se muestran con números de onda en lugar de longitud de onda). En la Figura 4.8 se observa que la altura de ambos picos disminuye con el tiempo, de forma que a los 5 min ya se ha reducido considerablemente y a los 15 min es prácticamente nula. Además, en los espectros efectuados a tiempos intermedios no aparece ningún otro pico a longitudes de onda diferentes a las de los picos iniciales.

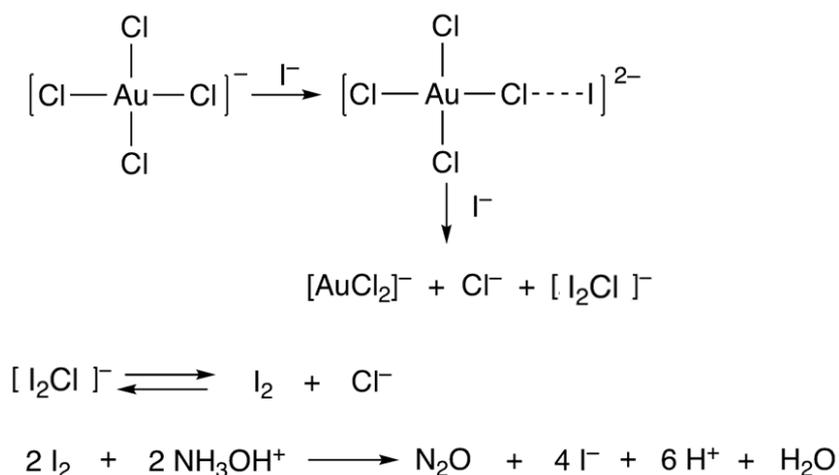
Por otra parte, el registro DLS de la mezcla tetracloroaurato(III), hidroxilamina y yoduro en las condiciones mencionadas no mostró ningún pico en la función de distribución de tamaño durante los 15 min de duración del experimento. Esto implica que no se han formado nanopartículas de oro durante dicho proceso.



**Figura 4.8.** Espectros de absorción de una disolución de tetracloroaurato(III)  $5 \times 10^{-5}$  M, hidrocloreto de hidroxilamina 0,04 M y yoduro  $1 \times 10^{-5}$  M, en HCl 0,1 M, a diferentes tiempos desde su mezcla.

#### 4.3.4. MECANISMO PROPUESTO

A partir del estudio de la monitorización potenciométrica de la reacción entre tetracloroaurato(III), clorhidrato de hidroxilamina y yoduro en ácido clorhídrico 0,1 M, así como de la información complementaria obtenida por espectrofotometría UV-vis y por DLS se propone el siguiente mecanismo:



**Figura 4.9.** Esquema de reacciones propuestas para la reducción de tetracloroaurato(III) por clorhidrato de hidroxilamina catalizada por yoduro.

En primer lugar, el tetracloroaurato(III) comienza a reaccionar lentamente con el anión yoduro, el cual se encuentra en gran defecto con respecto al  $[\text{AuCl}_4]^-$ , para formar  $[\text{AuCl}_2]^-$  y yodo, que en presencia de HCl 0,1 M se encontraría principalmente en forma de complejo  $[\text{I}_2\text{Cl}]^-$ . Esta propuesta se ve respaldada por los resultados y el mecanismo propuestos por Elding et al. (1982) para la reacción directa entre  $[\text{AuCl}_4]^-$  y yoduro en otras condiciones experimentales. Estos autores también mostraron que el anión  $[\text{AuCl}_2]^-$  no absorbe entre 200 y 500 nm, lo cual explica que en nuestro estudio espectrofotométrico, mostrado en la Figura 4.8, no se observe ningún pico distinto a los del  $[\text{AuCl}_4]^-$ , lo que es compatible con  $[\text{AuCl}_2]^-$  como producto de reducción. Además, la desaparición completa de  $[\text{AuCl}_4]^-$  al cabo de 15 min observada en el estudio espectrofotométrico, se encuentra en consonancia con el valor de la constante de velocidad obtenida a partir de la monitorización potenciométrica. A continuación, en nuestro caso, en el que el clorhidrato de hidroxilamina está presente a una concentración elevada, se produciría una reacción rápida entre el yodo resultante de la disociación de  $[\text{I}_2\text{Cl}]^-$  y el catión hidroxilamonio, retornando el yodo a yoduro (catalizador) y dando lugar a  $\text{N}_2\text{O}$  como producto de oxidación del hidroxilamonio. Esto se ve respaldado por los resultados de Liu et al. (1995) que estudiaron la reacción entre hidroxilamina y yodo.

Por último, también se ha descrito una reacción directa entre  $[AuCl_4]^-$  e hidroxilamina (Soni y Mehrotra, 2003), pero en condiciones diferentes a las propuestas en este trabajo, lo que explica por qué no fue observada en nuestro caso. Teniendo en cuenta todo esto y el hecho descrito en el epígrafe 4.3.2 de que no se observó ningún cambio de potencial significativo por la adición solo de clorhidrato de hidroxilamina sobre tetracloroaurato(III), se confirma la hipótesis dada en 4.3.2 de que el yoduro actúa como catalizador de la reacción entre tetracloroaurato(III) e hidroxilamonio.

#### **4.4. CONCLUSIONES**

Los tres electrodos selectivos de iones desarrollados responden potenciométricamente al tetracloroaurato(III) de forma rápida y sensible. Mediante un procedimiento de calibración de dichos electrodos que simula la disminución continua de concentración que tiene lugar en las reacciones de reducción del tetracloroaurato(III), los electrodos permiten la monitorización potenciométrica de la reacción del tetracloroaurato(III) en presencia de clorhidrato de hidroxilamina y yoduro, descrita aquí por primera vez. Se ha propuesto un mecanismo para dicha reacción en el cual el catión hidroxilamonio actúa como reductor y el yoduro como catalizador y se ha obtenido la correspondiente constante de velocidad. El producto de reducción es el anión diclorooro(I) no llegándose, por tanto, a la formación de nanopartículas de oro en las condiciones estudiadas. Sin embargo, se demuestra la capacidad de los electrodos selectivos desarrollados para monitorizar la disminución en la concentración del reactivo precursor habitual de reacciones de formación de nanopartículas de oro mediante el procedimiento de "bottom-up", el ácido tetracloroáurico.

Como continuación de esta línea de investigación se plantea, por una parte, la monitorización potenciométrica de la reducción del anión diclorooro(I) formado en condiciones que den lugar a la formación posterior de nanopartículas de oro. Por otra parte, los electrodos desarrollados pueden ensayarse para la monitorización de reacciones ya conocidas de formación de nanopartículas de oro a partir del ácido tetracloroáurico.

# **CAPÍTULO 5**

## **CONCLUSIONES**





Las principales conclusiones que se extraen de esta Tesis Doctoral son:

1. Las técnicas instrumentales ópticas utilizadas en esta tesis doctoral, dispersión dinámica de luz y espectrofotometría ultravioleta-visible, han resultado ser de gran utilidad para el estudio de la agregación de nanopartículas de oro en distintos medios.

2. Se ha demostrado que el tamaño de cationes muy grandes tetraetilamonio, tetrapropilamonio y tetrabutilamonio, procedentes de sus sales en forma de cloruro, influye en la velocidad de agregación de nanopartículas de oro recubiertas con citrato de forma que, a mayor tamaño del catión, mayor velocidad de agregación.

3. La mayor capacidad de los cationes de mayor tamaño para producir apantallamiento electrostático, fenómeno responsable de la agregación de las nanopartículas, se puede achacar a la débil solvatación de los cationes muy grandes lo que facilita su interacción con la superficie cargada eléctricamente de las nanopartículas.

4. El copolímero termosensible poli(N-isopropilacrilamida)-bloque-poli(3-acrilamidopropil) trimetilamonio evita la agregación de nanopartículas de oro recubiertas con citrato en un medio con fuerza iónica elevada. Esto es debido a que la atracción electrostática entre las nanopartículas cargadas negativamente y las cadenas de copolímero con carga positiva provoca la asociación del copolímero y la nanopartícula. Por un lado, pueden formarse estructuras de tipo "core-shell" donde las cadenas de copolímero recubren la nanopartícula y evitan la agregación mediante un mecanismo de repulsión electrostática. Por otro lado, las cadenas de copolímero pueden formar redes que atrapan nanopartículas individuales formando una estructura de tipo "nanocomposite" que impide la agregación debido a la inmovilización de las nanopartículas.

5. Las estructuras tipo "nanocomposite" formadas por nanopartículas de oro recubiertas con citrato y el copolímero termosensible poli(N-isopropilacrilamida)-bloque-poli(3-acrilamidopropil) trimetilamonio son modulables con la temperatura y la fuerza iónica. A una temperatura superior a la temperatura crítica de disolución más baja, las cadenas de copolímero son hidrofóbicas y tienden a asociarse lo que da lugar a la aparición de redes poliméricas y a la formación del "nanocomposite". Por otro lado, una fuerza iónica elevada apantalla las cargas del copolímero lo que también facilita la asociación de las cadenas y la formación del "nanocomposite".

6. Los electrodos selectivos de iones desarrollados, basados en membranas de PVC plastificadas con NPOE, DOS o TCP que contienen tetracloroaurato(III) de tridodecilmetilamonio, proporcionan una respuesta rápida y sensible hacia el anión

tetracloroaurato(III). Esto podría permitir su uso para la monitorización de las reacciones de reducción de tetracloroaurato(III) que dan lugar a la formación de nanopartículas de oro.

7. Los electrodos mencionados permiten la monitorización potenciométrica de la reacción de reducción de tetracloroaurato(III) en presencia de hidroxilamina y yoduro en medio clorhídrico 0,1 M. Se propone un mecanismo de reacción en el que el producto de reducción es dicloruro(I), el reductor es el catión hidroxilamonio y el yoduro actúa como catalizador.

# **BIBLIOGRAFÍA**





- Alba-Molina, D., Martín-Romero, M., Camacho, L., y Giner-Casares, J. (2017). Ion-mediated aggregation of gold nanoparticles for light-induced heating. *Applied Sciences*, 7, 916-922. <https://doi.org/10.3390/app7090916>
- Al-Jawad, S. M. H., Taha, A. A., Al-Halbosi, M. M. F., y Al-Barram, L. F. A. (2018). Synthesis and characterization of small-sized gold nanoparticles coated by bovine serum albumin (BSA) for cancer photothermal therapy. *Photodiagnosis and Photodynamic Therapy*, 21, 201-210. <https://doi.org/10.1016/j.pdpdt.2017.12.004>
- Altammar, K. A. (2023). A review on nanoparticles: characteristics, synthesis, applications, and challenges. *Frontiers in Microbiology*, 14, 1155622-1155642. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2023.1155622>
- Anastas, P. T., y Eghbali, N. (2010). Green chemistry: Principles and practice. *Chemical Society Reviews*, 39, 301-312. <https://doi.org/10.1039/b918763b>
- Ansar, S., Chakraborty, S., y Kitchens, C. (2018). pH-responsive mercaptoundecanoic acid functionalized gold nanoparticles and applications in catalysis. *Nanomaterials*, 8, 339-351. <https://doi.org/10.3390/nano8050339>
- Astruc, D., Lu, F., y Aranzaes, J. R. (2005). Nanoparticles as recyclable catalysts: The frontier between homogeneous and heterogeneous catalysis. *Angewandte Chemie Int. Ed.*, 44, 7852-7872. <https://doi.org/10.1002/anie.200500766>
- Bakker, E., Bühlmann, P., y Pretsch, E. (1997). Carrier-based ion-selective electrodes and bulk optodes. 1. General characteristics. *Chemical Reviews*, 97, 3083-3132. <https://doi.org/10.1021/cr940394a>

- Barreto, Â., Luis, L. G., Girão, A. V., Trindade, T., Soares, A. M. V. M., y Oliveira, M. (2015). Behavior of colloidal gold nanoparticles in different ionic strength media. *Journal of Nanoparticle Research*, 17, 493-506. <https://doi.org/10.1007/s11051-015-3302-0>
- Bayati, S., Zhu, K., Trinh, L. T. T., Kjøniksen, A.-L., y Nyström, B. (2012). Effects of temperature and salt addition on the association behavior of charged amphiphilic diblock copolymers in aqueous solution. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116, 11386-11395. <https://doi.org/10.1021/jp306833x>
- Berne, B. J., y Pecora, R. (1975). *Dynamic light scattering with applications to chemistry, biology and physics*. John Wiley and Sons, New York.
- Biao, L., Tan, S., Meng, Q., Gao, J., Zhang, X., Liu, Z., y Fu, Y. (2018). Green synthesis, characterization and application of proanthocyanidins-functionalized gold nanoparticles. *Nanomaterials*, 8, 53-65. <https://doi.org/10.3390/nano8010053>
- Brust, M., Walker, M., Bethell, D., Schiffrin, D. J., y Whyman, R. (1994). Synthesis of thiol-derivatised gold nanoparticles in a two-phase liquid-liquid system. *Journal of the Chemical Society. Chemical Communications*, 7, 801-802. <https://doi.org/10.1039/c39940000801>
- Buchman, J. T., Hudson-Smith, N. V., Landy, K. M., y Haynes, C. L. (2019). Understanding nanoparticle toxicity mechanisms to inform redesign strategies to reduce environmental impact. *Accounts of Chemical Research*, 52, 1632-1642. <https://doi.org/10.1021/acs.accounts.9b00053>
- Cardoso, A.M., Calejo, M.T., Morais, C.M., Cardoso, A.L., Cruz, R., Zhu, K., Pedroso de Lima, M.C., Jurado, A.S., y Nyström, B. (2014). Application of thermoresponsive

- PNIPAAAM-*b*-PAMPTMA diblock copolymers in siRNA delivery. *Molecular Pharmaceutics*, 11, 819-827. <https://doi.org/10.1021/mp400510a>
- Carey, J. L., III, Whitcomb, D. R., Chen, S., Penn, R. L., y Bühlmann, P. (2015). Potentiometric *in situ* monitoring of anions in the synthesis of copper and silver nanoparticles using the polyol process. *ACS Nano*, 9, 12104-12114. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b05170>
- Chatterjee, K., Sarkar, S., Jagajjanani Rao, K., y Paria, S. (2014). Core/shell nanoparticles in biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 209, 8-39. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2013.12.008>
- Christau, S., Moeller, T., Genzer, J., Koehler, R., y von Klitzing, R. (2017). Salt-induced aggregation of negatively charged gold nanoparticles confined in a polymer brush matrix. *Macromolecules*, 50, 7333-7343. <https://doi.org/10.1021/acs.macromol.7b00866>
- Chuang, Y.-C., Lee, H.-L., Chiou, J.-F., y Lo, L.-W. (2022). Recent advances in gold nanomaterials for photothermal therapy. *Journal of Nanotheranostics*, 3, 117-131. <https://doi.org/10.3390/jnt3020008>
- Chumbimuni-Torres, K. Y., Bakker, E., y Wang, J. (2009). Real-time probing of the growth dynamics of nanoparticles using potentiometric ion-selective electrodes. *Electrochemistry Communications*, 11, 1964-1967. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2009.08.029>
- Collado-González, M., Fernández Espín, V., Montalbán, M. G., Pamies, R., Hernández Cifre, J. G., Díaz Baños, F. G., Villora, G., y García de la Torre, J. (2015). Aggregation behaviour of gold nanoparticles in presence of chitosan. *Journal of Nanoparticle Research*, 17, 268-278. <https://doi.org/10.1007/s11051-015-30693>

- Cuartero, M., Ortuño, J. A., García, M. S., y García-Cánovas, F. (2012). Assay of acetylcholinesterase activity by potentiometric monitoring of acetylcholine. *Analytical Biochemistry*, 421, 208-212. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2011.10.008>
- Daruich de Souza, C., Ribeiro Nogueira, B., y Rostelato, M. E. C. M. (2019). Review of the methodologies used in the synthesis gold nanoparticles by chemical reduction. *Journal of Alloys and Compounds*, 798, 714-740. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2019.05.153>
- Debye, P. (1947). Molecular-weight determination by light scattering. *The Journal of Physical and Colloid Chemistry*, 51, 18-32. <https://doi.org/10.1021/j150451a002>
- Dedinaite, A., Thormann, E., Olanya, G., Claesson, P. M., Nyström, B., Kjøniksen, A.-L., y Zhu, K. (2010). Friction in aqueous media tuned by temperature-responsive polymer layers. *Soft Matter*, 6, 2489-2499. <https://doi.org/10.1039/c003320k>
- Derjaguin, B. (1939). A theory of interaction of particles in presence of electric double-layers and the stability of lyophobic colloids and disperse systems. *Acta Physicochimica U.R.S.S.*, 10, 333-346. Derjaguin, B. (1993). A theory of interaction of particles in presence of electric double layers and the stability of lyophobic colloids and disperse systems. *Progress in Surface Science*, 43, 1-14. [https://doi.org/10.1016/0079-6816\(93\)90010-s](https://doi.org/10.1016/0079-6816(93)90010-s)
- Derjaguin, B., y Landau L. D. (1941). Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Acta Physicochimica U.R.S.S.*, 14, 633-662. Derjaguin, B., y Landau, L. D. (1993). Theory of the stability of strongly charged lyophobic sols and of the adhesion of strongly charged particles in solutions of electrolytes. *Progress in Surface Science*, 43, 30-59. [https://doi.org/10.1016/0079-6816\(93\)90013-l](https://doi.org/10.1016/0079-6816(93)90013-l)

- Diamandis, E. P., Koupparis, M. A., y Hadjiioannou, T. P. (1977). Kinetic potentiometric determination of creatinine in urine with a picrate-ion-selective electrode. *Microchemical Journal*, 22, 498-504. [https://doi.org/10.1016/0026-265x\(77\)90119-9](https://doi.org/10.1016/0026-265x(77)90119-9)
- Dondapati, S. K., Sau, T. K., Hrelescu, C., Klar, T. A., Stefani, F. D., y Feldmann, J. (2010). Label-free biosensing based on single gold nanostars as plasmonic transducers. *ACS Nano*, 4, 6318-6322. <https://doi.org/10.1021/nn100760f>
- Đurović, M. D., Puchta, R., Bugarčić, Ž. D., y van Eldik, R. (2014). Studies on the reactions of  $[\text{AuCl}_4]^-$  with different nucleophiles in aqueous solution. *Dalton Transactions*, 43, 8620-8632. <https://doi.org/10.1039/c4dt00247d>
- Elding, L. I., y Olsson, L. F. (1982). Kinetics and mechanism for reduction of tetrachloro- and tetrabromoaurate(III) by iodide. *Inorganic Chemistry*, 21, 779-784. <https://doi.org/10.1021/ic00132a061>
- Einstein, A. (1905). Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Annalen der Physik*, 322, 549-560. DOI: 10.1002/andp.19053220806
- Faraday, M. (1857). The Bakerian Lecture – Experimental relations of gold (and other metals) to light. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, 147, 145-181. <https://doi.org/10.1098/rstl.1857.0011>
- Fernández Espín, V. (2017). *Técnicas Instrumentales y Computacionales para la Caracterización de Sistemas de Macromoléculas y Nanopartículas. Implementación y Aplicaciones*. Universidad de Murcia.

- Frens, G. (1973). Controlled nucleation for the regulation of the particle size in monodisperse gold suspensions. *Nature Physical Science*, 241, 20-22. <https://doi.org/10.1038/physci241020a0>
- Fuller, M., y Köper, I. (2018). Polyelectrolyte-coated gold nanoparticles: The effect of salt and polyelectrolyte concentration on colloidal stability. *Polymers*, 10, 1336-1345. <https://doi.org/10.3390/polym10121336>
- Gregory, K. P., Elliott, G. R., Robertson, H., Kumar, A., Wanless, E. J., Webber, G. B., Craig, V. S. J., Andersson, G. G., y Page, A. J. (2022). Understanding specific ion effects and the Hofmeister series. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 24, 12682-12718. <https://doi.org/10.1039/d2cp00847e>
- Grys, D.-B., de Nijs, B., Salmon, A. R., Huang, J., Wang, W., Chen, W.-H., Scherman, O. A., y Baumberg, J. J. (2020). Citrate coordination and bridging of gold nanoparticles: The role of gold adatoms in AuNP aging. *ACS Nano*, 14, 8689-8696. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c03050>
- Horvai, G., Tóth, K., y Pungor, E. (1976). A simple continuous method for calibration and measurement with ion-selective electrodes. *Analytica Chimica Acta*, 82, 45-54. [https://doi.org/10.1016/s0003-2670\(01\)82202-9](https://doi.org/10.1016/s0003-2670(01)82202-9)
- Hu, S., Huang, P.-J. J., Wang, J., y Liu, J. (2020). Dissecting the effect of salt for more sensitive label-free colorimetric detection of DNA using gold nanoparticles. *Analytical Chemistry*, 92, 13354-13360. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02688>
- Hutter, E. y Fendler, J.H. (2004). Exploitation of localized surface plasmon resonance. *Advanced Material*, 16, 1685-1706. <https://doi.org/10.1002/adma.200400271>

- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry*, 13, 2638-2650. <https://doi.org/10.1039/c1gc15386b>
- Jagtap, N. R., Shelke, V. A., Nimase, M. S., Jadhav, S. M., Shankarwar, S. G., y Chondhekar, T. K. (2012). Electrochemical synthesis of tetra alkyl ammonium salt stabilized gold nanoparticles. *Synthesis and reactivity in inorganic, metal- organic and nano-metal chemistry*, 42, 1369-1374. <https://doi.org/10.1080/15533174.2012.680124>
- Keene, A. M., y Tyner, K. M. (2011). Analytical characterization of gold nanoparticle primary particles, aggregates, agglomerates, and agglomerated aggregates. *Journal of Nanoparticle Research*, 13, 3465-3481. <https://doi.org/10.1007/s11051-011-0268-4>
- Kelly, K. L., Coronado, E., Zhao, L. L., y Schatz, G. C. (2003). The optical properties of metal nanoparticles: The influence of size, shape, and dielectric environment. *The Journal of Physical Chemistry B*, 107, 668-677. <https://doi.org/10.1021/jp026731y>
- Kim, T., Lee, C.-H., Joo, S.-W., y Lee, K. (2008). Kinetics of gold nanoparticle aggregation: Experiments and modeling. *Journal of Colloid and Interface Science*, 318, 238-243. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2007.10.029>
- Kohout, C., Santi, C., y Polito, L. (2018). Anisotropic gold nanoparticles in biomedical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 3385-3415. <https://doi.org/10.3390/ijms19113385>

- Kolb, M., y Jullien, R. (1984). Chemically limited versus diffusion limited aggregation. *Journal de Physique Lettres*, *45*, 977-981. <https://doi.org/10.1051/jphyslet:019840045020097700>
- Koncki, R., Ogończyk, D., y Głąb, S. (2005). Potentiometric assay for acid and alkaline phosphatase. *Analytica Chimica Acta*, *538*, 257-261. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2005.02.021>
- Krumpfer, J. W., Schuster, T., Klapper, M., y Müllen, K. (2013). Make it nano-Keep it nano. *Nano Today*, *8*, 417-438. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2013.07.006>
- Li, R., Cheng, C., Wang, Z., Gu, X., Zhang, C., Wang, C., Liang, X., y Hu, D. (2021). Conformational stability of poly (N-isopropylacrylamide) anchored on the surface of gold nanoparticles. *Materials*, *14*, 443-461. <https://doi.org/10.3390/ma14020443>
- Liu, B., Kelly, E. Y., y Liu, J. (2014). Cation-size-dependent DNA adsorption kinetics and packing density on gold nanoparticles: An opposite trend. *Langmuir*, *30*, 13228-13234. <https://doi.org/10.1021/la503188h>
- Liu, G., Lu, M., Huang, X., Li, T., y Xu, D. (2018). Application of gold-nanoparticle colorimetric sensing to rapid food safety screening. *Sensors*, *18*, 4166-4182. <https://doi.org/10.3390/s18124166>
- Liu, R. M., McDonald, M. R., y Margerum, D. W. (1995). Kinetics and mechanisms of the oxidation of hydroxylamine by aqueous iodine. *Inorganic Chemistry*, *34*, 6093-6099. <https://doi.org/10.1021/ic00128a021>

- Liu, X., Wazne, M., Han, Y., Christodoulatos, C., y Jasinkiewicz, K. L. (2010). Effects of natural organic matter on aggregation kinetics of boron nanoparticles in monovalent and divalent electrolytes. *Journal of Colloid and Interface Science*, 348, 101-107. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2010.04.036>
- Liz-Marzán, L. M. (2004). Nanometals. *Materials Today*, 7, 26-31. [https://doi.org/10.1016/s1369-7021\(04\)00080-x](https://doi.org/10.1016/s1369-7021(04)00080-x)
- Lozano, P., y García-Verdugo, E. (2023). From green to circular chemistry paved by biocatalysis. *Green Chemistry*, 25, 7041-7057. <https://doi.org/10.1039/d3gc01878d>
- Maleki, A., Zhu, K., Pamies, R., Schmidt, R. R., Kjøniksen, A.-L., Karlsson, G., Hernández Cifre, J. G., García de la Torre, J., y Nyström, B. (2011). Effect of polyethylene glycol (PEG) length on the association properties of temperature-sensitive amphiphilic triblock copolymers (PNIPAAm-b-PEGn-b-PNIPAAm) in aqueous solution. *Soft Matter*, 7, 8111-8120. <https://doi.org/10.1039/c1sm05679d>
- Marcus, Y. (2008). Tetraalkylammonium ions in aqueous and non-aqueous solutions. *Journal of Solution Chemistry*, 37, 1071-1098. <https://doi.org/10.1007/s10953-008-9291-1>
- Martínez, G., Merinero, M., Pérez-Aranda, M., Pérez-Soriano, E. M., Ortiz, T., Villamor, E., Begines, B., y Alcudia, A. (2021). Environmental Impact of Nanoparticles' Application as an Emerging Technology: A Review. *Materials*, 14, 166-187. <https://doi.org/10.3390/ma14010166>. Erratum: Guillermo M., et al. Environmental Impact of Nanoparticles' Application as an Emerging Technology: A Review. *Materials* 2021, 14, 166. *Materials*, 14, 1710-1711. <https://doi.org/10.3390/ma14071710>

- Meakin, P. (1983). Formation of fractal clusters and networks by irreversible diffusion-limited aggregation. *Physical Review Letters*, 51, 1119-1122.  
<https://doi.org/10.1103/physrevlett.51.1119>
- Mie, G. (1908). Beiträge zur Optik trüber Medien, speziell kolloidaler Metallösungen. *Annalen der Physik*, 330, 377-445.  
<https://doi.org/10.1002/andp.19083300302>
- Mikhelson, K. N. (2013). *Ion-Selective Electrodes*. Springer, Berlin.
- Miksch, L., Gutow, L., y Saborowski, R. (2021). pH-stat titration: A rapid assay for enzymatic degradability of bio-based polymers. *Polymers*, 13, 860-874.  
<https://doi.org/10.3390/polym13060860>
- Mironov, I. V., y Makotchenko, E. V. (2009). The hydrolysis of  $[\text{AuCl}_4]^-$  and the stability of aquachlorohydroxocomplexes of gold(III) in aqueous solution. *Journal of Solution Chemistry*, 38, 725-737. <https://doi.org/10.1007/s10953-009-9400-9>
- Molina, A., Ortuño, J. A., Serna, C., Torralba, E., y Gonzalez, J. (2010). Advances in the study of ion transfer at liquid membranes with two polarized interfaces by square wave voltammetry. *Electroanalysis*, 22, 1634-1642.  
<https://doi.org/10.1002/elan.200900593>
- Morita, T., Yada, S., y Yoshimura, T. (2023). Catalytic activity of gold nanoparticles protected by quaternary ammonium salt-based gemini surfactants with different spacer structures. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 25, 16288-16293.  
<https://doi.org/10.1039/d3cp01116j>

- Nadeem, M., Abbasi, B. H., Younas, M., Ahmad, W., y Khan, T. (2017). A review of the green syntheses and anti-microbial applications of gold nanoparticles. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 10, 216-227. <https://doi.org/10.1080/17518253.2017.1349192>
- Olivier, B. J., y Sorensen, C. M. (1990). Variable aggregation rates in colloidal gold: Kernel homogeneity dependence on aggregant concentration. *Physical Review A*, 41, 2093-2100. <https://doi.org/10.1103/physreva.41.2093>
- Oncsik, T., Trefalt, G., Borkovec, M., y Szilagyi, I. (2015). Specific ion effects on particle aggregation induced by monovalent salts within the Hofmeister series. *Langmuir*, 31, 3799-3807. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.5b00225>
- Ortuño, J. A., Pérez Ruiz, T., y Sánchez-Pedreño, C. (1986). Coated-wire ion-selective electrode for the determination of gold(III). *Analytica Chimica Acta*, 185, 351-354. [https://doi.org/10.1016/0003-2670\(86\)80065-4](https://doi.org/10.1016/0003-2670(86)80065-4)
- Pamies, R., Hernández Cifre, J. G., y García de la Torre, J. (2007). Brownian dynamics simulation of polyelectrolyte dilute solutions under shear flow. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 45, 1-9. <https://doi.org/10.1002/polb.20994>
- Pamies, R., Zhu, K., Kjøniksen, A.-L., y Nyström, B. (2009). Thermal response of low molecular weight poly-(N-isopropylacrylamide) polymers in aqueous solution. *Polymer Bulletin*, 62, 487-502. <https://doi.org/10.1007/s00289-008-0029-4>
- Pamies, R., Zhu, K., Volden, S., Kjøniksen, A.-L., Karlsson, G., Glomm, W. R., y Nyström, B. (2010). Temperature-induced flocculation of gold particles with an adsorbed thermoresponsive cationic copolymer. *The Journal of Physical Chemistry C*, 114, 21960-21968. <https://doi.org/10.1021/jp106520k>

- Pamies, R., Hernández Cifre, J. G., Fernández Espín, V., Collado-González, M., Díaz Baños, F. G., y García de la Torre, J. (2014). Aggregation behaviour of gold nanoparticles in saline aqueous media. *Journal of Nanoparticle Research*, 16, 2376-2387. <https://doi.org/10.1007/s11051-014-2376-4>
- Pamies, R., Zhu, K., Kjøniksen, A.-L., y Nyström, B. (2016). Temperature effects on the stability of gold nanoparticles in the presence of a cationic thermoresponsive copolymer. *Journal of Nanoparticle Research*, 18, 319-331. <https://doi.org/10.1007/s11051-016-3627-3>
- Patil, T., Gambhir, R., Vibhute, A., y Tiwari, A. P. (2023). Gold nanoparticles: Synthesis methods, functionalization and biological applications. *Journal of Cluster Science*, 34, 705-725. <https://doi.org/10.1007/s10876-022-02287-6>
- Pecora, R. (1964). Doppler shifts in light scattering from pure liquids and polymer solutions. *The Journal of Chemical Physics*, 40, 1604-1614. <https://doi.org/10.1063/1.1725368>
- Pentari, J., Efstathiou, C., y Hadjiioannou, T. (1991). Kinetic determination of EDTA and citrate by the displacement of fluoride from  $Al^{3+}-F^{-}$  complexes and use of a fluoride ion-selective electrode. *Talanta*, 38, 295-301. [https://doi.org/10.1016/0039-9140\(91\)80050-a](https://doi.org/10.1016/0039-9140(91)80050-a)
- Perera, G. S., Yang, G., Nettles, II, C. B., Perez, F., Hollis, T. K., y Zhang, D. (2016). Counterion effects on electrolyte interactions with gold nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C*, 120, 23604-23612. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.6b07885>

- Pfeiffer, C., Rehbock, C., Hühn, D., Carrillo-Carrión, C., de Aberasturi, D. J., Merk, V., Barcikowski, S., y Parak, W. J. (2014). Interaction of colloidal nanoparticles with their local environment: the (ionic) nanoenvironment around nanoparticles is different from bulk and determines the physico-chemical properties of the nanoparticles. *Journal of the Royal Society Interface*, 11, 20130931-20130945. <https://doi.org/10.1098/rsif.2013.0931>
- Polyakova, N. Y., Polyakov, A. Y., Sukhorukova, I. V., Shtansky, D. V., y Grigorieva, A. V. (2017). The defining role of pH in the green synthesis of plasmonic gold nanoparticles using Citrus limon extract. *Gold Bulletin*, 50, 131-136. <https://doi.org/10.1007/s13404-017-0203-2>
- Popa, M., Pradell, T., Crespo, D., y Calderón-Moreno, J. M. (2007). Stable silver colloidal dispersions using short chain polyethylene glycol. *Colloids and Surfaces*, 303, 184-190. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2007.03.050>
- Rastogi, L., Kora, A. J., y Arunachalam. (2012). Highly stable, protein capped gold nanoparticles as effective drug delivery vehicles for amino-glycosidic antibiotics. *Materials Science y Engineering. C, Materials for Biological Applications*, 32, 1571-1577. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2012.04.044>
- Rousseau, I., y Atkinson, B. (1980). Acquisition and processing of data from a multiple pH-stat system monitoring enzyme kinetics (urea-urease). *Analyst*, 105, 432-441. <https://doi.org/10.1039/an9800500432>
- Samec, Z., Mareček, V., Koryta, J., y Khalil, M. W. (1977). Investigation of ion transfer across the interface between two immiscible electrolyte solutions by cyclic voltammetry. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, 83, 393-397. [https://doi.org/10.1016/s0022-0728\(77\)80186-1](https://doi.org/10.1016/s0022-0728(77)80186-1)

- Sánchez-Pedreño, C., Ortuño, J. A., y Ros, A. L. (1992a). Kinetic–potentiometric determination of iodide with an antimony(V) coated-wire ion-selective electrode. *Analyst*, 117, 1619-1621. <https://doi.org/10.1039/an9921701619>
- Sánchez-Pedreño, C., Ortuño, J. A., y Martínez-Ródenas, J. (1992b). Kinetic-potentiometric determination of copper in real samples with a new antimony(V) ion-selective electrode. *Fresenius' Journal of Analytical Chemistry*, 344, 100-103. <https://doi.org/10.1007/BF00325122>
- Setyawati, M. I., Xie, J., y Leong, D. T. (2014). Phage based green chemistry for gold ion reduction and gold retrieval. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 6, 910- 917. <https://doi.org/10.1021/am404193j>
- Shrestha, S., Wang, B., y Dutta, P. (2020). Nanoparticle processing: Understanding and controlling aggregation. *Advances in Colloid and Interface Science*, 279, 102162-102178. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2020.102162>
- Siddiq, A. M., Thangam, R., Madhan, B., y Alam, M. S. (2019a). Counterion coupled (COCO) gemini surfactant capped Ag/Au alloy and core–shell nanoparticles for cancer therapy. *RSC Advances*, 9, 37830-37845. <https://doi.org/10.1039/c9ra06494j>
- Siddiq, A.M., Thangam, R., Madhan, B., y Alam, M. S. (2019b). Green (gemini) surfactant mediated gold nanoparticles green synthesis: Effect on triple negative breast cancer cells. *Nano-Structures & Nano-Objects*, 19, 100373-100384. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2019.100373>

- Siddique, S., y Chow, J. C. L. (2020). Gold nanoparticles for drug delivery and cancer therapy. *Applied Sciences*, 10, 3824-3845. <https://doi.org/10.3390/app10113824>
- Slusher, J. T., y Cummings, P. T. (1997). Molecular simulation study of tetraalkylammonium halides. 1. Solvation structure and hydrogen bonding in aqueous solutions. *The Journal of Physical Chemistry B*, 101, 3818-3826. <https://doi.org/10.1021/jp963304+>
- Soni, V., y Mehrotra, R. N. (2003). Kinetics and mechanism of oxidation of hydroxylamine by tetrachloroaurate(III) ion. *Transition Metal Chemistry*, 28, 893-898. <https://doi.org/10.1023/a:1026330125535>
- Sönnichsen, C., Reinhard, B. M., Liphardt, J., y Alivisatos, A. P. (2005). A molecular ruler based on plasmon coupling of single gold and silver nanoparticles. *Nature Biotechnology*, 23, 741-745. <https://doi.org/10.1038/nbt1100>
- Stolarczyk, J. K., Deak, A., y Brougham, D. F. (2016). Nanoparticle clusters: Assembly and control over internal order, current capabilities, and future potential. *Advanced Materials*, 28, 5400-5424. <https://doi.org/10.1002/adma.201505350>
- Strutt, J. W. (1871). On the scattering of light by small particles. *The London Edinburgh and Dublin Philosophical Magazine and Journal of Science*, 41, 447-454. <https://doi.org/10.1080/14786447108640507>
- Suarasan, S., Focsan, M., Maniu, D., y Astilean, S. (2013). Gelatin–nanogold bioconjugates as effective plasmonic platforms for SERS detection and tagging. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 103, 475-481. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.10.046>

- Sukhanova, A., Bozrova, S., Sokolov, P., Berestovoy, M., Karaulov, A., y Nabiev, I. (2018). Dependence of nanoparticle toxicity on their physical and chemical properties. *Nanoscale Research Letters*, 13,44-65. <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2457-x>
- Suwalsky, M., González, R., Villena, F., Aguilar, L. F., Sotomayor, C. P., Bolognin, S., y Zatta, P. (2009). Structural effects of tetrachloroauric acid on cell membranes and molecular models. *Coordination Chemistry Reviews*, 253, 1599-1606. <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2009.02.001>
- Thanh, N. T. K., Maclean, N., y Mahiddine, S. (2014). Mechanisms of nucleation and growth of nanoparticles in solution. *Chemical Reviews*, 114, 7610-7630. <https://doi.org/10.1021/cr400544s>
- Trinh, L. T. T., Kjøniksen, A.-L., Zhu, K., Knudsen, K. D., Volden, S., Glomm, W. R., y Nyström, B. (2009). Slow salt-induced aggregation of citrate-covered silver particles in aqueous solutions of cellulose derivatives. *Colloid and Polymer Science*, 287, 1391-1404. <https://doi.org/10.1007/s00396-009-2100-6>
- Turkevich, J., Stevenson, P. C., y Hillier, J. (1951). A study of the nucleation and growth processes in the synthesis of colloidal gold. *Discussions of the Faraday Society*, 11, 55-75. <https://doi.org/10.1039/df9511100055>
- Tyagi, H., Kushwaha, A., Kumar, A., y Aslam, M. (2011). pH-dependent synthesis of stabilized gold nanoparticles using ascorbic acid. *International Journal of Nanoscience*, 10(04n05), 857-860. <https://doi.org/10.1142/s0219581x11009301>

- Tyndall, J. (1869). On the blue colour of the sky, the polarization of skylight, and on the polarization of light by cloudy matter generally. *Proceedings of the Royal Society of London*, 17, 223-233. <https://doi.org/10.1098/rspl.1868.0033>
- Umezawa, Y., Umezawa, K., Bühlmann, P., Hamada, N., Aoki, H., Nakanishi, J., Sato, M., Xiao, K. P., y Nishimura, Y. (2002). Potentiometric selectivity coefficients of ion-selective electrodes. Part II. Inorganic anions (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 74, 923-994. <https://doi.org/10.1351/pac200274060923>
- Vert, M., Doi, Y., Hellwich, K.-H., Hess, M., Hodge, P., Kubisa, P., Rinaudo, M., y Schué, F. (2012). Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012). *Pure and Applied Chemistry*, 84, 377-410. <https://doi.org/10.1351/pac-rec-10-12-04>
- Verwey, E. J. W. (1947). Theory of the stability of lyophobic colloids. *The Journal of Physical and Colloid Chemistry*, 51, 631-636. <https://doi.org/10.1021/j150453a001>
- Verwey, E. J. W., y Overbeek, J. T. G. (1948). *Theory of the stability of lyophobic colloids*. Elsevier, Amsterdam.
- Wang, Y., y Xia, Y. (2004). Bottom-up and top-down approaches to the synthesis of monodispersed spherical colloids of low melting-point metals. *Nano Letters*, 4, 2047-2050. <https://doi.org/10.1021/nl048689j>
- Ware, B. R. (1974). Electrophoretic light scattering. *Advances in Colloid and Interface Science*, 4, 1-44. [https://doi.org/10.1016/0001-8686\(74\)80001-1](https://doi.org/10.1016/0001-8686(74)80001-1)

- Weitz, D. A., Huang, J. S., Lin, M. Y., y Sung, J. (1984). Dynamics of diffusion-limited kinetic aggregation. *Physical Review Letters*, 53, 1657-1660.  
<https://doi.org/10.1103/physrevlett.53.1657>
- Wilcoxon, J. P., Martin, J. E., y Schaefer, D. W. (1989). Aggregation in colloidal gold. *Physical Review A: General Physics*, 39, 2675-2688.  
<https://doi.org/10.1103/physreva.39.2675>
- Wilke, S., y Zerihun, T. (2001). Standard Gibbs energies of ion transfer across the water|2-nitrophenyl octyl ether interface. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 515, 52-60. [https://doi.org/10.1016/s0022-0728\(01\)00640-4](https://doi.org/10.1016/s0022-0728(01)00640-4)
- Wojciechowski, K., Kucharek, M., Wróblewski, W., y Warszyński, P. (2010). On the origin of the Hofmeister effect in anion-selective potentiometric electrodes with tetraalkylammonium salts. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 638, 204-211.  
<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2009.11.015>
- Wu, C., y Wang, X. (1998). Globule-to-coil transition of a single homopolymer chain in solution. *Physical Review Letters*, 80, 4092-4094.  
<https://doi.org/10.1103/physrevlett.80.4092>
- Wu, J. (2022). Understanding the electric double-layer structure, capacitance, and charging dynamics. *Chemical Reviews*, 122, 10821-10859.  
<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.2c00097>
- Wu, L., Shi, C., Tian, L., y Zhu, J. (2008). A one-pot method to prepare gold nanoparticle chains with chitosan. *The Journal of Physical Chemistry C Letters*, 112, 319-323.  
<https://doi.org/jp076733o>

- Yang, J., Wang, X., Sun, Y., Chen, B., Hu, F., Guo, C., y Yang, T. (2022). Recent advances in colorimetric sensors based on gold nanoparticles for pathogen detection. *Biosensors*, 13, 29-51. <https://doi.org/10.3390/bios13010029>
- Zabetakis, K., Ghann, W. E., Kumar, S., y Daniel, M.-C. (2012). Effect of high gold salt concentrations on the size and polydispersity of gold nanoparticles prepared by an extended Turkevich–Frens method. *Gold Bulletin*, 45, 203-211. <https://doi.org/10.1007/s13404-012-0069-2>
- Zdrachek, E., y Bakker, E. (2021). Potentiometric sensing. *Analytical Chemistry*, 93, 72-102. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c04249>
- Zeng, F., Tong, Z., y Sato, T. (1999). Molecular chain properties of poly (N-isopropyl acrylamide). *Science in China Series B: Chemistry*, 42, 290-297. <https://doi.org/10.1007/bf02874245>
- Zheng, T., Bott, S., y Huo, Q. (2016). Techniques for accurate sizing of gold nanoparticles using dynamic light scattering with particular application to chemical and biological sensing based on aggregate formation. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 8, 21585-21594. <https://doi.org/10.1021/acsami.6b06903>
- Zhu, Q., Zhang, W., Cai, J., Li, J., Zhong, L., Pu, S., y Li, A. (2022). Morphology-controlled synthesis of gold nanoparticles with chitosan for catalytic reduction of nitrophenol. *Colloids and Surfaces. A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 640, 128471-128484. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128471>
- Zimm, B. H. (1948). The scattering of light and the radial distribution function of high polymer solutions. *The Journal of Chemical Physics*, 16, 1093-1099. <https://doi.org/10.1063/1.1746738>



# ANEXO





## PUBLICACIONES Y PRESENTACIONES A CONGRESOS

### a) Relacionados con el trabajo recogido en esta memoria

#### **Effect of large ammonium cations on the aggregation kinetics of citrate capped gold nanoparticles**

Carmen María Almagro-Gómez, Joaquín Ángel Ortuño, José García de la Torre, José Ginés Hernández-Cifre.

*Journal of Nanoparticle Research* 25 (2023) 175

DOI: 10.1007/s11051-023-05825-z

Presentado como comunicación tipo flash y póster en “II Symposium on Chemical and Physical Sciences for Young Researchers”. Murcia, Marzo 2022.

#### **Aggregation of Gold Nanoparticles in Presence of the Thermoresponsive Cationic Diblock Copolymer PNIPAA<sub>M</sub><sub>48</sub>-b-PAMPTMA<sub>6</sub>**

David Herrera Robalino, María del Mar Durán del Amor, Carmen María Almagro-Gómez, José Ginés Hernández-Cifre.

*Polymers* 13 (2021) 4066

DOI: 10.3390/polym13234066

Presentado como comunicación tipo flash y póster en “III Symposium on Chemical and Physical Sciences for Young Researchers”. Murcia, Junio 2023.

#### **Real-Time Potentiometric Monitoring of Tetrachloroaurate(III) with an Ion-Selective Electrode and Its Applications to H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> Iodide-Catalyzed Reduction by Hydroxylamine**

Carmen María Almagro-Gómez, José Ginés Hernández-Cifre, Joaquín Ángel Ortuño.

*Chemosensors* 12 (2024) 95

DOI: 10.3390/chemosensors12060095

Presentado como comunicación tipo póster en “XIX Simposio de Jóvenes Investigadores Químicos de la RSEQ”. Murcia, Noviembre 2023.

Presentado como comunicación tipo oral en “VIII Jornadas Doctorales de la Universidad de Murcia”. Murcia, Junio 2023.

### **b) No relacionados con el trabajo recogido en esta memoria**

#### **A sustainable amperometric biosensor for the analysis of ascorbic, benzoic, gallic and kojic acids through catechol detection. Innovation and signal processing**

Ana Casanova, María Cuartero, Yolanda Alacid, Carmen María Almagro-Gómez, Francisco García-Cánovas, María S. García, Joaquín Ángel Ortuño.

*Analyst* 145 (2020) 3645

DOI: 10.1039/c9an02523e

Presentado como comunicación tipo póster en “I Symposium on Chemical and Physical Sciences for Young Researchers”. Murcia, Abril 2020.

#### **Calculation of the friction, diffusion and sedimentation coefficients of nanoplatelets of arbitrary shape**

José Ginés Hernández-Cifre, Ricardo Rodríguez-Schmidt, Carmen María Almagro-Gómez, José García de la Torre.

*Polymer* 262 (2022) 125467

DOI: 10.1016/j.polymer.2022.125467