V.24 N.03



Influencia del ácido ascórbico en el crecimiento de nanorods de oro con banda de plasmón longitudinal en el infrarrojo cercano-NIR

Acid ascorbic influence in gold nanorods growth with longitudinal plasmon band in near infrared – NIR

Luis Manuel Angelats-Silva¹, Fredy Pérez Azahuanche¹, Henry León León¹, Sixto Prado Gardini¹, Rider Alayo²

¹ Laboratorio de Investigación Multidisciplinaria, Universidad Privada Antenor Orrego-Av. América Sur 3145, Trujillo, La Libertad, Perú.

e-mail: langelatss@upao.edu.pe, hleonl@upao.edu.pe, fpereza@upao.edu.pe, spradog@upao.edu.pe

² Escuela de Física, Universidad Nacional de Trujillo, Av. Juan Pablo II s/n, Ciudad Universitaria, Trujillo, La Libertad, Perú.

e-mail: riderfa@gmail.com

RESUMEN

El presente trabajo reporta el efecto de la concentración $(0,60-0,98 \ \mu\text{M})$ de ácido ascórbico sobre la razón de aspecto (RA) de nanorods de oro con bandas de plasmón longitudinal (PL) en el infrarrojo cercano (958 – 1085 nm), crecidos por ruta química mediado por semillas. Como agente precursor se usó ácido cloroáurico tri-hidratado (HAuCl₄.3H₂O) obtenido a partir de oro metálico de alta pureza (99.99%) disuelto agua regia. Como agentes surfactantes fueron utilizados cloruro de bencildimetilhexadecilamonio (BDAC) y bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) a una razón molar de 0,75 (BDAC/CTAB). Imágenes por microscopia electrónica de barrido implementado con un detector de electrones transmitidos y los espectros de absorción, revelaron que la RA se alcanza un máximo de 7,3 y una banda de PL de 1085 nm para una concentración crítica de ácido ascórbico de 0,75 μ M, equivalente a una razón molar de AA/Au³⁺ de 1,5. Mayor incremento de ácido ascórbico hasta 0,98 μ M, la RA disminuye hasta 6 y consecuentemente, su banda de PL disminuye hasta 958 nm.

Palabras clave: Nanorods de oro, razón de aspecto, banda de plasmón longitudinal.

ABSTRACT

The present work reports the ascorbic acid effect (0,60-0,98 μ M) on the aspect ratio (AR) of gold nanorods with bands of longitudinal plasmon (LP) in the near infrared (958 - 1085 nm), grown by seed-mediated chemical route. Cloroauric acid-1mM as precursor agent was used, obtained from a stock solution prepared by dissolving metallic gold (99,99%) in aqua regia. Benzyldimethylhexadecylammonium chloride (BDAC) and cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) at molar ratio 0,75 (BDAC/CTAB) as surfactants were used. Scanning electron microscopy images implemented with a transmitted electron detector and absorption spectra revealed that the AR reaches a maximum of 7,3 and a band of PL of 1085 nm for a critical concentration of ascorbic acid of 0,68 μ M, equivalent to a molar AA/Au³⁺ of 1,5. As ascorbic acid increase to 0,98 μ M, the AR decreases up to 6 and consequently, its PL band decreases up to 958 nm.

Keywords: Gold nanorods, aspect ratio, longitudinal plasmon band.

1. INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas de oro en forma de barras, conocida en la literatura científica como nanorods, son cada vez de mayor interés por sus interesantes propiedades ópticas, que lo hacen potenciales candidatos para aplicaciones biomédicas [1-4]. Una de las grandes ventajas de estas nanopartículas es que la razón de aspecto (RA) definido como el cociente longitud/diámetro, y como consecuencia, su banda de absorción de plasmón en el modo longitudinal (BPL), puede ser fácilmente modificado por métodos químicos sencillos empleando sales metálicas y surfactantes (micelas) bajo la acción de agentes reductores de iones de oro contenidos en soluciones precursoras [5-7]. Por ejemplo, NIKOOBAKHT *et al.* [5], SHI *et al.* [6] y ANGELATS *et al.* [7], hicieron uso de nitrato de plata, como inhibidor, y ácido ascórbico como agente reductor débil dentro de una solución de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) como único surfactante, o mezclado con bromuro de tetraoctilamonio (TOAB) a fin de direccionar el crecimiento alargado.

El proceso de crecimiento de nanorods de oro por ruta química mediado por semillas, involucra la reducción de iones de oro (Au³⁺) presentes en una solución acuosa de ácido cloroáurico, donde los correspondientes átomos reducidos forman clúster sub-nanométricos en una primera etapa de nucleación; luego, los subsecuentes átomos de Au reducidos se adhieren a estas partículas existentes, originando el crecimiento de las nanopartículas. El NaBH₄ es un fuerte agente reductor de Au³⁺, pero conduce mayormente a partículas muy pequeñas, por lo que es utilizado principalmente para síntesis de nanoesferas. El ácido ascórbico es un agente reductor controlable, que en presencia de nitrato de plata y micelas, permite un mejor control de la razón de aspecto de nanorods de oro, debido a una menor diferencia entre los potenciales redox (Δ E) de las dos semi-reacciones (reducción del ion Au y oxidación del ion ascorbato, H₂A) [8]. Algunos autores consideran que ácido ascórbico es un agente reductor parcial (Au³⁺ a Au⁺) [8-10]; otros, como un agente reductor de Au³⁺ a Au⁰, pero con baja cinética de reacción [6].

Los nanorods de oro con BPL en la región del infrarrojo cercano (NIR), podrían ser empleados en la aplicación en el diagnóstico y tratamiento de cáncer por terapia fototérmica con láser infrarrojo (IR), considerando que el tejido humano posee una mejor transparencia en esta región del espectro electromagnético. Es así que, como contribución científica, en el presente trabajo reportamos el efecto de la concentración de ácido ascórbico en la razón de aspecto de nanorods de oro con bandas de plasmón longitudinal dentro del NIR, los cuales fueron crecidos por ruta química mediado por "semillas" (nanoesferas de oro) a partir del precursor HAuCl₄.3H₂O y en presencia de una mezcla de micelas de CTAB y BDAC. Los resultados son discutidos sistemáticamente a fin de esclarecer el rol que cumple el ácido ascórbico en el crecimiento de nanopartículas de oro alargadas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Materiales

Como fuente de iones de Au³⁺ se usó un precursor de ácido cloroáurico trihidratado (HAuCl₄.3H₂O), el cual fue obtenido en nuestro laboratorio y reportado en una publicación previa por el autor [7]. Borohidruro de sodio (NaBH₄) (Sigma-Aldrich) y L(+)-ácido ascórbico (C₆H₈O₆) (Merck) fueron empleados como agentes reductores. Bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) (Sigma-Aldrich) y cloruro de bencildimetilhexadecilamonio (BDAC) (Sigma-Aldrich) se usaron como agentes surfactantes; y nitrato de plata (AgNO₃) (Merck) como agente de control en el crecimiento de los nanorods. En todas las soluciones se utilizó agua desionizada de 18,2 MΩ-cm. Ácido clorhídrico (HCl-0,1M) fue empleado para la limpieza de todos los materia-les de vidrio, seguido de un enjuague con agua destilada y secado en una estufa a 120 °C.

2.2 Síntesis de nanoesferas ("semillas") de oro

Los coloides de semillas de oro se prepararon añadiendo lentamente 2,5 mL de una solución de ácido cloroáurico (1,0 mM) a 5,0 mL de solución de CTAB (0,20 M) bajo agitación magnética a temperatura ambiente. A esta mezcla, se añadió 1,70 mL de solución fría (1°C aprox.) de NaBH₄ (0,010 M) bajo agitación vigorosa durante 5 minutos, observándose una solución de color marrón claro. Esta solución se utilizó dentro de los 10 minutos después de su preparación.

2.3 Crecimiento de nanorods de oro modificando la concentración de ácido ascórbico (AA)

Previamente se preparó una solución acuosa de BDAC/CTAB a una razón molar de 0,75; para lo cual 1,780 g de BDAC se disolvió en 30 mL de solución de CTAB-0,20 M bajo agitación ultrasónica a 40°C durante 30 minutos, verificando una completa disolución. La solución de BDAC/CTAB, fue distribuida en seis tubos de ensayo (5 mL cada uno); a cada tubo se le agregó 5,0 mL del precursor ácido cloroáurico a 1,0 mM, observándose un color naranja intenso; a continuación, se adicionó 500 µL de nitrato de plata (4,0 mM), seguido

de ácido ascórbico (AA) (78,8 mM) en volúmenes desde 80 a 130 μ L, con incremento de 10 μ L en cada tubo (concentraciones finales equivalentes de 0,60, 0,68, 0,75, 0,83, 0,90 y 0,98 μ M, respectivamente. Los tubos fueron agitados bajo una suave inversión manual hasta que la solución se tornó incolora. Finalmente, se agregó 42 μ L de semillas de oro seguido de una agitación por inversión manual tres veces y dejando luego en reposo. Después de 170 minutos aproximadamente, se observó coloración de rosa pálido en coloides con AA mayores 0,75 μ M. Luego de 24 h, todos los coloides mostraron un color rojo vino, cuya intensidad de color incrementa con el aumento de concentración de ácido ascórbico. Cada suspensión coloidal fue centrifugada por dos veces a 7690*g* durante 30 minutos y a 35°C con el fin de eliminar el exceso de los surfactantes (CTAB y BDAC). Para todos los casos, los pellets fueron re-suspendidos en agua ultra pura y homogenizados bajo agitación ultrasónica durante 2 minutos, quedando listos para la respectiva caracterización.

2.4 Mediciones y caracterización

Se determinaron espectros de absorbancia óptica de los coloides de nanorods de oro mediante un espectrofotómetro UV-vis Lambda 750 Perkin-Elmer a temperatura ambiente, en el rango de longitudes de onda de 300 a 1350 nm, con incrementos de 1 nm; para lo cual se usaron celdas de cuarzo de 10 mm de longitud de trayectoria del haz de luz. Las mediciones de distribución de tamaño y polidispersidad de las nanoesferas de oro (semillas) fueron determinadas por dispersión de luz dinámica, con un equipo Nicomp Nano Z3000. El mismo que fue empleado para determinar los potenciales Z mediante la aplicación un campo eléctrico de 4 V/cm. La morfología y razón de aspecto fueron analizadas con un microscopio electrónico de barrido (MEB) Vega 3 LMU-Tescan, implementado con un detector de electrones transmitidos (MEB-ET). Para este estudio, se depositaron 4 µL de cada coloide sobre rejillas de cobre recubiertas con film de carbón, y aplicando un voltaje de 30 kV para todas las muestras.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A continuación discutimos los resultados del proceso de crecimiento de nanorods de oro por ruta química mediado por "semillas" de oro, variando la concentración molar del ácido ascórbico $(0,60 - 0,98 \ \mu\text{M})$ en la solución de crecimiento conteniendo HAuCl₄.3H₂O (1,0 mM), AgNO₃ (4,0 mM) y la mezcla de surfactantes BDAC y CTAB a una razón molar BDAC/CTAB de 0,75. En la Figura 1 se muestra previamente el espectro de absorbancia UV-vis, imagen por MEB-ET (obtenida con campo oscuro), y distribución de tamaño de las semillas coloidales empleadas en el proceso de crecimiento de los nanorods. La banda de plasmón alrededor de 500 nm (Fig. 1a) y su morfología (Fig. 1b), confirmaron semillas de oro en forma de nanoesferas con tamaño promedio de 15 nm.



Figura 1: (a) Banda de plasmón característico de las semillas (nanoesferas) de oro; (b) imagen MEB-ET (campo oscuro) revelando nanoesferas y su distribución de tamaño con un valor promedio de 15 nm aproximadamente.

En la Figura 2a se muestran los espectros de absorción típicos de los nanorods de oro. El pico de absorción alrededor de 530 nm corresponde a la resonancia de plasmón transversal, propias de las nanoesferas de oro; las bandas de absorción en el infrarrojo cercano (entre 900 y 1100 nm), corresponden a la resonancia de plasmón longitudinal identificada como $\lambda_{máx}$. Esta banda de plasmón se desplaza hasta un máximo en 1085 nm conforme se incrementa el AA hasta 0,75 µM; para mayores concentraciones de AA, el plasmón longitudinal regresa hacia el azul (*blue-shift*), sugiriendo nanorods con menor razón de aspecto (RA), tal como se puede observar en la figura 2b. En la figura 3 se revelan imágenes de nanorods de oro crecidos con AA de 0,68, 0,75 y 0,83 μ M, asociados a una razón de aspecto de 7,2, 7,4 y 6,5, respectivamente. Estas razones de aspecto fueron calculadas a partir de las dimensiones de ancho y longitud en un área definida de las imágenes ampliadas. En todos los casos, se observó formación de nanoesferas como sub-producto, siendo en mayor cantidad para la concentración de AA de 0,60 μ M, lo cual es coherente con el intenso pico correspondiente al modo transversal mostrado en el espectro UV-vis de la Figura 2a.



Figura 2: (a) Espectros UV-vis de absorción de nanorods de oro, (b) efecto del AA sobre la banda de plasmón longitudinal, $\lambda_{máx}$ y la razón de aspecto (RA).



Figura 3: Imágenes por MEB-ET de nanorods de oro crecidos con (a) $0,68 \mu$ M, (b) $0,75 \mu$ M y (c) $0,83 \mu$ M de AA.

En diversos trabajos se ha reportado que el pH es un factor crucial en el crecimiento de nanorods de oro por ruta química -mediado por semillas-, debido a la fuerte influencia que tiene sobre el poder reductor del AA y la forma de las nanopartículas de oro. Así por ejemplo, Q. Wei y col., reportaron que para valores bajos de pH (~3,5), se obtienen nanorods de oro con mayor razón de aspecto en presencia iones de plata, AA y únicamente CTAB como surfactante en la solución de crecimiento [11]; mientras que Ch. Wang y col., usando nanorods de oro como semillas en la solución de crecimiento con AA y búfer de glicina, obtuvieron nanorods de oro con una banda de plasmón longitudinal máxima alrededor de 725 nm para un cierto valor crítico de pH [12]. En el presente estudio, los nanorods de oro obtenidos con mayor de razón de aspecto (7,4), corresponde para una concentración de AA de 0,75 μ M, que resultó con menor pH (4,71) (figura 4). Las soluciones con mayor concentración de AA $(0.83 - 0.98 \mu M)$ y con valores más altos de pH $(5.27 - 0.98 \mu M)$ 5,30), mostraron nanorods de oro más cortos, pero con mayor formación de nanoesferas como sub-producto. Considerando que el AA es un reductor mucho más débil en condiciones ácidas fuertes (~pH 2,5) que en solución de acidez débil (~pH 6,7), la rapidez de crecimiento resultó más lenta para pH 4,71 (solución con AA 0,75 μ M) que para valores de pH entre 5,27 y 5,30 (soluciones con AA 0,83 – 0,98 μ M). Esto se pudo observar a simple vista por el cambio de color de la solución. Los tubos de ensayo con AA por encima de $0.75 \ \mu\text{M}$ y pH sobre 4.71, cambiaron a color rosa pálido a los 170 minutos después de agregar las semillas, mientras que para pH menores a 4,71, el color cambió a rojo después de aproximadamente 24 h. Posiblemente, en condiciones de bajo pH, el Au⁺ se redujo lentamente a Au⁰, siendo estos átomos absorbidos selectivamente en las caras cristalinas {110} de las semillas regulado por los iones Br^- del CTAB; adicionalmente, la repulsión entre los rods se refuerza debido a la mayor concentración de H^+ en la solución, por lo que para AA con 0,75µM, con pH de 4,71, resultaron mayor razón de aspecto. Por el contrario, si la rapidez de reducción es acelerada, como es el caso presentado para soluciones con pH sobre 4,71, se obtuvieron nanorods con bajo razón de aspecto y otros subproductos en forma de nanoesferas.



Figura 4:Relación entre la razón de aspecto, AA y pH.

Figura 5: Relación entre el potencial Z, AA y pH.

Los iones de plata Ag^+ pueden también jugar un rol importante en el crecimiento alargado de nanopartículas de oro en presencia de AA y surfactantes CTAB y BDAC. Algunos autores reportaron que los iones Ag^+ procedentes del nitrato de plata, controlan el crecimiento enlongado de los nanorods de oro debido al apareamiento con los iones Br^- (procedente del CTAB) en forma de Ag-Br. Estos compuestos se depositan en los planos laterales [110] de los cristales de oro, causando la disminución de su energía superficial y en consecuencia, inhibe su crecimiento lateral [7,10]. El incremento de la concentración de nitrato de plata hasta un valor crítico, hace que más iones de Ag^+ se depositen en la cara lateral [110], lo que favorece su crecimiento en la dirección {111}, y por lo tanto, resultan nanorods con mayor razón de aspecto. Sin embargo, en nuestro caso, las concentraciones de AA sobre los 0,75 µMm, provocaron una disminución de iones de Ag^+ debido posiblemente a su reducción por los iones ascorbato (HA⁻) en exceso, cuya acción reductora se incrementa en medios de acidez débil [13]; en consecuencia, la rapidez de crecimiento en la dirección {111} disminuye, lo que da origen al crecimiento de nanorods con menores razón de aspecto.

Por otro lado, el potencial Z refleja la carga presente en la superficie de las nanopartículas en suspensión, y su magnitud es un indicador de la estabilidad coloidal si su valor se encuentra sobre ± 25 mV. En este estudio, las magnitudes de potencial Z fueron determinadas aplicando un campo eléctrico de 4 V/cm con electrodos de platino en soluciones coloidales de 1,5 mL. Como se puede observar en la figura 5, el potencial Z aumenta desde +33.60 mV hasta un valor máximo de +48,06 mV, que corresponde a nanorods de oro obtenidos con 0,75 μ M de AA, con mayor razón de aspecto y con un pH de 4,71. Por lo tanto, estos nanorods serían más estables en el tiempo; es decir, sin riesgo de agregación ni modificación de su geometría. Para mayores concentraciones de AA, el potencial Z decrece hasta un valor de +40,03 mV. La carga catiónica mostrada en todos los casos, es debido a la presencia de la bicapa de ambos surfactantes (micelas de CTAB y BDAC) con carga positiva, depositada sobre la superficie de estas nanopartículas de oro.

4. CONCLUSIONES

En el presente estudio, los nanorods de oro mostraron dos bandas de plasmón característicos alrededor de 530 nm y en el infrarrojo cercano entre 900 y 1100 nm. La mayor razón de aspecto de 7,4, con un máximo plasmón longitudinal en 1085 nm, corresponde a nanorods de oro obtenidos con una concentración de ácido ascórbico de 0,75 µM. Con el incremento de ácido ascórbico, los nanorods presentaron una disminución en la razón de aspecto, probablemente por el exceso de iones ascorbato que actúan como agentes reductores de los iones de plata, los cuales son absorbidos por los planos [110] permitiendo el crecimiento en la dirección

{111}.

5. AGRADECIMIENTO

Los autores agradecen al Ministerio de la Producción a través del Programa Nacional INNOVATE PERÚ por su financiación mediante el convenio 411-PNICP-PIAP-2014.

6. BIBLIOGRAFÍA

[1] ABADEER, N., MURPHY, C., "Recent Progress in Cancer Thermal Therapy using Gold Nanoparticles", *The Journal Physical Chemistry C*, v. 20, n. 9, pp. 4691–4716, Feb. 2016.

[2] RAYAVARAPU, R.G., KRYSTEK, P., OOMEN, A.G., *et al.*, "Blood clearance and tissue distribution of PEGylated and non-PEGylated gold nanorods after intravenous administration in rats", *Nanomedicine*, v. 6, n. 2, pp. 339–349, Feb. 2011.

[3] KUMAR, A., ZHANG, X., LIANG, J.X., "Gold nanoparticles: Emerging paradigm for targeted drug delivery system", *Biotechnology Advances*, v. 31, n. 5, pp. 593–606, Sep. 2013.

[4] LEE, J., CHATTERJEE, D.K., LEE, M.H., *et al.*, "Gold nanoparticles in breast cancer treatment: Promise and potential pitfalls", *Cancer Letters*, v. 347, n. 1, pp. 46–53, May. 2014.

[5] NIKOOBAKHT, B., EL-SAYED, M., "Preparation and Growth Mechanism of Gold Nanorods (NRs) Using Seed-Mediated Growth Method", *Chemistry of Materials*, v. 15, n. 10, pp. 1957-1962, Apr. 2003.

[6] SHI, W., CASAS, J., VENKATARAMASUBRAMANI, M., *et al.*, "Synthesis and Characterization of Gold Nanoparticles with Plasmon AbsorbanceWavelength Tunable fromVisible to Near Infrared Region", *ISRN Nanomaterials*, v. 2012, pp. 1-9, Jun. 2012.

[7] ANGELATS-SILVA, L., ASMAT-CAMPOS, D., LEÓN-LEÓN H., et al., "Synthesis of Colloidal Gold Nanorods with Plasmon Absorbance Wavelength in the Near Infrared Region", *MRS Advance*, v. 1, n. 30, (Nanotechnology), pp. 2181-2186, Jun. 2016.

[8] SHARMA, V., PARK, K. y SRINIVASARAO, M., "Colloidal dispersion of gold nanorods: Historical background, optical properties, seed-mediated synthesis, shape separation and self-assembly", *Materials Science and Engineering R*, v. 65, pp.1-38, Apr. 2009.

[9] MIRANDA, O.R., DOLLAHON, N. R., AHMADI, T.S., "Critical Concentrations and Role of Ascorbic Acid (Vitamin C) in the Crystallization of Gold Nanorods within Hexadecyltrimethyl Ammonium Bromide (CTAB)/Tetraoctyl Ammonium Bromide (TOAB) Micelles", *Crystal Growth & Design*, v. 6, n. 12, pp. 2747-2753, Oct. 2006.

[10] KHAI LING, K., ABDUL RAZAK, K., ABDUL AZIZ, A., "Crecimiento de núcleos de nanovarillas de oro para aplicaciones de diagnóstico", *Rev. CENIC-Ciencias Químicas*, v. 41, n. 4, pp. 1-11, 2010.

[11] WEI, Q., JI, J., SHEN, J., "pH Controlled Synthesis of High Aspect-Ratio Gold Nanorods", *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, v. 8, n. 11, pp. 5708–5714, Nov. 2008.

[12] WANG, CH., WANG, T., MA, Z., *et al.*, "pH-tuned synthesis of gold nanostructures from gold nanorods with different aspect ratios", *Nanotechnology*, v. 16, n. 11, pp. 2555–2560, Nov. 2005.

[13] JANA, N.R., GEARHEART, L. y MURPHY, C., "Seed-Mediated Growth Approach for ShapeControlled Synthesis of Spheroidal and Rod-like Gold Nanoparticles Using a Surfactant Template", *Adv. Mater.* v. 13, n. 18, pp. 1389-1392, Sept. 2001.

ORCID

Luis Manuel Angelats-Silva Fredy Pérez Azahuanche Henry León-León Sixto Prado Gardini Rider Alayo https://orcid.org/0000-0002-0989-9249 https://orcid.org/0000-0002-8810-9224 https://orcid.org/0000-0002-7873-3760 https://orcid.org/0000-0002-9135-2663 https://orcid.org/0000-0001-5419-1218