

# Trabajo Fin de Grado

## Grado en Ingeniería de las Tecnologías Industriales

### Síntesis, Caracterización y Funcionalización de Nanopartículas de $\text{DyVO}_4$ y $\text{HoVO}_4$

Autor: Alberto Pérula Jiménez

Tutora: Dra. Nuria O. Núñez Alvarez

Tutora ponente: Dra. Fátima Ternero Fernández

Dep. de Ingeniería y Ciencia de los Materiales y  
del Transporte  
Escuela Técnica Superior de Ingeniería  
Universidad de Sevilla

Sevilla, 2017



Trabajo Fin de Grado  
Grado en Ingeniería de las Tecnologías Industriales  
Intensificación de Materiales

# Síntesis, caracterización y funcionalización de nanopartículas de $\text{DyVO}_4$ y $\text{HoVO}_4$

Autor:

Alberto Pérula Jiménez

Tutora:

Dra. Nuria O. Núñez Alvarez

Tutora ponente:

Dra. Fátima Ternero Fernández

Dep. de Ingeniería y Ciencia de los Materiales y del Transporte

Escuela Técnica Superior de Ingeniería

Universidad de Sevilla

Sevilla, 2017

Trabajo Fin de Grado: Síntesis, caracterización y funcionalización de nanopartículas de DyVO<sub>4</sub> y HoVO<sub>4</sub>

Autor: Alberto Pérula Jiménez  
Tutora: Dra. Nuria O. Núñez Alvarez  
Tutora ponente: Dra. Fátima Ternero Fernández

El tribunal nombrado para juzgar el Trabajo arriba indicado, compuesto por los siguientes miembros:

Presidente:

Vocales:

Secretario:

Acuerdan otorgarle la calificación de:

Sevilla, 2017

El Secretario del Tribunal

# Resumen

---

Un tema de gran interés en la actualidad es el desarrollo de nuevos procedimientos de síntesis que sean capaces de producir nanopartículas (<100 nm) de  $\text{HoVO}_4$  y  $\text{DyVO}_4$  coloidalmente estables en medio fisiológico. Así pues, en el presente trabajo se aborda la síntesis de este tipo de materiales mediante reacciones de precipitación homogénea, por envejecimiento a  $120^\circ\text{C}$  durante 20 horas de disoluciones conteniendo como precursores el acetato de disprosio o acetato de holmio, vanadato de sodio y ácido poliacrílico (PAA), utilizando una mezcla EG:H<sub>2</sub>O como disolvente. Las partículas obtenidas presentaron forma esférica con tamaño inferior a 100 nm y cristalizaron con estructura tetragonal. Además, se consiguió incorporar el PAA durante el proceso de síntesis permitiendo unificar en una sola etapa tanto la obtención de nanopartículas uniformes de  $\text{DyVO}_4$  y  $\text{HoVO}_4$  como la funcionalización de las mismas con un grupo orgánico hidrofílico. Dicha funcionalización proporcionó a las nanopartículas obtenidas una gran estabilidad coloidal frente a la agregación en medio fisiológico cumpliendo así uno de los requisitos más importantes para sus posibles aplicaciones biotecnológicas.

# Índice

---

1. Introducción
2. Objetivos
3. Material y metodología
  - 3.1 Método de síntesis
  - 3.2 Reactivos
  - 3.3 Procedimiento experimental
  - 3.4 Técnicas de caracterización
4. Resultados y Discusión
  - 4.1 Síntesis y caracterización de las nanopartículas de  $\text{DyVO}_4$ .
  - 4.2 Síntesis y caracterización de las nanopartículas de  $\text{HoVO}_4$ .
  - 4.3 Estabilidad coloidal de las nanopartículas sintetizadas.
5. Conclusiones
6. Bibliografía



# 1 Introducción

---

Se denominan lantánidos (Ln) a los elementos de la tabla periódica que van desde el lantano (número atómico 57) hasta el lutecio (número atómico 71). Estos elementos, además, integran junto al itrio (Y) y al escandio (Sc) el conjunto de elementos conocidos como “tierras raras” (RE). En este trabajo tratamos sobre los lantánidos los cuales poseen un comportamiento químico análogo, aunque sus propiedades físicas son muy diferentes. Dentro de esta familia, el estado de oxidación más estable es el trivalente y comenzando por el lantano hasta el lutecio, la configuración electrónica del elemento es una continuación de la del xenón  $[\text{Xe}]4f^n$ , a partir de la cual se van llenando de forma progresiva los orbitales 4f. Estos orbitales quedan apantallados por otros más externos como el 5d y el 6s, y de esta forma las interacciones sobre los electrones 4f producidas por iones cercanos de la matriz son relativamente débiles. Ello justifica las propiedades magnéticas y ópticas características que presentan estos elementos y los compuestos de los que forman parte.

Los compuestos basados en tierras raras son actualmente objeto de una gran atención ya que presentan importantes aplicaciones en varios campos de la ciencia y la tecnología incluyendo la optoelectrónica (láseres, guías de onda, pantallas de plasma, etc.)<sup>[1-3]</sup> y la biotecnología (agentes de contraste, biosensores, biomarcadores, liberación controlada de fármacos, etc.)<sup>[1,4]</sup> por mencionar algunas.

La técnica de obtención de imágenes por resonancia magnética (siglas en inglés MRI) es muy utilizada en la práctica médica para obtener imágenes de alta resolución del interior del cuerpo humano. De forma simplificada, esta tecnología se basa en la respuesta que presenta el átomo de hidrógeno (protón) del agua contenida en órganos y tejidos del cuerpo en presencia de un campo magnético cuando este recibe un pulso de un transmisor de radiofrecuencia. Así, el campo magnético provoca que los átomos de hidrógeno se comporten como imanes, alineándose a lo largo de dicho campo. Una vez desaparecido el pulso se produce la alteración de la alineación de los protones desde el eje longitudinal al eje transversal al campo magnético y se mide el tiempo que tarda en recuperar su posición inicial, siendo T1 el tiempo de relajación longitudinal o relajación espín-red y T2 el tiempo de relajación transversal o relajación espín-espín. Resultado de esta interacción, y gracias a que el cuerpo humano está formado en más de un 60% por agua, se pueden obtener imágenes anatómicas internas en formato escala de grises.

Para aumentar el contraste de las imágenes obtenidas mediante resonancia magnética se utilizan

agentes de contraste. La eficacia de estos agentes de contraste dependerá de sus valores de relajatividad magnética ( $r_1$  y  $r_2$ ), cuya magnitud se calcula a partir de las pendientes de las rectas obtenidas al representar los valores de  $1/T_1$  y  $1/T_2$  frente a la concentración de agente de contraste. Cuando la relación  $r_2/r_1$  es baja ( $<10$ ), las imágenes de resonancia magnética se vuelven más claras conforme va aumentando la concentración del agente de contraste por lo que se denomina contraste positivo o agentes de contraste T1 (contraste claro). Por otro lado, existen los agentes de contraste negativo o agentes de contraste T2 (contraste oscuro) que actúan de forma contraria, es decir, las imágenes de resonancia magnética se vuelven más oscuras con el aumento de la concentración del agente de contraste. Estos últimos presentan una alta relación  $r_2/r_1$  ( $>10$ )<sup>[5]</sup>.

Hasta ahora, los compuestos comerciales más utilizados en resonancia magnética para el diagnóstico clínico son diversos complejos paramagnéticos de gadolinio<sup>[6,7]</sup> (agentes T1), aunque también se utilizan nanopartículas de óxido de hierro superparamagnético que actúan como agente de contraste T2<sup>[8,9]</sup>. Para ambos tipos de agentes, las exploraciones de resonancia magnética se registran a campos magnéticos bajos ( $<3T$ ) porque para campos magnéticos superiores a 3T pierden eficacia<sup>[Error! Marcador no definido.]</sup>. Por ejemplo, en los complejos de  $Gd^{3+}$  el valor de  $r_1$  disminuye a  $r_1/3$  para campos magnéticos de 3T y en el caso de las nanopartículas de óxido de hierro éstas sufren saturación de la magnetización a 1.5T y por tanto no es posible aumentar la magnitud de  $r_2$ .

La tendencia actual en diagnóstico clínico por MRI es el empleo de campos magnéticos elevados pues permiten obtener mayor resolución en las imágenes, mejor relación señal/ruido y tiempos de adquisición de imágenes más cortos<sup>[10,11,5]</sup>. Sin embargo la disponibilidad de agentes de contraste de alto campo es muy limitada. Así pues, una alternativa interesante para este tipo de agentes de contraste son los compuestos de holmio (Ho) y disprosio (Dy) para los cuales la magnetización no satura a campos magnéticos superiores a 3T y además, sus momentos magnéticos son los más elevados entre todos los elementos lantánidos y se incrementan con la magnitud del campo. Sobre esta base, Zhang et al.<sup>[12]</sup> han puesto de manifiesto en un trabajo reciente la utilidad de nanopartículas de  $NaDyF_4$  y  $NaHoF_4$  para la obtención de imágenes de resonancia magnética a un campo magnético de 9.4T.

Hay que mencionar que para que estos materiales puedan utilizarse en el campo de la biomedicina, éstos tienen que cumplir una serie de requisitos. Así, dichos materiales deben estar constituidos por partículas uniformes con forma y tamaño controlado, para aplicaciones “in vivo”



es necesario que las partículas no sean tóxicas y que sean de tamaño nanométrico (inferiores a 100 nm) para que puedan ser eliminadas posteriormente vía renal sin causar problemas de acumulación en el organismo<sup>[13]</sup>; y además, dichas partículas deben presentar alta estabilidad coloidal en medio fisiológico. Para que se cumpla este último requisito, usualmente, es necesario llevar a cabo un tratamiento superficial de las partículas mediante un proceso de funcionalización con diversas moléculas orgánicas que además de mejorar la estabilidad de las mismas, proporcionan puntos de anclaje para la posterior bioconjugación con otras moléculas de interés biológico<sup>[1,3,14]</sup>.

Los nanomateriales basados en REVO<sub>4</sub> han sido muy estudiados en relación con su uso en diversas aplicaciones biomédicas como sondas luminiscentes<sup>[15-17]</sup> y como agentes de contraste (RE = Gd) para MRI de bajo campo<sup>[8,18,19]</sup>. Sin embargo, la aplicabilidad del HoVO<sub>4</sub> y DyVO<sub>4</sub> como agentes de contraste a alto campo no ha sido evaluada probablemente debido a la escasez de métodos de síntesis de estos materiales con las características adecuadas para este tipo de aplicaciones. Así, en la bibliografía se pueden encontrar diversos trabajos de síntesis de partículas de estos materiales<sup>[20-23]</sup>, pero todos ellos han dado lugar a la formación de partículas de tamaño micrométrico. Solamente hay un trabajo publicado de síntesis de nanopartículas de estos materiales que emplean ácido oleico como surfactante<sup>[24]</sup>. Debido a las propiedades químicas de este surfactante, las nanopartículas obtenidas son de naturaleza hidrofóbica, por lo que no pueden dispersarse en agua y requerirían una modificación superficial adicional (ya sea intercambio de ligando, oxidación de los ligandos, recubrimiento posterior con un material inerte y biocompatible como el SiO<sub>2</sub><sup>[25]</sup>, etc.) para hacerlas hidrofílicas y así, ser útiles para aplicaciones biotecnológicas.

De lo expuesto anteriormente, se deduce que constituye un tema de gran interés en la actualidad el desarrollo de nuevos procedimientos de síntesis que sean capaces de producir nanopartículas (<100 nm) de HoVO<sub>4</sub> y DyVO<sub>4</sub> coloidalmente estables en medio fisiológico. En este contexto se plantean como principales objetivos para este trabajo los expuestos en el siguiente apartado.

## 2 Objetivos

---

1) Síntesis de nanopartículas uniformes de  $\text{DyVO}_4$  y  $\text{HoVO}_4$ , funcionalizadas con grupos carboxílicos proporcionados por el ácido poliacrílico (PAA) mediante un método de precipitación homogénea en medio poliol y en presencia de PAA.

2) Caracterización morfológica (tamaño y forma) y estructural de las nanopartículas sintetizadas.

3) Estudio de la estabilidad coloidal de las nanopartículas funcionalizadas en medio fisiológico con vistas a sus posibles aplicaciones biotecnológicas.

# 3 MATERIAL Y METODOLOGÍA

## 3.1. Método de síntesis

El método de síntesis empleado en este trabajo para la obtención de las nanopartículas de  $\text{DyVO}_4$  y  $\text{HoVO}_4$  se basa en reacciones de precipitación homogénea, las cuales se llevaron a cabo mediante procesos de liberación controlada de los cationes o aniones precipitantes a temperaturas moderadas. No obstante, el requisito de precipitación homogénea no es suficiente para asegurar la formación de partículas uniformes. Para que se produzca la formación de sólidos monodispersos (forma y tamaño de partícula uniformes) son necesarios otros dos requisitos que pueden deducirse fácilmente a partir del modelo propuesto por LaMer y Dinegar para describir el proceso de precipitación de partículas coloidales<sup>[26]</sup>. En este modelo se distinguen tres etapas que se representan en la figura 1:

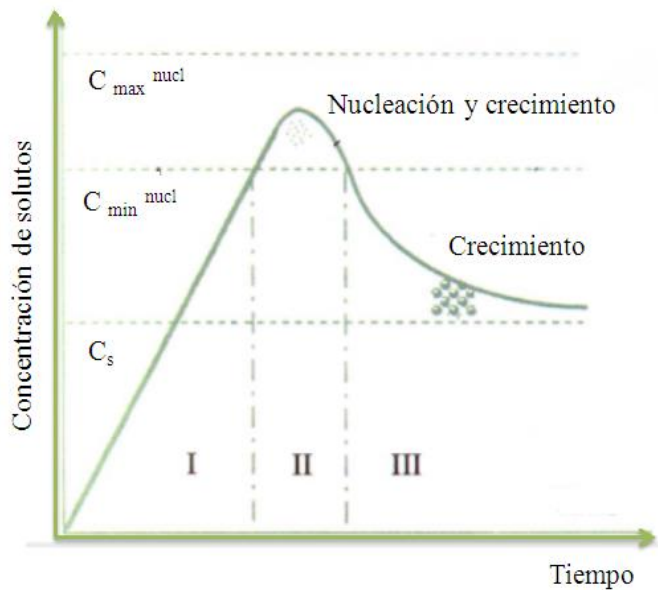


Figura 1. Modelo propuesto por LaMer que describe el proceso de precipitación para la formación de sólidos monodispersos.

➤ Etapa I (Inducción): durante esta etapa se produce un aumento progresivo de la concentración de los cationes o aniones precipitantes hasta alcanzar la sobresaturación y posteriormente un valor denominado concentración mínima de nucleación ( $C_{\min}^{\text{nucl}}$ ).

➤ Etapa II (Nucleación): cuando la concentración de solutos sobrepasa la  $C_{\min}^{\text{nucl}}$ , se produce la formación de las primeras entidades sólidas estables que se denominan núcleos.

➤ Etapa III (Crecimiento): como consecuencia del proceso de nucleación la concentración de solutos decae por debajo de la  $C_{\min}^{\text{nucl}}$  y a partir de este momento se produce el crecimiento de núcleos por incorporación de especies solubles a la superficie de los mismos.

De acuerdo con este modelo se puede deducir que para conseguir partículas homogéneas en forma y tamaño es necesario que la etapa de nucleación sea única y corta, ya que la aparición de nucleaciones sucesivas daría lugar a un sistema de tamaño heterogéneo. Esto último requiere un ajuste preciso de la cinética de precipitación para la obtención de partículas uniformes<sup>[27]</sup>. Este ajuste se realizó mediante el análisis de los efectos de las distintas variables experimentales (concentración de los reactivos, la naturaleza del disolvente y la temperatura de reacción) sobre las características de las partículas precipitadas.

Hay que tener en cuenta que la naturaleza del disolvente es de gran importancia durante la etapa de nucleación, ya que la velocidad de los procesos de difusión que conducen a la formación de la fase sólida están, en parte, determinados por la viscosidad del disolvente. Así mismo, durante la etapa de crecimiento es necesario inhibir los procesos de agregación de partículas, los cuales son altamente probables, dada la gran tendencia que tienen las partículas pequeñas a agregarse para así disminuir su energía libre superficial lo cual en principio daría lugar a partículas aglomeradas y sistemas heterogéneos<sup>[28]</sup>. Una manera de eliminar estos procesos de agregación sería mediante la adición de compuestos orgánicos de cadena larga que pueden adsorberse sobre las partículas precipitadas, evitando su agregación por impedimento estérico<sup>[3,18]</sup> (figura 2).

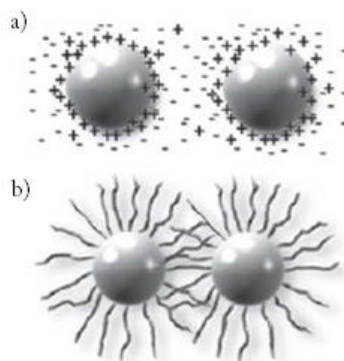


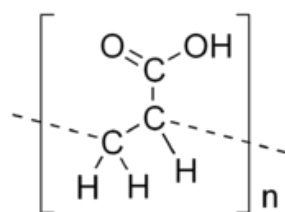
Figura 2. Tipos de estabilización coloidal: a) estabilización electrostática y b) estabilización estérica.

Es importante mencionar que las condiciones experimentales concretas que conducen a la formación de partículas monodispersas no pueden predecirse teóricamente por lo que tienen que ser ajustadas siguiendo un procedimiento empírico basado en prueba y error<sup>[29]</sup>.

### 3.2. Reactivos

Es este trabajo hemos seleccionado como disolvente una mezcla de etilenglicol (EG):H<sub>2</sub>O. El EG (Fluka, <99,5%) es un compuesto orgánico que pertenece a la familia de los dioles, los cuales pueden jugar un doble papel en la síntesis de partículas ya que además de cómo disolventes, también pueden actuar como agentes acomplejantes de cationes o aniones y/o adsorberse sobre la superficie de las partículas precipitadas limitando así su crecimiento<sup>[4]</sup>. Como precursores de los cationes Ln se han utilizado acetato de disprosio hidratado (C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>DyO<sub>6</sub>·xH<sub>2</sub>O, 99,9%, Aldrich) y acetato de holmio hidratado (C<sub>6</sub>H<sub>9</sub>HoO<sub>6</sub>·xH<sub>2</sub>O, 99,99%, Aldrich), los cuales son solubles en EG. Ambos precursores, permanecen estables en disolución a temperatura ambiente.

Como fuente de iones vanadato se eligió el ortovanadato de sodio (Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>, 99,98%, Aldrich), también soluble en EG, y por último, como agente acomplejante de los cationes Ln, se empleó el ácido poliacrílico (PAA, M<sub>w</sub>~1800, Aldrich). El PAA es un polímero sintético de alto peso molecular del ácido acrílico, cuya fórmula desarrollada se muestra en la figura 3, y que se caracteriza por poseer como grupo funcional el grupo carboxílico (-COOH), el cual posee un carácter claramente hidrofílico, lo que permite que las nanopartículas puedan dispersarse fácilmente en medio acuoso. Además, la presencia de los grupos carboxílicos en la superficie de las nanopartículas permitiría el anclaje de otras moléculas orgánicas de interés biotecnológico.



Ácido poliacrílico (PAA)

*Figura 3. Fórmula desarrollada del PAA usado como agente acomplejante.*

El proceso de funcionalización se llevó a cabo de forma simultánea al proceso de síntesis, lo cual supone una simplificación respecto a otros métodos de funcionalización que implican una segunda etapa, tras la síntesis de las nanopartículas. De esta forma, el PAA podría actuar también como acomplejante y/o dispersante durante el proceso de síntesis, inhibiendo o controlando el crecimiento de las nanopartículas.

### 3.3. Procedimiento experimental

El procedimiento experimental llevado a cabo para la obtención de las nanopartículas de  $\text{DyVO}_4$  y  $\text{HoVO}_4$  se detalla a continuación.

En primer lugar, se disuelve la sal de  $\text{LnAc}_3$  (Ln: Dy ó Ho) en cantidades variables de agua y posteriormente se añade EG hasta completar  $2,5 \text{ cm}^3$  de mezcla (disolución A). Paralelamente a esto, se disuelve el  $\text{Na}_3\text{VO}_4$  en  $2,5 \text{ cm}^3$  de EG con agitación magnética, calentando el vial a temperaturas próximas a  $80^\circ\text{C}$  para facilitar el proceso de disolución (disolución B). Una vez disuelto este compuesto, se deja enfriar la disolución. A continuación se vierte B sobre A y la mezcla (volumen total igual a  $5 \text{ cm}^3$ ) se introduce a un tubo de ensayo que se cierra herméticamente y se envejece en la estufa a la temperatura deseada durante 20 horas. Para la funcionalización de las nanopartículas se pesaron las cantidades de  $\text{LnAc}_3$  (Ln: Dy ó Ho) requeridas y se disolvieron conjuntamente con el PAA en agua milli-Q y posteriormente se añadió el EG para completar los  $2,5 \text{ cm}^3$  de mezcla. Un esquema resumido de este procedimiento de síntesis se muestra en la figura 4.

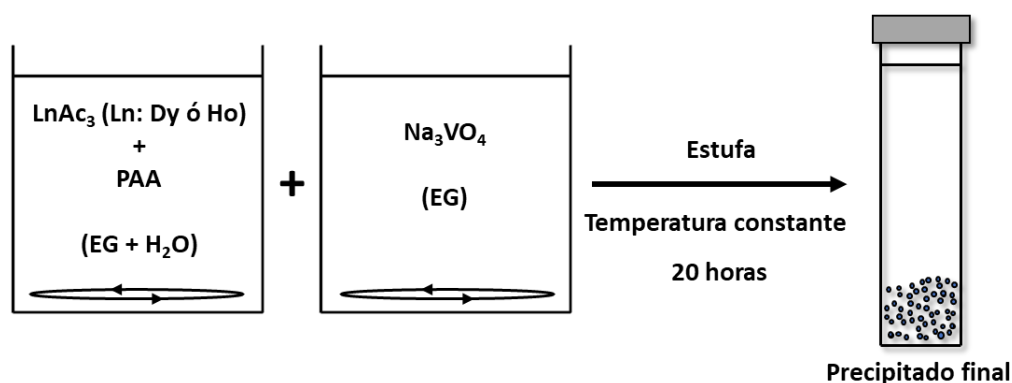


Figura 4. Esquema de la metodología empleada para la obtención de las nanopartículas.

Una vez finalizada la reacción, el producto resultante se deja enfriar a temperatura ambiente, se centrifuga para eliminar el sobrenadante y se lava dos veces con etanol y una vez con agua

destilada. Finalmente, el precipitado obtenido se redispersa en agua milliQ o, para algunos análisis, se seca a temperatura ambiente.

### 3.4. Técnicas de caracterización

Con el fin de caracterizar las nanopartículas obtenidas mediante el proceso de síntesis descrito, se emplearon las siguientes técnicas de caracterización:

- ◆ Microscopía electrónica de transmisión (TEM): Esta técnica nos permitió observar el tamaño y la forma de las partículas. El tamaño medio de partícula se determinó a partir de varias micrografías midiendo alrededor de 100 partículas. Para la observación de las muestras se depositó una gota de una suspensión acuosa de la misma sobre una rejilla de cobre y se dejó secar a temperatura ambiente. El microscopio utilizado en este trabajo es de la marca Philips (modelo 200CM).

- ◆ Dispersión dinámica de luz (DLS): Esta técnica nos permite determinar el tamaño hidrodinámico de las nanopartículas. Así mismo, por comparación de los valores obtenidos con los previamente determinados a partir de las micrografías de TEM, se puede obtener información sobre la estabilidad coloidal (ausencia de agregación) de las nanopartículas. Para llevar a cabo este análisis por DLS, las muestras se dispersaron en una disolución 50 mM de ácido 2-morfolinoetanosulfónico monohidrato (MES, Aldrich, 99%) con una concentración de nanopartículas de 0,5 mg cm<sup>-3</sup> y un pH=6,5. Hay que señalar que este es uno de los medios tampón más usados para analizar la estabilidad coloidal de nanopartículas en condiciones similares a las fisiológicas<sup>[Error! Marcador no definido.]</sup>. Las medidas se realizaron utilizando un Zetasizer Nano-ZS90 de Malvern.

- ◆ Difracción de rayos-X (DRX): Esta técnica se utilizó para identificar la estructura cristalina de las muestras y para estimar el tamaño de los dominios cristalinos mediante el análisis de la anchura de los picos de difracción a través de la fórmula de Scherrer:

$$D = k\lambda / B_c \cos\theta$$

donde D es la dimensión media del dominio cristalino en Å en la dirección de ese plano, k una constante que depende de las condiciones experimentales (en este caso se tomo 0,9), λ la longitud de onda de la radiación (en este caso 1,5418 Å ya que se usó ánodo de Cu), B<sub>c</sub> anchura a media altura corregida del pico expresada en unidades de 2θ, y θ el ángulo correspondiente al

pico de difracción. Las medidas se llevaron a cabo en un difractómetro PANalytical XPert Pro con detector X-Celerator.

◆ Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR): Esta técnica se usó para obtener información sobre el proceso de funcionalización de las nanopartículas con PAA. Los espectros fueron registrados entre 250 y 4000  $\text{cm}^{-1}$  en un espectrofotómetro JASCO (modelo FT/IR-6200). Para ello se utilizaron pastillas obtenidas por prensado de una mezcla de una pequeña cantidad de muestra seca con KBr que es una sustancia transparente a la radiación infrarroja.

## 4 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

---

### 4.1 Síntesis y caracterización de las nanopartículas de $\text{DyVO}_4$

Con el objetivo de encontrar las condiciones experimentales necesarias para la obtención de partículas homogéneas de  $\text{DyVO}_4$  se llevaron a cabo una serie de experimentos en los que se varió de forma sistemática diferentes parámetros experimentales: concentración de los reactivos de partida, relación EG/ $\text{H}_2\text{O}$ , la relación molar  $\text{VO}_4^{2-}/\text{Dy}^{3+}$  y la temperatura de reacción. Los resultados obtenidos se recogen en la tabla 1. Como se puede observar en dicha tabla, en todos los casos en los que se obtuvo precipitado de nanopartículas uniformes, éstas fueron siempre de forma esférica y el tamaño de las mismas varió en función de las condiciones experimentales empleadas.



Tabla 1. Morfología y tamaño de las partículas de  $DyVO_4$  precipitadas usando diferentes condiciones experimentales y un tiempo de reacción de 20h. Entre paréntesis se muestra la desviación estándar de la distribución de tamaños.

[DyAc <sub>3</sub> ] (M)	[Na <sub>3</sub> VO <sub>4</sub> ] (M)	Relación molar (VO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> /Dy <sup>3+</sup> )	Relación EG/H <sub>2</sub> O v/v (cm <sup>3</sup> )	T (°C)	[PAA] (mg cm <sup>-3</sup> )	Forma	Tamaño por TEM (nm) ± σ
0,02	0,1	5	<b>5/0</b>	120	-	No precipita	-
0,02	0,1	5	<b>4/1</b>	120	-	Esferas	62 (±10)
0,02	0,1	5	<b>2,5/2,5</b>	120	-	Agregadas	-
0,02	0,04	<b>2</b>	4/1	120	-	Esferas	65 (±10)
0,02	0,02	<b>1</b>	4/1	120	-	Agregadas	-
<b>0,01</b>	<b>0,02</b>	2	4/1	120	-	Esferas	92 (±17)
<b>0,04</b>	<b>0,08</b>	2	4/1	120	-	Esferas	62 (±11)
0,02	0,04	2	4/1	<b>80</b>	-	Esferas	75 (±14)
0,02	0,04	2	4/1	<b>150</b>	-	Heterogéneas	-
0,02	0,04	2	4/1	120	<b>2</b>	Esferas	50 (±10)

Inicialmente, se analizó el efecto de la relación EG:H<sub>2</sub>O sobre la morfología de los precipitados. Así, cuando se utilizó una relación EG:H<sub>2</sub>O de 4/1 se obtuvieron nanopartículas esféricas con un tamaño medio de 62 nm (figura 5a). Sin embargo, el aumento de esta magnitud de 4/1 a 2,5/2,5, manteniendo los demás parámetros experimentales constantes, dio lugar a sistemas heterogéneos constituidos por nanopartículas irregulares y agregadas (tabla 1, figura 5b). Este efecto puede ser atribuido al cambio que se produce en la viscosidad (que influye en el proceso de difusión de los solutos) y en la constante dieléctrica (que afecta la carga superficial) del medio de reacción como consecuencia de la adición de agua. Así, al adicionar mayor cantidad de agua disminuye la viscosidad de la mezcla EG:H<sub>2</sub>O lo cual acelera los procesos de nucleación y crecimiento de las partículas y aumenta la constante dieléctrica (80 para el agua y 37 para el EG a 20°C), lo cual influye en la estabilidad de las partículas frente a la agregación. Por el contrario, en ausencia de H<sub>2</sub>O (EG puro), no se observó precipitación apreciable (tabla 1) indicando que la cinética de precipitación es muy lenta en estas condiciones probablemente debido a la gran viscosidad del EG ( $1.61 \times 10^{-2} \text{ Pa} \cdot \text{s}^2$ ).

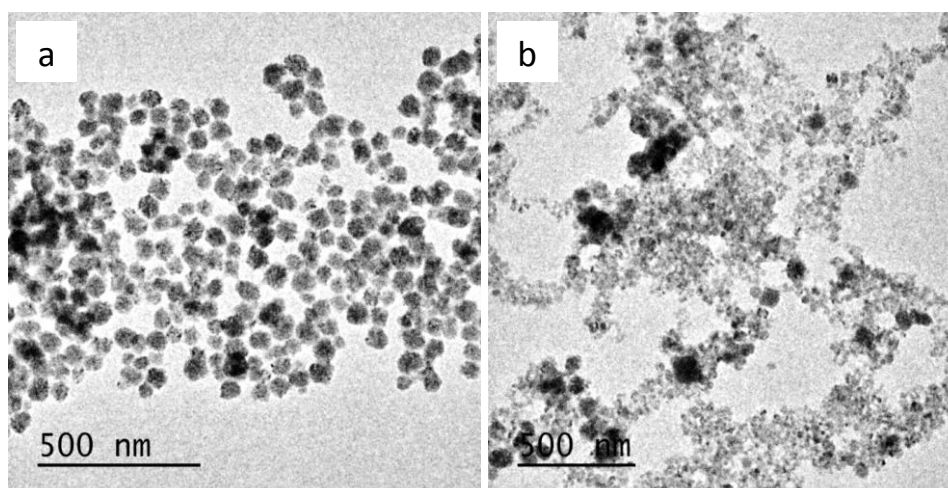


Figura 5. Imágenes de TEM de las nanopartículas obtenidas en función de la relación volumétrica EG:H<sub>2</sub>O: (a) relación EG:H<sub>2</sub>O (4/1) y (b) relación EG:H<sub>2</sub>O ( 2,5/2,5) para [Dy(III)]=0,02 M, [Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub>]=0,1 M, relación molar VO<sub>4</sub><sup>-2</sup>/Dy<sup>3+</sup> = 5 y T=120°C.

Hay que destacar también, el efecto importante que presenta la relación molar VO<sub>4</sub><sup>-2</sup>/Dy<sup>3+</sup> sobre el tamaño de las partículas precipitadas. En concreto, la disminución de la relación molar VO<sub>4</sub><sup>-2</sup>/Dy<sup>3+</sup> de 5 a 1, es decir, hasta llegar a las cantidades estequiométricas requeridas para la formación del compuesto de DyVO<sub>4</sub>, dió lugar a la obtención de partículas agregadas y heterogéneas (figura 6a), mientras que al disminuir dicha relación de 5 a 2 no se observaron cambios significativos en cuanto al tamaño de partícula (tabla 1) ni a la morfología (figura 6b). Este resultado nos indica la necesidad de emplear un exceso de Na<sub>3</sub>VO<sub>4</sub> durante el proceso de síntesis con el fin de que las nucleaciones se vean favorecidas frente al crecimiento y así poder obtener partículas homogéneas de menor tamaño.

Puede observarse también en la tabla 1 que al variar la concentración inicial (a la mitad y al doble) de los reactivos (Dy(III) y vanadato de sodio) para una relación molar VO<sub>4</sub><sup>-2</sup>/Dy<sup>3+</sup> de 2, manteniendo el resto de condiciones experimentales constantes, no se observó un efecto importante sobre la morfología de las partículas (figuras 7a y b), pero si se afectó ligeramente el tamaño de las partículas que aumentó de 65 a 92 nm al disminuir a la mitad la concentración inicial de los reactivos (tabla 1).

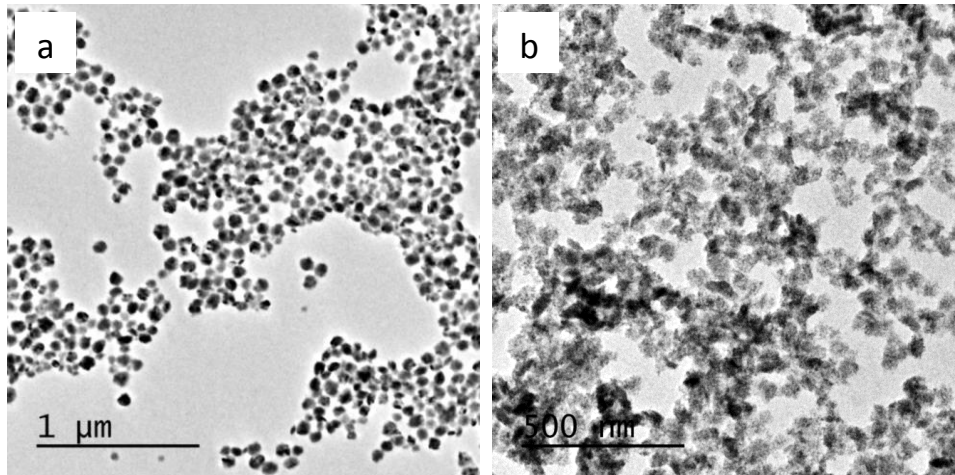


Figura 6. Imágenes de TEM de las partículas obtenidas en función de la relación molar  $VO_4^{2-}/Dy^{3+}$ : (a) relación molar  $VO_4^{2-}/Dy^{3+}=1$  y (b) relación molar  $VO_4^{2-}/Dy^{3+}=2$  para  $[Dy(III)]=0,02$  M,  $[Na_3VO_4]=0,1$  M, relación EG/ $H_2O$  (4/1) y  $T=120^\circ C$ .

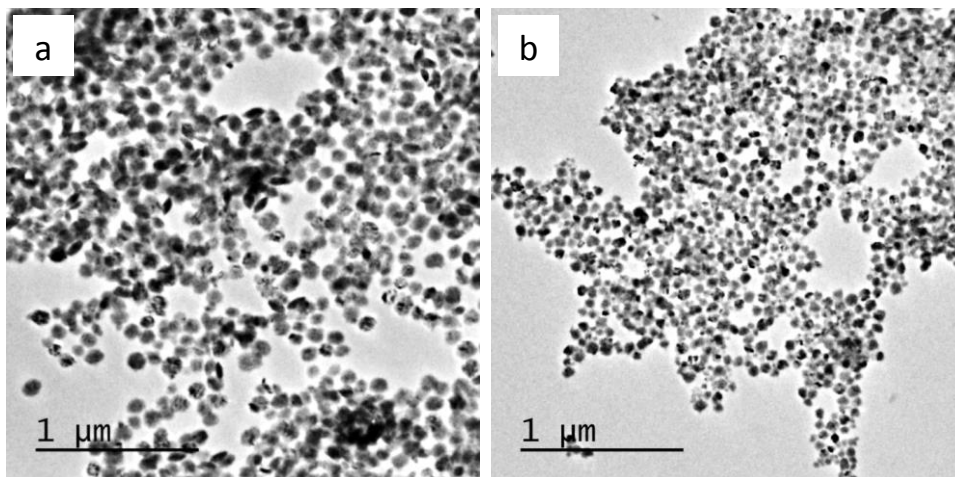


Figura 7. Imágenes de TEM de las partículas obtenidas en función de la concentración de reactivos manteniendo una relación molar  $VO_4^{2-}/Dy^{3+}$  de 2, relación EG: $H_2O$  (4/1) y  $T=120^\circ C$ . (a)  $[DyAc_3]=0,01M$  y  $[Na_3VO_4]=0,02M$  y (b)  $[DyAc_3]=0,04M$  y  $[Na_3VO_4]=0,08M$ .

El aumento de la temperatura a 150°C también dio lugar a la obtención de partículas heterogéneas (figura 8a) indicando que en estas condiciones la cinética de precipitación es demasiado rápida. Sin embargo, cuando la temperatura se disminuyó a 80°C no se observaron cambios importantes sobre la morfología de las partículas precipitadas (figura 8b) aunque presentaron un tamaño superior (75 nm).

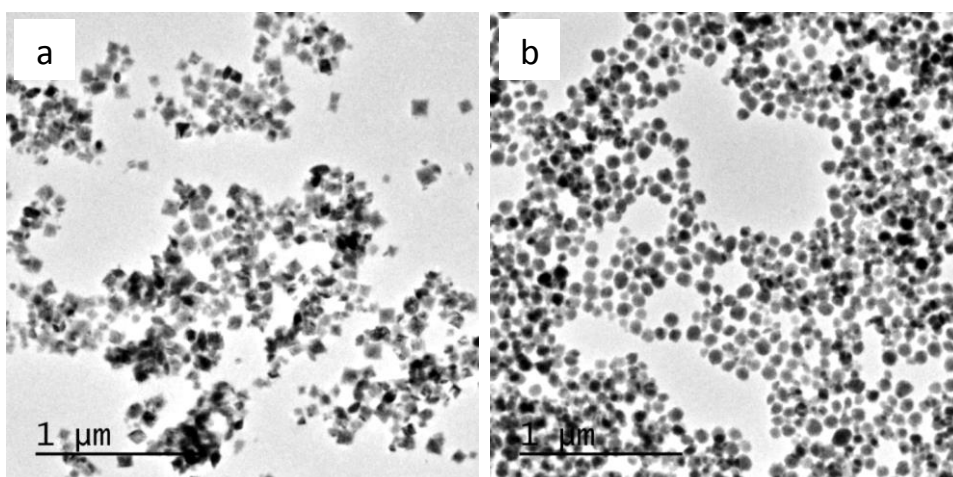


Figura 8. Imágenes de TEM de las partículas obtenidas en función de la temperatura de reacción: (a)  $T=150^{\circ}\text{C}$  y (b)  $T=80^{\circ}\text{C}$  para  $[\text{Dy(III)}]=0,02\text{ M}$ ,  $[\text{Na}_3\text{VO}_4]=0,1\text{ M}$ , relación molar  $\text{VO}_4^{2-}/\text{Dy}^{3+}=2$  y relación  $\text{EG}:\text{H}_2\text{O}$  (4/1).

Finalmente, hay que destacar el efecto importante que presenta la adición de PAA sobre el tamaño y la uniformidad de las partículas precipitadas. Así, al adicionar  $2\text{ mg cm}^{-3}$  de PAA durante la síntesis se obtuvieron nanopartículas esféricas, mucho más homogéneas, y con un tamaño medio de 50 nm (figura 9, tabla 1). A la vista de estos resultados, podría sugerirse que las moléculas de PAA podrían bloquear el crecimiento de las partículas, explicando así su papel como agente controlador del tamaño.

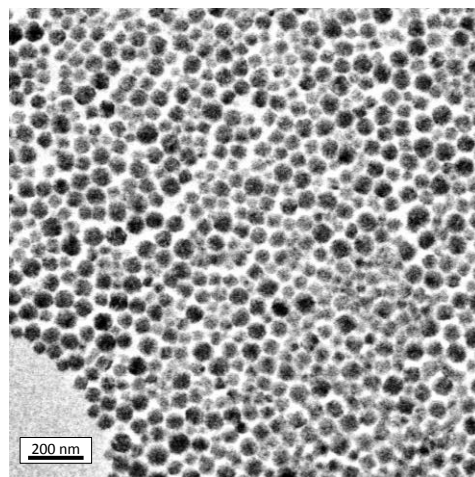


Figura 9. Imágenes de TEM de las nanopartículas obtenidas al adicionar  $2 \text{ mg cm}^{-3}$  de PAA durante la síntesis usando las condiciones experimentales descritas en la tabla 1.

Para la caracterización de las partículas uniformes obtenidas se seleccionó la muestra presentada en la figura 9. Estas partículas fueron identificadas por DRX como  $\text{DyVO}_4$  con estructura tetragonal (figura 10), cuyo tamaño de cristal determinado a partir de la reflexión (200) a  $2\theta \sim 25^\circ$  del diagrama de DRX fue aproximadamente igual (45 nm) que el tamaño medio de partícula obtenido por TEM (50 nm) indicando el carácter monocristalino de las mismas.

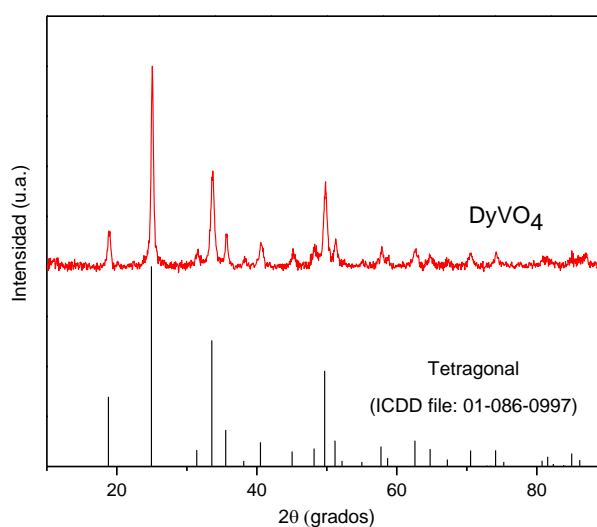


Figura 10. Diagrama de difracción de rayos X de las nanopartículas de  $\text{DyVO}_4$  ilustradas en la figura 9. También se incluye el patrón de referencia correspondiente a la fase tetragonal del  $\text{DyVO}_4$ .

El análisis mediante espectroscopía infrarroja de las nanopartículas de  $\text{DyVO}_4$  puso de manifiesto la presencia de PAA en las mismas. Así, el espectro obtenido (figura 11) muestra dos bandas alrededor de  $1400$  y  $1550 \text{ cm}^{-1}$  que corresponden a las vibraciones de tensión simétrica y asimétrica del ión carboxilato, respectivamente<sup>[18]</sup>. Es importante mencionar que estas bandas en las nanopartículas de  $\text{DyVO}_4$  funcionalizadas aparecen desplazadas hacia más bajas frecuencias respecto

a las correspondientes al PAA puro (figura 11), lo cual indica que el polímero está adsorbido a través de los grupos carboxilato ( $-\text{COO}^-$ )<sup>[16]</sup>. También hay que mencionar que además de las bandas del PAA, en el espectro IR pueden observarse absorciones inferiores a  $1000\text{ cm}^{-1}$  que corresponden a las vibraciones del grupo vanadato<sup>[16]</sup> y dos bandas aproximadamente a  $3400\text{ cm}^{-1}$  (vibración de flexión de moléculas de agua) y  $1630\text{ cm}^{-1}$  (vibración de tensión O-H) debidas a la presencia de agua adsorbida<sup>[30]</sup>. A partir de estos resultados se puede concluir que el procedimiento de síntesis desarrollado nos permite unificar en una sola etapa tanto la obtención de nanopartículas uniformes de  $\text{DyVO}_4$  como la funcionalización de las mismas con PAA, lo cual supone un valor añadido de dicho método.

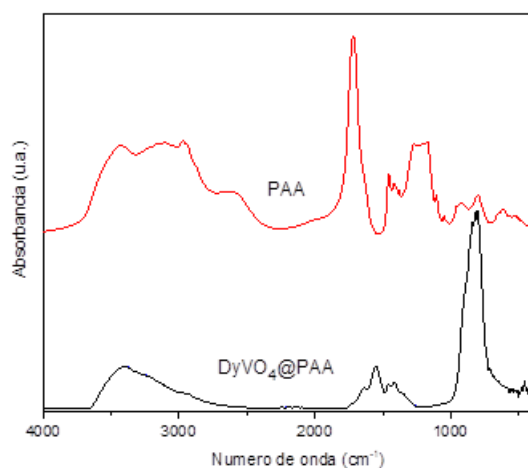
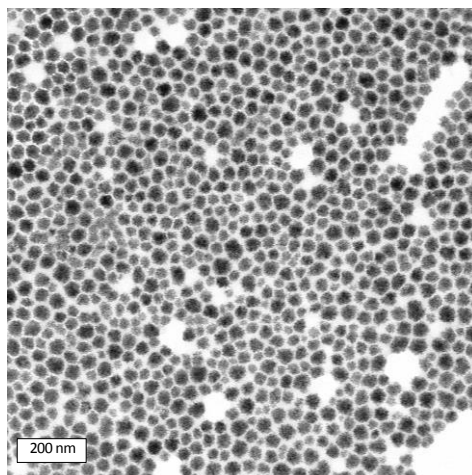


Figura 11. Espectro infrarrojo obtenido para las nanopartículas de  $\text{DyVO}_4$ . También se muestra el espectro infrarrojo correspondiente al PAA puro.

## 4.2 Síntesis y caracterización de las nanopartículas de $\text{HoVO}_4$

Para obtener las nanopartículas de  $\text{HoVO}_4$  se emplearon las mismas condiciones experimentales utilizadas para la síntesis de la muestra de  $\text{DyVO}_4$  que se presenta en la figura 9. Como se puede observar en la figura 12, las nanopartículas obtenidas son similares en morfología a las obtenidas para el  $\text{DyVO}_4$ , si bien presentaron un tamaño inferior (40 nm).



*Figura 12. Imágenes de TEM de las nanopartículas obtenidas al utilizar  $\text{HoAc}_3$  como sal de partida durante la síntesis ( $[\text{Ho(III)}]=0,02 \text{ M}$ ,  $[\text{Na}_3\text{VO}_4]=0,1 \text{ M}$ , relación molar  $\text{VO}_4^{2-}/\text{Dy}^{3+}=2$ , relación  $\text{EG}:\text{H}_2\text{O}$  (4/1),  $\text{PAA}=2 \text{ mg cm}^{-3}$  y  $T=120^\circ\text{C}$ .*

El difractograma obtenido de las partículas precipitadas (figura 13) mostró que dichas partículas consisten en  $\text{HoVO}_4$  con estructura tetragonal pues las reflexiones observadas se ajustan a las del patrón correspondiente a dicha fase (ficha ICDD nº 01-072-0273). Además, el tamaño del dominio cristalino calculado mediante la fórmula de Scherrer a partir de la reflexión (200) a  $2\theta\sim 25^\circ$  del diagrama de DRX fue claramente inferior ( $\sim 7 \text{ nm}$ ) al tamaño medio de partícula obtenido a partir de las micrografías TEM, indicando el carácter policristalino de las mismas. Por otro lado, el éxito del proceso de funcionalización en las nanopartículas de  $\text{HoVO}_4$  fue confirmado mediante el análisis mediante espectroscopía infrarroja poniéndose de manifiesto también la presencia del PAA en la superficie de las nanopartículas.

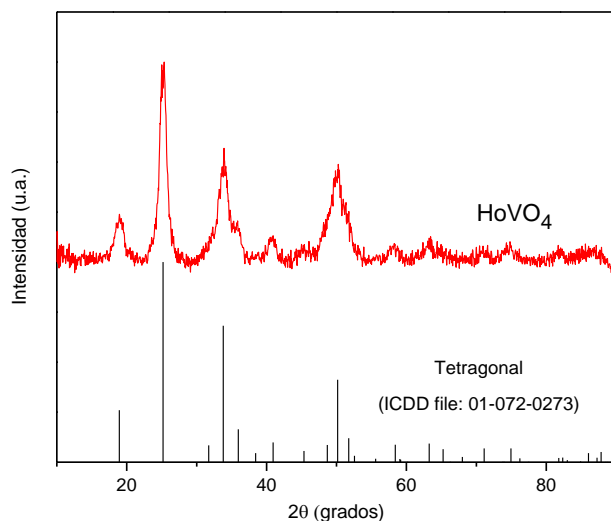


Figura 13. Diagrama de difracción de rayos X de las nanopartículas de  $\text{HoVO}_4$  obtenidas. También se incluye el patrón de referencia correspondiente a la fase tetragonal del  $\text{HoVO}_4$ .

### 4.3 Estabilidad coloidal

Con objeto de explorar las posibles aplicaciones biotecnológicas de las nanopartículas de  $\text{DyVO}_4$  y  $\text{HoVO}_4$  funcionalizadas con PAA se llevaron a cabo estudios de estabilidad coloidal en medio tampón (MES 50 mM a pH=6.5) mediante medidas de DLS. Para ello, se preparó una suspensión con una concentración de nanopartículas de  $0,5 \text{ mg cm}^{-3}$ .

El análisis por DLS (figura 14) reveló que el tamaño medio hidrodinámico de las nanopartículas en la suspensión fue ligeramente mayor (94 nm para el  $\text{DyVO}_4$  y 80 nm para el  $\text{HoVO}_4$ ), al valor obtenido a partir de la micrografía de TEM (50 y 40 nm, respectivamente). Teniendo en cuenta que las moléculas de PAA adsorbidas sobre la superficie de las nanopartículas darían lugar a un aumento del diámetro hidrodinámico, puede considerarse que las nanopartículas no se agregan en el medio ensayado, probablemente debido a la presencia de las moléculas de PAA adsorbidas sobre la superficie de las mismas actuando como agente dispersante.



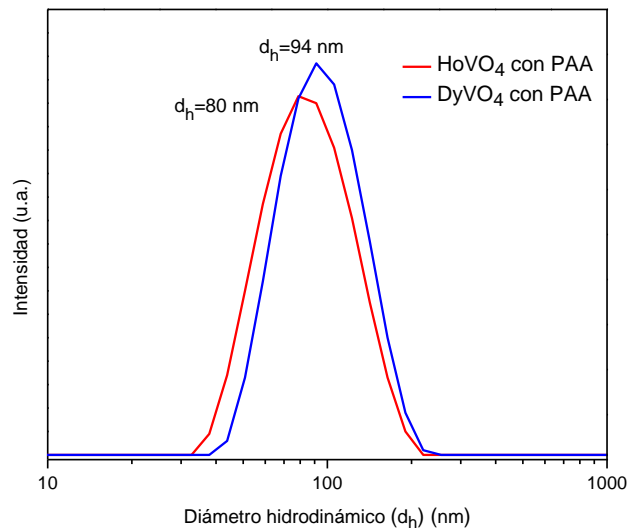


Figura 14. Distribución de tamaños obtenida por DLS de las nanopartículas de  $DyVO_4$  y  $HoVO_4$  funcionalizadas con PAA dispersas en MES a  $pH=6.5$ .

## 5 CONCLUSIONES

- 1.- Se ha desarrollado un procedimiento de síntesis sencillo para la obtención de nanopartículas esféricas de  $DyVO_4$  y  $HoVO_4$  con tamaño inferior a 100 nm por envejecimiento a  $120^\circ C$  durante 20 horas de disoluciones conteniendo como precursores el acetato de disprosio o acetato de holmio, vanadato de sodio y ácido poliacrílico (PAA), utilizando una mezcla EG: $H_2O$  como disolvente.
- 2.- Las partículas de  $DyVO_4$  obtenidas presentaron estructura tetragonal, carácter monocristalino y un tamaño de partícula de aproximadamente 50 nm. En el caso de las partículas de  $HoVO_4$ , éstas también cristalizaron con estructura tetragonal pero tuvieron un carácter policristalino y un tamaño de partícula de aproximadamente 40 nm.
- 3.- Se consiguió incorporar el ácido poliacrílico durante el proceso de síntesis permitiendo unificar en una sola etapa tanto la obtención de nanopartículas uniformes de  $DyVO_4$  y  $HoVO_4$  como la funcionalización de las mismas con un grupo orgánico hidrofílico al que se puedan anclar gran variedad de moléculas orgánicas de interés biomédico.
- 4.- La funcionalización con ácido poliacrílico proporciona a las nanopartículas obtenidas una gran estabilidad coloidal frente a la agregación en medio fisiológico por lo que cumplen los requisitos necesarios para sus posibles aplicaciones biotecnológicas.

## REFERENCIAS

- [1] Y. Liu, D. Tu, H. Zhu, R. Li, W. Luo, X Chen, *Adv. Mater.*, **2010**, 22, 3266.
- [2] Y. Li, G. Wang, K. Pan, W. Zhou, C. Wang, N. Fan, Y. Chen, Q. Feng, B. Zhao, *Cryst. Eng. Comm.*, **2012**, 14, 5015
- [3] M. He, P. Huang, C. Zhang, H. Hu, C. Bao, G. Gao, R. He, D. Cui, *Adv. Funct. Mater.*, **2011**, 21, 4470
- [4] N.O. Núñez, M. Ocaña, *Nanotechnology*, **2007**, 18, 455606
- [5] A. Escudero, A. I. Becerro, C. Carrillo-Carrión, N. O. Núñez, M. V. Zyuzin, M. Laguna, D. González-Mancebo, M. Ocaña, W. J. Parak. *Nanophotonics*, **2017** (DOI 10.1515)
- [6] N. J. J. Johnson, W. Oakden, G. J. Stanisiz, R. S. Prosser, F. C. J. M. van Veggel, *Chem. Mater.*, **2011**, 23, 3714
- [7] L. Zhou, Z. Gu, X. Liu, W. Yin, G. Tian, L. Yan, S. Jin, W. Ren, G. Xing, W. Li, X. Chang, Z. Hu, Y. Zhao, *J. Mater. Chem.*, **2012**, 22, 966
- [8] X. Yu, Y. Shan, G. Li, K. Chen, *J. Mater. Chem.*, **2011**, 21, 8104
- [9] F. Wang, X. Chen, Z. Zhao, S. Tang, X. Huang, C. Lin, C. Cai, N. Zheng, *J. Mater. Chem.*, **2011**, 21, 11244
- [10] Blasiak B, Volotovskyy V, Deng C, Foniok T, Tomanek B., *J Neurosci Methods*, **2012**, 204, 118.
- [11] Duyn JH, van Gelderen P, Li T-Q, de Zwart JA, Koretsky AP, Fukunaga M. *Proc Natl Acad Sci* **2007**, 104, 11796.
- [12] Zhang X, Blasiak B, Marenco AJ, Trudel S, Tomanek B, van Veggel FCJM., *Chem Mat*, **2016**, 28, 3060.
- [13] X. Duan, Y. Li, *Small* **2013**, 9, 1521.
- [14] Y. Hou, R. Qiao, F. Fang, X. Wang, C. Dong, K. Liu, C. Liu, Z. Liu, H. Lei, F. Wang and M. Gao, *Am. Chem. Soc.*, **2013**, 1, 330
- [15] N. Núñez, J. Sabek, J. García-Sevillano, E. Cantelar, A. Escudero, M. Ocaña, *Eur. J. Inorg. Chem.*, 8, **2013**, 1301.

- 
- [16] N. O. Nuñez, P. Zambrano, J. García-Sevillano, E. Cantelar, S. Rivera-Fernández, J. M de la Fuente, M. Ocaña, *Eur. J. Inorg. Chem.*, **27**, **2015**, 4546.
- [17] J. Shen, L. D. Sun, J. D. Zhu, L. H. Wei, H. F. Sun, C. H. Yan, *Adv. Funct. Mater.* **2010**, **20**, 3708.
- [18] N. Núñez, J. M. de la Fuente, S. Rivera, M. Ocaña, *Dalton Trans.*, **42**, **2013**, 10725.
- 19 G. K. Das, B. C. Heng, S. C. Ng, T. White, J. S Loo, L. D'Silva, P. Padmanabhan, K. K Bhakoo, S. T. Selvan, T. Y. Tan, *Langmuir*, **2010**, **26**, 8959;
- [20] H. He, Y. Zhang, W. Zhu, A. Zheng, Z. Fang, *J. Crystal Growth*, **2011**, 329, 71
- [21] L. Qian, J. Zhu, Z. Chen, Y. Gui, Q. Gong, Y. Yuan, J. Zai, X. Qian, *Chem. Eur. J.*, **2009**, **15**, 1233
- [22] Z. Xu, Ch. Li, Zh. Hou, Ch. Peng, J. Lin, *Cryst. Eng. Comm.* **2011**, **13**, 474
- [23] X. Ling S. Kuang, Y. Li, *J. Mater. Res.*, **2011**, **26**, 9
- [24] J. Liu, Y. Li, *J. Mater. Chem.*, **2007**, **17**, 1797.
- [25] F. Vetrone, R. Naccache, V. Mahalingam, C. G. Morgan, J. A. Capobianco, *Adv. Funct. Mater.*, **2009**, **19**, 2924.
- [26] V. K. LaMer, R. H. Dinegar, *J. Am. Chem. Soc.* **1950**, **72**, 4847.
- [27] E. Matijević, *Chem. Mater.*, **1993**, **5**, 412.
- [28] P. C. Hiemenz, R. Rajagopalan, *Principles of Colloid and Surface Chemistry*, Revised and Expanded (Undergraduate Chemistry: A Series of Textbooks) 3rd Edition, ISBN-13:978-0824793975.
- [29] T. D. Nguyen, *Nanoscale*, **2013**, **5**, 9455.
- [30] K. Nakamoto, *Infrared and Raman Spectra of Inorganic and coordination compounds*, New York: Wiley-Interscience, **1986**.