

NANOPARTÍCULAS DE ORO FUNCIONALIZADAS CON L-CISTEÍNA PARA DETECCIÓN DE ARSÉNICO EN AGUA

L-cysteine functionalized gold nanoparticles for Arsenic detection in water

Edgar E. González^{1,2}, Yesid A. Acuña³, Ana M. Quiroz⁴

¹Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ingeniería, Colombia.

²Nanoscale Science and Technology Center "nanoCiTec", Colombia.

Email: ¹egonzale@javeriana.edu.co, ³yesidacuna@javeriana.edu.co,

⁴aquirozp@my.centennialcollege.ca

(Recibido 09 de noviembre de 2021 y aceptado 05 de diciembre de 2021)

Resumen

En este artículo se reportan resultados experimentales de interacciones del aminoácido L-cisteína (Cis) con nanopartículas de oro (AuNPs) y nanopartículas de oro funcionalizadas con Cis (AuNPs+Cis) cuando se incorpora en la solución iones de As³⁺. En los procesos de agregación se evalúa el papel de la concentración de la Cis en la funcionalización, además del tamaño de las nanopartículas cuando se incorpora a la solución el agente iónico de interés. Los resultados muestran una sensible dependencia en la agregación de las nanosondas AuNPs+Cis en función de su tamaño, con un registro de mayor sensibilidad para nanopartículas de mayor diámetro. Se observa que la concentración de la Cis en el proceso de funcionalización es condición necesaria para la programación de la estabilidad de las nanosondas, aspecto esencial para configurar un modo estable para detección del agente iónico. De manera que, estos resultados permiten establecer criterios útiles para el diseño de sensores colorimétricos para detección de metales pesados en aguas contaminadas.

Palabras clave: *L-Cisteína, nanopartículas de oro, sensor colorimétrico.*

Abstract

Experimental results of interactions of the amino acid L-cysteine (Cis) with gold nanoparticles (AuNPs) and gold nanoparticles functionalized with Cis (AuNPs+Cis) when As³⁺ ions are incorporated into the solution; all those processes are reported in this paper. In the aggregation processes, the role of the Cis concentration in the functionalization of the AuNPs is evaluated, in addition to the size of the nanoparticles when the ionic agent of interest is incorporated into the solution. The results show a sensitive dependence on the aggregation of the AuNPs+Cis nanoprobos as a function of their size, with a record of greater sensitivity for larger diameter nanoparticles. It is observed that the concentration of Cis in the functionalization process is a necessary condition for the programming of the stability of the nanoprobos, an essential aspect to configure a stable mode for the detection of the ionic agent. Therefore, these results allow us to establish useful criteria to design of colorimetric sensors to detect of heavy metals in contaminated water.

Key words: *L-Cysteine, gold nanoparticles, colorimetric sensor.*

1. INTRODUCCIÓN

Los sensores colorimétricos constituyen una importante alternativa para la detección *in-situ* de agentes iónicos y moleculares. Son sistemas valorados por su versatilidad, bajo costo, portabilidad y facilidad de uso.

Aprovechando la oferta en metodologías sintéticas para control del tamaño y monodispersión de nanopartículas de metales nobles, entre los que se destaca el oro, se ha abierto una línea de gran actividad investigativa para incorporarlas como materia prima en diseño y manufactura de estos sistemas de detección.

Las nanopartículas de oro por su composición, forma y tamaño presentan excepcionales propiedades ópticas [1] que valoran su uso para sensado por cambios de color ante la presencia de un agente de interés. Para obtener una nanosonda con capacidad para detectar la presencia de un analito de interés, se requiere una nanopartícula de oro y un agente molecular fijado a la superficie por funcionalización con la capacidad de reconocer el analito y favorecer procesos de agregación de las nanopartículas.

Entre la gran variedad de potenciales agentes moleculares existentes para funcionalizar las nanopartículas de oro, se destacan los aminoácidos proteicos codificables tales como lisina, cisteína, histidina, tirosina y arginina. Con este tipo de aminoácidos usados en funcionalización de nanopartículas de oro, se ha construido un portafolio de sensado por colorimetría para los siguientes agentes iónicos: Hg^{2+} , Cd^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} , Al^{3+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} [2].

En particular, la Cis ha sido ampliamente estudiada como agente biofuncionalizante para, junto con las nanopartículas de oro, confeccionar sondas AuNPs+Cis para sensado colorimétrico [3]. El grupo tiol que posee la molécula de Cis la hace apropiada para fijación sobre la superficie de la nanopartícula de oro, específicamente, por el enlace fuerte entre los átomos de Au y S. De otra parte, la Cis permite con la concentración adecuada, la agregación de las nanopartículas de oro bajo la presencia del analito de interés. Debido a esta agregación, las

propiedades dieléctricas del entorno de las nanopartículas y la distancia entre ellas, producen un efecto batocrómico que puede ser aprovechado para sensar con una elevada sensibilidad el analito de interés.

Este artículo reporta el uso de nanopartículas de oro funcionalizadas con L-Cisteína para configurar una nanosonda dispersa en medio acuoso que permita la detección por cambio de color de As^{3+} . En donde se evalúa el papel que juega el tamaño de las nanopartículas de oro en cuanto a la sensibilidad de agregación cuando son expuestas al analito, en este caso As^{3+} . Así también, se determina por vía experimental los cambios en la respuesta del pico de plasmón superficial producidos por agregación, cuando las nanosondas son expuestas a As^{3+} .

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La síntesis de AuNPs es realizada con base en el método propuesto en [4]. A una solución de 100 mL de 0.8% de citrato de trisodio dihidratado ($\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$) $\geq 99\%$ en permanente agitación en agua desionizada (equipo millipore), se agrega 1 mL de 0.01% de cloruro de oro trihidratado ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) a 100 °C. Durante todo el tiempo de reacción, se mantiene constante el volumen de solvente con reflujo. El tamaño de las partículas es controlado con la concentración del citrato de trisodio o con adición de ácido tánico y son caracterizadas en tamaño por microscopía electrónica. La solución acuosa estándar a 1000 mg/L de As^{3+} , al igual que los reactivos utilizados fueron adquiridos en Sigma Aldrich y empleados tal como se recibieron.

En este sentido, para funcionalizar las nanopartículas de oro, se preparan tres muestras, cada una con un volumen de 5 mL del coloide de oro a las que se les agrega 10 μL de cisteína preparada en una concentración de 0.1, 1 y 10 mM respectivamente. La solución se mantiene en constante agitación por tres horas a una temperatura de 60 °C. En seguida, gracias a la centrifugación, las nanopartículas son lavadas y re-dispersadas en agua desionizada para luego ser utilizadas en la configuración colorimétrica.

Las mediciones de DLS se realizan con el analizador Zetasizer Nano Zs, mientras que los espectros de absorción son registrados con el espectrofotómetro Shimadzu UV-2600. Las imágenes de agregación son obtenidas con el Microscopio Electrónico de Barrido Zeiss HD15 y para caracterización del tamaño de las nanopartículas con un Microscopio Electrónico de Transmisión JEOL JEM-1400.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN DE RESULTADOS

Con la modulación en la concentración del $C_6H_5Na_3O_7$, se obtiene cuatro diámetros diferentes de nanopartícula. Este grupo de diámetros permite evaluar los procesos de agregación en función del tamaño cuando las nanopartículas funcionalizadas con Cis son expuestas al ion de interés. La figura 1, ilustra los registros de microscopía electrónica de transmisión para los cuatro diámetros correspondientes a 5nm, 11nm, 15nm y 17nm y valores de monodispersidad de 87%, 85%, 91% y 88% respectivamente. Dichos valores resultan suficientemente elevados como para configurar una dispersión coloidal adecuada para detección colorimétrica. Tal y como se observa en la Figura 2, se indican los espectros de absorción para los diámetros obtenidos, en donde se observa el corrimiento hacia el rojo del pico de resonancia de plasmón en función del incremento del diámetro de las nanopartículas.

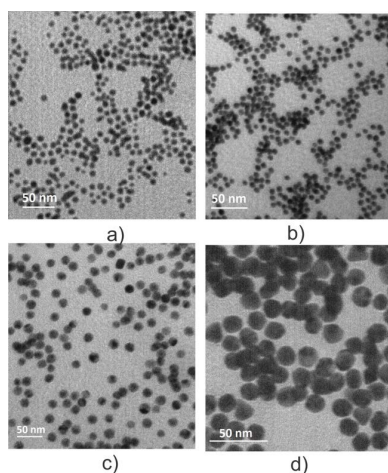


Figura 1. Registros con Microscopio Electrónico de Transmisión de nanopartículas de oro de a) 5nm, b) 11 nm c) 15 nm, d) 17nm.

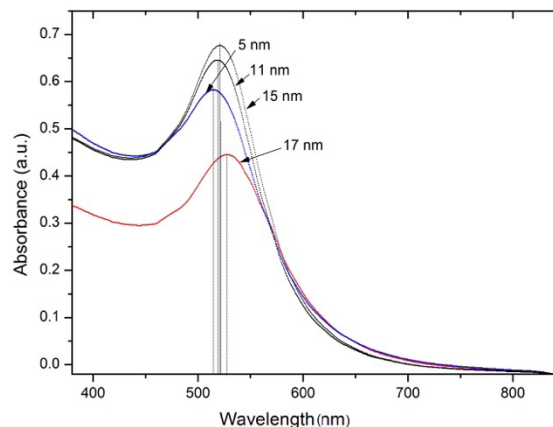


Figura 2. Espectros de Absorbancia para las nanopartículas de oro sintetizadas. Se indican los picos de resonancia de plasmón para los diámetros obtenidos.

De las pruebas realizadas de agregación coloidal con los diferentes diámetros de las sondas AuNps+Cis, se observa una mayor estabilidad en presencia del ion de interés, cuando disminuye el valor del diámetro de la nanopartícula. Para el ion de As^{3+} se registran los espectros de absorción, los cuales se correlacionan con el grado de agregación. Estos resultados registran un mayor corrimiento hacia el rojo con el incremento del valor del diámetro de la nanopartícula.

De esta manera, con la disminución del tamaño de las nanopartículas se compromete la sensibilidad del sensor para detección. Esto se explica por el decremento de área superficial y, en consecuencia, la capacidad para la agregación. Como resultado, del grupo de diámetros obtenidos, se seleccionan las nanopartículas de 17 nm para la configuración de la sonda colorimétrica.

En el proceso de funcionalización de las AuNPs, la fijación de la molécula de Cis se produce a través de la interacción del tiol que forma parte de la molécula y la superficie de oro de la nanopartícula, específicamente, entre los átomos de oro y azufre [5]. En este sentido, en la Figura 3 se muestra el espectro de absorción para las AuNPs+Cis con una concentración de 0.1 Mm transcurridos 60 min después del lavado, una vez realizada la funcionalización. De esta manera, el pico de resonancia de plasmón

superficial se mantiene, aproximadamente, constante con los cambios dieléctricos en el entorno de las nanopartículas debido a la incorporación de las moléculas de Cis a 0.1 mM, lo cual produce un efecto imperceptible en la detección visual de cambio de color.

Para Cis con una concentración de 10 mM, el pico de resonancia de plasmón del espectro de absorción muestra un importante efecto batocrómico, el cual indica agregación de las nanopartículas de oro, tal como lo registra la fotografía tomada con microscopio electrónico de transmisión. En este caso, se hace perceptible visualmente el cambio de color en la Figura 4. La agregación puede ser debida a los enlaces entre los grupos funcionales libres de las moléculas de cisteína [6].

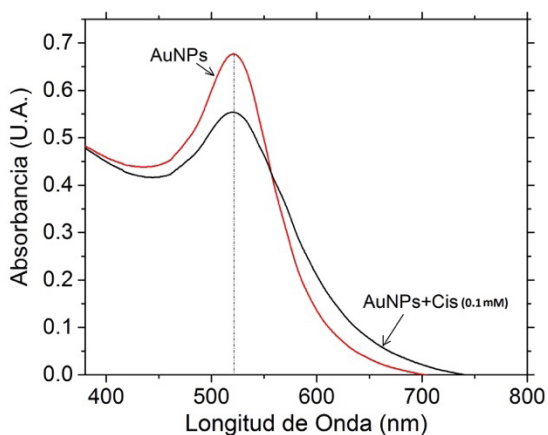


Figura 3. Espectro de absorción para las AuNPs sin funcionalizar y funcionalizadas con Cis a 0.1 mM.

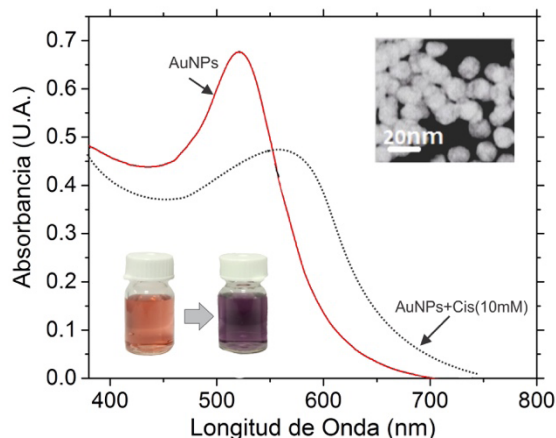


Figura 4. Desplazamiento del pico de resonancia de plasmón producido por la funcionalización de AuNPs con Cis a 10 mM. Se muestra un registro con microscopía electrónica de transmisión de la agregación de las nanopartículas debido a la cisteína. Se ilustra el cambio de color debido a la agregación.

De acuerdo con los resultados obtenidos para la funcionalización con Cis a 0.1 mM, se alcanza una nanosonda dispersa en medio acuoso suficientemente estable para confeccionar un sensor de tipo colorimétrico, con capacidad para detección de agentes iónicos. De otra parte, para concentraciones de Cis mayores a la mencionada, la agregación de las AuNPs+Cis que produce un cambio perceptible de color, abre la ruta para la confección de un sensor colorimétrico para la detección de Cis [7] o proporcionar una opción para la programación de auto-ensamblados y arreglos de nanopartículas de oro [6].

Cuando a la dispersión coloidal de nanosondas AuNPs+Cis se les adiciona el agente iónico de interés, se desarrolla un ligando polidentado o quelante, con la consecuente formación de un complejo de coordinación. Esto produce la agregación de nanopartículas de oro tal como se indica en la Figura 5. El grupo carboxilo-COOH de la Cis juega un papel de gran importancia en estos procesos de agregación bajo la presencia de iones metálicos, tal como ha sido reportado para el caso del mercurio en [8].

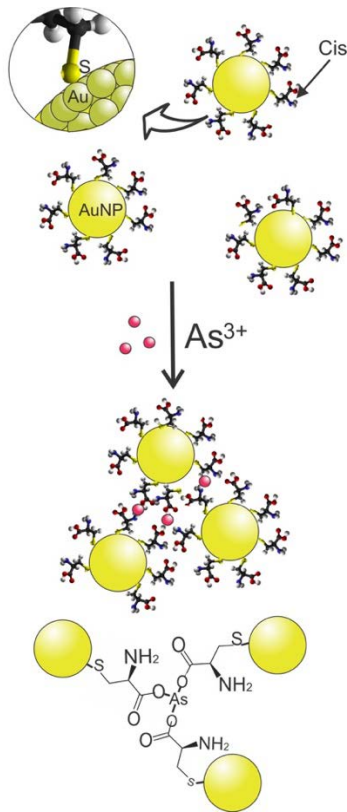


Figura 5. Proceso de agregación de las nanopartículas de oro funcionalizadas con Cis en presencia de As^{3+} .

Para las concentraciones 1, 10, 100 μM del agente iónico As^{3+} , la respuesta de las nanosondas fue registrada por espectroscopía Uv-Vis. La Figura 6 muestra un corrimiento hacia el rojo en función del incremento de la concentración del ion y se visualiza el efecto hipocrómico causado por la agregación, la funcionalización y presencia de los iones de interés. Para el rango seleccionado de concentraciones, se puede apreciar visualmente un cambio de color y, en consecuencia, se posibilita la detección. Con la sonda AuNP+Cis, el mínimo valor de detección de arsénico presente en agua corresponde a 0.07 ppm. Este valor se encuentra cercano al mínimo valor en agua recomendado por la Organización Mundial de la Salud, que corresponde a 0.01 ppm.

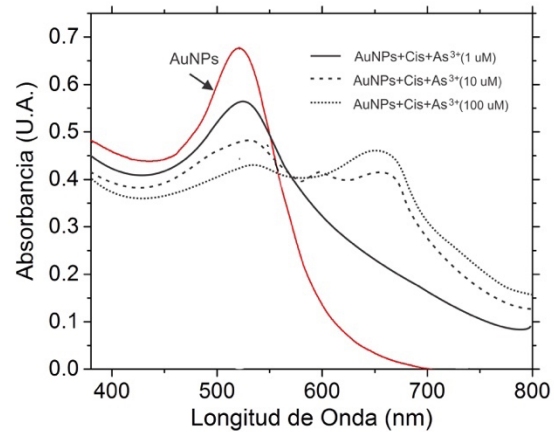


Figura 6. Espectro de absorción para dispersiones coloidales de AuNPs+Cis expuestas a iones de As^{3+} en concentraciones de 1, 10 y 100 μM respectivamente.

La caracterización DLS de las dispersiones coloidales de nanopartículas de oro funcionalizadas y en presencia del agente iónico, muestra un incremento en tamaño de los agregados en función de la concentración del As^{3+} tal como se ilustra en la Figura 7.

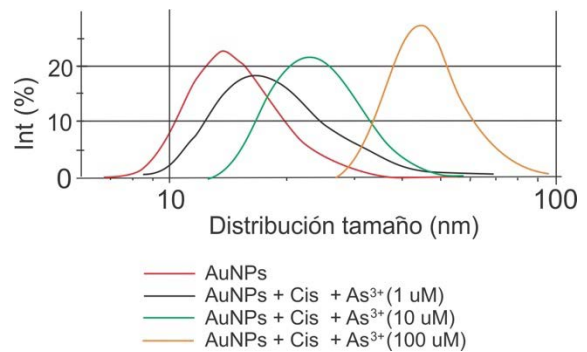


Figura 7. DLS de las muestras coloidales de AuNPs+Cis para concentraciones de 0, 1, 10, 100 μM de As^{3+}

En la Figura 8 se muestra el cambio de color y los registros con microscopía electrónica de barrido de los agregados para el caso de nanopartículas de oro funcionalizadas y en presencia de As^{3+} en concentraciones de 0, 1, 10, 100 μM . Este cambio en el color es suficiente para ser detectado por el ojo humano y permitir una detección del agente iónico en el solvente, en este caso agua.

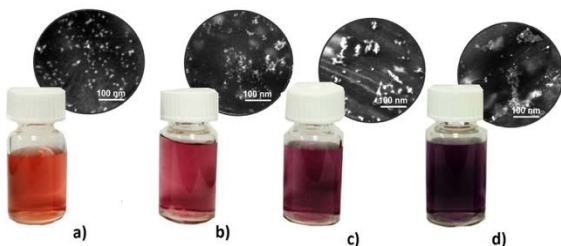


Figura 8. Cambio de color por agregación de AuNPs+Cis para concentraciones de As^{3+} a) 0, b) 1, c) 10, d) 100 μM respectivamente. Se muestran registro de microscopía de barrido de los agregados en función de la concentración.

De los resultados obtenidos del efecto batocrómico ilustrado en la (Figura 6), se hace posible construir una gráfica de concentración del agente iónico en función de la longitud de onda para el pico resonancia de plasmón. Esta gráfica permite obtener una función de trabajo, en la que, con la calibración adecuada, permite cuantificar valores de concentración de As^{3+} . Así mismo, se requiere para esta configuración el uso de un sistema portable de medición de absorbancia, el cual permita obtener el pico requerido de resonancia de plasmón.

4. CONCLUSIONES

La funcionalización de nanopartículas de oro con L-Cisteína permite la configuración de nanosondas versátiles para detección por cambios colorimétricos de la presencia de arsénico en agua. Por lo tanto, el valor mínimo de concentración de arsénico para producir cambios de color detectables se encuentra cercano al mínimo recomendado por la OMS de concentración de arsénico en agua. Este aspecto valora el sensor presentado aquí, como un elemento estratégico para contribuir a la seguridad alimentaria y prevención por potencial exposición a este metaloide.

Experimentalmente, se verifica que el tamaño de las nanopartículas aporta un parámetro de gran importancia para modular la sensibilidad frente a la agregación. Con el incremento en el diámetro aumenta el grado de agregación de las nanosondas ante la exposición al ion de interés.

En la fase de funcionalización de las nanopartículas con L-cisteína, la concentración de este aminoácido resulta claramente dominante en la configuración de dos tipos de modos de operación de las nanosondas: i) *Modo estable*, en el cual después de la funcionalización, las nanopartículas de oro no experimentan una agregación apreciable. Se obtiene como requerimiento para esta estabilidad concentraciones de cisteína por debajo de 0.1 mM. ii) *Modo inestable*, para el cual las nanopartículas se auto-ensamblan para concentraciones del orden de 10 mM o mayores, formando agregados que producen cambios perceptibles en la coloración.

El uso de nanopartículas de oro funcionalizadas con aminoácidos, proyecta una importante opción para el diseño y manufactura de sensores colorimétricos orientados a la detección de agentes iónicos. Se destacan ventajas tales como: bajo costo, uso *in-situ*, portabilidad, facilidad de uso y rápida respuesta, entre muchas otras.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean expresar sus agradecimientos al Centro de Ciencia y Tecnología Nanoescalar, por la caracterización con Microscopía de Transmisión y el suministro de los reactivos químicos para la síntesis y funcionalización de las nanopartículas, así como la solución estándar de As^{3+} .

REFERENCIAS

- [1] V.A. Ogarev, V.M. Rudoi, O.V. Dementeva, "Gold Nanoparticles: Synthesis, Optical Properties, and Application", *Inorg. Mat.: App. Res.* Vol. 9, pp. 134-140, 2018. <https://doi.org/10.1134/S2075113318010197>
- [2] G. Sener, L. Uzun, A. Denizli, "Colorimetric Sensor Array Based on Gold Nanoparticles and Amino Acids for Identification of Toxic Metal Ions in Water", *ACS Appl. Mat. & Interf.* Vol. 6, pp. 18395-18400, 2014. [dx.doi.org/10.1021/am5071283](https://doi.org/10.1021/am5071283)
- [3] J. Du, X. Hu, G. Zhang, X. Wu, D. Gong, "Colorimetric detection of cadmium in water using L-cysteine

Functionalized gold–silver nanoparticles”, *Analytical Letters*, Vol. 51, pp. 2906-2919, 2018. <https://doi.org/10.1080/00032719.2018.1455103>

- [4] J. Turkevich, P.C. Stevenson, J. Hillier, “Nucleation and growth process in the synthesis of colloidal gold”, *J. Discuss. Faraday Soc.* Vol 11, pp. 55-75, 1951.
- [5] Y. Xue, X. Li, H. Li and W. Zhang, “Quantifying thiol–gold interactions towards the efficient strength control”, *Nature Communications*, Vol 5, pp. 4348, 2014. <https://doi.org/10.1038/ncomms5348>
- [6] I. Petean, GH. Tomoaia, O. Horovitz, M. Tomoalia-Cotisel, “Cysteine mediated assembly of gold nanoparticles”, *J. Optoelect. Adv. Mat.* Vol 10, No. 9, pp. 2289-2292, 2008.
- [7] S. Jongjinakool, K. Palasak, N. Bousod, S. Teepoo, “Gold nanoparticles-based colorimetric sensor for cysteine detection”, *Energy Procedia*, Vol. 56, 10-18, 2014.
- [8] F. Chai, C. Wang, T. Wang, Z. Ma and Z. Su, “L-cysteine functionalized gold nanoparticles for the colorimetric detection of Hg²⁺ induced by ultraviolet light”, *Nanotechnology*, vol 21, pp. 025501, 2010. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/21/2/025501>