

Retos de la Nanometrología Analítica

Ángel Ríos Castro

Universidad de Castilla – La Mancha
Departamento de Química Analítica y Tecnología de los Alimentos.
Facultad de Ciencias y Tecnologías Químicas. Ciudad Real.
Tel: 926295232. E-mail: angel.rios@uclm.es

RESUMEN: El nano-mundo siempre ha fascinado y ha atraído la curiosidad de los humanos. Con el rápido desarrollo de la Nanociencia y la Nanotecnología todavía recibe una mayor atención en la práctica totalidad de los campos de actividad humana. La razón es que a dimensiones tan pequeñas (inferiores a 100 nm) los materiales presentan propiedades diferentes respecto a cuando existen en tamaños superiores, debido fundamentalmente a un efecto cuántico. Por tanto, hoy en día, los nanomateriales se usan profusamente aportando interesantes posibilidades, pero al mismo tiempo surge la preocupación sobre su toxicidad y sus efectos sobre la contaminación ambiental. De ahí la necesidad de su control analítico en una gran diversidad de muestras, surgiendo la Nanometrología Analítica como disciplina científico-técnica para abordar dicho objetivo.

1. INTRODUCCIÓN

La Nanociencia y Nanotecnología (N&N) ha experimentado un desarrollo espectacular en los últimos años, afectando prácticamente a todos los campos de la actividad humana. Este especial interés se debe a las interesantes propiedades que presentan una gran parte de los nanomateriales (al menos una dimensión por debajo de los 100 nm), que los han hecho tremendamente atractivos en la industria, la agricultura y los alimentos, los cosméticos, la salud y la medicina, por citar algunos campos importantes. Su carácter “revolucionario” en este campo científico fue predicho en un editorial de la revista Science en 2005 [1], y confirmado 15 años después cuando se estudia su evolución. Al igual que en estas áreas, la N&N ha tenido también un fuerte impacto en la Química Analítica, adoptándose el término Nanociencia y Nanotecnología Analíticas (AN&N, *Analytical Nanoscience and Nanotechnology*), y constituyendo un “hot topic” y tendencia en la investigación analítica actual [2].

En efecto, en una primera época, se incorporaron los nanomateriales como herramientas analíticas para desarrollar, poner a punto o mejorar metodologías analíticas. Pero, por otra parte, y de forma más reciente, esta masiva y creciente utilización de nanomateriales ha hecho necesario su control analítico, habida cuenta que, si bien se le pueden atribuir aspectos beneficiosos, también se han demostrado los riesgos ambientales y para la salud que en ocasiones pueden presentar. Esta nueva vertiente analítica, consistente en la propia determinación de nanomateriales en muestras de interés para la sociedad y el mundo productivo, y que ha recibido el nombre de Nanometrología Analítica (ANM, *Analytical Nanometrology*), surge no hace mucho tiempo y ha aportado (y lo sigue haciendo) interesantes oportunidades para la I+D+i en la ciencia analítica, sus aplicaciones y la transferencia de conocimiento, especialmente para laboratorios de control para sus ensayos y mediciones.

Especialmente complejo en la actualidad es el desarrollo de la Nanometrología Analítica (identificación /caracterización/ determinación de nanomateriales en muestras de interés social) [3]. Este campo de trabajo constituye un verdadero reto analítico por las dificultades que presenta: complejidad de las muestras, estabilidad de los nanomateriales (tratamiento de muestras que preserven su integridad), requisitos de selectividad y sensibilidad, problemas para asegurar la trazabilidad (existencia de pocos patrones o de dudosa calidad), y medidas de

control de calidad interno específicas para asegurar la fiabilidad de los resultados producidos en el trabajo de rutina. Se trata, por tanto, de un desarrollo vanguardista en la ciencia analítica y con numerosos retos en la actualidad, para sentar las bases para implementar procesos de medida fiables y sujetos a una rigurosa validación.

2. DESARROLLO/DESCRIPCIÓN

La estrategia para implementar la Nanometrología Analítica se ilustra esquemáticamente en la Fig. 1.

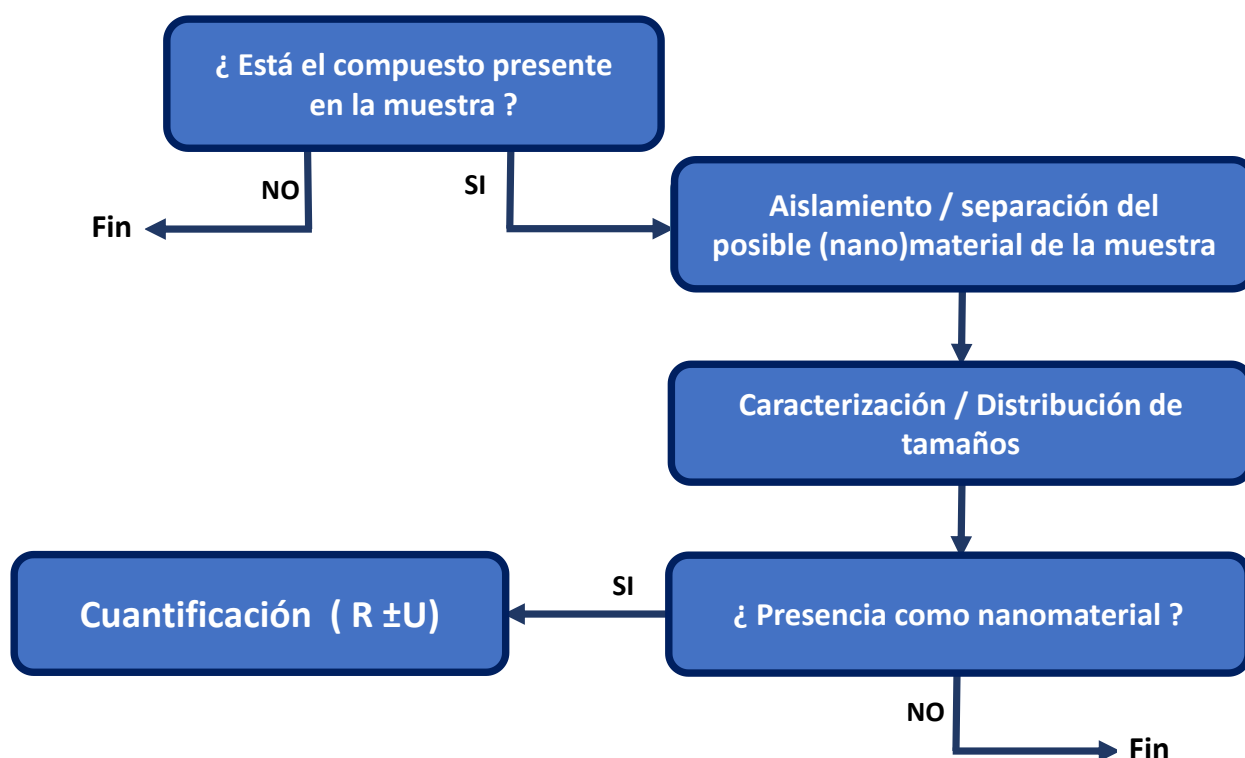


Fig. 1: Estrategia para implementar la Nanometrología Analítica.

La estrategia a seguir se compone de una serie de etapas. La primera consiste en confirmar que el componente de interés está presente en la muestra, aplicando una técnica suficientemente sensible y selectiva. En caso afirmativo se procede con la segunda etapa, que consiste en aislar y separar el componente (potencial nanomaterial) de la matriz de la muestra. Sobre el extracto o preparación se aplicarían técnicas que permitan dilucidar si el tamaño de partícula corresponde al nivel "nano". Entre otras se pueden aplicar técnicas de microscopía electrónica como TEM (microscopía electrónica de trasmisión), SEM (microscopía electrónica de barrido), DLS (dispersión de luz dinámica), o diversas técnicas espectrométricas dependiendo de la situación. Si, a partir de ellas, se demuestra la presencia del compuesto como nanomaterial (total o en parte), se procedería a su cuantificación, recurriendo ahora a técnicas de cuantificación como spICP-MS (plasma de acoplamiento inductivo en la modalidad de partícula única acoplada a espectrometría de masas), técnicas de fraccionamiento de flujo,

o de cromatografía/electroforesis acopladas a diversos detectores. A partir de ellas se informaría sobre la concentración y el nivel de incertidumbre del nanomaterial en la muestra.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se presentan dos casos concretos de aplicación desarrollados en nuestros laboratorios. El primero se refiere al control de nanopartículas de óxido de titanio (TiO_2 NPs) en productos azucarados empleados en repostería. El óxido de titanio es un aditivo alimenticio permitido (hasta ciertos niveles) por la CE (aditivo E171). La legislación no especifica que esté como micro o nanopartículas, pero recientemente se está demostrando que, en forma de nanopartículas, es capaz de penetrar las paredes celulares, incluso del núcleo de las células y alterar el metabolismo celular o causar daños en el ADN. Si es así, se le asocia efectos citotóxicos, genotóxicos y carcinógenos. De ahí el creciente interés en controlar los niveles del nanomaterial en este tipo de muestras.

Siguiendo el esquema de la Fig.1 se ha desarrollado un método de screening-confirmación de la presencia de TiO_2 NPs en muestras azucaradas basadas en el empleo de la técnica de espectroscopía Raman (screening) y de electroforesis capilar, CE (confirmación) [4]. Su fundamento se representa en la Fig. 2.

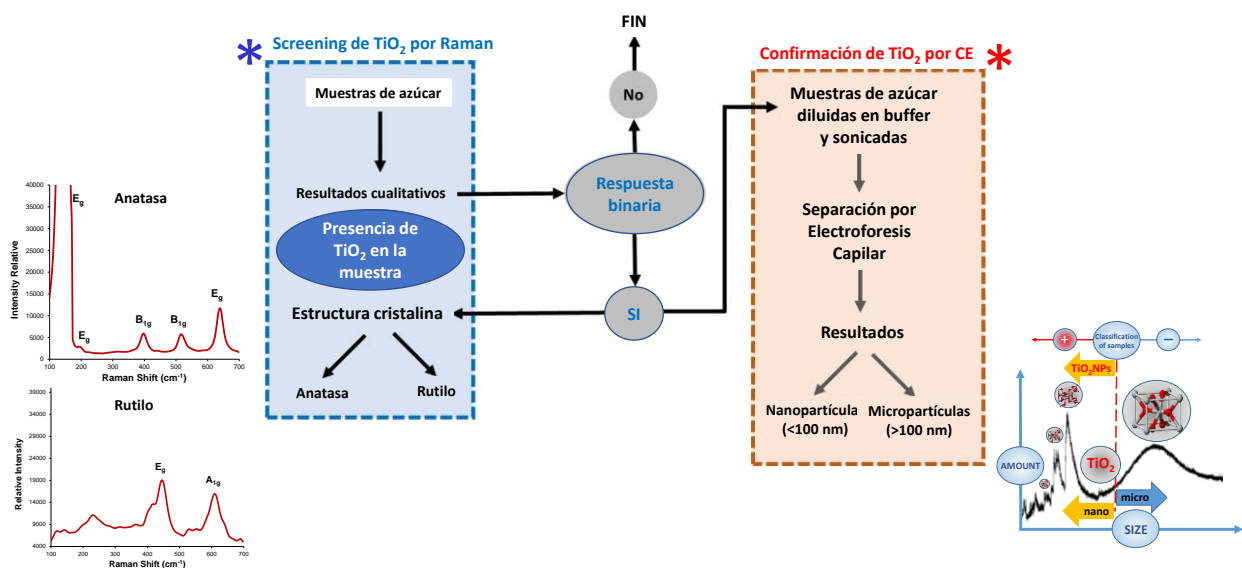


Fig. 2: Esquema del fundamento del método para el control de nanopartículas de óxido de titanio en muestra azucaradas para repostería.

Primero, la muestra de azúcar es analizada mediante espectroscopía Raman, que permite identificar las bandas características del TiO_2 , incluso distinguiendo su estructura cristalina (anatasa o rutilo). La técnica permite asegurar la presencia de este material en la muestra. Al estar presente hay que confirmar si está en forma de nanopartículas o no. Para ello se desarrolló un método de electroforesis capilar que permitía hacer esta distinción después de tratar las muestras adecuadamente. Como se puede observar en el registro, se distingue perfectamente la presencia de nanopartículas de las partículas de mayor tamaño (micropartículas).

La **Fig. 3** presenta el resultado de dos muestras: S1 que ha dado negativa la presencia de este aditivo (ni como nano ni micro componente); y la muestra S6, que es una muestra positiva, en la hay presente óxido de titanio tanto en forma de micro como nanopartículas.

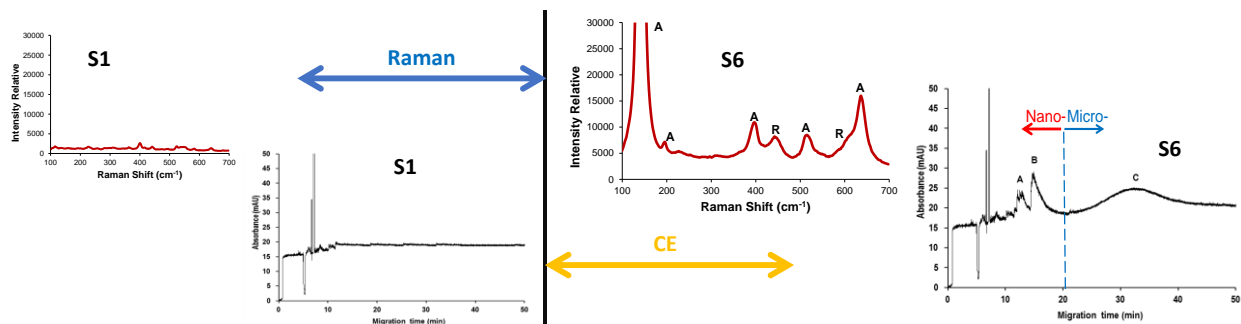


Fig. 3: Análisis de dos muestras de azúcar que demuestran la ausencia de nanopartículas de óxido de titanio (muestra S1), presencia (muestra S6).

El segundo ejemplo se refiere al control de nanomateriales de naturaleza orgánica. Así, hoy en día, muchos complementos nutricionales, nutraceuticos y fármacos se nanoencapsulan en forma de micelas, emulsiones, vesículas, etc. para conseguir una mejor bioasimilación, o asegurar el acceso eficaz y selectivo a células tumorales, por ejemplo. El problema radica en que estos complementos o fármacos son relativamente inestables o de naturaleza hidrofóbica, por lo que no se asimilan apenas. La encapsulación con estos nanomateriales evita estos problemas, por lo que es de gran interés controlar analíticamente si estos principios se encuentran libres o nanoencapsulados (mayor eficacia).

Un caso concreto es la curcumina, que está presente en diferentes alimentos y productos naturales, pero que presenta inestabilidad en los procesos de industriales de extracción y, además, presenta naturaleza hidrofóbica de cara a su bioasimilación. Sin embargo, sus propiedades son muy interesantes, ya que es un agente antioxidante, antibacteriano y antiviral, antialérgico, antiinflamatorio y anticancerígeno. La comercialización en forma de nanoemulsiones es, por tanto, muy recomendable.

La estrategia analítica que se ha desarrollado en este caso para la discriminación entre curcumina libre y nanocurcumina en muestras alimenticias y suplementos es más directa, ya que se basa en el diseño y adaptación de un sensor luminiscente basado en la fluorescencia que presenta los puntos cuánticos de grafeno (GQDs) bajo ciertas condiciones experimentales [5]. La presencia tanto de curcumina como nanocurcumina producen sendos efectos de disminución de fluorescencia del sensor de GQD (efecto "quenching"), pero mientras que el de la nanocurcumina es un quenching estático (disminución de la intensidad de fluorescencia a la misma longitud de onda), el que produce la curcumina libre es un quenching dinámico, desplazándose a mayores longitudes de onda de emisión. Este hecho permite la discriminación de curcumina y nanocurcumina en la muestra y su cuantificación. La **Fig. 4** ilustra este diferente comportamiento.

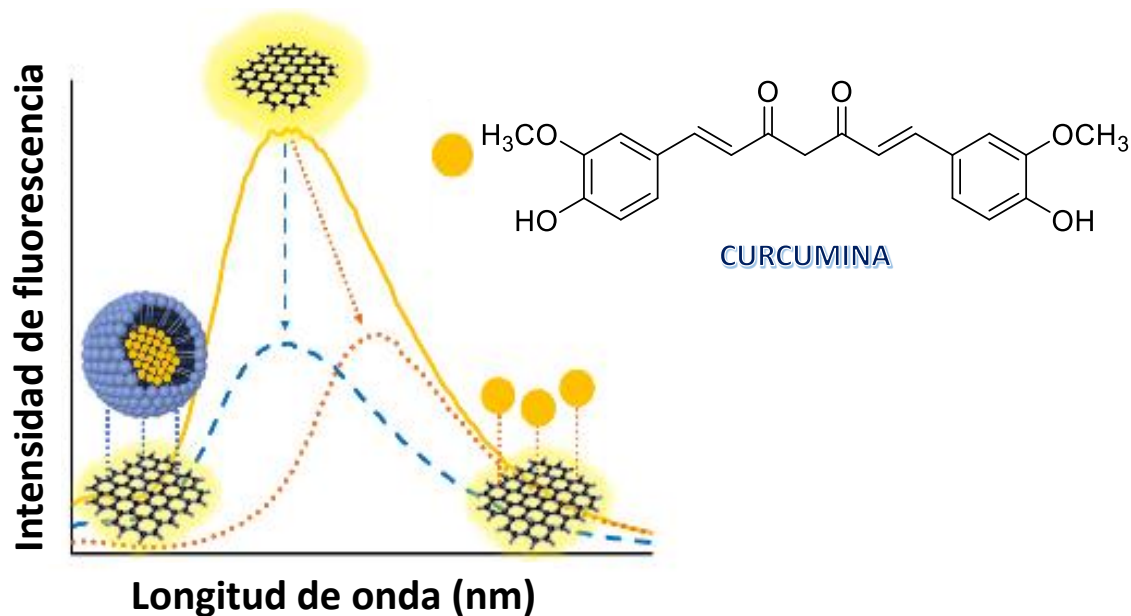


Fig. 4: Efecto de la curcumina y nanocurcumina sobre el quenching de fluorescencia del sensor que incorpora puntos cuánticos de grafeno.

En la **Tabla 1** se muestran algunas aplicaciones del método demostrando su viabilidad.

Muestras	#	Concentración añadida ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Concentración encontrada ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Recuperación (%)
A. Té de jengibre con curcumina	1	2,50	2,43 \pm 0,03	98 \pm 1
	2	5,00	4,90 \pm 0,05	97,9 \pm 0,9
	3	10,00	9,8 \pm 0,2	98 \pm 2
	4	20,00	20,3 \pm 0,5	101 \pm 2
B. Té de jengibre con nanocurcumina	1	0,75	0,74 \pm 0,01	97,9 \pm 0,8
	2	1,00	0,99 \pm 0,01	98,2 \pm 0,4
	3	1,22	1,2 \pm 0,01	98,4 \pm 0,4
	4	2,30	2,37 \pm 0,01	103,0 \pm 0,5

Tabla 1: Determinación de curcumina y nanocurcumina en muestras de té.

Se han mostrado dos ejemplos diferentes en los planteamientos de aplicar la nanometrología analítica con objetivos diferentes representados por nanomateriales inorgánicos y orgánicos.

4. CONCLUSIONES

La Nanometrología Analítica es un reto actual de la metrología, que tiene que desarrollarse para el control de nanomateriales en muestras de interés social. Efectivamente, esta información es importante para evaluar las propiedades tóxicas o daños ambientales que pueden causar las muestras que los contienen, o por su liberación al medioambiente; o por otra parte, evaluar la bioasimilación o la incorporación efectiva de fármacos en pacientes de enfermedades críticas. La problemática es relativamente nueva para los laboratorios de control o de rutina, y presenta numerosos retos desde el punto de vista metrológico y de aseguramiento de la calidad de los resultados. Entre ellos se encuentran: (i) asegurar estrategias de tratamiento de muestra que mantengan la integridad de los nanomateriales que contienen las muestras; (ii) la falta de disponibilidad de patrones y materiales de referencia certificados de calidad contrastada; y (iii) falta de métodos normalizados y esquemas de validación apropiados para estas metodologías.

5. REFERENCIAS

- [1] M.H.A. Hassan. *Science* (2005) 65.
- [2] M.L. Soriano, M. Zougagh, M. Valcárcel, A. Ríos, *Talanta* 177 (2018) 104.
- [3] S. López-Sanz, F.J. Guzmán, R.C. Rodríguez, Á. Ríos, *Anal. Chim. Acta* 1059 (2019) 1.
- [4] V. Moreno, M. Zougagh, A. Ríos, *Anal. Chim. Acta* 1050 (2019) 169.
- [5] E. Pinilla, M.L. Soriano, G.M. Durán, E.J. Llorent, A.M. Contento, Á. Ríos. *Microchim. Acta* 187 (2020) 446.

6. AGRADECIMIENTOS

Se agradece la financiación recibida por el Ministerio de Ciencia e Innovación (proyecto PID2019-104381GB-I00), y a la Junta de Comunidades de Castilla – La Mancha (proyecto SBPLY/17/180501/000262).