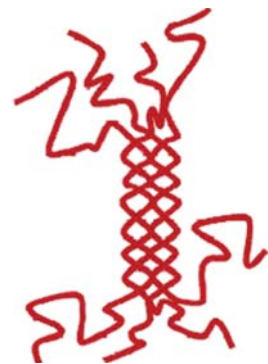


Bionanocompuestos de carragenina κ con nanopartículas metálicas

José de Jesús Infante Rivera, Victoria Campos Tapia,
Carlos Alberto Guerrero Salazar, Selene Sepúlveda Guzmán
FIME Universidad Autónoma de Nuevo León
CIIDIT Universidad Autónoma de Nuevo León.
selene.sepulvedagz@uanl.edu.mx

RESUMEN

En este trabajo se reporta la preparación de nanocompuestos a base de biopoliméricos de Carragenina tipo κ con nanopartículas metálicas de plata y oro. La síntesis de las nanopartículas se llevó a cabo in situ en presencia de Carragenina κ , seguida del secado de la dispersión coloidal por liofilización para la obtención de los nanocompuestos. La morfología de los nanocompuestos y de las nanopartículas fue analizada por microscopía electrónica de barrido (MEB) y microscopía electrónica de transmisión (MET). Las propiedades ópticas se evaluaron mediante espectroscopía de UV-vis mientras que la caracterización estructural se llevó a cabo mediante espectroscopía de infrarrojo. Las propiedades térmicas se estudiaron mediante calorimetría diferencial de barrido (CDB). Los resultados muestran nanocompuestos con propiedades ópticas similares a las NP metálicas y con propiedades térmicas mejoradas. Estos nanocompuestos presentan potenciales aplicación como soporte biodegradable.



PALABRAS CLAVE:

Nanopartículas metálicas, biopolímero, estabilización electrostática

ABSTRACT

The preparation of nanocomposites with biopolymer Carrageenan type κ and metallic nanoparticles of silver and gold is shown in this work. The preparation of nanocomposites was carried out by the in situ synthesis of metal nanoparticles in Carrageenan κ aqueous solution followed by drying of colloidal solution through freeze-drying. The morphology of nanoparticles and nanocomposites was characterized by scanning electron microscopy (SEM) and Transmission electron microscopy (TEM). Optical properties were analyzed by UV-vis spectroscopy, and the structural characterization with infrared spectroscopy. Thermal properties were studied with differential scanning calorimetric (DSC). The results showed nanocomposites with similar optical properties that those observed in metallic nanoparticles, and with improved thermal properties. These nanocomposites have a potencial application as biodegradable substrate.

KEY WORDS:

Metal nanoparticles, biopolymer, electrostatic stabilization

INTRODUCCIÓN

En los últimos años, la comunidad científica e industrial ha mostrado un interés en los materiales biopoliméricos y ha habido un incremento en trabajos de investigación enfocados tanto en métodos de preparación, caracterización y en las potenciales aplicaciones de biomateriales. Una de las aplicaciones principales de los biopolímeros es en la formación de hidrogeles los cuales son estructuras tridimensionales formadas de materiales orgánicos que pueden contener gran cantidad de agua.

La figura 1 muestra el mecanismo de formación de un hidrogel a base de un biopolímero. El polvo polimérico al entrar en contacto con el agua se hidrata y se presenta una interacción de tipo puente de hidrógeno entre las moléculas. Estas interacciones pueden ser de corto o largo alcance en función de la concentración, si la concentración va desde moléculas hidratadas individualmente a baja concentración se presentan los microgeles como en los espesantes. Cuando la concentración de las moléculas que forman interacciones de puente de hidrógeno es alta, forman estructuras tridimensionales de largo alcance conocidas como macrogeles (gelificantes).¹

Los hidrogeles tienen propiedades interesantes tales como la hidrofiliadad, alta afinidad a materiales biológicos, transparencia, etc.² Dada la estructura altamente porosa de los hidrogeles se ha estudiado como soporte en donde se puede atrapar dentro de la estructura tridimensional diversos materiales

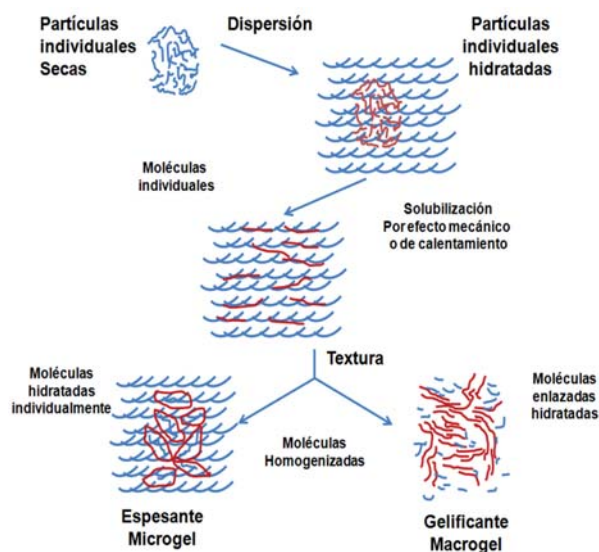


Fig. 1 Proceso de formación de un gel.

orgánicos e inorgánicos. Entre las aplicaciones más importantes se encuentra la liberación controlada de medicamentos en el área médica la cual se logra aprovechando la respuesta del polímero a cambios externos.³ La Carragenina es un polisacárido sulfatado, soluble en agua, extraído de las diferentes especies de algas marinas rojas. Existen tres clases de Carragenina, el tipo ι (Iota) se caracteriza por que puede formar geles elásticos. El tipo λ (Lambda) tiene una alta solubilidad en agua y no gelifican pero funcionan como agente espesante. El tipo κ (kappa) es una Carragenina que en presencia de agua forma geles mecánicamente estables.⁴ La Carragenina κ tiene una estructura primaria basada en una repetición de disacáridos de $\alpha(1-3)$ -D-galactosa y $\beta(1-4)$ -3,6-anhidro-D-galactosa y contiene un grupo sulfato por unidad de disacárido en el carbono 2 de la unidad de 1,3 vinculado a la galactosa (figura 2).

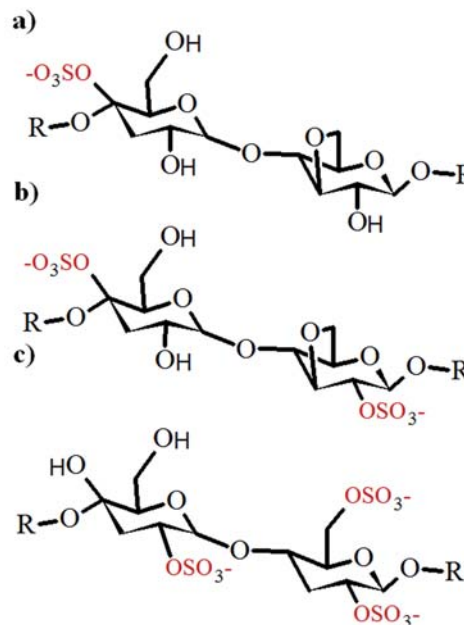


Fig. 2 Estructura de la Carragenina a) tipo κ , b) tipo λ , c) tipo κ .⁴

El proceso de gelación del Carragenina κ es termosensible, consiste en la formación de dobles conformaciones helicoidales seguida por la agregación de las hélices. A altas temperaturas en solución se obtiene una conformación tipo espiral desordenada con una disminución en la temperatura, la estructura espiral se convierte en una estructura de doble hélice, que posteriormente se agregan para formar zonas de una unión de gel⁴ (figura 3).

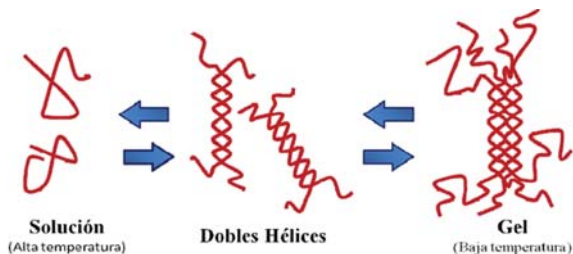


Fig. 3 Esquema del mecanismo de formación de gel del Carragenina κ en medios acuosos (adaptada de la referencia ⁴)

La Carragenina κ es un importante agente gelificante en la industria de alimentos, así como en aplicaciones en la industria farmacéutica y en el sector de biotecnología.⁵ Recientemente se ha reportado el uso de la Carragenina κ en el control de la morfología de nanopartículas de óxidos de hierro magnéticos, como magnetita (Fe_3O_4) y hematita ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$). Esto dio lugar a la obtención de materiales con potenciales aplicaciones en procesos de bioseparación, termoterapia de cáncer y como agentes de contraste en la resonancia magnética de imagen (MRI).⁶ Posteriormente se demostró que la Carragenina κ puede actuar como un eficiente estabilizador para impedir la precipitación de hierro e hidróxidos hasta valores de pH muy alto. Estos resultados sirvieron para la investigación de otro trabajo en la aplicación de la síntesis y estabilización de partículas de óxido de cobalto y níquel.⁷

Las nanopartículas (NP) de metales nobles tales como el oro y la plata, exhiben unas excelentes propiedades físicas, químicas y biológicas que son intrínsecas a su tamaño nanométrico. El fenómeno de resonancia de plasmón superficial para las partículas de oro y plata ocurre dentro de la región visible del espectro electromagnético y ha generado un gran interés para un amplio rango de aplicaciones ópticas.

Las nanopartículas de oro presentan una baja toxicidad y elevada biocompatibilidad. Destacan especialmente sus propiedades fototérmicas, generan calor al ser estimuladas en presencia de luz láser actuando como nano-calefactores.⁸ Las nanopartículas de plata por otro lado, presentan propiedades funcionales únicas, las cuales conducen a aplicaciones variadas en las áreas de catálisis, sensores ópticos y bactericidas. Investigaciones recientes en medicina demuestran que las nanopartículas de plata son altamente efectivas como agentes antimicrobiales, y antivirales.⁹

En este trabajo se propone el uso de la Carragenina κ para la preparación de nanocompósitos biopoliméricos con nanopartículas metálicas. Los nanocompósitos biopoliméricos de Carragenina κ con nanopartículas metálicas serán caracterizados por técnicas espectroscópicas y se llevará a cabo la caracterización estructural. Estos materiales tienen un alto potencial de aplicación en áreas como la biomedicina y la biotecnología.

MATERIALES Y MÉTODOS

Materiales

Los materiales empleados para la preparación de los nanocompósitos biopoliméricos fueron la Carragenina tipo κ grado comercial, el borohidruro de sodio (NaBH_4) con una pureza de $\geq 98\%$, el ácido tetracloroaurico ($\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), nitrato de plata (AgNO_3), ambos con una pureza de $\geq 99\%$. Todos los reactivos fueron provistos por la compañía Sigma-Aldrich y se utilizaron tal y como se entregaron. También se utilizó agua deionizada (DI) con una resistencia de $18 \text{ M}\Omega$ y nitrógeno líquido.

Nanocompósitos biopoliméricos de Carragenina tipo κ con nanopartículas metálicas.

En un experimento típico 70 mg Carragenina κ se disolvieron en 6 ml de agua desionizada. Cuando la solución estuvo completamente transparente se adicionaron 0.5 mL de la solución precursora de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ o AgNO_3 al $8.2 \mu\text{M}$. La mezcla se agitó en un vortex por 5 min y posteriormente se agregó 1 ml de la solución de NaBH_4 de concentración $51.5 \mu\text{M}$. Siguiendo el mismo procedimiento se prepararon varias dispersiones de Carragenina κ una con la solución precursora de AgNO_3 , otra con la solución precursora de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ y una solución de Carragenina κ sin la precipitación de nanopartículas.

Las soluciones se vaciaron en contenedores y fueron sometidas a enfriamiento en nitrógeno líquido por 15 minutos para inducir el ordenamiento de las moléculas del biopolímero y después fueron liofilizados por 24 horas. Los nanocompósitos fueron desmoldados y se llevó a cabo su caracterización.

CARACTERIZACIÓN

La caracterización se efectuó mediante espectroscopía de UV-vis utilizando un espectrofotómetro UV-vis marca PerkinElmer modelo Lambda 35. Las mediciones fueron hechas en absorción y el análisis se llevó a cabo utilizando una celda de cuarzo para las dispersiones acuosas, mientras que las muestras secas fueron analizadas mediante reflectancia difusa utilizando una esfera de integración modelo RSA-PE-20.

El análisis por espectroscopía de infrarrojo (FTIR) se realizó con un espectrofotómetro de infrarrojo Nicolet 6700 FT-IR. Las muestras fueron analizadas en modo de transmitancia utilizando pastillas de KBr. Los espectros fueron adquiridos realizando 32 escaneos a una resolución de 4 cm^{-1} .

La caracterización morfológica se llevó a cabo mediante microscopía electrónica de barrido (MEB) en un equipo FEI Nova NanoSEM 200 de emisión de campo. Las muestras fueron observadas utilizando un detector de bajo vacío a un voltaje de aceleración de 5 KV y a una distancia de trabajo de 5 mm. Las muestras fueron analizadas mediante microscopía electrónica de transmisión (MET) con el equipo FEI modelo TITAN G² 80-300. Una gota de las dispersiones se depositó sobre una película de carbón en una rejilla de cobre. Las muestras fueron analizadas en campo claro a un voltaje de aceleración de 300 KV. Los nanocompuestos biopoliméricos fueron analizados mediante calorimetría diferencial de barrido (CDB) en un equipo Diamond DSC Perkin Elmer. Los termogramas se obtuvieron en un intervalo de temperatura de 10 a 300 °C a una velocidad de calentamiento de $10^{\circ}\text{C}/\text{min}$, bajo atmósfera de nitrógeno.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las dispersiones coloidales obtenidas después de la precipitación *in situ* de nanopartículas metálicas de Ag y Au se presentan en la figura 4a recuadro superior. Se observa que presentan un cambio en coloración debido a la presencia de las nanopartículas. La dispersión del compuesto de Carragenina-Ag tomó una coloración amarillo oscuro, mientras que la dispersión de los compósitos de Carragenina-Au la solución tomó una coloración azul obscuro (ver en versión en Internet de *Ingenierías*).

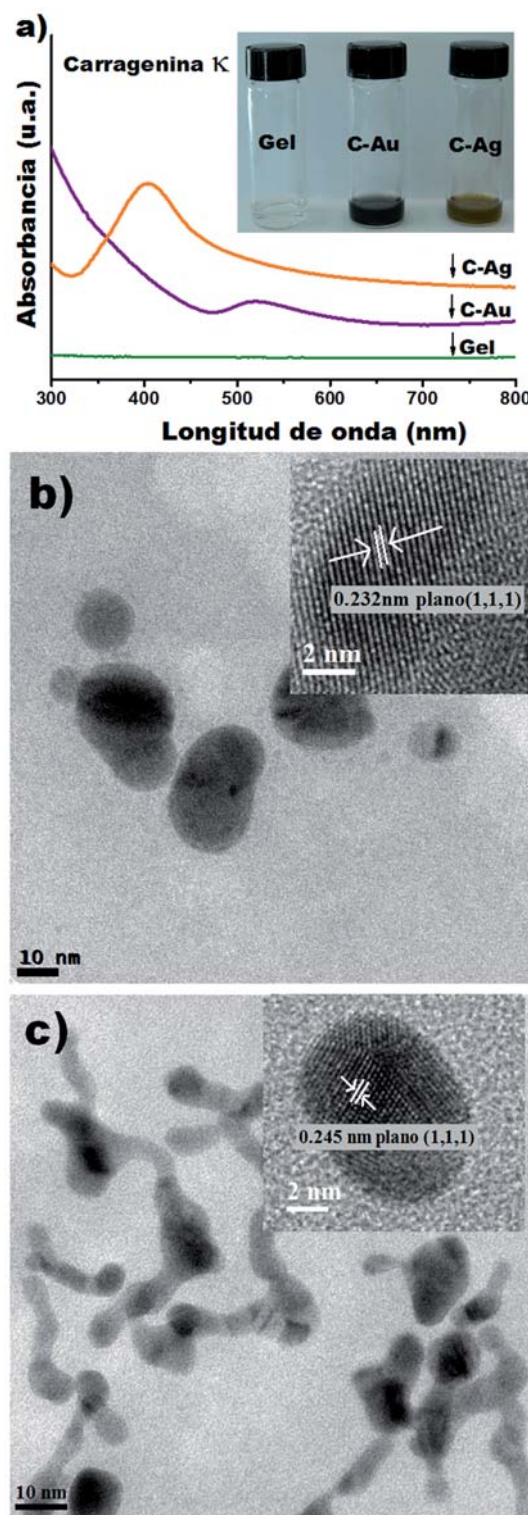


Fig. 4. a) Espectro de UV-vis de las soluciones coloidales de Carragenina κ b) Imágenes de MET de la Carragenina κ con nanopartículas Ag, inserto: Imagen de alta resolución de NP Ag y c) imagen de MET de la Carragenina κ con nanopartículas Au, inserto imagen de alta resolución de NP Au .

Estos cambios en la coloración están asociados a la presencia de partículas metálicas en la escala nanométrica.¹⁰ Las dispersiones fueron analizadas mediante espectroscopía de UV-vis y la figura 4a muestra los espectros obtenidos. El espectro de la solución de Carragenina κ -puro no exhibe absorción en la región visible. Mientras que las dispersiones de Carragenina κ con nanopartículas de plata presenta una banda de absorción la región visible en 405 nm, asociada a la resonancia de plasmón de las nanopartículas de Ag. El espectro obtenido de la solución de Carragenina κ -Au presenta también una absorción en la región visible a 520 nm. La relación entre la longitud de onda de absorción y el tamaño de las partículas metálicas ha sido ampliamente estudiada y estos resultados sugieren la presencia de partículas menores a los 50 nm. Sin embargo la poca intensidad de esta absorción hace pensar que se encuentran en poca concentración.¹¹

Las soluciones coloidales de la Carragenina κ con nanopartículas metálicas fueron analizadas mediante microscopía electrónica de transmisión (MET). En la figura 4b se observa la micrografía obtenida de las nanopartículas de plata que presentan un tamaño alrededor de los 10 nm. La morfología es cuasi esférica y se encuentran separadas unas de otras, lo cual indica la estabilización debido al polímero. Las partículas fueron analizadas a alta resolución y la imagen adquirida se muestra en el inserto de la Figura 4b. Se pueden observar líneas de los planos cuya distancia interplanar es de 0.232 nm y corresponden al plano (1,1,1) en una estructura cristalina FCC. En el caso de las dispersiones de la Carragenina κ -Au la micrografía muestra que las nanopartículas están aglomeradas formando una estructura tipo serpiente. A diferencia de las nanopartículas de Ag en donde están bien dispersas en las nanopartículas de Au, la estabilización provista por la Carragenina no es tan eficiente. Sin embargo es posible encontrar nanopartículas aisladas alrededor de los 10 nm (figura 4c). El inserto de la figura 4c muestra una imagen de alta resolución de las nanopartículas de Au. Se puede observar líneas de los planos cuya distancia interplanar es de 0.245 nm asociada al plano (1,1,1) en una estructura cristalina FCC.

Las dispersiones de Carragenina κ , Carragenina κ -Ag y Carragenina κ -Au fueron congeladas en nitrógeno líquido y posteriormente secadas mediante

liofilización. La Carragenina κ muestra un color blanco opaco. La Carragenina κ con nanopartículas presentaron cambios en la coloración, aquel que contenía nanopartículas de Ag tomo una coloración amarillo oscuro y el que contenía nanopartículas de Au adquirió un color gris brillante (figura 5a, 5c y 5e). La morfología de los nanocompositos fue analizada mediante microscopía electrónica de barrido (MEB).

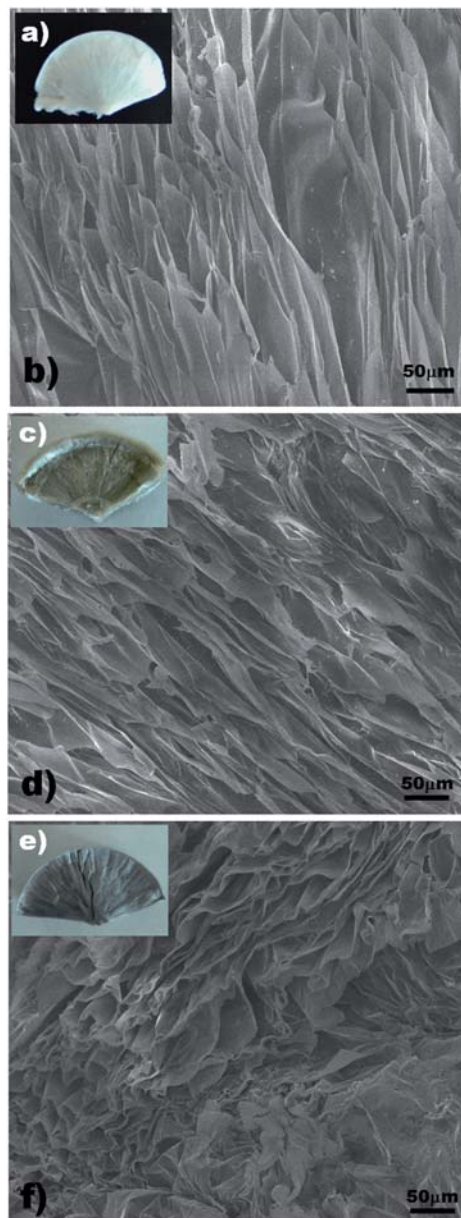


Fig. 5 Fotografía digitales de: a) Carragenina κ -puro, c) Carragenina κ - Ag, e) Carragenina κ -Au, Micrografías de MEB de: b) Carragenina κ -puro, d) Carragenina κ - Ag y f) Carragenina κ - Au.

La figura 5 presenta las imágenes correspondientes y se observa que la Carragenina κ sin nanopartículas tiene una estructura porosa como ensamble de películas de Carragenina orientadas en diferentes direcciones (figura 5b). Este comportamiento se observó también en la estructura de los nanocompuestos secos de Carragenina κ -Ag y Carragenina κ -Au (figura 5d y 5f).

Los nanocompuestos obtenidos fueron caracterizados por espectroscopía de infrarrojo y los espectros adquiridos se muestran en la figura 6.

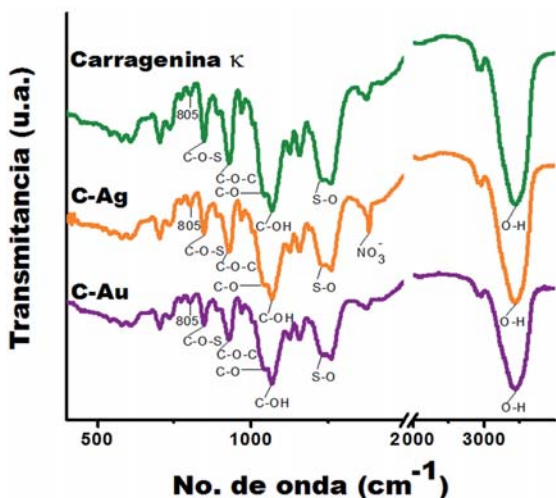


Fig. 6 Espectroscopía FT-IR de los nanocompuestos obtenidos.

De manera general se observa la presencia de las bandas de absorción característicos del O-H alrededor de los 3000-3500 cm^{-1} , además de las típicas bandas de absorción de la Carragenina κ para las tres muestras, alrededor de 1040-1070 cm^{-1} para C-O y C-OH, 1225 cm^{-1} correspondiente al estiramiento asimétrico del S-O, 920 cm^{-1} para C-O-C atribuible al estiramiento en 3, 6- anhidrogalactosa, se presentó una clara banda a 845-850 cm^{-1} del estiramiento C-O-S de la $\alpha(1-3)$ -D-galactosa y por último se presentó una banda alrededor de los 805 cm^{-1} de los anhidrogalactosa-2-sulfato atribuible a trazas de Carragenina tipo ι .⁶ Adicionalmente para la muestra Carragenina κ -Ag aparece una banda de 928 cm^{-1} asociada a la vibración del ion nitrato debido posiblemente a residuos del precursor metálico. Estos resultados muestran que la Carragenina κ no sufre cambios en su estructura química debido a reacciones de oxidación.

Para estudiar el efecto del congelamiento sobre las propiedades ópticas del material se adquirieron espectros de UV-vis de reflectancia difusa de los nanocompuestos. La figura 7a muestra los espectros correspondientes al polímero liofilizado de Carragenina κ -puro y a los nanocompuestos de Carragenina κ -Ag y Carragenina κ -Au.

Se puede observar que el espectro de Carragenina κ -puro no muestra absorción en la región visible sin embargo existe una desviación de la línea base del espectro asociado con la dispersión de luz. Por otro lado ambos espectros, el de Carragenina κ -Ag y Carragenina κ -Au, muestran las bandas de absorción asociadas a las nanopartículas de Ag y Au a 436nm y 525 nm respectivamente. Sin embargo, una nueva banda a 592 nm se observa en los dos espectros, esta banda corresponde a la resonancia de plasmón de las nanopartículas aglomeradas.¹²

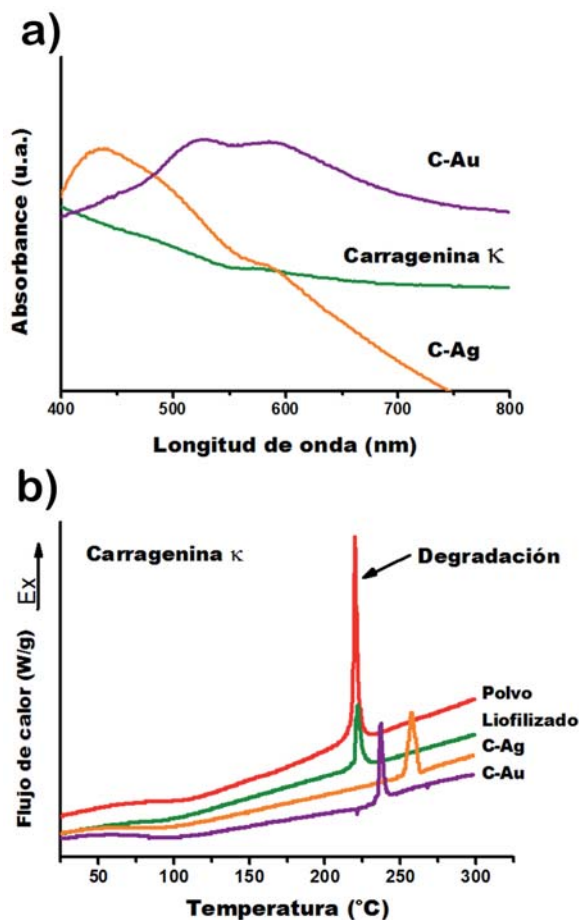


Fig. 7. a) Espectro de UV-vis de reflectancia difusa de los nanocompuestos obtenidos; b) Termogramas de calorimetría diferencial de barrido de las muestras obtenidas (CDB).

La aglomeración de las partículas ocurre durante el congelamiento de la muestra por la formación de la doble hélice de la Carragenina κ que resulta en una disminución de la distancia entre las nanopartículas, lo que favorece la aglomeración. Esto es consistente con el cambio en el color de la dispersión del biopolímero con nanopartículas metálicas en dispersión.

Para analizar los cambios estructurales en la formación del hidrogel de Carragenina κ en presencia de las nanopartículas metálicas se llevó a cabo un análisis por calorimetría diferencial de barrido (CDB). La figura 7b muestra los termogramas obtenidos para el Carragenina κ en polvo, la Carragenina κ después de liofilización y de los nanocompósitos de Carragenina κ -Ag y Carragenina κ -Au. Para todos los termogramas se observa un pico exotérmico asociado a la degradación del biopolímero, sin embargo, la temperatura a la que se observa este pico se ve modificado para los distintos materiales. El pico exotérmico en el Carragenina κ polvo (sin procesar) se observa a 220 °C y es muy similar al observado para el de Carragenina κ liofilizado (221 °C).¹³ En el caso de los termogramas del Carragenina κ con nanopartículas, los picos exotérmicos presentan desplazamientos a mayor temperatura y un ligero incremento en el área con respecto a la Carragenina tipo “ κ ”. El pico exotérmico para el nanocompósito de Au se presentó a 236 °C mientras que el que contiene nanopartículas de Ag a 257 °C. Presumiblemente estos desplazamientos en la temperatura de degradación sugieren que las nanopartículas metálicas tienen una fuerte influencia en el arreglo de las hélices de la Carragenina κ que modifica la estructura haciéndola térmicamente más estable. Estos resultados son consistentes con lo observado en las propiedades ópticas y la caracterización por microscopía electrónica, en donde la Carragenina κ presenta una mayor interacción con las nanopartículas de Ag que actúa como estabilizador controlando su tamaño y las propiedades de absorción.

CONCLUSIONES

Se prepararon exitosamente bionanocompósitos de Carragenina κ con nanopartículas metálicas mediante la síntesis *in situ*. La presencia de

nanopartículas metálicas de Au y Ag no modificó la estructura química del polímero, sin embargo las propiedades ópticas fueron muy similares a las de las nanopartículas metálicas obteniéndose biomateriales que presentan absorción en la región visible del espectro. La formación de estructuras térmicamente más estables durante la obtención de los nanocompósitos es atribuida a la presencia de nanopartículas metálicas que muestran interacciones con cadenas del biopolímero.

AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento otorgado por CONACYT con el proyecto CB 106365 y también al CIIDIT de la Universidad Autónoma de Nuevo León, especialmente a la coordinación de Materiales Avanzados y al Laboratorio de Microscopía Electrónica. Así mismo Jesús Infante Rivera agradece la beca Santander de Movilidad Nacional Enero-Junio 2011 y Victoria Campos Tapia la beca CONACYT otorgada.

REFERENCIAS

1. Thorne, J.; Vine, G.; Snowden, M., Microgel applications and commercial considerations. *Colloid & Polymer Science* 2011, 289 (5), 625-646.
2. Pavlyuchenko, V.; Ivanchev, S., Composite polymer hydrogels. *Polymer Science Series A* 2009, 51 (7), 743-760.
3. Das, M., Stimulus-Responsive Microgels: Design, Properties and Applications. Department of Chemistry University of Toronto 2008, thesis.
4. Dumitriu, S., Polymeric Biomaterials. 2002.
5. MacArtain, P.; Jacquier, J. C.; Dawson, K. A., Physical characteristics of calcium induced κ -carrageenan networks. *Carbohydrate Polymers* 2003, 53 (4), 395-400.
6. Daniel-da-Silva, A. L.; Trindade, T.; Goodfellow, B. J.; Costa, B. F. O.; Correia, R. N.; Gil, A. M., In Situ Synthesis of Magnetite Nanoparticles in Carrageenan Gels. *Biomacromolecules* 2007, 8 (8), 2350-2357.
7. Jones, F.; Cölfen, H.; Antonietti, M., Interaction of κ -Carrageenan with Nickel, Cobalt, and Iron Hydroxides. *Biomacromolecules* 2000, 1 (4), 556-563.

8. Lin, A.; Hirsch, L.; Lee, M. H.; Barton, J.; Halas, N.; West, J.; Drezek, R., Nanoshell-enabled photonics-based imaging and therapy of cancer. *Technology in Cancer Research & Treatment* 2004, 3 (1).
9. Fernández-Barbero, A.; Suárez, I. J.; Sierra-Martín, B.; Fernández-Nieves, A.; de las Nieves, F. J.; Marquez, M.; Rubio-Retama, J.; López-Cabarcos, E., Gels and microgels for nanotechnological applications. *Advances in Colloid and Interface Science* 2009, 147-148, 88-108.
10. Kemp, M. M.; Kumar, A.; Mousa, S.; Park, T.-J.; Ajayan, P.; Kubotera, N.; Mousa, S. A.; Linhardt, R. J., Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles Stabilized with Glycosaminoglycans Having Distinctive Biological Activities. *Biomacromolecules* 2009, 10 (3), 589-595.
11. Le Guével, X.; Wang, F. Y.; Stranik, O.; Nooney, R.; Gubala, V.; McDonagh, C.; MacCraith, B. D., Synthesis, Stabilization, and Functionalization of Silver Nanoplates for Biosensor Applications. *The Journal of Physical Chemistry C* 2009, 113 (37), 16380-16386.
12. Liao, J.; Zhang, Y.; Yu, W.; Xu, L.; Ge, C.; Liu, J.; Gu, N., Linear aggregation of gold nanoparticles in ethanol. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2003, 223 (1-3), 177-183.
13. Nep, E. I.; Conway, B. R., Physicochemical characterization of grewia polysaccharide gum: Effect of drying method. *Carbohydrate Polymers* 2011, 84 (1), 446-453.



Ciencias de la
TIERRA
conocimiento para el hombre

E-ICES 8

E-ICES es un encuentro internacional en el que se presentan trabajos de investigación en el extenso espectro de las Ciencias de la Tierra.

Su objetivo es promover en la comunidad científica el trabajo interdisciplinario, con especial interés en los estudios dirigidos a generar conocimiento aplicable a problemas relacionados con el hombre y la sociedad.

RECURSOS Y PROSPECCIÓN GEOFÍSICA

RIESGO AMBIENTAL Y TERRITORIAL

ANTROPOLOGÍA AMBIENTAL

AMBIENTE Y CLIMA

**Del 30 de Octubre
al 2 de Noviembre
de 2012**

**MAR DEL PLATA
BUENOS AIRES
ARGENTINA**

Hotel 13 de Julio



Para recibir más información del E-ICES 8, envíe para ser incluido en la base de datos, un correo electrónico a:
ices@cnea.gov.ar

Más información:
<http://www.imd.uncu.edu.ar/paginas/index/ices>
<http://www.icesmalargue.org/>
<http://www.cnea.gov.ar/proyectos/ices.php>

