

## Síntese in situ de nanopartículas de ouro para obtenção de hidrogéis de pectina/quitosana

## In situ synthesis of metallic nanoparticles using carrageenan-based hydrogels

### RESUMO

A crescente produção de compósitos de hidrogéis e nanopartículas metálicas nos dias atuais se deve a sua alta aplicabilidade para o desenvolvimento de biomateriais. A presença de nanopartículas nos materiais é responsável por adicionar novas características aos materiais, possibilitando diferentes aplicações. Neste trabalho, foram realizados ensaios para a síntese de nanopartículas de ouro in situ em pectina e para a produção de hidrogéis físicos com CS, variando a concentração de pectina, quitosana e do precursor de ouro. Ensaios de degradação e intumescimento também foram realizados e avaliados posteriormente, evidenciando uma relação direta entre concentração de precursor usado e a estabilização do gel da matriz.

**PALAVRAS-CHAVE:** Citotoxicidade. Polissacarídeos. Síntese verde.

**Matheus Beretta Barboza**  
[matheus\\_beretta@hotmail.com](mailto:matheus_beretta@hotmail.com)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

**Sandro Aurélio de Souza Venter**  
[sandroventer@utfpr.edu.br](mailto:sandroventer@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Apucarana, Paraná, Brasil

**Direito autorial:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



### ABSTRACT

The production of hydrogels and metal nanoparticles has increased today to develop their high applicability for the development of biomaterials. The presence of nanoparticles in materials is necessary for the use of new resources, enabling different applications. In this work, tests were performed for the synthesis in situ of gold nanoparticles and the production of a physical hydrogel, varying pectin, chitosan and gold precursor concentration. Degradation and swelling tests were achieved and evaluated, showing a relationship between the concentration of precursors used and the stabilization of the matrix gel.

**KEYWORDS:** Citotoxicity. Polysaccharides. Green synthesis.

## INTRODUÇÃO Página | 2

As nanopartículas de ouro (AuNPs), devido a sua elevada razão superfície/volume são termodinamicamente instáveis, possuindo natural tendência de aglomeração (Aslan & Pérez-Luna, 2002). Essas nanopartículas, quando dispersas em uma matriz de hidrogel, apresentam elevada biocompatibilidade e inércia química. Portanto, a busca por novos métodos de síntese que possam oferecer uma maior estabilização química se mostram necessários.

O método convencional de síntese das nanopartículas metálicas envolve tratamento de uma solução contendo sais metálicos com um agente redutor químico, podendo ocasionar em aglomerações ou mudanças finais (LI; ZHAO; ASTRUC, 2014; CORDEIRO et al., 2016). Como alternativa, os métodos de síntese por processos *in situ* ou por síntese verde são atrativos, permitindo então a obtenção de compósitos de fácil reprodutibilidade, alta estabilidade de nanopartículas e de baixa citotoxicidade.

A síntese *in situ* pode ser realizada com a utilização de polissacarídeos, os quais, devido à presença de grupos funcionais como a hidroxila e a amina, atuam como agentes redutores do sal precursor metálico e estabilizadores da suspensão coloidal de nanopartículas. A pectina (PT) e a quitosana (CS) são dois polissacarídeos naturais que possuem propriedades como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa citotoxicidade. Além disso, dependendo do pH, podem ser polissacarídeos aniônicos ou catiônicos, respectivamente. Assim, sob condições adequadas, eles podem ser combinados gerar complexos polieletrólitos (PECs), os quais apresentam estrutura tridimensional denominada hidrogel.

Com base nisso, o objetivo deste trabalho foi sintetizar AuNPs *in situ* em PT e produzir hidrogéis físicos com CS utilizando as dispersões aquosas de PT-AuNPs. Não há relatos na literatura de hidrogéis de PT/CS com AuNPs inclusas na matriz via síntese *in situ*. Para este fim, várias caracterizações foram realizadas para avaliar profundamente as propriedades e morfologias dos materiais.

## MATERIAIS E METODOS

GENU<sup>®</sup> pectina com grau de O-metoxilação de 56% e massa molar de  $190 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$  foi doada gentilmente pela CP Kelco Co., Limeira-SP (Brasil). Quitosana com um grau de desacetilação de 85% e massa molar de  $87 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$  foi adquirida da Golden-Shell Biochemical (China). O sal de ácido tetracloroaúrico III trihidratado P.A. (99,9%), com massa molar de  $393,83 \text{ g.mol}^{-1}$  foi adquirido da Synth (Brasil). Outros reagentes como: ácido clorídrico (HCl) P.A. (de 36,5% a 38,0%) e hidróxido de sódio (NaOH) P.A. (98%) foram adquiridos da Alphatec e Vetec, respectivamente.

Para a síntese dos hidrogéis, concentrações de solução aquosa de 2.25%, 2.50% e 2.75% (m/v) de pectina foram misturados sob agitação magnética constante durante 10 minutos a 65°C, com volume total de solução fixado em 6 mL e mantendo-se a concentração da solução de CS constante a 1.00% (m/v)

Já para a síntese das nanopartículas, soluções de PT nas proporções de 2,25%, 2,5% e 2,75% (m/v) foram preparadas em água deionizada sob agitação

mecânica a 65°C. Após a solubilização completa, foram adicionados volumes de solução de H<sub>2</sub>AuCl<sub>4</sub> 0,254 mol.L<sup>-1</sup>, mantendo a agitação e o aquecimento por 1h, para obter as concentrações finais de 0,1mM, 0,2mM e 0,3mM.

Para os testes de degradação, uma massa inicial de aproximadamente 0,1 g de hidrogel seco (M<sub>I</sub>), obtida após liofilização foi imersa em 50 mL de PBS (pH ≈ 7,4) e incubado a 37 ° C com agitação orbital (100 rpm). As amostras foram removidas da solução tampão PBS nos intervalos de tempo de 1, 3, 5, 7 e 14 dias, sendo então novamente congelados a -18°C e liofilizados a -50°C. Posteriormente, foram novamente pesados para avaliar o peso seco final (M<sub>F</sub>). O percentual de desintegração foi determinado usando a seguinte Equação 1:

$$Desintegração (\%) = \frac{(M_I - M_F)}{M_I} \times 100 \quad (1)$$

Os graus de intumescimento (GI) foram utilizados para a determinação da capacidade dos compósitos em absorver fluidos. Para isso, os compósitos liofilizados foram inicialmente pesados (M<sub>D</sub>) e então imersos em PBS (pH 7,4). Então eles permaneceram incubados a 37°C com agitação orbital (100 rpm) por 24 horas, seguidos de uma filtração a vácuo para a remoção do excesso de PBS após o período citado. O excesso de água na superfície dos materiais foi gentilmente removido com papel toalha seco. Por fim, os compósitos foram pesados (M<sub>S</sub>) e o GI foi determinado pela seguinte Equação 2:

$$GI = \frac{(M_S - M_D)}{M_D} \times 100 \quad (2)$$

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Nas Tabelas 1 e 2 é possível observar as condições avaliadas, assim como aquelas em que foram observadas a formação de hidrogéis estáveis. A razão mássica PT:CS foi aproximadamente 4 (3.38, 3.75 e 4.12) para a obtenção de géis estáveis. Essa maior quantidade de PT em relação a CS pode ser justificada pelo alto grau de O-metoxilação, uma vez que uma maior quantidade de PT aumenta a densidade de pontos de reticulação entre as cadeias. Por outro lado, o excesso de pectina pode ocasionar um desbalanço de cargas que impedem a gelificação por meio do surgimento de regiões onde ocorra repulsão entre grupos carboxilato das cadeias de PT.

**Tabela 1.** Condições de síntese, proporção mássica de polissacarídeo e verificação da formação de hidrogel (A).

PT% (m/v)	CS% (m/v)	PT:CS (volume)	PT:CS (massa)	Formatação	Quebra
2,25 (A)	1,00	50:50	2,25	Não	-
		60:40	3,38	Sim	Sim
		70:30	5,25	Não	-
		80:20	9,00	Não	-

Fonte: Autoria própria (2019).

**Tabela 2.** Condições de síntese, proporção mássica de polissacarídeo e verificação da formação de hidrogel (B) e (C).

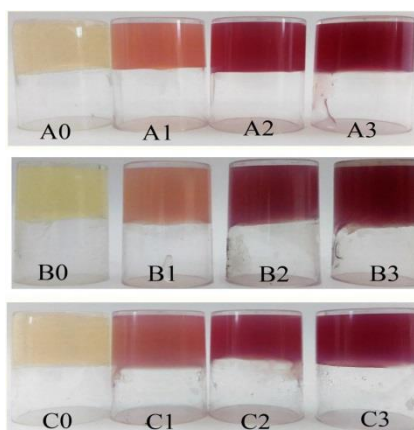
PT% (m/v)	CS% (m/v)	PT:CS (volume)	PT:CS (massa)	Formatação	Quebra
2,50 (B)	1,00	50:50	2,50	Não	-
		60:40	3,75	Sim	Não
		70:30	5,83	Não	-
		80:20	10,00	Não	-
2,75 (C)	1,00	50:50	2,75	Não	-
		60:40	4,12	Sim	Não
		70:30	6,42	Não	-
		80:20	11,0	Não	-

Fonte: Autoria própria (2019).

A presença de AuNPs em pectina foi ainda avaliada utilizando espectros na faixa de 400 a 800 nm. Para a confirmação da formação de AuNPs em pectina, foram observadas banda de extinção característica para AuNPs entre 538 a 552 nm. Para uma mesma concentração de pectina, foi observado que quanto maior a concentração do sal precursor aumenta, aumentam também a intensidade das bandas de ressonância.

A Figura 1 mostra imagens dos hidrogéis de PT/CS sem AuNPs (amostras A0, B0 e C0) e dos compósitos de PT-AuNPs/CS obtidos nas diferentes condições testadas.

**Figura 1.** Imagens (antes da lavagem) dos hidrogéis de PT/CS e PT-AuNPs/CS.



Fonte: Autoria própria (2019).

As amostras secas apresentaram grau de intumescimento médio de: 4465% para B0, 2976% para B3, 3977% para C0 e 4537% para C3. A presença de AuNPs

na matriz da amostra B parece ter auxiliado na reticulação das cadeias poliméricas, porém esse efeito não foi visualizado na amostra C3, provavelmente devido a uma maior massa em relação à B3. Além disso, C3 tem uma melhor habilidade para captar água devido ao seu maior teor de pectina (polissacarídeo muito hidrofílico em PBS, pH = 7,4).

Até o terceiro dia, entre 30% a 40% de massa foi perdida para essas amostras. Porém, no 14º dia a desintegração atingiu aproximadamente 60% para amostra C0 enquanto os compósitos B0 e B3 apresentaram desintegração na faixa de 30%. Possivelmente o maior excesso de cargas negativas deve ser responsável pela sua menor estabilidade devido aos fenômenos anteriormente descritos referentes à repulsão de grupos carboxilato das cadeias de PT.

### CONCLUSÃO

A síntese in situ dos novos compósitos de PT-AuNPs/CS foi obtida pela primeira vez através da conjugação da quitosana com suspensão de pectina e AuNPs, as quais foram avaliadas com variação das concentrações do precursor de ouro e pectina na síntese. Os resultados obtidos mostraram que o compósito de melhor estabilidade, quando comparado com os demais (com e sem AuNPs), foram os com concentração de 0,3mM de HAuCl<sub>4</sub> em PT 2.5% (m/v) e razão mássica PT:CS de 3:1. Com isso, sugere-se que as AuNPs têm um papel importante no processo de reticulação das cadeias poliméricas. Por fim, a afirmação ainda foi suportada pelos testes de gelificação realizados para compósitos de PT 2.5% (m/v) com diferentes concentrações de HAuCl<sub>4</sub>, onde foi visto que para uma maior concentração do precursor, maior a estabilização do gel proporcionada pela presença das AuNPs.

### AGRADECIMENTOS

Agradeço à faculdade pela oportunidade de ter realizado esse trabalho. Agradeço também ao meu orientador e demais professores e alunos que auxiliaram a realização do mesmo. Por fim, agradeço a Fundação Araucária pela bolsa fornecida.

### REFERÊNCIAS

- Aslan, K., & Pérez-Luna, V. H. (2002). Surface Modification of Colloidal Gold by Chemisorption of Alkanethiols in the Presence of a Nonionic Surfactant. *Langmuir*, 18(16), 6059–6065. <https://doi.org/10.1021/la025795x>
- Li, N., Zhao, P., & Astruc, D. (2014). Anisotropic gold nanoparticles: Synthesis, properties, applications, and toxicity. *Angewandte Chemie - International Edition*, 53(7), 1756–1789. <https://doi.org/10.1002/anie.201300441>
- Cordeiro, M., Carlos, F. F., Pedrosa, P., Lopez, A., & Baptista, P. V. (2016). Gold Nanoparticles for Diagnostics: Advances towards Points of Care, (i). <https://doi.org/10.3390/diagnostics6040043>



IX SEMINÁRIO DE EXTENSÃO E INOVAÇÃO  
XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA  
11 a 13 de Novembro | Pato Branco - PR

