

## Hidrogéis de Pectina e Quitosana com Nanopartículas de ouro Obtidos por Síntese Verde

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

#### RESUMO

**Gustavo dos Santos Marcelino**  
[Gu.marcelino@hotmail.com](mailto:Gu.marcelino@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

Diversos trabalhos tem reportado a síntese de nanopartículas de ouro (AuNPs) em meio de polissacarídeos, bem como pectina (PT) e quitosana (QT). Os polissacarídeos atuam como agentes redutores do íon  $Au^{3+}$  e estabilizantes das nanopartículas. Entretanto não há estudos utilizando materiais híbridos de AuNPs /compósitos, no qual reportam a síntese in-situ. Esse estudo vem ganhando o interesse para o desenvolvimento de biomateriais com aplicações em diversas áreas. Relatamos aqui a síntese in situ de AuNPs em PT para obtenção de compósitos citocompatíveis de PT-AuNPs/QT. A síntese foi acompanhada por meio de espectroscopia visível, onde verificou-se o aparecimento de bandas características de ressonância de plasmon de superfície localizado para AuNPs e também estudou-se a estabilidade das AuNPs, comparando os diferentes meios de sintetizar. Os compósitos foram caracterizados por espectroscopia fotoeletrônica de raio-X(XPS), sendo possível assim reconhecer a presença de sinais característicos dos grupos dos polissacarídeos nos compósitos. Contudo, a presença de AuNPs fizeram do compósito mais estável, indicando assim que o material apresenta propriedades favoráveis para aplicações na área biomédica tais como liberação controlada de fármacos.

**PALAVRAS-CHAVE:** Polissacarídeos. Biomateriais. Espectroscopia fotoeletrônica de raio X.

**Recebido:** 19 ago. 2019.

**Aprovado:** 01 out. 2019.

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



#### ABSTRACT

Several studies have reported the synthesis of gold nanoparticles in polysaccharides, as well as pectin and chitosan. Polysaccharides act as  $Au^{3+}$  ion reducing agents and nanoparticle stabilizers. However, there are no studies using hybrid nanoparticle/composite materials, which report in situ synthesis. This study has been gaining interest for the development of biomaterials with applications in various areas. We report here the in situ synthesis of pectin gold nanoparticles to obtain cytocompatible pectin-gold / chitosan nanoparticle composites. The synthesis followed by visible spectroscopy, where the appearance of localized surface plasmon resonance bands for gold nanoparticles verified and the stability of gold nanoparticles compared by comparing the different means of synthesizing. The composites were characterized by X-ray photoelectron spectroscopy, thus being able to recognize the presence of characteristic signals of the polysaccharide groups in the composites. However, the presence of gold nanoparticles made the composite more stable, thus indicating that the material has favorable properties for biomedical applications such as controlled drug release.

**KEYWORDS:** Polysaccharides. Biomaterials. X-ray photoelectron spectroscopy.

## INTRODUÇÃO

Os compostos de hidrogéis e nanopartículas metálica têm ganhado muito espaço no desenvolvimento de biomateriais com grandes aplicações na área médica. Devido a presença de AuNPs na estrutura tridimensional do hidrogel o compósito resultante apresenta novas características o que amplia seu campo de aplicações. As nanopartículas metálicas têm propriedades ópticas bem definidas referente ao efeito de ressonância de plasmon de superfícies localizada - LSPR, dependendo do raio, morfologia, índice de refração do meio de dispersão e distância interpartícula (Ana Huergo et al., 2018). As nanopartículas tendem a se aglomerarem por serem termodinamicamente instáveis, devido à sua grande razão superfície/volume (Aslan & Pérez-Luna, 2002). De modo que, estudos têm buscado métodos de síntese capazes oferecer melhor estabilização química por longos períodos, sem perdas de suas propriedades e estrutura (Ana Huergo et al., 2018).

O método convencional de síntese de nanopartículas metálicas, envolve tratamento de uma solução contendo sais metálicos com um agente redutor químico. Muitos desses agentes redutores geram resíduos nocivos. Com a finalidade de reduzir efeitos nocivos, a síntese verde é atrativa pois minimiza ou até elimina esses inconvenientes. A síntese verde consiste na utilização de polissacarídeos, os quais executam a função de reduzir o sal precursor metálico e de estabilização da suspensão coloidal de nanopartículas. Tornando a obtenção de nanopartículas metálicas mais econômicas devido ao menor número de etapas e menor gasto com reagentes químicos, sendo eficaz e ecologicamente correta.

Os polissacarídeos possuem cadeias longas apresentando diversos grupos funcionais como hidroxilas, extremidades de hemiacetais, aminas, entre outros, as quais são úteis para a redução e estabilização na síntese de nanopartículas metálicas. PT e QT são polissacarídeos que tem encontrado inúmeras aplicações biomédicas. Isso ocorre pois eles possuem propriedades favoráveis tais como biocompatibilidade, biodegradabilidade e baixa citotoxicidade.

Convencionalmente, as AuNPs são obtidas com auxílio de agente redutores como borohidreto de sódio e ácido ascórbico ou via foto-irradiação e então são incorporadas nas matrizes de hidrogéis (Cordeiro et al., 2016). Entretanto, isso pode induzir citotoxicidade do compósito. Porém, a obtenção de AuNPs pela síntese verde, a redução ocorre diretamente nos polissacarídeos reduzindo assim aglomerações. Permitindo assim a obtenção de compósitos de fácil reprodutibilidade, alta estabilidade de nanopartículas e baixa citotoxicidade.

Assim, o propósito deste trabalho é síntese de AuNPs em PT por meio da síntese verde, investigando as características físico-químicas dos compósitos produzidos por técnicas de raio-X (X-ray photoelectron spectroscopy - XPS), termosensibilidade e estabilidade das AuNPs.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para o presente trabalho, GENU® pectina com grau de O-metoxilação de 56% e massa molar de  $190 \times 10^3 \text{ g.mol}^{-1}$  foi doada pela CP Kelco Co., Limeira-SP (Brasil). A QT com 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).

Para a obtenção do hidrogel de PT e QT. Foram estudadas duas concentrações de PT 2,50% e 2,75% (m/v). A solução de QT manteve-se constante a uma concentração de 1,00% (m/v). Para a formação do hidrogel foi utilizado uma fração volumétrica de 60:40 PT:CS, sendo volume final fixado em 6 mL. As soluções foram misturadas sob agitação magnética durante um período de 10 minutos a  $65^\circ\text{C}$ .

Para obtenção de AuNPs em PT, soluções de PT foram preparadas em água deionizada a  $65^\circ\text{C}$  sob agitação magnética. Após completa solubilização, foram adicionados volumes de solução de  $\text{HAuCl}_4$  0,254 M para obtenção de uma concentração final de 0,1mM, 0,2mM e 0,3mM, mantidas sob agitação magnética durante um período de uma hora.

Para a obtenção dos hidrogéis com AuNPs, mostrados na Figura 1. Inicialmente QT foi solubilizada em 0,10 mol.L<sup>-1</sup> de HCl a  $65^\circ\text{C}$  sob agitação magnética. Posteriormente, foi adicionada suspensão da solução de PT contendo AuNPs, em gotas, à solução de QT 1,00%(m/v), sob agitação magnética, durante dez minutos a  $65^\circ\text{C}$ .

Figura 1 – Hidrogel e compósitos em diferentes concentrações de nanopartículas, respectivamente.



Fonte: Próprio autor(2019).

Os espectros foram obtidos por meio de um espectrômetro PhiElectronics 5800 (modelo Chanhassen MN), com auxílio de uma fonte de  $\text{Al K}\alpha$  monocromática de raios-X ( $h\nu = 1486,6 \text{ eV}$ ), um analisador hemisférico e um detector multicanal.

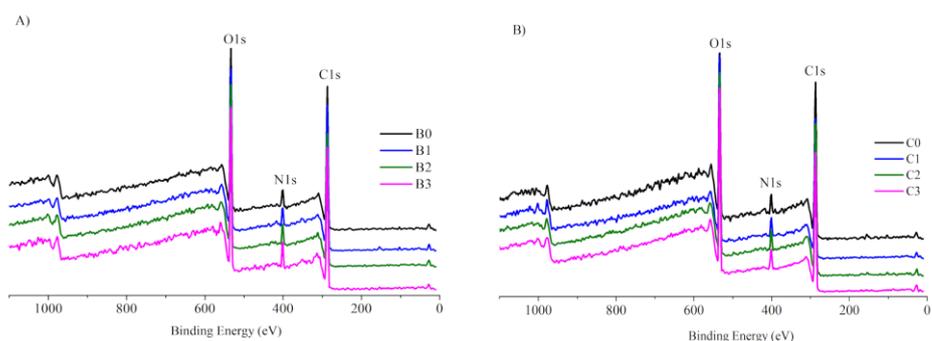
As temperaturas de sol-gel e tempos de gelificação dos compósitos foram determinados pelo método da inclinação de frascos contendo solução dos compósitos e hidrogéis sem presença de nanopartículas. O método determina a temperatura à qual a solução não flui, considerada temperatura de gelificação. Frascos de acrílicos de 15 ml, contendo o hidrogel de PT e QT ou os compósitos de PT/AuNPs e QT, foram dispostos em um reator de vidro acoplado em um banho termostaticado inicialmente a  $65^\circ\text{C}$ . A temperatura do reator foi medida por um termômetro digital (modelo ITTH-1400). O teste de inclinação foi realizado e então a temperatura do banho foi ajustada para  $62^\circ\text{C}$  e, em seguida, reduzida gradativamente a uma taxa de  $2^\circ\text{C}$  a cada 30 minutos, até a gelificação da solução ser observada.

A estabilidade das AuNPs produzidas em diferentes meios foi avaliada sob diferentes temperaturas e tempos de armazenamento. As suspensões foram armazenadas a  $4^\circ\text{C}$ (refrigerada) e  $25^\circ\text{C}$ (ambiente) por 90 dias e analisadas por espectroscopia visível.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os espectros de XPS para todos os materiais produzidos estão dispostos na Figura 2A e 2B. Todos os espectros apresentam picos de O1s (~533 eV), de N1s (~402 eV) e C1s (~288 eV), referentes a composição dos polissacarídeos utilizados. Os picos referentes às AuNPs Au4f não foram detectados indicando por sua vez que o nanomaterial encontra-se encapsulado pela matriz dos polissacarídeos em uma baixa proporção mássica.

Figura 2 – Espectro de XPS de PT/QT e do compósito PT- AuNPs/QT nas condições B e C.



Fonte: Próprio autor(2019).

O tempo e temperatura de sol-gel de PT/ QT bem como, PT-AuNPs/QT foram avaliadas para observar a presença das AuNPs e sua influência nesses parâmetros. A Tabela 1 indica as temperaturas e os tempos para a transição sol-gel nas amostras do hidrogel B0 e dos compósitos B1, B2 e B3. Onde os parâmetros foram determinados pelo método de inclinação.

Tabela 1 – Temperatura e tempo necessários para atingir a transição de fase sol-gel dos compósitos.

Amostra	Temperatura sol-gel(°C)	Tempo(min)
B0	49	1,2
B1	51	1,4
B2	51	1,5
B3	51	1,8

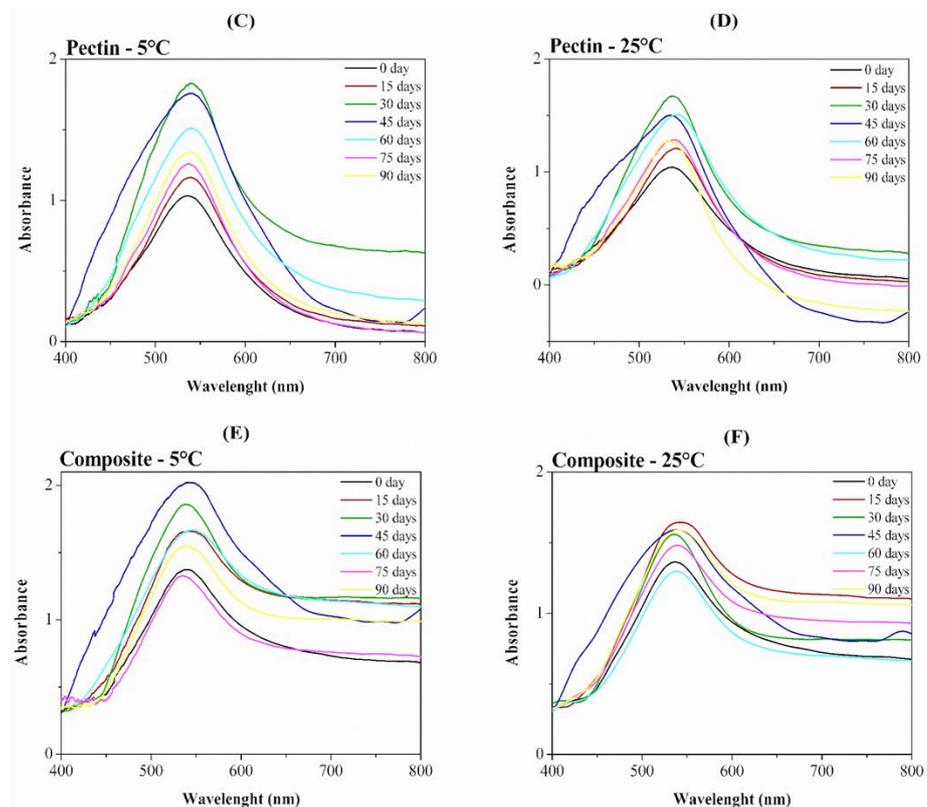
Fonte: Próprio autor(2019).

Nota-se que o tempo de gelificação dos compósitos cresceu devido ao aumento da quantidade de AuNPs na matriz polimérica. O aumento da concentração de AuNPs tende a retardar o tempo de gelificação devido a saturação das carbonilas, ocorrendo também um retardo no tempo de organização das cadeias e no surgimento de pontos de reticulação, as quais ajudam nas efetivas interações entre as cadeias.

Os espectros nas figuras 3C-3D e 3E-3F foram obtidos para nanopartículas em PT e compósitos, respectivamente. Foi possível observar que os espectros ficaram mais alargados devido ao intenso espalhamento de luz provocado pela matriz polimérica. Além disso, ficou evidente que ocorre um aumento na absorvância,

sob 5°C (Figura 3C e 3E), a qual alcança um máximo até os 30 e 45 dias de armazenamento para as amostras de nanopartículas em PT e em compósito, respectivamente. Sob 25°C (Figuras 3D e 3F), os máximos de foram alcançados em 30 e 15 dias, respectivamente. Sugerindo que a cinética de redução do precursor de ouro é lenta e continua ocorrendo mesmo após a estocagem do material. Adicionalmente, não foi verificada influência da temperatura na cinética de obtenção de AuNPs em PT. O máximo de absorbância foi obtido ao redor de 30 dias para ambas temperaturas avaliadas. Contudo, quando imersas em hidrogel, o acréscimo da temperatura favoreceu uma cinética mais rápida e um máximo foi observado já em 15 dias. Possivelmente, isso deve ocorrer devido ao aumento da densidade de cadeias alcançada com a reticulação da PT e QT. Além disso, há a presença de grupos redutores extras na QT que devem contribuir para uma redução mais rápida do precursor à 25°C.

Figura 3 – Espectros visíveis de nanopartículas de ouro sintetizadas em Pectina (C e D), e no compósito (E e F), em diferentes temperaturas.



Fonte: Próprio autor(2019)

Um outro aspecto observado é que a absorbância das AuNPs decresce após o máximo ser obtido, quando imersas em PT e na matriz do compósito. Nós sugerimos que parte das AuNPs são re-oxidadas até um equilíbrio ser estabelecido durante o ajuste das cadeias até alcançar a acomodação final. Finalmente, não houve sinal visual de coalescência para as AuNPs em PT e no compósito a 25°C como ocorreu para aquelas obtidas pelo método tradicional. Indicando assim, que a estabilidade do material nanoparticulado estocado nessa temperatura é maior em meio de PT ou compósito, quando comparados ao método de Turkevich.

## CONCLUSÕES

Os compósitos estáveis de PT-AuNPs/QT foram obtidos pela primeira vez através da conjugação da QT com suspensão de PT e nanopartículas obtidas por meio de síntese verde. O compósito obtido na concentração de 0,3mM de HAuCl<sub>4</sub> na PT 2.5% (m/v) e razão mássica PT:QT de 3.75 demonstrou ter boa estabilidade ao longo dos estudos realizados. As AuNPs devem ter papel importante no processo de reticulação das cadeias poliméricas que tornou a matriz mais rígida. Essa argumentação foi ainda suportada pelos testes de temperatura gelificação realizados para compósitos de PT 2.5% (m/v) com diferentes concentrações de HAuCl<sub>4</sub>. O aumento da temperatura de gelificação quando a concentração do precursor de ouro foi maior mostrou que as nanopartículas propiciam uma matriz mais reticulada, a qual estabiliza a fase gel mais eficientemente. Os compósitos avaliados ainda mostraram ser estáveis termicamente em temperatura biológica, a qual é vantajoso para aplicações biomédicas como na liberação controlada de fármacos.

## AGRADECIMENTOS

Gostaria agradecer à Universidade Tecnológica Federal do Paraná campus Apucarana por fornecer o laboratorial com todos os equipamentos necessários para a realização do projeto, além de disponibilizar o uso dos materiais utilizados e também a todos do grupo LA2MAC.

## REFERÊNCIAS

ANA HUERGO, M., GIOVANETTI, L., ALBERTO RUBERT, A., ALEJANDRA GRILLO, C., SERGIO MORENO, M., GREGORIO REQUEJO, F., ... VERICAT, C.. **The surface chemistry of near-infrared resonant gold nanotriangles obtained via thiosulfate synthesis**, *Applied Surface Science*. 2018.

<https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2018.09.009>

ASLAN, K., & PÉREZ-LUNA, V. H. **Surface Modification of Colloidal Gold by Chemisorption of Alkanethiols in the Presence of a Nonionic Surfactant**. *Langmuir*, 2002, p. 6059–6065. <https://doi.org/10.1021/la025795x>

CORDEIRO, M., CARLOS, F. F., PEDROSA, P., LOPEZ, A., & BAPTISTA, P. V. **Gold Nanoparticles for Diagnostics : Advances towards Points of Care**, 2016.

<https://doi.org/10.3390/diagnostics6040043>