

OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DEL NANOCOMPOSITO: NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y CARBOXIMETILQUITOSANO (NPsAg-CMQ)

Julia Lilians Zea Álvarez^a, María Elena Talavera Núñez^a, Carlos Arenas Chávez^b,
David Pacheco Salazar^c, Ana María Osorio Anaya^d, Corina Vera Gonzales^{*a}

RESUMEN

Se realizó la síntesis del nanocomposito, nanopartículas de plata y O-carboximetil quitosano (NPsAg-CMQ), por el método de reducción química, utilizando el O-carboximetilquitosano 0,01 % y AgNO₃ 1 mM en una proporción de 3:2, con un tiempo de reacción de 30 minutos a temperatura ambiente y pH neutro. El nanocomposito obtenido a partir del complejo [Ag(NH₃)₂]⁺ fue sintetizado bajo las mismas condiciones que el AgNO₃, pero a un pH básico.

Por espectrofotometría UV-VIS, se verificó la formación del plasmón de nanopartículas de plata a 410 nm, para ambas fuentes de plata. Los resultados por Dispersión Dinámica de Luz (DLS) para el AgNO₃, muestra una distribución monodispersa del nanocomposito con un tamaño hidrodinámico promedio de 166,7 nm. En el caso del diaminplata [Ag(NH₃)₂]⁺ un 83,9 % tuvieron un tamaño promedio de 54,42 nm. y 15,2 % de 4,48 nm.

Mediciones de Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR) muestra la inhibición de las bandas espectrales a 879 y 723 cm⁻¹ indicando la presencia de las NPsAg en el nanocomposito NPsAg-CMQ.

Los resultados de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM-STEM) evidenciaron que las nanopartículas de plata en el nanocomposito fueron de forma esférica y de un tamaño de 5 a 20 nm.

Palabras clave: O-carboximetilquitosano, nanopartículas de plata, nanocomposito.

^a Facultad de Ciencias Naturales y Formales, Departamento Académico de Química, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Av. Independencia s/n, Arequipa, Perú. *cverag@unsa.edu.pe

^b Facultad de Ciencias Biológicas, Departamento Académico de Biología, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Av. Daniel Alcides Carrión s/n, Arequipa, Perú.

^c Facultad de Ciencias Naturales y Formales, Departamento Académico de Física, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, Av. Independencia s/n, Arequipa, Perú.

^d Facultad de Química e Ingeniería Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos. Lima-Perú.

OBTAINING AND CHARACTERIZATION OF NANOCOMPOSITE: SILVER NANOPARTICLES AND CARBOXIMETHYLQUITOSAN (NPsAg-CMQ)

ABSTRACT

The synthesis of the nanocomposite based on silver nanoparticles and O-carboxymethylchitosan (NPsAg-CMQ), by the chemical reduction method, using the O-carboxymethylchitosan 0.01% and AgNO_3 1 mM in a ratio of 3: 2, with a time of 30 minute reaction, at room temperature and neutral pH. The nanocomposite obtained from the complex $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ was synthesized under the same conditions as AgNO_3 but at a basic pH.

Using UV-VIS spectrophotometry, the plasmon formation of silver nanoparticles at 410nm was verified for both silver sources. The results by Dynamic Light Dispersion (DLS) for AgNO_3 , shows a monodisperse distribution of the nanocomposite with an average hydrodynamic size of 166.7 nm. In the case of the diamine silver $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ 83.9% had an average size of 54.42 nm. and 15.2% of 4.48 nm.

Infrared Spectroscopy Measurements with Fourier Transform (FT-IR) shows the inhibition of the spectral bands at 879 and 723 cm^{-1} indicating the presence of NPsAg in the nanocomposite NPsAg-CMQ. The results of scanning electron microscopy (SEM-STEM) showed that the silver nanoparticles in the nanocomposite were spherical in shape and of a size of 5 to 20 nm.

Key words: Carboxymethylchitosan, silver nanoparticles, nanocomposite

INTRODUCCIÓN

La búsqueda de nuevos métodos de síntesis de nanopartículas metálicas es una necesidad creciente debido a que se espera mejorar la eficiencia de los ya existentes. La síntesis controlada de nanopartículas metálicas resulta de gran interés en el campo de la nanotecnología debido a sus propiedades ópticas, eléctricas, catalíticas y antimicrobianas^{1,2}. Estas propiedades dependen de su morfología, tamaño y distribución; así como también del medio que las rodea, por lo que se busca obtener una síntesis controlada. Dentro de los parámetros que influyen en la síntesis de las nanopartículas se encuentran la elección del agente reductor, cantidades relativas, concentraciones de reactivos, temperatura, tiempo de reacción y pH^{3,4}.

Las nanopartículas (NPs) se pueden obtener mediante métodos bottom-up (de abajo hacia arriba) o top-down (de arriba hacia abajo). Los métodos más usados, por su rapidez, simplicidad y por la calidad de las nanoestructuras obtenidas, son los bottom-up⁵, este último enfoque es mucho más aplicable en la síntesis de nanopartículas. Las nanopartículas pueden ser soportadas, para lograr la estabilidad y conferir propiedades específicas como el control de las variables de síntesis y la posibilidad de controlar eficientemente fenómenos de nucleación, crecimiento y velocidad de reacción, mediante la modificación de variables experimentales^{3,5}.

Se ha reportado la síntesis de nanopartículas de plata utilizando carboximetilquitosano como reductor y estabilizante y la presencia de un reductor adicional como epiclorhidrina⁶ o mediante técnicas como la preparación de nanopartículas de plata a partir de nitrato de plata y carboximetilquitosano comercial por la técnica de irradiación solar⁷. Por otro lado, desarrollaron la síntesis de carboximetilquitosano cuaternizado soluble en agua como agente reductor y estabilizador para la preparación de nanopartículas de plata bajo irradiación de microondas en presencia del reactivo de Tollens como la fuente de plata^{8,3}.

El O-carboximetilquitosano (O-CMQ) es un polímero biocompatible, biodegradable y no tóxico. La combinación del polímero O-CMQ y las nanopartículas de plata (NPs-Ag) resultaría con una amplia capacidad antimicrobial^{6,9}, que poseen ambos componentes de forma individual y la posibilidad de generar un compuesto biodegradable y biocompatible^{6,10}

En este trabajo se reporta un método de síntesis de nanopartículas de Ag, empleando el O-carboximetilquitosano (O-CMQ) derivatizado como soporte y estabilizante^{3,11} y un iniciador del proceso de reducción como el borohidruro de sodio¹², en una concentración mínima lo que garantiza que este método no produce impacto en el medio ambiente.

La identificación del plasmón superficial de las nanopartículas de plata fue mediante espectroscopia UV-visible^{3,13}. Se utilizó la técnica de Espectroscopia de Transformada de Fourier (FT-IR)¹³ para evaluar la variación de los grupos funcionales, por dispersión dinámica de luz (Light Scattering DLS) se determinó el tamaño hidrodinámico del nanocomposito y por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM-STEM) se determinó la forma y el tamaño de las nanopartículas.

PARTE EXPERIMENTAL

Materiales y Reactivos

Hidróxido de sodio (p.a. $\geq 99\%$), nitrato de plata p.a. Merck Millipore; hidróxido de amonio p.a. Merck Millipore, agua ultra pura tipo 2; El O-carboximetilquitosano (O-CMQ), proporcionado por el Laboratorio LAPCI-Nano de la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa. Filtros estériles de jeringa. Merck Millipore, Micropipetas Gilson™, material de vidrio diverso marca Giardino y papel filtro Whatman No 42.

Equipos

Agitador magnético IKA® C-MAG HS7, Espectrofotómetro Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR) marca SHIMADZU affinity 1 con accesorio ATR, espectrofotómetro UV-visible SPECTRONIC© 20 GENESYS™ con celdas de cuarzo con un 1cm de paso óptico y el equipo de dispersión dinámica de luz (DLS) marca Malvern Instruments Ltd. y microscopio electrónico de barrido Field emisión SEM (JEOL, JSM-7500F) con función STEM.

Síntesis del nanocomposito nanopartículas de plata y carboximetilquitosano (NPsAg-CMQ)

Síntesis utilizando como precursor el nitrato de plata

La síntesis del nanocomposito se realizó utilizando 20 mL de la solución de nitrato de plata 1mM a la que se le agregó gota a gota 30 ml del O-CMQ 0,01 %, simultáneamente se añadió 1,0 μ L (0,1 M) de borohidruro de sodio (8).; manteniéndose en agitación constante por un tiempo de 30 minutos a temperatura de 19°C.

Síntesis del nanocomposito utilizando como precursor el diaminplata

Se formó primeramente el precursor diaminplata $[Ag(NH_3)_2]^+$, para ello a 20 mL de $AgNO_3$ 1 mM, se añadió 100 μ L de hidróxido de sodio 0,1 M, seguidamente se agregó hidróxido de amonio (NH_4OH) 0,1M hasta que todo el óxido de plata de color marrón se haya disuelto y se tenga la formación del ion complejo diaminplata⁹.

Seguidamente al complejo formado se añadió 30 mL de O-CMQ al 0,01 % gota a gota en un tiempo de 30 min, manteniendo la agitación constante, simultáneamente se añadió 1,0 μ L (0,1 M) de borohidruro de sodio como iniciador del proceso de reducción⁸.

Caracterización del nanocomposito.

Espectroscopia UV-visible

La reducción de los iones plata (Ag^+) para formar nanopartículas fue monitoreada por espectroscopia UV-visible, realizándose un barrido espectral de la muestra en un rango de 400 a 700 nm de longitud de onda, a una resolución de 10 nm en búsqueda del plasmón característico.

Microscopia Electrónica de Barrido (SEM-STEM)

El análisis de la forma y tamaño del nanocomposito (NPsAg-CMQ) fue realizado utilizando un microscopio electrónico de barrido field emisión SEM (JEOL, JSM-7500F) con función STEM.

La solución del nanocomposito fue centrifugada a 14 000 rpm por 15 min y luego el sobrenadante fue recuperado y preparado para el análisis por microscopia. Las muestras fueron preparadas colocando una gota de la solución diluida del nanocomposito sobre la rejilla de cobre recubierta de carbón, el exceso se retiró con papel filtro y se dejó secar por evaporación a temperatura ambiente. Adicionalmente se analizó la presencia de metales en la muestra por Espectroscopia de Energía Dispersiva (EDS).

FT-IR

Se realizó el análisis del nanocomposito por espectroscopia con transformada de Fourier (FT-IR) shimadzu. El espectro (FT-IR) fue registrado en un rango de 750 a 4000 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} .

DLS

Para determinar el tamaño hidrodinámico del nanocomposito, se utilizó el analizador de tamaño de partículas por dispersión de luz dinámica (Dynamic Light Scattering DLS), marca Malvern.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Espectroscopia UV-visible

En la figura 1 se aprecia los resultados de espectrofotometría UV-VIS de las nanopartículas de plata provenientes de las dos fuentes de plata (AgNO_3 y $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$)

observándose el pico de absorción característico a 410 nm, debido a la excitación de electrones libres, lo cual se atribuye a la formación del pico de resonancia del plasmón superficial de las nanopartículas de plata¹³. Del mismo modo, An NT, *et al.*, reportaron la obtención del plasmón de las nanopartículas de plata a 398 a 410nm, pero utilizando únicamente como fuente precursora el diaminplata³.

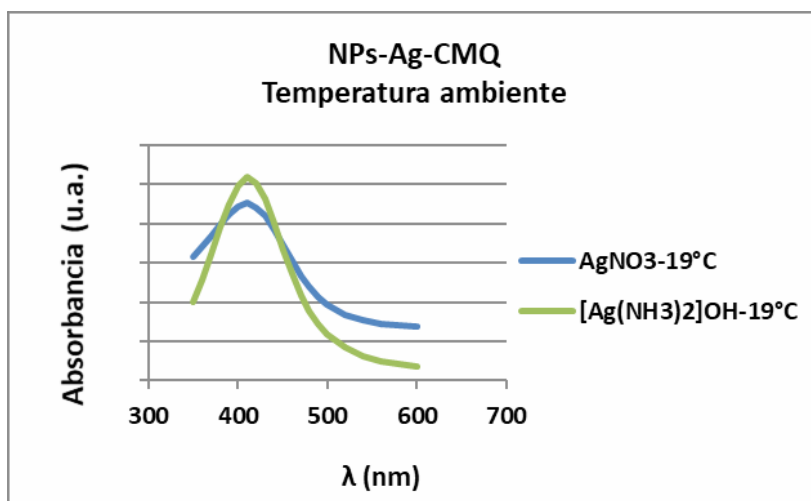


Figura 1. Espectro UV-Visible de NPsAg a partir de dos fuentes de plata.

Dispersión dinámica de luz (DLS)

Para determinar el tamaño hidrodinámico del nanocomposito, se utilizó el analizador de tamaño de partículas por dispersión de luz dinámica (DLS).

En las figuras 2a y 2b se presentan los resultados del tamaño promedio del nanocomposito a partir de los precursores AgNO_3 y $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$, respectivamente. Se observa una distribución monodispersa del nanocomposito con un tamaño promedio de 166,7 nm en un 100 % (figura

2a) y para el $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ nos muestra una distribución bimodal con un tamaño de 54,42 nm en un 83,9 %, y de un tamaño promedio de 4,48 nm en un 15,2 % (figura 2b). Las nanopartículas de menor tamaño, obtenidas a partir del diaminplata, podría explicarse teniendo en cuenta el efecto estabilizante del complejo sobre la suspensión coloidal de las nanopartículas, evitando la formación de nuevos eventos de nucleación así como el crecimiento continuo de las nanopartículas formadas al inicio del proceso de reducción⁵.

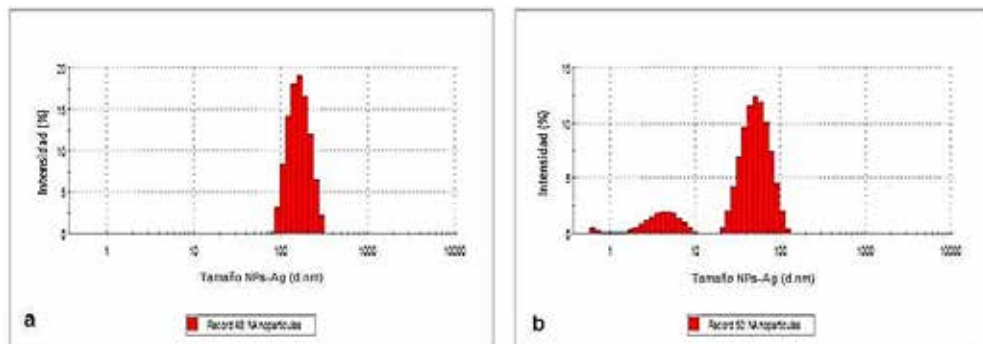


Figura 2. Análisis de distribución del tamaño del nanocomposito:
a) precursor AgNO_3 b) precursor $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$

Caracterización por Espectroscopia Infrarroja de Transformada de Fourier (FT-IR).

La figura 3 muestra el espectro FT-IR del O-carboximetilquitosano puro. La aparición de una banda intensa en $1585,49 \text{ cm}^{-1}$ correspondería al estiramiento del $\text{C}=\text{O}$, lo que indica la presencia de un anión carboxílico ($-\text{COO}^-$) y una banda moderada a $1415,75 \text{ cm}^{-1}$ la cual es asignada al estiramiento simétrico de la vibración del grupo $-\text{COO}^-$, confirmando la presencia de los grupos carboximetil en el quitosano. En la figura 4a se evidencia el espectro del NPsAg-CMQ a partir del nitrato de plata, se observa la desaparición de las bandas espectrales a 879 y 723 cm^{-1} correspondiente a los grupos $-\text{CH}$ y $-\text{OH}$, respectivamente lo que indica que las nanopartículas de plata se posicionaron en el nanocomposito y reaccionaron con el O-CMQ a través de los grupos $-\text{OH}$, también las NPsAg se posicionaron dentro de las cadenas de O-CMQ evidenciado por la aparición de la banda a 1357 cm^{-1} propia del ion Ag^+ . Asimismo, se puede observar una banda ancha entre 3500 y 3250 cm^{-1} provocada por una tensión del $-\text{OH}$, una banda de absorción a 1589 cm^{-1} un tanto desplegada, característica del carbonilo del grupo carboxílico ($-\text{COO}^-$).

En la figura 4b se muestra el espectro FT-IR del NPsAg-CMQ a partir del complejo diaminplata, el aumento significativo de la absorbancia de los picos 3356 y 3283 cm^{-1} muestran la absorción característica del $-\text{OH}$ y $-\text{NH}$ con vibraciones simétricas de estiramiento de los grupos amino; el pico $1631,78 \text{ cm}^{-1}$ se atribuye a los grupos COO^- ligeramente desplazados por las interacciones con las nanopartículas de plata. También se puede observar que la intensidad de pico del grupo carbonilo de vibración ($\text{C}=\text{O}$) se redujo drásticamente.

Comparando las figuras 4a y 4b referidas a los resultados del FT-IR del nanocomposito obtenido a partir del precursor nitrato de plata y diaminoplata, respectivamente, muestran desplazamiento del grupo carbonilo, respecto al O-CMQ (figura 3), debido probablemente al posicionamiento de las nanopartículas de plata.

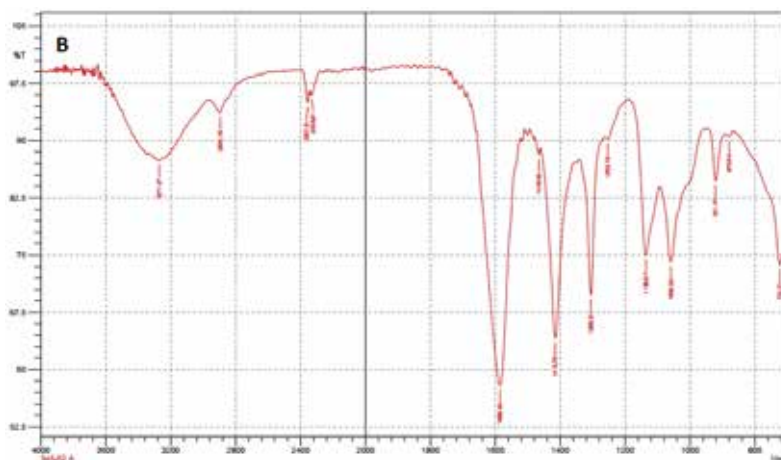


Figura 3. FT-IR del O-Carboximetilquitosano (O-CMQ)¹⁴.

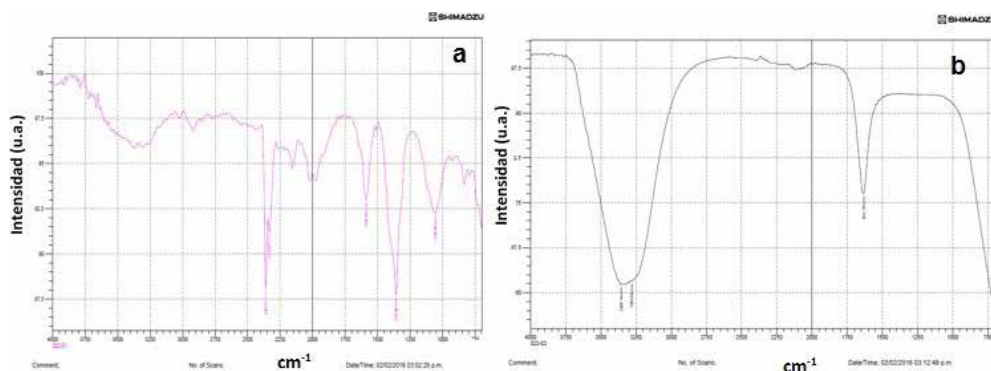


Figura 4. FT-IR de los nanocomposito de plata: a) AgNO_3 y b) $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$

Según Cusihamán NS *et al.* (2018), de nuestro grupo de investigación, realizó la caracterización del O-CMQ, el FT-IR, confirmó la formación del O-CMQ, por la presencia de un pico de absorción a 1585,5 cm^{-1} correspondiente al estiramiento del $\text{C}=\text{O}$, lo que indica la presencia de un anión carboxílico ($-\text{COO}^-$). Por RMN de ^1H y ^{13}C se confirmó la formación del O-CMQ, observándose que la sustitución de los grupos carboximetil ocurrió en los hidroxilos que están presentes en el carbono 3 y 6¹⁴.

Caracterización por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y Espectroscopia de Dispersión de Energía (EDS)

Una vez obtenidos los nanocompositos, a partir de AgNO_3 y $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$, estos se caracterizaron por microscopía electrónica de barrido (SEM-EDS) con una resolución de 1 nm a 20 KeV, 50 μm , equipado con un microanalizador para llevar a cabo análisis por espectroscopia de dispersión de energía (EDS), con la finalidad de realizar un estudio cualitativo de la presencia de plata en el nanocomposito (NPsAg-CMQ). Las figuras 5(a) y 6(a) muestran los resultados del EDS, indicando la presencia de plata en el nanocomposito, las figuras 5(b) y 6(b) muestran el resultado de análisis superficial del nanocomposito.

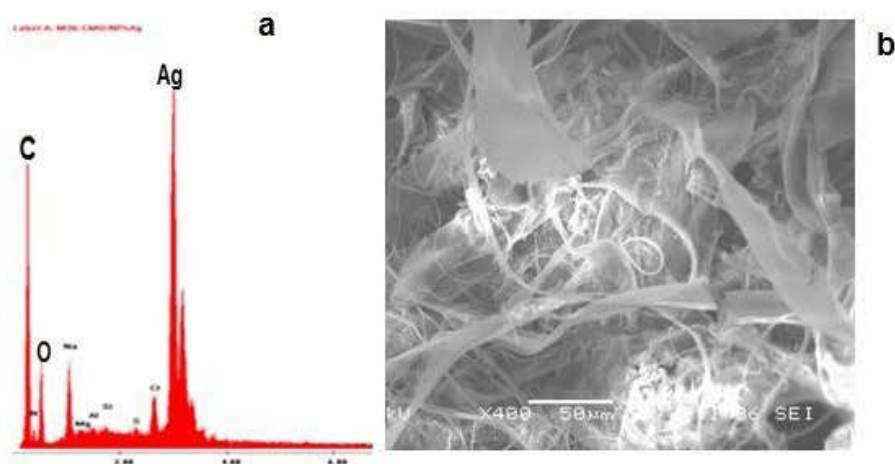


Figura 5. Microscopía Electrónica de Barrido del Nanocomposito a partir del AgNO_3 :
a) imagen EDS y b) imagen SEM

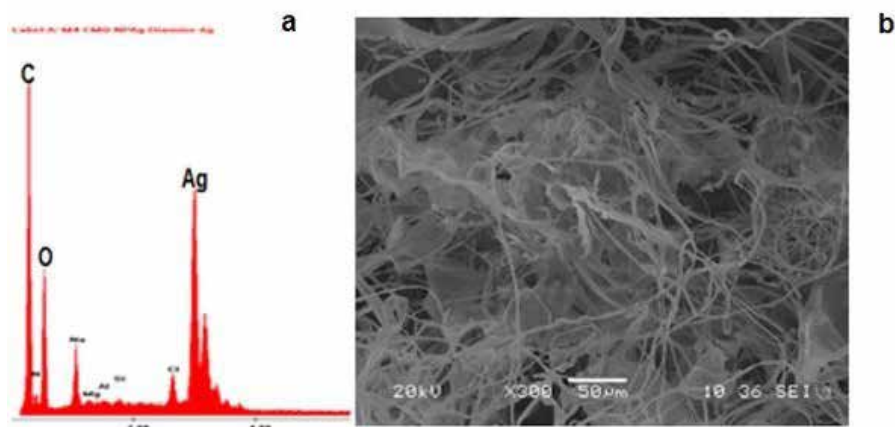


Figura 6. Microscopía Electrónica de Barrido del Nanocomposito a partir del $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$
a) imagen EDS y b) imagen SEM

Microscopía electrónica de barrido SEM - STEM.

Las imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido con función STEM corresponde al nanocomposito obtenido a partir del AgNO_3 y $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ que se muestran en las figuras 7 y 8, respectivamente, se puede visualizar la presencia de nanopartículas de plata de morfología esférica, con diámetros entre 5 a 20 nm. Es evidente que no se formaron agregados, lo que demuestra que el tamaño de las nanopartículas en el nanocomposito. Estas NPs-Ag se encuentran inmersas en el O-CMQ, lo que ayudaría a la estabilidad evitando su agregación debido a la excelente estabilización de las nanopartículas por los aniones carboxilato presentes en las cadenas del carboximetilquitosano^{5,10}. Los resultados obtenidos indican que el O-CMQ actuó como reductor y agente estabilizante dando lugar a la síntesis del nanocomposito (NPsAg-CMQ).

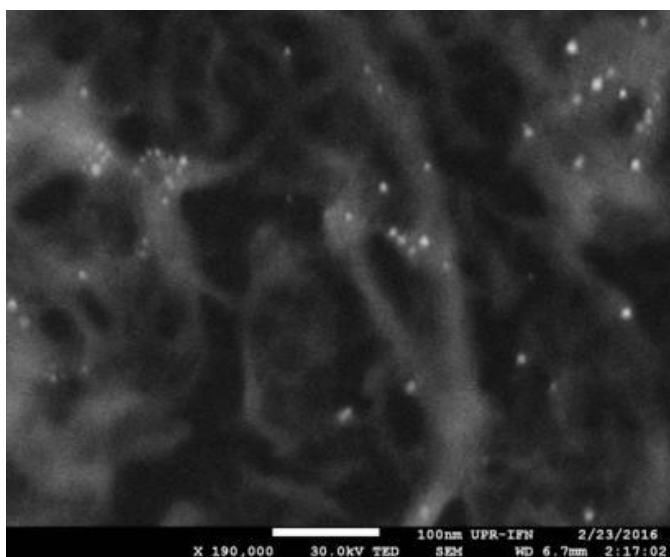


Figura 7. Imagen SEM-STEM del nanocomposito de plata, sintetizadas a partir del AgNO_3 a una magnificación de 190000X

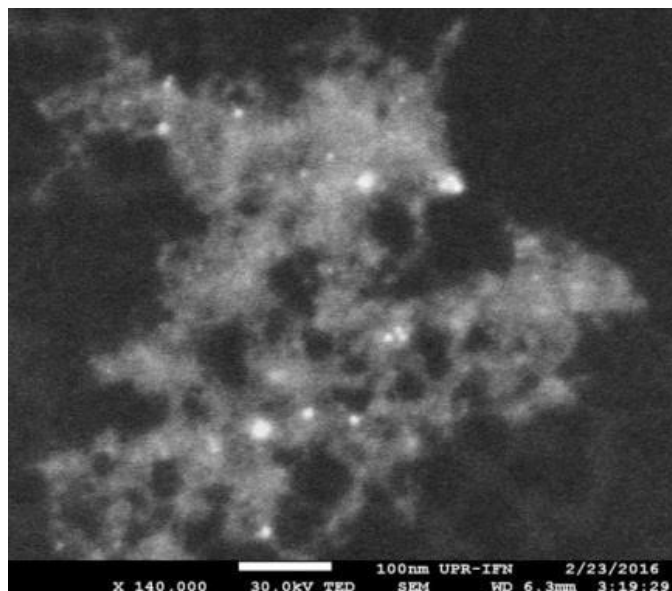


Figura 8. Imagen SEM-TEM del nanocomposito de plata, sintetizadas a partir del $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ a una magnificación de 140000X

CONCLUSIONES

Se obtuvo, el nanocomposito (NPsAg-CMQ) utilizando dos precursores: AgNO_3 y $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$, se caracterizó por espectroscopía de UV-visible, presentando el plasmón con un máximo de absorbancia a 410 nm. Por Dispersión dinámica de luz (Light Scattering DLS) se encontró un tamaño hidrodinámico del nanocomposito de 166,7 nm en un 100 % para el precursor AgNO_3 y para el precursor $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ el nanocomposito mostró una distribución bimodal, con un tamaño de 54,42 nm en un 83,9 %, y 4,48 nm en un 15,2 %. Mediciones de Espectroscopia Infrarroja con Transformada de Fourier (FT-IR) muestra que la presencia de NPs-Ag en el O-CMQ, inhiben las bandas espectrales de 879 y 723 cm^{-1} . Los resultados de Microscopia electrónica de barrido (SEM-STEM), evidenciaron la presencia de nanopartículas de plata dentro del nanocomposito, de forma esférica y con un tamaño de 5 a 20 nm.

AGRADECIMIENTO

Se agradece al Programa Nacional de Innovación para la Competitividad y Productividad, Innóvate Perú, por los fondos RNR asignados al proyecto: "Funcionalización de textiles de algodón con nanocomposito NPsAg-carboximetilquitosano para mejorar las propiedades antibacterianas y antifúngicas con potencial aplicación en la fabricación de prendas de uso hospitalario" CONVENIO 396-PNICP-PIAP-2014.

De igual manera se agradece a la Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa porque permitió el desarrollo de la investigación en el Laboratorio de preparación, caracterización e identificación de nanomateriales (LAPCINANO) del Departamento de Química.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Schuller JA, Barnard ES, Cai W, Jun YC, White JS, Brongersma ML. Plasmonics for extreme light concentration and manipulation. *Nat Mater.* 2010;9(3):193–204.
2. Temgire MK, Joshi SS. Optical and structural studies of silver nanoparticles. *Radiat Phys Chem.* 2004;71(5):1039–44.
3. Tien An N, Dong NT, Hanh PTB, Nhi TTY, Vu DA. Silver-N-Carboxymethyl Chitosan Nanocomposites: Synthesis and its Antibacterial Activities. *J Bioterr Biodef.* 2010; 1:102. doi: 10.4172/2157-2526.1000102
4. Vaghani SS, Patel MM, Satish CS. Synthesis and characterization of pH-sensitive hydrogel composed of carboxymethyl chitosan for colon targeted delivery of ornidazole. *Carbohydr Res.* 2012;347(1):76–82.
5. Gorup LF, Longo E, Leite ER, Camargo ER. Moderating effect of ammonia on particle growth and stability of quasi-monodisperse silver nanoparticles synthesized by the Turkevich method. *J Colloid Interface Sci.* 2011 Aug 15;360(2):355–8.
6. Mohamed RR, Sabaa MW. Synthesis and characterization of antimicrobial crosslinked carboxymethyl chitosan nanoparticles loaded with silver. *Int J Biol Macromol.* 2014; 69:35–99.
7. Long Y, Ran X, Zhang L, Guo Q, Yang T, Gao J, et al. A method for the preparation of silver nanoparticles using commercially available carboxymethyl chitosan and sunlight. *Mater Lett.* 2013; 112:101–4.
8. Liu B, Li X, Zheng C, Wang X, Sun R. Facile and green synthesis of silver nanoparticles in quaternized carboxymethyl chitosan solution. *Nanotechnology.* 2013; 24(23): 235601. doi: 10.1088/0957-4484/24/23/235601.
9. Sharma VK, Yngard RA, Lin Y. Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities. *Adv Colloid Interface Sci.* 2009;145(1–2):83–96.
10. Farag RK, Mohamed RR. Synthesis and characterization of carboxymethyl chitosan nanogels for swelling studies and antimicrobial activity. *Molecules.* 2013;18(1):190–203.
11. Abou-Zied NY, Waly AI, Kandile NG, Rushdy AA, El-Sheikh MA, Ibrahim HM. Carboxymethylchitosan/Viscose Blended Films: Preparation, Characterization and Antibacterial Properties. *J Mater Sci Eng Adv Technol.* 2013; 4:93–123.
12. Mulfinger L, Solomon SD, Bahadory M, Jeyarajasingam AV, Rutkowsky SA, Boritz C. Synthesis and Study of Silver Nanoparticles. *J Chem Educ.* 2007;84(2):322.
13. deAbreu FR, Campana-Filho SP. Characteristics and properties of carboxymethylchitosan. *Carbohydr Polym.* 2009;75(2):214–21.
14. Cusihuaman S, Talavera ME, Arenas C, Pacheco D, Vera C. Caracterización por Técnicas Espectroscópicas del O-Carboximetilquitosano Obtenido por Derivatización del Quitosano. *Rev Soc Quím Perú.* 2018;84(2):204–16.