

FACULTAD DE QUÍMICA Y DE FARMACIA Pontificia Universidad Católica de Chile Departamento de Química-Física Laboratorio de Macromoléculas

QUITOSANO. DESDE CAPARAZONES DE CRUSTÁCEOS A Nanocompositos con nanopartículas Metálicas de importancia tecnológica

MSC. MAXIMILIANO ANDRÉS PINO ORELLANA

Tesis para optar al Grado Académico de Doctor en Química.

Director: Dr. Ángel Leiva Campusano

Comité de Tesis: Dr. Claudio Terraza Inostroza

Dr. Mehrdad Yazdani-Pedram

Dr. Paul Jara Vergara

Santiago de Chile, agosto 2021

PONTIFICIA UNIVERSIDAD CATÓLICA DE CHILE FACULTAD DE QUÍMICA Y DE FARMACIA DIRECCIÓN DE INVESTIGACIÓN Y POSTGRADO

"QUITOSANO. DESDE CAPARAZONES DE CRUSTÁCEOS A NANOCOMPOSITOS CON NANOPARTÍCULAS METÁLICAS DE IMPORTANCIA TECNOLÓGICA"

Tesis presentada por:

MAXIMILIANO ANDRES PINO ORELLANA

Para optar al Grado Académico de Doctor en Química.

APROBADA POR:

Dr. CLAUDIO TERRAZA INOSTROZA Prof. Examinador

Dr. MEHRDAD YAZDANI-PEDRAM Prof. Examinador

Dr. PAUL JARA VERGARA Prof. Examinador

| | J. | |
|---|----|--|
| < | A | |

/bynte/

Dr. ANGEL LEIVA CAMPUSANO Prof. Director de Tesis

AGOSTO - 2021

DEDICATORIA

A mis hijas Maite y Rafaela que tanto amo. Al amor de mi vida Ingrid que me entregó a las personitas que más amo en este mundo. A mi Mamita María Inés y mi Papito Mario que dedicaron su vida a entregarme cariño, amor y la enseñanza de expandir mi conocimiento. A mi madre, que agradezco su esfuerzo por darnos el cariño necesario y los cantos en la noche que ahora transmito a mis bebes.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a todas aquellas personas que han contribuido al desarrollo de esta tesis y a aquellas que han sido parte importante para mi formación personal y profesional.

Agradezco al Dr. Ángel Leiva, quien fue mi tutor en el desarrollo de esta tesis. Por darme la posibilidad de ser parte de su equipo y por entregarme la confianza para desarrollar mi investigación según mis criterios, pero siempre con la guía crítica y disposición de conversar. En convertirse en más que un profesor guía, si no un amigo y una persona con la que sé que seguiremos en contacto. Agradezco su apoyo, confianza, amistad y por sobre todo su paciencia.

Agradezco a la comisión que me han aportado una visión crítica de este trabajo permitiendo sustentar de mejor manera la investigación desarrollada y este escrito.

Agradezco al Dr. Deodato Radić, quien me entrego una mirada más allá de la química que se puede hacer en el laboratorio. Del establecer redes de amistad, contactos y el disfrutar la vida, lo cual permite ser un mejor profesional y persona. Agradezco sus charlas, enseñanzas y los cafés en la mañana.

Agradezco a mis compañeros de Laboratorio de Macromoléculas que permitieron que mi estancia y trabajo de Doctorado fuese un agrado. Agradezco sus aportes críticos y los momentos de distención. Agradezco los lazos de compañerismo y amistad que estoy seguro seguiremos teniendo aun cuando tomemos caminos separados. Los recordaré siempre como grandes amigos. Agradezco a mi amada compañera de la vida, Ingrid, que ha estado en todo momento a mi lado soportando mis locuras e inquietudes, mis frustraciones y complicaciones, mis disgustos y mañas. Le agradezco sobre todo el darme a mis dos mayores felicidades de esta vida, mis hijas que tanto adoro.

Agradezco a mis hijas, por darme las ganas de vivir y la felicidad de cada día. Desde que las tengo en mi vida, todo lo que hago es pensar en ustedes, en disfrutar su crecimiento y trabajar con la intención de dejar un mundo mejor, en el que puedan vivir, desarrollarse y disfrutar.

Agradezco a mi familia que me ha entregado protección, preocupación, enseñanzas y cariño. Agradezco a mis abuelos, mi Mamita y Papito, que tanto amo y me han enseñado el respeto por los demás y siempre buscar ser una mejor persona. Agradezco a mi Mamita, que tanto extraño y recuerdo, por su entrega, enorme cariño y abrazos. La extrañare y llevaré siempre en mi corazón. Agradezco a mi Papito que me ha enseñado a ver lo mejor de la gente y que uno debe trabajar no sólo por un beneficio económico si no por una realización personal y con el compromiso de buscar un crecimiento y avance de la comunidad. Agradezco a mi Madre por su cariño y amor.

Agradezco al proyecto Renewable Eco-friendly Poly(lactic acid) Nanocomposites from Waste Sources FP7-NPM-2011 (ECLIPSE) de la Unión Europea por el financiamiento parcial de esta tesis.

Agradezco a CONICYT por beca de Doctorado Nacional nº 21151386 y sus gastos operacionales 2015 por el financiamiento parcial de esta tesis.

ABREVIACIONES

[Ag⁺] concentración de ion plata [Au³⁺] concentración de ion aurato [Pt²⁺] concentración de ion platinato [Q] concentración de quitosano [Q-g-MPEG] quitosano-graftconcentración copolímero de de poli(etilenglicol)metil éter [Q-g-PCL] concentración de copolímero de quitosano-graft-poli(εcaprolactona) [Q-g-PVP] concentración de copolímero de quitosano-graft-poli(N-vinil-2pirrolidona) **[ŋ]**a viscosidad intrínseca de Huggins **[η]**_b viscosidad intrínseca de Kraemer DLS difusión de luz dinámica DMAP dimetilaminopiridina DSC Calorimetría Diferencial de Barrido. ε-CL ε-caprolactona FT-IR Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier KPS persulfato de potasio M_V peso molecular viscosimétrico por ecuación de Huggins

- M_V^b peso molecular viscosimétrico por ecuación de Kraemer
- MPEG poli(etilenglicol)metil éter
- ND no determinado
- NPs-Ag nanopartículas de plata
- NPs-Au nanopartículas de oro
- NPs-Pt nanopartículas de platino
- PCL poli(ε-caprolactona)
- PVP poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)
- Q quitosano
- Q-g-MPEG copolímero quitosano-graft-poli(etilenglicol)metil éter
- Q-g-PCL copolímero quitosano-graft-poli(ε-caprolactona)
- Q-g-PVP copolímero quitosano-graft-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)
- RMN-H Resonancia Magnética Nuclear de Protones
- S/I Sin información
- TEM microscopía de transmisión electrónica
- TGA termogravimetría
- u.a. unidad arbitraria
- UV-Vis Espectroscopía UV-Visible
- VP *N*-vinil-2-pirrolidona

CONTENIDO

| De | dicato | oria | | 2 |
|------|--------|----------|---|-------|
| Ag | radec | imientos | 5 | 3 |
| Ab | reviad | ciones | | v |
| Со | ntenio | do ob | | i |
| Tal | olas | | | v |
| Fig | uras. | | | ix |
| Eso | quem | as | | xviii |
| Re | sume | n | | 1 |
| Ab | stract | | | 3 |
| ١. | Intro | ducción | | 5 |
| | I.1 | Políme | ros | 5 |
| | | I.1.1 | Poli(ε-caprolactona) | . 10 |
| | | I.1.2 | Poli(N-vinil-2-pirrolidona) | . 11 |
| | | I.1.3 | Poli(etilenglicol)metiléter | . 12 |
| | | I.1.4 | Quitosano | . 12 |
| | I.2 | Nanopa | artículas | . 15 |
| | | I.2.1 | Síntesis de nanopartículas mediante el uso de polímeros | |
| | | como a | igentes reductores | . 17 |
| | | 1.2.2 | Estabilización de nanopartículas | . 17 |
| | | 1.2.3 | Toxicidad de nanopartículas | . 20 |
| | | 1.2.4 | Motivación | . 20 |
| II. | Hipó | tesis | | . 23 |
| III. | Obje | tivos | | . 24 |
| | III.1 | Objetiv | o general | . 24 |
| | III.2 | Objetiv | os específicos | . 24 |

| IV. | Parte | e experi | mental | | . 25 |
|-----|-------|-----------|-------------|---|------|
| | IV.1 | Reactiv | /os | | . 25 |
| | IV.2 | Instrum | nentos | | . 26 |
| | IV.3 | Metodo | ologías | | . 27 |
| | | IV.3.1 | Obtenciór | n de quitosano | . 27 |
| | | IV.3.2 | Síntesis d | le copolímeros de injerto | . 27 |
| | | | IV.3.2.1 | Síntesis de copolímero de quitosano-graft- | |
| | | | | poli(ε-caprolactona) | . 28 |
| | | | IV.3.2.2 | Síntesis de copolímeros de quitosano-graft- | |
| | | | | poli(N-vinil-2-pirrolidona) | . 29 |
| | | | IV.3.2.3 | Síntesis de copolímeros de quitosano-graft- | |
| | | | | poli(etilenglicol)metil éter | . 30 |
| | | IV.3.3 | Síntesis d | le nanopartículas metálicas | . 31 |
| | | | IV.3.3.1 | Nanopartículas de oro | . 32 |
| | | | IV.3.3.2 | Nanopartículas de plata | . 32 |
| | | | IV.3.3.3 | Nanopartículas de platino | . 33 |
| | | IV.3.4 | Caracteriz | zaciones | . 33 |
| | | | IV.3.4.1 | Viscosidad intrínseca | . 34 |
| | | | IV.3.4.2 | Grado de desacetilación de quitosano (DDA) | . 34 |
| | | | IV.3.4.3 | Caracterización espectroscópica | . 37 |
| | | | IV.3.4.4 | Solubilidad | . 38 |
| | | | IV.3.4.5 | Análisis térmicos | . 38 |
| | | | IV.3.4.6 | Espectroscopía UV-Visible | . 39 |
| | | | IV.3.4.7 | Difusión de luz dinámica | . 39 |
| | | | IV.3.4.8 | Potencial Z | . 39 |
| | | | IV.3.4.9 | Microscopía de transmisión electrónica | . 39 |
| V. | Resu | ultados y | y discusión | | . 40 |
| | V.1 | Obtend | ión de quit | osano | . 40 |
| | V.2 | Determ | ninación pe | so molecular de quitosano | . 40 |
| | V.3 | Grado | de desacet | ilación de quitosano | . 42 |

| | V.3.1 | Valoració | n ácido-base | 42 |
|-----|----------|-------------|---|-----|
| | V.3.2 | Análisis e | lemental | 45 |
| | V.3.3 | Resonance | cia magnética nuclear de protones | 46 |
| | V.3.4 | Análisis g | rado de desacetilación de quitosano | 47 |
| V.4 | Síntesi | s de copol | ímeros de injerto | 48 |
| V.5 | Caracte | erización e | spectroscópica | 50 |
| | V.5.1 | Espectros | scopía de infrarrojo | 50 |
| | V.5.2 | Resonance | cia magnética nuclear de protones | 53 |
| V.6 | Solubili | idad | | 55 |
| V.7 | Análisis | s térmico | | 56 |
| | V.7.1 | Análisis te | ermogravimétrico | 56 |
| | V.7.2 | Calorimet | ría diferencial de barrido | 60 |
| V.8 | Síntesi | s de nanc | partículas metálicas usando quitosano y sus | i. |
| | copolín | neros de in | ijerto como agentes reductores y estabilizantes | 61 |
| | V.8.1 | Síntesis d | le nanopartículas de oro usando quitosano y los | |
| | copolín | neros de in | ijerto obtenidos | 62 |
| | | V.8.1.1 | Caracterización por espectroscopía UV-Vis de | ļ |
| | | | NPs-Au | 62 |
| | | V.8.1.2 | Difusión de luz dinámica de NPs-Au | 73 |
| | | V.8.1.3 | Potencial Z de NPs-Au | 79 |
| | | V.8.1.4 | Microscopía de transmisión electrónica de | ļ |
| | | | NPs-Au | 80 |
| | | V.8.1.5 | Conclusión preliminar para síntesis de | ļ |
| | | | nanopartículas de oro | 87 |
| | V.8.2 | Nanopart | ículas de plata | 91 |
| | | V.8.2.1 | Espectroscopía UV-Vis de NPs-Ag | 91 |
| | | V.8.2.2 | Difusión de luz dinámica de NPs-Ag | 103 |
| | | V.8.2.3 | Potencial Z de NPs-Ag | 104 |
| | | V.8.2.4 | Microscopía de transmisión electrónica de | l. |
| | | | NPs-Ag | 104 |

| | V.8.2.5 | Conclusión preliminar para la síntesis de |
|-----------------|-----------|---|
| | | nanopartículas de plata 111 |
| V.8.3 | Nanopartí | culas de platino 113 |
| | V.8.3.1 | Espectroscopía UV-Vis para NPs-Pt 113 |
| | V.8.3.2 | Difusión de luz dinámica 121 |
| | V.8.3.3 | Potencial Z 129 |
| | V.8.3.4 | Microscopía de transmisión electrónica para |
| | | NPs-Pt |
| | V.8.3.5 | Conclusión preliminar para la síntesis de |
| | | nanopartículas de platino 135 |
| VI. Conclusione | S | |
| Referencias | | |

TABLAS

| Tabla V-1 | Viscosidad intrínseca y pesos moleculares para los distintos tipos de quitosano |
|------------|--|
| Tabla V-2 | Valores de grado de desacetilación de quitosano estimados mediante valoración ácido-base45 |
| Tabla V-3 | Valores de grado de desacetilación de quitosano estimados mediante análisis elemental |
| Tabla V-4 | Valores de grado de desacetilación de quitosano estimados mediante análisis de RMN- ¹ H46 |
| Tabla V-5 | Resumen de valores de grado de desacetilación de quitosano determinados por las distintas metodologías 47 |
| Tabla V-6 | Porcentajes de inserción de cadena lateral en la obtención de los distintos tipos de copolímeros de injerto. |
| | |
| Tabla V-7 | Solubilidades para quitosano y los productos de las diversas síntesis |
| Tabla V-8 | Temperaturas de degradación de quitosano, los homopolímeros y los correspondientes copolímeros sintetizados |
| Tabla V-9 | Temperaturas de transición vítrea para los distinto copolimeros de injerto de quitosano61 |
| Tabla V-10 | Distribución de tamaños de partículas por DLS para la síntesis de NPs-Au con quitosano75 |
| Tabla V-11 | Distribución de tamaños de partículas por DLS para la síntesis de NPs-Au con quitosano- <i>graft</i> -poli(ε-caprolactona) |

| Tabla V-12 | Distribución de tamaños de partículas por DLS para la síntesis de NPs-Au con quitosano- <i>graft</i> -poli <i>(N</i> -vinil-2-pirrolidona) |
|------------|--|
| Tabla V-13 | Potencial Z para las soluciones de nanopartículas de oro, respecto a los distintos polímeros utilizados |
| Tabla V-14 | Tamaños de partículas determinados mediante análisis de micrografías TEM para síntesis de NPs-Au con el uso de quitosano |
| Tabla V-15 | Tamaños de partículas determinados mediante análisis de micrografías TEM para la síntesis de NPs-Au con el uso de copolímero quitosano <i>-graft-</i> poli(ε-caprolactona)84 |
| Tabla V-16 | Tamaños de partículas determinados mediante análisis de micrografías TEM para síntesis de NPs-Au con el uso de copolímero quitosano- <i>graft</i> -poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) 86 |
| Tabla V-17 | Resumen de observaciones para la síntesis de nanopartículas de oro con el uso de quitosano y los copolímeros sintetizados |
| Tabla V-18 | Potencial Z para las soluciones de nanopartículas de plata respecto a los distintos polímeros utilizados |
| Tabla V-19 | Tamaños de partículas determinados mediante análisis de micrografías TEM para la síntesis de NPs-Ag con el uso de quitosano |
| Tabla V-20 | Tamaños de particulas determinados mediante análisis de micrografías TEM para la síntesis de NPs-Ag con el uso de copolímero de quitosano- <i>graft</i> -poli(ε- caprolactona) |

| Tabla V-21 | Tamaños de partículas determinados mediante análisis de micrografías TEM para la síntesis de NPs-Ag con el uso de copolímero de quitosano <i>-graft</i> -poli(<i>N</i> -vinil-2- pirrolidona) |
|------------|---|
| Tabla V-22 | Tamaños de partículas determinados mediante análisisde micrografías TEM para la síntesis de NPs-Ag con elusodelcopolímeroquitosano-graft-poli(etilenglicol)metiléter.111 |
| Tabla V-23 | Resumen de observaciones para la síntesis de nanopartículas de plata con el uso de quitosano y los copolímeros sintetizados |
| Tabla V-24 | Distribución de tamaño de partículas por DLS para la síntesis de NPs-Pt con quitosano |
| Tabla V-25 | Distribución de tamaño de partículas por DLS para la síntesis de NPs-Pt con copolímero quitosano- <i>graft</i> -poli(ε-caprolactona) |
| Tabla V-26 | Distribución de tamaños de partículas por DLS para la síntesis de NPs-Pt con el copolímero quitosano- <i>g</i> -poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) |
| Tabla V-27 | Distribución de tamaños de partículas por DLS para la síntesis de NPs-Pt con el copolímero quitosano- <i>graft</i> -poli(etilenglicol)metiléter |
| Tabla V-28 | Potencial Z para las soluciones de nanopartículas de platino, respecto a los distintos polímeros utilizados 129 |
| Tabla V-29 | Tamaños de partículas determinados mediante análisis de micrografías TEM para la síntesis de NPs-Pt con el uso de quitosano |

| Tabla V-30 | Tamaños de partículas determinados mediante análisis de micrografías TEM para la síntesis de NPs-Pt con el uso de copolímero quitosano- <i>graft</i> -poli(ε-caprolactona) 133 |
|------------|--|
| Tabla V-31 | Tamaños de partículas determinados mediante análisis de micrografías TEM de la síntesis de NPs-Pt con el uso de copolímero quitosano- <i>graft</i> -poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) 134 |
| Tabla V-32 | Tamaños de partículas determinados mediante análisis de micrografías TEM para la síntesis de NPs-Pt con el uso de copolímero quitosano <i>-graft</i> -poli(etilenglicol)metil éter |
| Tabla V-33 | Resumen de observaciones para la síntesis de nanopartículas de platino con el uso de quitosano y los |
| | 130 coponineros sinterizados |

FIGURAS

| Figura IV-1 | Imagen de norma ASTM F2260-03 donde se representa el espectro RMN- ¹ H del quitosano y las correspondientes señales para la determinación de su grado de desacetilación ¹¹³ | . 37 |
|-------------|--|------|
| Figura V-1 | Tamización de quitina y obtención de quitosano | . 40 |
| Figura V-2 | a) Curva de valoración ácido-base de quitosano, b) primera derivada, c) segunda derivada. | . 44 |
| Figura V-3 | Espectros FTIR para muestras de quitina y quitosano comercial y las obtenidas en el laboratorio | . 51 |
| Figura V-4 | Espectroscopía FTIR para quitosano y los copolímeros de injerto obtenidos. | . 52 |
| Figura V-5 | Espectros de RMN- ¹ H para quitosano y los correspondientes copolímeros de injerto | . 54 |
| Figura V-6 | Perfiles de descomposición térmica para la quitina y el quitosano comercial, además de la quitina y quitosano obtenidos en el laboratorio. | . 56 |
| Figura V-7 | Perfiles de degradación térmica para a) quitosano y sus copolímeros de injerto y b) homopolímeros de PCL, PVP y MPEG. | . 58 |
| Figura V-8 | Perfiles DSC de quitosano y sus respectivos copolímeros de injerto. | . 60 |
| Figura V-9 | Soluciones producto de la síntesis de NPs-Au con el uso de quitosano como agente reductor y estabilizante a distinta concentración de Au ³⁺ | . 63 |

- Figura V-15 Soluciones producto de la síntesis de NPs-Au con el uso de quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) como agente reductor y estabilizante a distintas concentraciones de Au³⁺......69
- Figura V-16 Espectros UV-Vis para la síntesis de NPs-Au con quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) respecto al tiempo de reacción a 95 °C a las concentraciones de sal

| | de KAuCl ₄ de a) 0,07 mM, b) 0,14 mM, c) 0,28 mM, d) 0,56 mM, e) 1,12 mM y f) máximos de absorbancia en el tiempo |
|-------------|--|
| Figura V-17 | Resultados de la síntesis de NPs-Au con el uso del copolímero quitosano- <i>graft</i> -poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) evolución de la longitud de onda para los máximos de absorción a distintos tiempos de reacción |
| Figura V-18 | Soluciones producto de la síntesis de NPs-Au con el uso del copolímero de quitosano- <i>graft</i> -poli(etilenglicol)metil éter como agente reductor y estabilizante, a distintas concentraciones de Au ³⁺ 72 |
| Figura V-19 | Espectros UV-Vis para la síntesis de NPs-Au con Q- MPEG a 95 °C a las concentraciones de KAuCl ₄ de a) 0.07 mM, b) 0,14 mM, c) 0,28 mM, d) 0,56 mM, e) 1,12 mM y f) variación de la absorbancia con el tiempo |
| Figura V-20 | Distribución de tamaños por DLS para la síntesis de NPs- Au con quitosano a concentraciones de sal de KAuCl ₄ de a) 0,00 mM, b) 0,07 mM, c) 0,14 mM, d) 0,28 mM, e) 0,56 mM y f) 1,12 mM |
| Figura V-21 | Distribución de tamaños de partículas obtenidas de la síntesis de NPs-Au con el uso de quitosano- <i>graft</i> -poli(ε- caprolactona) a concentraciones de KAuCl ₄ de a) 0,00 mM, b) 0,07 mM, c) 0,14 mM, d) 0,28 mM, e) 0,56 mM, f) 1,12 mM |
| Figura V-22 | Distribución de tamaños de partículas obtenidas de la síntesis de NPS-Au con el uso Q-PVP a concentraciones |

| | de KAuCl₄ de a) 0,00 mM, b) 0,07 mM, c) 0,14 mM, d) 0,28 mM, e) 0,56 mM y f) 1,12 mM |
|-------------|--|
| Figura V-23 | Variación de potencial Z de las soluciones de nanopartículas de oro respecto a la concentración de sal KAuCl₄ para distintos polímeros |
| Figura V-24 | Micrografías TEM junto a los respectivos espectros UV- Vis y distribuciones de partículas por DLS para las NPS- Au sintetizadas con el uso de quitosano a) 0,28 mM de KAuCl ₄ y b) 1,12 mM de KAuCl ₄ |
| Figura V-25 | Micrografías TEM, espectros UV-Vis y distribuciones de tamaños obtenidos por DLS para las nanopartículas de oro con el copolímero de quitosano- <i>graft</i> -poli(ε-caprolactona) a) 0,28 mM de KAuCl ₄ y b) 1,12 mM de KAuCl ₄ |
| Figura V-26 | Micrografías TEM, espectros UV-Vis y distribución de tamaños por DLS para las nanopartículas de oro con el copolímero de quitosano <i>-graft-(N-</i> vinil-2-pirrolidona) con a) 0,28 mM de KAuCl ₄ y b) 1,12 mM de KAuCl ₄ a 95 °C 86 |
| Figura V-27 | Soluciones de NPs-Ag sintetizadas a distinta concentración de la sal de AgNO ₃ con el uso de quitosano como reductor y estabilizante |
| Figura V-28 | Espectros UV-Vis para la formación de nanopartículas de plata con quitosano respecto al tiempo de reacción a 95 °C, a las concentraciones de sal de AgNO ₃ de a) 0,05 mM, b) 0,1 mM, c) 0,2 mM y d) 0,36 mM, e) 0,4 mM y f) máximos de absorbancia en el tiempo |
| Figura V-29 | Evolución de la absorbancia con la concentración de la sal de plata |

| Figura V-30 | Suspensiones de NPs-Ag sintetizadas a distinta concentración de la sal de AgNO ₃ , con el copolímero quitosano- <i>graft</i> -poli(ε-caprolactona) como reductor y estabilizante |
|-------------|---|
| Figura V-31 | Espectros UV-Vis para la formación de nanopartículas de plata con quitosano- <i>graft</i> -poli(ε -caprolactona) respecto al tiempo de reacción a 95 °C, a las concentraciones de sal de AgNO ₃ de a) 0,05 mM, b) 0,1 mM, c) 0,2 mM, d) 0,3 mM, e) 0,4 mM y f) variación del máximo de absorbancia en el tiempo |
| Figura V-32 | Evolución de las absorbancias con la concentración de la sal de plata preparadas usando el copolímero quitosano- graft-poli(ε-caprolactona) a 95 °C |
| Figura V-33 | Soluciones de NPs-Ag sintetizadas a distinta concentración de la sal de AgNO ₃ con el uso del copolímero quitosano-graft-poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) como reductor y estabilizante. 98 |
| Figura V-34 | Espectros UV-Vis para la formación de nanopartículas de plata con quitosano- <i>graft</i> -poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) respecto al tiempo de reacción a 95 °C, a las concentraciones de sal de AgNO ₃ de a) 0,05 mM, b) 0,1 mM, c) 0,2 mM, d) 0,3 mM, e) 0,4 mM y f) evolución de máximos de absorbancias |
| Figura V-35 | Evolución de la absorbancia con la concentración de la sal de plata la síntesis con el copolímero quitosano <i>-graft-</i> poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona) a 95 °C |
| Figura V-36 | Soluciones de NPs-Ag sintetizadas a distinta concentración de la sal de AgNO3 con el uso del |

- Figura V-39 Micrografías TEM junto a las correspondientes gráficas de distribución de tamaño y espectros de absorbancia UV-Vis para la síntesis de NPs-Ag a 95 °C con quitosano a concentraciones de AgNO₃ de a) 0,2 mM y b) 0,4 mM... 105
- Figura V-40 Micrografías TEM junto al análisis de distribuciones de tamaños y los espectros UV-Vis para la síntesis de NPs-Ag a 95 °C con quitosano-*graft*-poli(ε-caprolactona) a concentraciones de AgNO₃ de a) 0,2 mM y b) 0,4 mM..... 107
- Figura V-42 Micrografías TEM para NPs-Ag sintetizadas con el uso del copolímero quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter a concentraciones de AgNO₃ de a) 0,2 mM y b) 0,4 mM... 110

| Figura V-44 | Espectros UV-Vis para el seguimiento de las síntesis de |
|-------------|--|
| | NPs-Pt con el uso de quitosano a concentraciones de |
| | Pt ²⁺ de a) 0,1 mM; b) 0,3 mM; c) 0,6 mM; d) 1,0 mM y |
| | e) 1,5 mM 115 |

- Figura V-46 Espectros UV-Vis, para el seguimiento de la síntesis de NPs-Pt con el uso de quitosano-graft-poli(ε-caprolactona) a concentraciones de la sal de platino de a) 0,1 mM, b) 0,3 mM, c) 0,6 mM, d) 1,0 mM y e) 1,5 mM.
- Figura V-48 Síntesis de nanopartículas de platino con quitosanograft-poli(N-vinil-2-pirrolidona) con concentraciones de K₂PtCl₄ de a) 0,1 mM, b) 0,3 mM, c) 0,6 mM, d) 1,0 mM,
 e) 1,5 mM.
- Figura V-50 Espectros UV-Vis para el seguimiento de la síntesis de NPs-Pt con el uso de quitosano-graftpoli(etilenglicol)metil éter como reductor y estabilizante de nanopartículas a concentraciones de la sal de platino

| | de a) 0,1 mM; b) 0,3 mM; c) 0,6 mM, d) 1,0 mM y e) 1,5 mM |
|-------------|---|
| Figura V-51 | Distribución de tamaños mediante DLS para la síntesis de NPs-Pt con quitosano a concentraciones de K ₂ PtCl ₄ de a) 0,0 mM; b) 0,1 mM; c) 0,3 mM; d) 0,6 mM; e) 1,0 mM y f) 1,5 mM |
| Figura V-52 | Distribución de tamaños mediante DLS para la síntesis de NPs-Pt con quitosano- <i>graft</i> -poli(ε-caprolactona) a concentraciones de K ₂ PtCl ₄ de a) 0,0 mM; b) 0,1 mM; c) 0,3 mM; d) 0,6 mM; e) 1,0 mM y f) 1,5 mM |
| Figura V-53 | Distribución de tamaños por DLS para la síntesis de NPs- Pt con el uso de copolímero quitosano- <i>graft</i> -poli(<i>N</i> -vinil- 2-pirrolidona) con K ₂ PtCl ₄ a concentraciones de a) 0,0 mM, b) 0,1 mM; c) 0,3 mM; d) 0,6 mM; e) 1,0 mM y f) 1,5 mM |
| Figura V-54 | Distribución de tamaños por DLS para la síntesis de NPs- Pt con el uso de quitosano- <i>graft</i> -poli(etilenglicol)metil éter con K ₂ PtCl ₄ a concentraciones de a) 0,0 mM, b) 0,1 mM; c) 0,3 mM; d) 0,6 mM; e) 1,0 mM y f) 1,5 mM 128 |
| Figura V-55 | Micrografías TEM para nanopartículas de platino sintetizadas con el uso de quitosano como reductor y estabilizador para concentraciones de la sal de platino de a) 0,6 mM y b) 1,5 mM, junto a las distribuciones de tamaños y sus respetivos espectros UV-Vis |
| Figura V-56 | Micrografías TEM de nanopartículas de platino sintetizadas con el copolímero quitosano- <i>graft</i> -poli(ε- |

caprolactona) a concentraciones de su sal de a) 0,6 mM

| | y b) 1,5 mM, junto a las distribuciones de tamaños y sus espectros UV-Vis | 132 |
|-------------|---|-----|
| Figura V-57 | Micrografías TEM para la síntesis de nanopartículas de | |
| | platino con el uso del copolímero quitosano-graft-poli(N- | |
| | vinil-2-pirrolidona) como reductor y estbilizador de dichas | |
| | nanopartículas a una concentración de la sal de platino | |
| | de 1,5 mM junto a las distribución de tamaños y su | |
| | espectro UV-Vis | 133 |
| Figura V-58 | Micrografías TEM para NPs-Pt sintetizadas con el uso de | |
| | Q-g-MPEG junto a sus respectivas distribuciones de | |
| | tamaños y espectro UV-Vis | 134 |

ESQUEMAS

| Esquema I-1 | Representación de polímeros a) lineales, b) ramificados y c) reticulados |
|--------------|---|
| Esquema I-2 | Representación esquemática de los tipos de polímeros más conocidos con distintas unidades monoméricas A y B a) homopolímeros; b) copolímero alternante; c) copolímero al azar; d) copolímero en bloque y e) copolímero de injerto |
| Esquema I-3 | Síntesis de poli(ε-caprolactona)11 |
| Esquema I-4 | Síntesis de poli(<i>N</i> -vinil-2-pirrolidona)12 |
| Esquema I-5 | Conversión de quitina en quitosano 13 |
| Esquema I-6 | Ilustración de los grupos funcionales presentes en el monómero quitosano |
| Esquema I-7 | Representación de metodologías top-down y bottom-up 16 |
| Esquema I-8 | Representación de distintos sistemas de estabilización de nanopartículas |
| Esquema IV-1 | Síntesis de copolímero quitosano <i>-graft</i> -poli(ε- caprolactona) |
| Esquema IV-2 | Síntesis de copolímero quitosano- <i>graft</i> -poli(<i>N</i> -vinil-2- pirrolidona) |
| Esquema IV-3 | Síntesis de copolímero quitosano <i>-graft-</i> poli(etilenglicol)metil éter |
| Esquema V-1 | Representación de estabilización de nanopartículas de oro con a) quitosano y b) los copolímeros Q- <i>g</i> -PCL y Q- <i>g</i> -PVP |

RESUMEN

En el presente trabajo de tesis se realizó un estudio del uso de quitosano (Q) en la síntesis de copolímeros de injerto con poli(ϵ -caprolactona), poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) y poli(etilenglicol)metil éter y su aplicación en la síntesis y estabilización de nanopartículas de oro, plata y platino.

En una primera etapa se llevó a cabo la obtención de quitosano a partir de quitina proveniente de caparazones de langostinos. Posteriormente, el quitosano fue caracterizado por diversas técnicas, por ejemplo, viscosidad intrínseca, espectroscopía, análisis térmico, entre otras, para luego ser modificado químicamente mediante la polimerización de crecimiento de cadenas de ϵ -caprolactona y *N*-vinil-2-pirrolidona y la inserción de cadenas de poli(etilenglicol)metil éter de 2.000 g/mol. El quitosano y los copolímeros obtenidos resultaron ser solubles en soluciones ácidas y neutras, e insolubles en medio básico.

El quitosano (Q) junto a los copolímeros sintetizados quitosano-*g*-poli(ϵ -caprolactona) (Q-*g*-PCL), quitosano-*g*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) (Q-*g*-PVP) y quitosano-*g*-poli(etilenglicol)metil éter fueron utilizados en la síntesis y estabilización de nanopartículas de oro, plata y platino. Para ello, los polímeros fueron disueltos en una solución acuosa de ácido acético al 2 % a una concentración de 0,5 g/L del polímero. A estas disoluciones, se adicionaron distintas concentraciones de las sales metálicas de tetracloroaurato de potasio (KAuCl₄) para la síntesis de nanopartículas de oro, nitrato de plata (AgNO₃) para la síntesis de nanopartículas de plata y tetracloroplatinato (II) de potasio (K₂PtCl₄) para la síntesis de nanopartículas de plata y tetracloroplatinato (II) de potasio

En general, la formación de las nanopartículas fue llevada a cabo a 95 °C, la evolución de las reacciones fue monitoreada mediante espectroscopía UV-Vis, el tamaño de las nanopartículas fue determinado por difusión de luz dinámica (DLS), la estabilidad de las nanopartículas fue estimada por mediciones de Potencial Z, su forma y tamaño fueron determinados mediante microscopía de transmisión electrónica (TEM).

ABSTRACT

In this thesis work, the use of chitosan (Q) in the synthesis of graft copolymers with poly(ϵ -caprolactone), poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) and poly(ethyleneglycol)methyl ether, as well as their potential application in the synthesis and stabilization of gold, silver and platinum nanoparticles were studied.

Firstly, chitosan was prepared from chitin, which was extracted from prawn shells. Subsequently, chitosan was characterized by different techniques and chemically modified by grafting of poly(ϵ -caprolactone) and poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone) and poly(ethyleneglycol)methyl ether onto chitosan backbone. Overall, chitosan and the obtained copolymers showed a marked pH dependent solubility (solubility in acidic and neutral media and non-soluble in basic aqueous solutions).

Chitosan along with the synthesized copolymers chitosan-g-poly(ε caprolactone) (Q-g-PCL), chitosan-g-poly(*N*-vinyl-2-pyrrolidone) (Q-g-PVP) and chitosan-*q*-poly(ethyleneglycol)methyl ether were used in the synthesis and stabilization of gold, silver and platinum nanoparticles. For this, the polymers were dissolved in a 2% acetic acid solution using a concentration of 0.5 g/L of the polymer. Additionally, aqueous solutions at different concentrations of the were added to the polymer solutions; namely, potassium tetrachloroaurate (KAuCl₄), silver nitrate (AqNO₃) and potassium tetrachloroplatinate (II) (K₂PtCl₄) for the synthesis of gold, silver and platinum nanoparticles, respectively.

Finally, the formation of the nanoparticles was carried out at 95 °C. The evolution of the different reactions was monitored by UV-Vis spectroscopy, the size distributions of the nanoparticles were determined by dynamic light diffusion (DLS) technique, the stability in the medium was estimated by

3

Potential Z measurements and the shape and size of the metal nanoparticles were determined by transmission electron microscopy (TEM).

I. INTRODUCCIÓN

En la actualidad, existen variados usos para materiales poliméricos que van desde prestaciones médicas, biotecnológicas y transporte de farmacos^{1–3}, hasta la preparación de materiales compuestos para aplicaciones tecnológicas y variados usos en la vida cotidiana^{4,5}. La gran controversia que se presenta debido al uso masivo de estos materiales radica en que en la mayoría de los casos se usan polímeros sintéticos derivados del petróleo, con características que resultan poco compatibles con el medio ambiente. En estos tiempos, existe una mayor consciencia y conocimiento de los problemas generados por estos materiales en el medio ambiente, por lo que, se prefiere dentro de lo posible el reemplazo de los polímeros sintetizados y basados en monómeros procedentes del petróleo, por materiales poliméricos de origen natural, que puedan ser modificados de tal forma que permitan modular ciertas propiedades interesantes o adquirir nuevas en el proceso de conversión vía modificación química o mediante sus mezclas, para la obtención de nuevos materiales.

I.1 POLÍMEROS

Los polímeros corresponden a macromoléculas formadas por unidades discretas distribuidas de manera repetitiva denominada monómeros, los que se encuentran unidos mediante enlaces covalentes. Estas macromoléculas pueden ser clasificadas según su forma, la distribución de sus monómeros, su origen o por sus propiedades químicas, mecánicas y térmicas, entre otras.

Según la morfología de los polímeros, estos pueden ser clasificados en polímeros lineales y ramificados. Los polímeros lineales corresponden a macromoléculas formadas por monómeros que poseen dos puntos reactivos o de enlace y se encuentran unidos entre sí unidireccionalmente. Los polímeros ramificados se forman debido a la presencia de al menos un monómero en la cadena con tres o más puntos reactivos, aptos para formar enlaces covalentes. Por ejemplo, si la ramificación da lugar a la generación de estructuras con enlaces cruzados entre las cadenas poliméricas se les denomina polímeros reticulados. La linealidad de las cadenas proporciona resistencia y en general son denominados termoplásticos, debido a que, por acción del calor y presión, pueden ablandarse lo suficiente o fundirse y ser moldeados mediante un proceso físico reversible. Por otro lado, los puntos de unión de las ramificaciones disminuyen los grados de libertad en el entorno molecular, trayendo como consecuencia el aumento de la tenacidad de la estructura, produciendo compuestos termoestables y rígidos que no pueden fundir ni fluir.⁶ En el Esquema I-1 se exhibe una representación de los polímeros según morfología.



Esquema I-1 Representación de polímeros a) lineales, b) ramificados yc) reticulados.

La clasificación de los polímeros según la distribución de sus monómeros dentro de la macromolécula se diferencia por el número de tipos de monómeros presentes, identificándose como homopolímeros a aquellas macromoléculas formadas por cadenas que contienen un tipo de unidad monomérica y como copolímeros a las formadas por dos o más tipos de estas unidades. En el Esquema I-2 se muestran las representaciones de los tipos de polímeros según la distribución de sus monómeros.

En este trabajo de tesis se realizó un estudio que abarcó la síntesis y aplicación de copolímeros de injerto, los que a grandes rasgos se obtuvieron al adicionar o enlazar a una cadena polimérica lineal, cadenas poliméricas laterales. Estas cadenas laterales fueron enlazadas sobre los monómeros de la cadena lineal central con un grupo reactivo susceptible para la adición de otros monómeros y su posterior crecimiento vía polimerización o por la adición de un nuevo polímero con un terminal reactivo. Más adelante se mencionarán los tipos de reacciones de polimerización más conocidas.



Esquema I-2 Representación esquemática de los tipos de polímeros más conocidos con distintas unidades monoméricas A y B
a) homopolímeros; b) copolímero alternante; c) copolímero al azar; d) copolímero en bloque y e) copolímero de injerto.

Otra clasificación de los polímeros considera el origen o procedencia de estos, los cuales, pueden ser sintéticos, naturales o naturales modificados.

Los polímeros sintéticos son obtenidos mediante reacciones químicas de polimerización en las que los monómeros se enlazan covalentemente entre ellos. La polimerización puede ser llevada a cabo mediante reacciones de adición, condensación o por apertura de anillo.

Las reacciones de adición se llevan a cabo sobre monómeros que presentan uno o más enlaces dobles o triples (insaturados), los que, mediante la acción de un iniciador que puede ser un anión, un catión o un radical, son transformados en un carbocatión, un carbanión o un radical respectivamente, permitiendo la formación de enlaces simples entre las unidades monoméricas. Este tipo de polimerización contempla tres etapas que corresponden a iniciación, crecimiento o propagación y terminación. La iniciación es el proceso en que una molécula denominada iniciador comienza la polimerización mediante la ruptura de un enlace doble o triple del monómero con la formación de un carbocatión, un carbanión o un radical susceptible de unirse a una nueva unidad monomérica. El crecimiento o propagación corresponde a una secuencia de reacciones y uniones entre un terminal polimérico con nuevos monómeros que se van adicionando con el consecuente crecimiento de la molécula polimérica. Por último, la terminación corresponde al proceso en el que las cadenas detienen su crecimiento, ya que se ha consumido totalmente los monómeros disponibles en el medio o simplemente por la pérdida de actividad de las cadenas.

Las polimerizaciones por condensación se llevan a cabo por etapas y tienen lugar en los grupos funcionales de los monómeros que constituyen el polímero. Este proceso consiste en reacciones sucesivas de los grupos funcionales complementarios presentes en uno o más de los monómeros que formarán la cadena polimérica. La fórmula estructural del polímero normalmente tiene algunos átomos menos que la de sus monómeros de partida debido a que en el proceso existe la eliminación de moléculas pequeñas como agua, amoníaco o metanol.

8

Las polimerizaciones por apertura de anillo corresponden a las reacciones de polimerización que involucran monómeros cíclicos del tipo ésteres como la ϵ -caprolactona (ϵ -CL), β -propiolactona (β -PL), γ -butirolactona (γ -BL), β -butirolactona (β -BL) y δ -valerolactona (δ -VL), entre otros mediante la apertura de su anillo por acción de un catalizador. Este tipo de reacción presenta una estequiometria similar a las reacciones de adición debido a que no interviene otro reactante y no existe la eliminación o formación de una molécula que no sea el polímero, aunque su mecanismo es similar a la de una polimerización por condensación.⁷

En general, los monómeros utilizados para la elaboración de estos polímeros pueden ser obtenidos directamente del petróleo o ser sintetizados mediante reactivos que provienen de la industria petroquímica, de alguna fuente natural o una mezcla de estas. En este trabajo de investigación se utilizaron los monómeros ε -caprolactona y *N*-vinil-2-pirrolidona para la síntesis de cadenas poliméricas de poli(ε -caprolactona) y poli(*N*-vinil-2-pirrolidona), además de poli(etilenglicol)metil éter como cadena polimérica que fueron injertadas a una cadena principal de quitosano.

Por otro lado, los polímeros naturales o también denominados biopolímeros, corresponden a aquellas macromoléculas que son sintetizadas en procesos biológicos en diversos seres vivos. Este tipo de macromoléculas, puede ser subclasificados en cuatro grandes grupos: proteínas, ácidos nucleicos, polisacáridos y poliisoprenos.^{7,8} La definición de biopolímeros o biomoléculas poliméricas, según la IUPAC, corresponde a macromoléculas conformados por proteínas, ácidos nucleicos y polisacáridos que son sintetizados por organismos vivos⁹. Dicha definición ha sido ampliada para considerar tanto a los polímeros o macromoléculas presentes en los seres vivos, como a los que pueden ser sintetizados por estos o bien ser de procedencia sintética. pero que presentan características de ser biocompatibles o biodegradables. Los polímeros biocompatibles por definición son aquellos que no presentan reacciones alérgicas e inmunitarias al entrar en contacto con tejidos de los organismos de los seres vivos. Se debe destacar, que el termino de materiales biocompatibles se refiere a sistemas específicos en los que dicho material y el huésped biológico no presenten interacciones o que estas sean apropiadas para la función que se busca cumplir.¹⁰

Cabe señalar que la física y la química de los polímeros sintéticos son complicadas debido a las diversas interacciones intermoleculares y extramoleculares que se presentan. Estas complicaciones se ven realzadas en el caso de polímeros naturales, debido a que en general, éstos se encuentran formados por unidades repetitivas diferentes, siendo habituales estructuras parecidas dentro de una misma cadena. Por otro lado, sus propiedades tienen dependencia de las condiciones ambientales, debido a que su estructura real tiene relación con su entorno natural. Por último, la forma y tamaño de los polímeros naturales tienen una mayor importancia en el desempeño de estos en comparación a los polímeros sintéticos.⁸

A continuación, se realiza una breve descripción de los polímeros que fueron utilizados para el desarrollo de este trabajo.

I.1.1 Poli(ε-caprolactona)

La Poli(ε-caprolactona) (PCL) o simplemente poli(caprolactona), corresponde a un poliéster alifático sintético biodegradable, usado gracias a su buena biodegradabilidad y biocompatibilidad como biomaterial para la liberación controlada de fármacos, entre otras aplicaciones.¹¹ Una de principales características es su carácter hidrofóbico.

La síntesis comercial de este polímero se realiza por apertura de anillo de ε-caprolactona, usando comúnmente el catalizador 2-etilhexanoato de Sn(II) (octanoato estanoso, Sn(Oct)₂), a una temperatura entre 120 y

10

150 °C. En el Esquema I-3, se presenta la síntesis de poli(ε-caprolactona) a partir del respectivo monómero.



Esquema I-3 Síntesis de poli(ε-caprolactona).

I.1.2 Poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)

Poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) (PVP), corresponde a un polímero soluble tanto en agua como en algunos disolventes orgánicos. Presenta baja toxicidad, buena biocompatibilidad y alta capacidad de complejación de metales, permitiendo interactuar con agentes hidrófilos e hidrófobos (comportamiento anfifílico). Este polímero contribuye a aumentar la solubilidad de moléculas poco solubles en agua, ya que es capaz de interactuar o albergar moléculas hidrófobas.^{12,13} Además, en numerosos estudios se han reportado que poli(*N*-vinil-2-pirrolidona), puede actuar como agente estabilizante en la síntesis de nanopartículas metálicas.^{14–17}

La síntesis de poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) se basa en polimerizaciones radicalarias con el uso de iniciadores como AIBN^{13,18} o persulfato de potasio.¹⁹ En el Esquema I-4, se presenta la síntesis de poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) a partir del respectivo monómero.


Esquema I-4 Síntesis de poli(*N*-vinil-2-pirrolidona).

I.1.3 Poli(etilenglicol)metiléter

Poli(etilenglicol) (PEG) corresponde a un polímero neutro, no tóxico, soluble en agua con un comportamiento anfifílico. Es utilizado comúnmente en aplicaciones farmacéuticas y biomédicas, en alimentos, cosméticos, medicina y sistemas de liberación controlada de drogas, debido a su buena inmunogenicidad y la habilidad de no alterar dramáticamente las funciones biológicas de las proteínas.^{20,21}

I.1.4 Quitosano

El quitosano corresponde a una biomacromolécula del tipo polisacárido, obtenida a partir del proceso de desacetilación de la quitina. Esta última, es el segundo polímero de origen natural más abundante en la naturaleza, después de la celulosa y corresponde a un polisacárido lineal de $(1\rightarrow 4)$ -2-acetoamido-2-desoxi- β -D-glucosa(*N*-acetil- β -d-glucosamida), su nombre fue propuesto por Antoine Odier en 1823, siendo en 1859 Rouget quien encontró que a través de la saponificación de quitina, se podía obtener quitosano^{22,23}. La reacción química de desacetilación de la quitina involucrada en la obtención del quitosano es presentada en el Esquema I-5. Esta reacción se basa en la eliminación de grupos acetato desde la cadena polimérica de quitina (*N*-acetil-D-glucosamida) mediante un proceso de saponificación con el

Introducción

uso de una base fuerte como hidróxido de sodio²². Esta reacción ocurre por medio de un ataque nucleofílico del anión hidróxido sobre el grupo carbonilo de la amida secundaria de la quitina, posteriormente, se presenta un reordenamiento de las cargas para finalmente, producirse la eliminación del grupo acetato desde las diversas unidades monoméricas. El proceso de desacetilación, corresponde a un ataque nucleofílico sobre aquellos grupos que se encuentran susceptibles a este proceso, por lo cual, el quitosano obtenido presenta grupos aminos y amidas en distintas proporciones y posiciones de los monómeros dentro de la cadena polimérica.



Esquema I-5 Conversión de quitina en quitosano.

El quitosano corresponde a un polímero conocido por sus excelentes propiedades tales como compatibilidad con las células humanas, ayuda en la regeneración de tejido dañado,^{24,25} actividad antimicrobial,^{26–29} fungicida,^{30–32} bactericida y antioxidante,^{33–37} por ello presenta múltiples usos en diversas áreas, entre las que destacan, el uso como excipiente farmacéutico,³⁸ como recubrimiento de alimentos,^{39–41} el tratamiento de agua,^{42–45} etc.

Por otro lado, debido a que quitosano presenta en su estructura múltiples grupos funcionales hidroxilo, amino y acetilamino, estos le confieren una variedad de posibles modificaciones, permitiendo reacciones de esterificación, eterificación, reticulación y copolimerización por injerto, dando paso a la obtención de productos alquilados, derivados catiónicos,

13

carboxialquilicos, hidroxialquílicos, acilados, tiolados, sulfatados, fosforilados, copolímeros en bloque o de injerto, entre otros.^{46–51}

En el Esquema I-6 se representan los grupos funcionales de quitosano para una unidad monomérica desacetilada.



Esquema I-6 Ilustración de los grupos funcionales presentes en el monómero quitosano.

La factibilidad y diversidad de reacciones químicas posibles, permite la adición de grupos químicos reactivos a la cadena polimérica de quitosano, también permite la adición de cadenas poliméricas de diversos tipos, los que eventualmente pueden otorgar características distintivas mejoradas al quitosano.

Con base en las características mencionadas, este trabajo involucró la adición a la cadena de quitosano, cadenas poliméricas de poli(ϵ -caprolactona),^{11,52–59} poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)^{14,19,60,61} y poli(etilenglicol)metiléter.^{62–64} La elección de estos tres polímeros se basó en su biodegradabilidad y biocompatibilidad, además, de las características y propiedades de cada uno de ellos expuestos en las secciones anteriores.

Adicionalmente, un aspecto importante a ser considerado es que el quitosano ha sido ampliamente estudiado para la formación de nanopartículas

metálicas como estabilizador o reductor de iones metálicos, entre las que se encuentran las de oro,^{65–69} plata^{70–73} y platino^{74–77}.

I.2 NANOPARTÍCULAS

En el ámbito de la síntesis de nanopartículas metálicas, se agrupan dos metodologías principales: *top-down* y las *bottom-up* (Esquema I-7). La metodología *top-down* considera dos etapas fundamentales, correspondientes a una reducción de tamaños de un material hasta escala nanométrica por medio, por ejemplo, de una molienda y posterior estabilización de esas nanopartículas mediante la adición de un agente protector coloidal. Por otro lado, la metodología *botton-up* es la más frecuentemente utilizada debido a su simplicidad, control de tamaño o dispersión, menores costos energéticos, entre otros. Esta metodología considera un proceso de descomposición y/o reducción química de sales de metales en disolución, pasando de iones metálicos a átomos metálicos, seguido de un crecimiento por la aglomeración de átomos hasta alcanzar la escala nanométrica formando nanopartículas, siendo también necesaria la adición de un agente estabilizante.

Turkevich y colaboradores propusieron una metodología pionera para la obtención de nanopartículas de oro⁷⁸, la que comprende tres etapas: nucleación, crecimiento y aglomeración. Específicamente, el mecanismo sugerido plantea que los iones metálicos sufren una reacción de reducción, cambiando su estado de oxidación a cero. En este punto pueden seguir dos rutas, por un lado, aquella que involucra la colisión de átomos metálicos con iones metálicos lo que conlleva, por medio de un desplazamiento del equilibrio, a la formación de clústers. La otra ruta corresponde a la colisión de átomos metálicos dando lugar, al igual que en el caso anterior, la formación de clústers. Este proceso irreversible, indica el final de la nucleación y da paso al crecimiento de las nanopartículas. La estabilización de las nanopartículas generadas mediante esta metodología es posible con el uso de ligandos, surfactantes y polímeros para evitar su aglomeración.^{79,80}



Esquema I-7 Representación de metodologías *top-down* y *bottom-up*.

En la actualidad, se busca que la síntesis de nanopartículas se desarrolle por medio de procesos en los que intervengan productos químicos amigables con el medio ambiente, con baja o nula toxicidad. Este tipo de síntesis son ampliamente reconocidos como procesos de síntesis verde o química verde^{81,82}. Estos nuevos procesos incluyen polímeros como los polisacáridos, métodos biológicos con el uso de extractos de plantas,^{70,81,83} irradiación, entre otros. Además, involucran el uso de solventes acuosos, así como, agentes reductores y estabilizantes que no sean nocivos o agresivos con el medio ambiente.

Un aspecto de la química de polímeros que ha resultado especialmente interesante es su uso en la síntesis de nanopartículas metálicas, proceso en que el rol principal que han cumplido es el de agentes estabilizantes. Sin embargo, existen numerosos estudios en que los polímeros cumplen un doble rol actuando como agentes reductores de iones metálicos para la producción de nanopartículas, además del rol clásico de estabilizante.^{16,84–86} En este sentido, el grupo de investigación del Laboratorio de Polímeros de la Facultad de Química y de Farmacia, ha desarrollado una línea de investigación en los últimos años dedicada a estudiar este doble rol

de las macromoléculas en la síntesis de nanopartículas de oro y plata con polímeros y copolímeros del tipo poli(*N*-vinil-2-pirrolidona),^{15,17,87} poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)-*block*-poli(ϵ -caprolactona)-*block*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona), entre otros.^{88–90} En estos trabajos, se ha logrado demostrar que grupos hidroxilo terminales de los copolímeros actúan como agentes reductores de iones, dando lugar a la formación de nanopartículas. Por otro lado, se ha propuesto la posibilidad del uso de polímeros con enlaces conjugados que puedan sufrir procesos redox en los cuales existe una oxidación de estos para producir la reducción de los iones metálicos disueltos en el medio.^{91,92}

I.2.1 Síntesis de nanopartículas mediante el uso de polímeros como agentes reductores

La reducción de los iones metálicos para la formación de nanopartículas se lleva a cabo mediante diversos procesos que contemplan la interacción del ion metálico con el polímero, para dar lugar a un proceso de transferencia electrónica, en el que se produce la reducción del metal y la oxidación del polímero. De acuerdo con esto, el polímero puede formar un macro radical que al tener presentes enlaces conjugados puede dar lugar a enlaces simples o al haber otros grupos reactivos puede presentar la formación de esteres, cetonas e incluso reducir el tamaño molecular del polímero mediante reacciones de hidrólisis. Finalmente, las nanopartículas son estabilizadas por el mismo polímero presente en el medio permitiendo un control en la nucleación y el crecimiento de las nanopartículas.^{85,93–95}

I.2.2 Estabilización de nanopartículas

Las nanopartículas metálicas son termodinámicamente inestables, debido a que poseen una considerable relación área:volumen exhibiendo una alta reactividad superficial, que se encuentra relacionada con la cantidad de sitios de coordinación insaturados presentes. Esto, produce que las nanopartículas tiendan a aglomerarse, requiriéndose su estabilización en suspensión, con la finalidad de evitar su agregación.

La estabilización de las nanopartículas en un medio acuoso puede estar relacionada a distintos efectos, por ejemplo, interacciones de Van Der Walls. Se estima que la estabilización puede deberse a efectos estéricos, electrostáticos o a la mezcla de estos efectos denominados en este caso como efectos electroestéricos. Esta estabilización produce un estado termodinámicamente metaestable, proporcionado por una barrera de potencial de repulsión que supera a la energía de agregación de las partículas metálicas nanométricas.

La estabilización estérica es atribuida principalmente a polímeros y surfactantes, los cuales impiden las interacciones entre las nanopartículas formadas, mediante impedimentos espaciales (estéricos) y de movilidad de las nanopartículas, mientras que la estabilización electrostática está relacionada con la carga del medio, siendo además influenciada por las interacciones que pueden presentarse entre las nanopartículas y la carga iónica debido a la presencia de iones o la acción del pH. Por último, otro sistema de estabilización estérica y la electrostática, la cual puede ser denominada estabilización electrostérica. Este último tipo de estabilización se basa en la combinación de ambos mecanismos mediante el uso de polielectrolitos o surfactantes iónicos.^{85,96,97} En el Esquema I-8 se muestra una representación de los tres tipos de estabilización mencionados anteriormente.



Esquema I-8 Representación de distintos sistemas de estabilización de nanopartículas.

I.2.3 Toxicidad de nanopartículas

En la actualidad, existe preocupación por la posible toxicidad que las nanopartículas pueden presentar en los organismos, debido a su acumulación, la que puede producir variados efectos, desde oscurecimiento de tejidos, disminución de la función mitocondrial, malformaciones e inclusive la muerte de algunos organismos^{98–101}. Dentro de los posibles mecanismos de toxicidad de las nanopartículas metálicas se encuentran, el estrés oxidativo, genotoxicidad, fagocitosis e inflamación.¹⁰²

I.2.4 Motivación

De acuerdo con lo expuesto en las secciones anteriores, resulta interesante realizar un trabajo de investigación en dos áreas temáticas de gran interés científico como son por una parte la química de polímeros y copolímeros, especialmente biopolímeros y por otro lado la química de nanopartículas metálicas, especialmente de metales nobles. El hecho de que exista una cierta asociación entre la química de la síntesis de nanopartículas metálicas, la química y la fisicoquímica de los polímeros, permite visualizar que el estudio sistemático abordando el rol de un tipo específico de polímeros en la síntesis y estabilización de nanopartículas metálicas es de alto interés para diversas áreas científico-tecnológicas.

Por estos motivos, en este trabajo de tesis se realizó un estudio sistemático que contempló, en una primera instancia, la obtención de quitosano, y su modificación química por injerto de cadenas de poli(ε-caprolactona) (PCL), poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) (PVP) y poli(etilenglicol)metil éter (MPEG). Una vez obtenidos y caracterizados los polímeros de injerto, fueron estudiados en la síntesis y estabilización de nanopartículas de metales nobles (Au, Ag y Pt) a partir de las sales precursores KAuCl₄, AgNO₃ y K₂PtCl₄.

Introducción

La síntesis de nanopartículas metálicas usando quitosano y los distintos copolímeros de injerto como agentes reductores y estabilizantes, fueron ensayados considerando diversas concentraciones de soluciones poliméricas y usando ácido acético al 2 % como solvente. Estas síntesis también contemplaron diferentes concentraciones de las sales metálicas, temperaturas y pH. Finalmente, se mantuvieron constantes la concentración de las soluciones poliméricas y la temperatura (95 °C), estableciendo las concentraciones de cada ion metálico y el pH adecuados para la obtención de las nanopartículas metálicas.

En una primera instancia, se realizaron ensayos de síntesis de nanopartículas de oro con concentraciones iniciales de quitosano y sus copolímeros de 0.5 mg/mL1 mg/mL,5 mg/mL, V 10 mg/mL,٧ concentraciones del ion Au³⁺ de 1.2 mM, 0.6 mM, 0.3 mM, 0.15 mM v 0,075 mM a temperaturas de 60, 75 y 95 °C. Finalmente, para la síntesis de NPs-Au se establecen concentraciones de las soluciones poliméricas de 0,5 mg/mL concentraciones del ion Au³⁺ de 0,07 mM, 0,14 mM, 0,28 mM. 0,56 mM y 1,12 mM a una temperatura de 95°C y un pH 3,0 dado por la solución polimérica con ácido acético acuso como solvente.

Para el caso de las síntesis de nanopartículas de plata, se efectuaron ensayos preliminares a concentraciones de 10 mg/mL de quitosano y los copolímeros de injerto, los que fueron solubilizados en ácido acético al 2 %. Las concentraciones de la sal metálica de plata utilizadas fueron de 200 mM, 100 mM, 50 mM, 25 mM y 12,5 mM, Estos ensayos entregaron resultados satisfactorios en la formación de NPs-Ag, pero la alta concentración requerida de cada polímero limitaba la capacidad de ensayos a realizar. Se decidió dejar fijas las concentraciones de quitosano y los copolímeros de injerto a los valores utilizados en la síntesis de NPs-Au (0,5 mg/mL). Mediante diversos ensayos se logró la obtención de nanopartículas a concentraciones del ion Ag⁺ de 0,05 mM, 0,1 mM, 0,2 mM, 0,3 mM y 0,4 mM a una temperatura

de 95°C y un pH cercano a 12, el cual se establece mediante la adición de solución NaOH 0,5 mM.

Para la síntesis de nanopartículas de platino, se establecieron concentraciones de quitosano y sus copolímeros de injerto similares a las utilizadas en la síntesis de nanopartículas de oro y plata a una temperatura de 95 °C. Se procedió a realizar ensayos de la síntesis de nanopartículas de platino con el uso de soluciones de concentraciones de 3,0 mM y 0,5 mM en ion Pt²⁺, observándose que las más concentradas producían una decoloración de la solución y la precipitación del polímero que simultáneamente adquiría una coloración parda. Para el caso de las soluciones menos concentrada se logró observar una variación en las bandas de absorción, obteniéndo soluciones estables que permanecen en el tiempo. Finalmente, se lograron establecer concentraciones del ion Pt²⁺ de 0,1 mM, 0,3 mM, 0,6 mM, 1,2 mM y 1,5 mM, dejando fijo el pH de la solución cercano a 3,0, este último establecido por la solución polimérica.

II. HIPÓTESIS

Considerando la baja solubilidad del quitosano en agua y solventes de uso común como alcoholes y cetonas, se espera que la incorporación de cadenas laterales de poli(ϵ -caprolactona), poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) o poli(etilenglicol)metil éter permitan aumentar la solubilidad del polímero en agua y otros solventes.

Dada la estructura química de cada uno de los copolímeros de injerto a obtener, se espera que estos pueden cumplir un doble rol: como agentes reductores y estabilizantes en la síntesis de nanopartículas de metales nobles como oro, plata y platino, debido a la presencia en la estructura del polímero de grupos reactivos susceptibles de ser oxidados, dando paso a la reducción de los iones metálicos, para obtener nanopartículas con diferentes distribuciones de tamaños y morfologías. Esto, debido a las interacciones que cada una de estas cadenas pueda presentar con el metal.

III. OBJETIVOS

III.1 OBJETIVO GENERAL

El objetivo general de este trabajo corresponde a sintetizar copolímeros de injerto mediante la incorporación sobre quitosano de cadenas laterales de poli(ϵ -caprolactona), poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) y poli(etilenglicol)metiléter.

III.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Obtener copolímeros de injerto de quitosano con poli(εcaprolactona),
- Obtener copolímeros de injerto de quitosano con poli(*N*-vinil-2pirrolidona).
- Obtener copolímeros de injerto de quitosano con poli(etilenglicol)metiléter.
- Caracterizar los copolímeros de injerto de quitosano-graft-poli(εcaprolactona), quitosano-graft-poli(N-vinil-2-pirrolidona) y quitosano-graft-poli(etilenglicol)metiléter.
- Sintetizar y caracterizar nanopartículas metálicas de oro, plata y platino, usando los copolímeros de injerto quitosano-*graft*-poli(ε-caprolactona), quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) y quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metiléter como reductores y estabilizantes.
- Establecer posibles correlaciones entre las estructuras de los copolímeros y las propiedades de las nanopartículas obtenidas.

IV. PARTE EXPERIMENTAL

IV.1 REACTIVOS

A continuación, se detallan los reactivos y solventes utilizados en el desarrollo experimental de esta tesis:

- *N*-Vinil-2-pirrolidona, suministrado por Sigma-Aldrich.
- ϵ -Caprolactona, con pureza \geq 99 %, suministrado por Sigma-Aldrich.
- Poli(etilenglicol)metiléter, con un peso molecular promedio (Mn) de 2.000 g mol⁻¹, suministrado por Sigma-Aldrich.
- 4-Dimetilaminopiridina, suministrado por Sigma-Aldrich.
- Persulfato de potasio, suministrado por Sigma-Aldrich.
- Quitina, suministrada por la Pontificia Universidad Católica de Chile.
- Yoduro de metilo, Suministrado por Merck.
- Nitrato de plata con pureza del 99 %, suministrado por Merck.
- Tetracloroaurato (III) de potasio (KAuCl₄), con pureza del 98 %, suministrado por Sigma-Aldrich.
- Tetracloroplatinato (II) de potasio (K₂PtCl₄), con pureza del 98 %, suministrado por Sigma-Aldrich.
- Ácido acético, suministrado por Merck.
- Hidróxido de sodio, suministrado por Merck.
- Ácido clorhídrico, suministrado por Merck.
- Acetona, suministrado por Merck.
- Metanol, suministrado por Merck.
- Cloroformo, suministrado por Sigma-Aldrich.
- Éter dietílico, suministrado por Merck.
- Tolueno, suministrado por Sigma-Aldrich.
- Piridina, suministrado por Sigma-Aldrich.
- Agua destilada y agua milli-Q, suministrado por Pontificia Universidad Católica de Chile.

IV.2 INSTRUMENTOS

A continuación, se especifican los instrumentos principales utilizados para el desarrollo de esta investigación:

- Espectrofotómetro de infrarrojo mediano con transformada de Fourier modelo Vector 22, marca Bruker.
- Espectrómetro de resonancia magnética nuclear modelo AVANCE-400, marca Bruker.
- Análisis elemental, modelo EAGER 200, marca CE Instruments.
- Unidad de análisis térmico para termogravimetría modelo TGA/SDTA 851, marca Mettler Toledo.
- Unidad de análisis térmico por calorimetría diferencial de barrido modelo DSC821e, marca Mettler Toledo.
- Espectrofotómetro UV-Vis modelo Cary 60 UV-Vis, marca Agilent Technologies.
- Potencial Z, modelo Zetasizer Nano, marca Malvern.
- Difusor de luz dinámica, modelo Nicomp 370 particle size analyzer, marca Particle Sizing Systems.
- Microscopio de transmisión electrónica, High Resolution Scanning Electron Microscope (HR-SEM), modelo INSPECT-F50, marca FEI provisto de un detector EDS, STEM y vCD

IV.3 METODOLOGÍAS

IV.3.1 Obtención de quitosano

La síntesis de los copolímeros propuestos en este trabajo se basó en quitosano obtenido a partir del proceso de desacetilación de quitina extraída a partir de desechos de langostino en el Laboratorio de Macromoléculas del Departamento de Química-Física de la Pontificia Universidad Católica de Chile.

Para el proceso de obtención de quitosano se realizó una separación de la quitina según su granulometría mediante el uso de tamices moleculares de diversos tamaños (90 µm, 150 µm, 300 µm y 500 µm) para posteriormente someter las muestras obtenidas a un proceso de desacetilación por medio de hidróxido de sodio. Para esto, sobre una cantidad determinada de quitina se adiciona una solución de NaOH al 50 % en una proporción 1:10 entre quitina y la solución básica. La mezcla, se deja en agitación constante por 24 horas a temperatura ambiente, con la finalidad de permitir el hinchamiento de la quitina y la penetración del hidróxido en la estructura polimérica. Posteriormente, la mezcla es calentada bajo reflujo a una temperatura de 120 °C por 4 horas. Transcurrido el tiempo de reacción, el producto es lavado con abundante agua hasta alcanzar la neutralidad, realizando los últimos lavados con etanol y posterior secado a 60 °C. En el Esquema I-5, se puede apreciar la reacción de conversión de quitina en quitosano.

IV.3.2 Síntesis de copolímeros de injerto

Las síntesis de copolímeros de injerto de quitosano comprendieron la inserción sobre éste de cadenas laterales de ε-caprolactona, *N*-vinil-2pirrolidona y el homopolímero poli(etilenglicol)metiléter de 2.000 g/mol. A continuación, se describen cada uno de los procesos en forma detallada.

IV.3.2.1 Síntesis de copolímero de quitosano-graft-poli(ε-caprolactona)

En la literatura, existen diversas metodologías de síntesis de copolímeros de injerto de quitosano-graft-poli(ɛ-caprolactona) (Q-PCL).11,52-^{54,103–106} Para el desarrollo de esta tesis se consideró la metodología informada por Hao Feng y Chang-Ming Dong.⁵³ Este proceso se lleva a cabo en dos etapas, la primera correspondiente a la mezcla del monómero de εcaprolactona con guitosano en agua por 20 horas a 80 °C con agitación constante. La finalidad de esta etapa es lograr el hinchamiento del guitosano y provocar la penetración del monómero de ε -caprolactona. La segunda etapa, contempla la reacción del monómero mediante la adición de dimetilaminopiridina (DMAP) como catalizador, la que permite el crecimiento de poli(ε -caprolactona) en la cadena de guitosano. El uso de este catalizador en lugar del clásico octanoato de estaño utilizado para polimerización de εcaprolactona, busca no adicionar estaño a la mezcla, ya que puede ser difícil de eliminar del producto obtenido y puede alterar los resultados posteriores en la síntesis de las nanopartículas metálicas. Sin embargo, al realizar la síntesis propuesta (Esquema IV-1), no fue necesaria la materialización de la segunda etapa de adición del catalizador, debido a que el producto obtenido tras las 20 horas de la mezcla del monómero con el guitosano resultó ser una masa gelatinosa de color marrón que no era posible mezclar. Se observó, que al adicionar agua sobre este producto se producía su solubilización, mientras que al agregar tolueno como parte del tratamiento de purificación del copolímero (para la solubilización de la ε-caprolactona y su homopolímero), se formó una gelatina compacta la que fue posible extraer y solubilizar nuevamente en agua. Este efecto se observó en todas las síntesis realizadas para el copolímero. Debido a que no fue necesario la adición del catalizador, se puede considerar que la síntesis se llevó a cabo mediante la apertura de anillo por efecto del par electrónico libre de los grupos aminos del quitosano, lo cual, facilitaría la adición y posterior crecimiento de la cadena polimérica de ε-caprolactona.

Por último, la purificación del producto se llevó a cabo mediante la solubilización en agua, filtrado y posterior precipitación en acetona con agitación vigorosa para finalmente filtrar al vacío y secar a 35 °C.





IV.3.2.2 Síntesis de copolímeros de quitosano-*graft*-poli*(N-*vinil-2pirrolidona)

La síntesis del copolímero quitosano-*graft*-(*N*-vinil-2-pirrolidona)^{19,60} (Q-PVP) fue llevada a cabo por medio de la metodología propuesta por M. Yazdani-Pedram y J. Retuert¹⁹, la cual, consta en hacer reaccionar quitosano (Q) con el monómero de *N*-vinil-2-pirrolidona (VP). Esta reacción se realiza en un medio homogéneo, quitosano es disuelto en una solución acuosa de ácido acético al 2 % y mezclada con el monómero de *N*-vinil-2-pirrolidona. Esta mezcla se lleva a 70 °C y se le adiciona persulfato de potasio 0,15 M como catalizador, dejando reaccionar por 150 minutos. Transcurrido este tiempo, la reacción es terminada con la adición de una pequeña porción de hidroquinona. El producto es vertido en acetona con agitación constante, para posteriormente filtrar a vacío y lavar con metanol. Finalmente, el producto obtenido es purificado mediante diálisis con el uso de una membrana con tamaño de corte de 6 kDa siguiendo la conductividad de la fase acuosa. Este tratamiento permite eliminar trazas del catalizador, del monómero y pequeñas cadenas de homopolímero de poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) solubles en agua que se pudieran haber formado. En el Esquema IV-2 se resume la reacción de síntesis del copolímero de quitosano con *N*-vinil-2-pirrolidona.



Esquema IV-2 Síntesis de copolímero quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2pirrolidona).

IV.3.2.3 Síntesis de copolímeros de quitosano-graftpoli(etilenglicol)metil éter

En literatura existen numerosos reportes que abordan la síntesis de copolímero de quitosano con poli(etilenglicol)metil éter.^{20,21,64,107-110} Para el desarrollo de esta tesis se tomaron como referencias los trabajos realizados por N. Gorochovceva v R. Makuška¹⁰⁸, además de Yinggian Hu v colaboradores¹⁰⁷ en los cuales se reportó el injerto del homopolímero de poli(etilenglicol)metil éter (MPEG) de 2000 g/mol en la cadena de guitosano para finalmente obtener el copolímero de quitosano-graftpoli(etilenglicol)metiléter. Para llevar a cabo está síntesis, en una primera instancia se realizó la modificación del MPEG, por medio de la sustitución del hidroxilo terminal yoduro generando grupo por el voduro de poli(etilenglicol)metil éter (MPEGI),¹¹¹ para esto se hizo reaccionar MPEG con trifenilfosfato y voduro de metilo con agitación por 6 horas a 120 °C. La mezcla fue enfriada, disuelta en tolueno, precipitada en éter etílico, filtrada, lavada seguidamente con dietiléter y finalmente secada a vacío obteniendo un sólido amarillo correspondiente al MPEGI. La síntesis del copolímero Q-MPEG se realizó en un medio heterogéneo con el uso de DMF anhidra como agente solvatante a 60 °C por 16 horas. A medida que transcurría la reacción se observó la pérdida del color amarillo característicos del MPEGI, obteniéndose un producto de color blanco. A diferencia de los autores, en esta reacción no se añadió Ag₂O como catalizador, debido a que se quiso evitar la adición de cualquier ion metálico que pudiese afectar una posterior síntesis de nanopartículas. En el Esquema IV-3 se resume la síntesis del copolímero Q-MPEG.



Esquema IV-3 Síntesis de copolímero quitosano-graft-poli(etilenglicol)metil éter.

IV.3.3 Síntesis de nanopartículas metálicas

Una vez obtenidos los polímeros quitosano, quitosano-*graft*-poli(εcaprolactona), quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) y quitosano-*graft*poli(etilenglicol)metil éter se prepararon soluciones de cada uno de ellos a concentraciones de 0,5 mg/mL en ácido acético acuoso al 2 % como solvente.

Las síntesis de las nanopartículas metálicas se realizaron mediante una metodología enmarcada dentro de aquellas conocidas como *bottom-up*, a partir de las respectivas soluciones de las sales metálicas. La finalidad de este proceso fue producir la reducción de los iones metálicos y la posterior estabilización de las nanopartículas generadas con la acción única del polímero, obteniendo finalmente un material metálico nano-particulado en suspensión.

IV.3.3.1 Nanopartículas de oro

La síntesis de nanopartículas de oro se llevó a cabo a partir de soluciones de la sal tetracloroaurato (III) de potasio (KAuCl₄) en agua Milli-Q a concentraciones 0,07 mM, 0,14 mM, 0,28 mM, 0,56 mM y 1,12 mM. En la síntesis, los polímeros actuaron como agente reductor de los iones metálicos (Au³⁺) y estabilizador de las nanopartículas formadas. La relación en volumen para la mezcla de la solución del ion metálico con la polimérica fue 1:2 respectivamente. Las síntesis de NPs-Au fueron realizadas a 95 °C y monitoreadas mediante espectroscopía UV-Vis, utilizando como blanco las soluciones poliméricas correspondientes como blanco de análisis. Para llevar a cabo la síntesis, se mezclaron 1 mL de las soluciones poliméricas con 500 µL de las soluciones de la sal metálica de oro.

IV.3.3.2 Nanopartículas de plata

Las nanopartículas de plata (NPs-Ag) fueron sintetizadas mediante el uso de soluciones de nitrato de plata (AgNO₃) de concentraciones 0,05 mM, 0,1 mM, 0,2 mM, 0,3 mM y 0,4 mM en agua milli-Q y el uso de las soluciones poliméricas como agentes reductores de los iones de plata (Ag⁺) y estabilizantes de las nanopartículas formadas. La mezcla de la solución polimérica y la sal metálica fue posteriormente ajustada a pH 12,5 por adición de solución de NaOH 0,5 M. Las proporciones en volumen de cada solución de ion metálico/polímero/NaOH fue de 1/2/1,5 respectivamente.

Todas las síntesis de NPs-Ag estudiadas en este trabajo fueron realizadas a 95 °C y monitoreadas mediante el uso de espectrofotometría UV-Vis, utilizando las respectivas soluciones poliméricas como blancos de análisis. Para llevar a cabo las síntesis, se mezclaron 600 μ L de las soluciones poliméricas con 300 μ L de las soluciones de la sal metálica de plata y 450 μ L de una solución de NaOH 0,5 M.

IV.3.3.3 Nanopartículas de platino

Las síntesis de nanopartículas metálicas de platino (NPs-Pt) se llevaron a cabo mediante el uso de soluciones de la sal tetracloroplatinato(II) de potasio (K₂PtCl₄) en agua Milli-Q, a concentraciones de 0,1 mM, 0,3 mM, 0,6 mM, 1,0 mM y 1,5 mM. Estas soluciones fueron mezcladas con cada solución polimérica en una proporción de volumen entre el ion metálico y los polímeros de 1:2 respectivamente. Estas síntesis se llevaron a cabo a 95 °C y monitoreadas mediante el uso de espectrofotometría UV-Vis. A diferencia con las síntesis de nanopartículas de oro y plata, en este caso se consideró como blanco en la medición por UV-Vis las respectivas mezclas de solución polimérica con el ion metálico a temperatura ambiente y tiempo cero de reacción. Esto, se debe a la banda de absorción presentada por la solución de platino que interfiere en las lecturas de los espectros UV-Vis para la síntesis de sus nanopartículas. Para llevar a cabo esta experiencia se mezclaron 1 mL de las soluciones poliméricas con 500 µL de las soluciones de la sal metálica de platino.

Cada una de estas mezclas fueron colocadas en frascos de 2 mL que contaban con barras magnéticas para su agitación. Cada frasco fue sellado y colocado en un baño de glicerina a 95 °C y agitación constante. Transcurrido el tiempo de reacción la mezcla fue retirada y puesta en un baño de agua/hielo con la finalidad de enfriar rápidamente el sistema y detener la reacción.

IV.3.4 Caracterizaciones

Las caracterizaciones desarrolladas comprendieron la caracterización molecular de los copolímeros de injerto de quitosano y del quitosano de partida, además de la caracterización de las nanopartículas de oro, plata y platino obtenidas con cada uno de los copolímeros de injerto.

33

A continuación, se describen las caracterizaciones y técnicas utilizadas.

IV.3.4.1 Viscosidad intrínseca

Esta técnica permitió realizar la estimación del peso molecular del quitosano (peso molecular viscosimétrico, M_V) mediante la determinación de la viscosidad intrínseca ([η]) que éste presenta en una solución acuosa de ácido acético al 5 % con una fuerza iónica 0,1 M con KCl a 25 °C. Los pesos moleculares fueron obtenidos mediante el uso de la ecuación de Kuhn-Mark-Houwink-Sakurada (Ecuación IV-1). Para tales casos se utilizaron los valores de $K = 1,38 \times 10^{-4}$ y a = 0,85 reportados en la literatura¹¹²

$$[\eta] = KM_V^a$$
 Ecuación IV-1

donde *K* y *a* son las constantes para un sistema dado polímero/disolvente/temperatura y M_V , es el peso molecular viscosimétrico promedio.

IV.3.4.2 Grado de desacetilación de quitosano (DDA)

El grado de desacetilación de quitosano corresponde a una medida de la cantidad de grupos aminos presentes en su cadena polimérica. Esta medida puede realizarse de diversas formas, entre la que destacan la valoración ácido-base, el análisis elemental y la resonancia magnética nuclear de protones. A continuación, se describe el fundamento para cada una de estas técnicas, las que fueron utilizadas en este trabajo.

IV.3.4.2.1 Valoración ácido-base

Para la determinación del grado de desacetilación del quitosano se realiza la valoración ácido-base de los grupos amino presentes. Para esto, una cantidad conocida de quitosano se solubiliza en HCI 0,1 M. Posteriormente, la

34

solución es titulada con NaOH 0,1 M, determinando la variación de pH con el volumen de NaOH adicionado. Finalmente, a través de los dos puntos de inflexión obtenidos desde la curva de titulación (Figura V-2) se calcula el grado de desacetilación mediante la Ecuación IV-2

$$DDA = \frac{1 - \frac{161 \cdot C_{NaOH} \cdot (V_2 - V_1)}{1000 \cdot m}}{1 + \frac{42 \cdot C_{NaOH} \cdot (V_2 - V_1)}{1000 \cdot m}}$$
 Ecuación IV-2

donde, C_{NaOH} es la concentración de la solución de hidróxido de sodio utilizada (mol/L), V₂ y V₁ corresponden a los valores de volumen adicionado de los puntos de equivalencia (mL), m es la masa (g) de quitosano utilizado, los valores numéricos 161 corresponde a la masa molar del quitosano y 42 a la diferencia existente entre la masa molar de la unidad repetitiva de quitina y la de quitosano.

IV.3.4.2.2 Análisis elemental

Mediante esta técnica se determinan las proporciones de contenido de carbono, hidrógeno y nitrógeno en quitosano. El grado de desacetilación puede ser calculado mediante la Ecuación IV-3¹¹²

~

$$DDA = \frac{6,859974 - \left(\frac{C}{N}\right)}{1,714994}$$
 Ecuación IV-3

donde C/N corresponde a la relación carbón/nitrógeno, 6,859974 es la proporción C/N para quitina y 1,714994 es la diferencia entre las proporciones C/N de quitosano y quitina.

IV.3.4.2.3 Resonancia magnética nuclear de protones

Otra técnica para la determinación del grado de desacetilación del quitosano corresponde a la resonancia magnética nuclear de protones. Según la norma ASTM F2260-03 y empleando las ecuaciones basadas en los

desplazamientos químicos e intensidades de los protones, se pueden obtener el número de unidades glucosídicas desacetiladas (D), el número de unidades glucosídicas acetiladas (A) y el grado de desacetilación (DDA).

$$D = K_1 + \frac{H_{1D} + H_{2D}}{2}$$
 Ecuación IV-4

$$A = \frac{H_{1A} + H_{Ac}/3}{2}$$
 Ecuación IV-5

$$DDA = 100 \times \frac{D}{D+A}$$
 Ecuación IV-6

Donde K_1 es protón 1 de quitosano, H_{1D} es el protón 1 de las unidades de glucosamina, H_{1A} es el protón 1 de la unidad *N*-acetil-D-glucosamina; H_{2D} protón 2 de la unidad D-glucosamina; H_{Ac} son los protones del grupo acetil de la unidad *N*-acetil-D-glucosamina. En la Figura IV-1 se exhibe la representación del espectro de resonancia magnética nuclear de protones con las correspondientes señales asociadas.



Figura IV-1 Imagen de norma ASTM F2260-03 donde se representa el espectro RMN-¹H del quitosano y las correspondientes señales para la determinación de su grado de desacetilación¹¹³.

IV.3.4.3 Caracterización espectroscópica

IV.3.4.3.1 Espectroscopía de infrarrojo

La caracterización química del quitosano y los copolímeros de injerto se llevó a cabo por medio de espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) sobre pastillas de bromuro de potasio (KBr).

IV.3.4.3.2 Espectroscopía de resonancia magnética nuclear de protones

La estructura química de los polímeros y copolímeros se llevó a cabo a través de resonancia magnética nuclear de protones (RMN-¹H), utilizando como solvente una mezcla de agua deuterada (D₂O) y ácido trifluoro

acético deuterado (CF₃COOD) en una proporción 1:2 y como referencia DMSO.

IV.3.4.4 Solubilidad

El estudio de la solubilidad del quitosano y los copolímeros fue realizado ensayando una serie de solventes a una concentración de 2 mg/mL a temperatura ambiente.

IV.3.4.5 Análisis térmicos

IV.3.4.5.1 Termogravimetría

El análisis termogravimétrico se utilizó básicamente para determinar la temperatura de degradación de los distintos polímeros y copolímeros. Los perfiles de descomposición térmica fueron obtenidos usando un programa de calentamiento desde 25 °C hasta los 700 °C a una velocidad de 20 °C/min, en atmósfera de nitrógeno (N₂).

IV.3.4.5.2 Calorimetría diferencial de barrido

Esta técnica fue utilizada para la determinación de la temperatura de transición vítrea (Tg) del quitosano y los copolímeros sintetizados.

Las muestras fueron dispuestas en crisoles de aluminio de 40 µL y expuestas a un programa de calentamiento y enfriamiento que consistió en dos barridos de temperaturas desde los -50 a los 200 °C en ambiente de nitrógeno gaseoso (N₂). Los datos analizados correspondieron al segundo barrido de calentamiento con la finalidad de eliminar la historia térmica de las muestras.

IV.3.4.6 Espectroscopía UV-Visible

El análisis UV-Vis se realizó para detectar la absorbancia de las nanopartículas sintetizadas y las bandas correspondientes al plasmón de resonancia superficial. Para ello se realizaron mediciones abarcando longitudes de onda desde los 200 nm a los 800 nm.

IV.3.4.7 Difusión de luz dinámica

Las medidas de tamaño de partícula promedio se llevaron a cabo usando una celda de vidrio a la cual se le adicionó 1 mL de muestras en todos los casos. Se utilizó un equipo Nicomp 370 particle size analyzer, marca Particle Sizing Systems.

IV.3.4.8 Potencial Z

La determinación del potencial Z, se realizó a las muestras finales obtenidas en síntesis de nanopartículas con cada solución polimérica y a distinta concentración de las sales metálicas utilizadas. Las medidas fueron realizadas sobre una celda de medición de potencial Z en la que se utilizó 1 mL de cada muestra. Se utilizó un equipo Zetasizer Nano, marca Malvern.

IV.3.4.9 Microscopía de transmisión electrónica

Las mediciones de Microscopía Electrónica de Transmisión (TEM) se realizaron tomando 10 µL de cada una de las muestras y depositándolas sobre grillas de cobre cubierta con un film de carbono. El equipo utilizado fue un Microscopio de transmisión electrónica, High Resolution Scanning Electron Microscope (HR-SEM), modelo INSPECT-F50, marca FEI provisto de un detector EDS, STEM y vCD

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V.1 OBTENCIÓN DE QUITOSANO

El quitosano utilizado en esta tesis fue sintetizado mediante saponificación de quitina, la que fue obtenida desde caparazones y harina de crustáceos de origen nacional. Este proceso contempló etapas de tamizado, que permitieron separar por granulometría las partículas de quitina que posteriormente fueron sometidas al proceso de desacetilación y obtención de quitosano. En la Figura V-1 se muestra un esquema de separación de quitina para su posterior uso en la obtención de quitosano.





El proceso de obtención de quitosano dio como resultado productos con rendimientos entre el 70-75 %, correspondiente a la masa de quitosano recuperado en base a quitina utilizada.

V.2 DETERMINACIÓN PESO MOLECULAR DE QUITOSANO

Una de las metodologías ampliamente utilizada para obtener el peso molecular de quitosano, se basa en la determinación de las viscosidades intrínseca $[\eta]_a$ y $[\eta]_b$ mediante las ecuaciones de Huggins y de Kraemer respectivamente. Posteriormente, se estima el peso molecular M_V^a y M_V^b para cada muestra a partir de la ecuación de Kuhn-Mark-Houwink-Sakurada

utilizando las viscosidades intrínsecas determinadas. En la Tabla V-1 se presentan los resultados de viscosidades intrínsecas y pesos moleculares obtenidos para las distintas muestras de quitosano.

| Tabla V-1 | Viscosidad intrinseca y pesos | s moleculares | para los | distintos |
|-----------|-------------------------------|---------------|----------|-----------|
| | tipos de quitosano. | | | |

| Muestra | [η]₄ mL/g | M _V g/mol | [η]₀ mL/g | М _V g/mol |
|---------------------|--------------|-------------------------|--------------|-------------------------|
| Q01 | 0,07 | 1.440 | 0,07 | 1.480 |
| Q02 | 0,79 | 26.400 | 0,83 | 28.000 |
| Q03 | 1,14 | 41.000 | 1,17 | 42.000 |
| Q04 | ND | ND | ND | ND |
| Q05 | ND | ND | ND | ND |
| Q06 | 2,29 | 92.000 | 2,26 | 91.000 |
| Q07 | ND | ND | ND | ND |
| Q08 | ND | ND | ND | ND |
| Q09 (Quitoquímica) | 4,50 | 204.000 | 4,50 | 204.000 |
| Q10 (Sigma-Aldrich) | 6,79 | 331.000 | 6,43 | 312.000 |

En la Tabla V-1 se incluyen las muestras de quitosano producidos en el laboratorio (Q01 - Q08) mediante el proceso de desacetilación de la quitina y los disponibles en el comercio, Q09 y Q10 de Quitoquímica y Sigma-Aldrich respectivamente. A partir de los resultados, se observa que las muestras comerciales presentan un mayor tamaño molecular respecto a las obtenidas en el laboratorio. Esta diferencia, puede atribuirse a múltiples factores, entre los que se encuentran: la procedencia de la materia prima, tipo de crustáceo y proceso utilizado para la obtención de la quitina, pureza, tamaño de partículas sometidas al proceso desacetilación, distribución granulométrica de dichas partículas, concentración de reactivos, temperaturas y tiempos del proceso de desacetilación, entre otras.

Analizando las muestras obtenidas en el laboratorio, se aprecia que Q01 presenta un menor tamaño molecular. Esto, puede estar asociado al tamaño de partículas de quitina utilizadas en el proceso de desacetilación las que para este caso se encuentran entre los 90 µm y 150 µm. Estas partículas al ser de menor tamaño, pueden implicar una mayor degradación de la materia

prima o que la quitina haya sufrido un proceso de hidrólisis ácida de los enlaces glucosídicos en la etapa de desmineralización con HCl.¹¹⁴ Por otro lado, al tratarse de partículas más pequeñas con una mayor área superficial y un menor impedimento estérico frente a los grupos reactivos, el proceso de desacetilación puede tener asociada una depolimerización debido a la acción de la base.^{115,116}

Las muestras Q01, Q02, Q03-Q05 y Q06-Q08 corresponden a las partículas de quitina obtenidas en tamices entre 90 µm-150 µm, 150 µm-300 µm, 300 µm-500 µm y mayor a 500 µm respectivamente. Las variaciones de los pesos moleculares obtenidos podrían estar relacionadas con las distribuciones de las partículas de quitina, que al ser sometidas al proceso de desacetilación podrían presentar una depolimerización, siendo afectadas en mayor medida aquellas partículas de menor tamaño, las cuales presentarían una mayor área superficial de contacto entre la quitina y los hidróxidos. Se observó para el proceso de desacetilación desarrollado en esta tesis que, a menor tamaño granulométrico de las partículas de quitina, el quitosano obtenido presentaba un menor peso molecular.

V.3 GRADO DE DESACETILACIÓN DE QUITOSANO

Las metodologías utilizadas para la determinación del grado de desacetilación de quitosano consistieron en valoración ácido-base, análisis elemental y resonancia magnética nuclear de protones. Los resultados de cada uno de estos análisis son expuestos a continuación.

V.3.1 Valoración ácido-base

Una de las características principales del quitosano es su capacidad de ser disuelto en soluciones acuosas ácidas. Esto, debido a la presencia de grupos amino, que al protonarse le confieren al quitosano la capacidad de ser disuelto en medios acuosos. En condiciones normales, el quitosano es insoluble en un amplio espectro de solventes.

Así, en medio ácido la determinación de la cantidad de grupos aminos que contiene una muestra de quitosano puede obtenerse mediante una valoración ácido-base. La variación del pH de una solución ácida con quitosano disuelto presenta dos etapas de incremento de pH cuando es valorada con NaOH, como se muestra en la Figura V-2.

En la Figura V-2 a), se observan 2 puntos que dividen en 3 tramos la curva de valoración. El primer tramo, se considera desde el inicio de la valoración hasta el primer punto de inflexión. Este, corresponde a los protones (H⁺) del ácido que se encuentran libres en la solución. El segundo tramo, que se genera entre el primer y segundo punto de inflexión, corresponde a la neutralización del protón presente en el grupo amino (NH₃⁺). En este, se produce la precipitación del quitosano debido a la neutralización de dichos grupos. El último tramo, que va desde el segundo punto de inflexión al final de la valoración, corresponde al exceso de hidróxido agregado, quedando disuelto en la mezcla. En esta última condición, la totalidad del quitosano se encuentra precipitado debido a su neutralización.





Por lo tanto, el grado de desacetilación del quitosano es calculado, a través de los dos puntos de inflexión obtenidos desde la curva de valoración mediante la Ecuación IV-2. Los puntos de inflexión pueden ser estimados del máximo valor generado de la primera derivada de la curva de valoración o cuando el valor de la segunda derivada se hace cero, como se muestra en la Figura V-2 a y b.

Los valores de grado de desacetilación así obtenidos para las distintas muestras de quitosano son presentados en la Tabla V-2.

| Muestra | Grado de desacetilación % | | |
|---------------------|------------------------------|--|--|
| Q01 | 73,7 | | |
| Q02 | 89,9 | | |
| Q03 | ND | | |
| Q04 | 85,2 | | |
| Q05 | ND | | |
| Q06 | 84,3 | | |
| Q07 | ND | | |
| Q08 | 84,7 | | |
| Q09 (Quitoquímica) | 79,3 | | |
| Q10 (Sigma-Aldrich) | 75,3 | | |

Tabla V-2Valores de grado de desacetilación de quitosano estimados
mediante valoración ácido-base.

V.3.2 Análisis elemental

Otra metodología para la determinación del grado de desacetilación del quitosano es mediante el uso de análisis elemental. Esta técnica, permite establecer la relación del contenido de carbono y nitrógeno existente entre las unidades monoméricas del quitosano (D-glucosamina) y la de la quitina *(N-* acetil-D-glucosamina) y determinar el grado de desacetilación mediante el uso de la Ecuación IV-3. Los resultados obtenidos a través de este método se resumen en la Tabla V-3.

| Muestra | Grado de desacetilación | | |
|---------------------|-------------------------|--|--|
| Intestra | % | | |
| Q01 | ND | | |
| Q02 | 100,0 | | |
| Q03 | 77,4 | | |
| Q04 | 97,6 | | |
| Q05 | 100,0 | | |
| Q06 | ND | | |
| Q07 | 82,0 | | |
| Q08 | 78,8 | | |
| Q09 (Quitoquímica) | 75,0 | | |
| Q10 (Sigma-Aldrich) | 63,0 | | |

Tabla V-3Valores de grado de desacetilación de quitosano estimados
mediante análisis elemental.

V.3.3 Resonancia magnética nuclear de protones

También se determinó el grado de desacetilación de quitosano mediante la Resonancia Magnética Nuclear de Protones (RMN-¹H) con el uso de la Ecuación IV-4 a la Ecuación IV-6. Los resultados obtenidos son presentados en la Tabla V-4.

Tabla V-4Valores de grado de desacetilación de quitosano estimados
mediante análisis de RMN-1H.

| Muestra | Grado de desacetilación % | |
|---------------------|------------------------------|--|
| Q01 | 97,2 | |
| Q02 | 96,9 | |
| Q03 | 90,8 | |
| Q04 | 98,7 | |
| Q05 | 98,4 | |
| Q06 | 90,9 | |
| Q07 | 79,8 | |
| Q08 | 91,8 | |
| Q09 (Quitoquímica) | 91,8 | |
| Q10 (Sigma-Aldrich) | 77,3 | |

V.3.4 Análisis grado de desacetilación de quitosano

En la Tabla V-5, se presenta un resumen de los grados de desacetilación del guitosano obtenidos con las distintas metodologías utilizadas.

| Tabla V-5 | Resumen de valores de grado de desacetilación de quitosano |
|-----------|--|
| | determinados por las distintas metodologías. |

| | Porcentaje de desacetilación | | |
|----------|-------------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Muestra | Valoración ácido-base % | Análisis elemental % | RMN- ¹ H % |
| Q01 | 73,7 | ND | 97,2 |
| Q02 | 90,1 | 100,0 | 96,9 |
| Q03 | ND | 77,4 | 90,8 |
| Q04 | 85,0 | 97,6 | 98,7 |
| Q05 | ND | 100,0 | 98,4 |
| Q06 | 84,4 | ND | 90,9 |
| Q07 | ND | 82,0 | 79,8 |
| Q08 | 84,9 | 78,8 | 91,8 |
| Q09 (*) | ND | 75,0 | 91,8 |
| Q10 (**) | 75,3 | 63,0 | 77,3 |

(*) Muestra comercial quitoquimica; (**) muestra comercial Sigma-Aldrich; ND: No determinado.

De las distintas técnicas utilizadas en la determinación del grado de desacetilación de guitosano, se observa, que para una misma muestra existen diferencias en los valores obtenidos, lo cual, puede estar relacionado con las limitaciones inherentes de cada técnica.

De los resultados resumidos en la Tabla V-5, se aprecia que las muestras de quitosano comercial son las que presentan los valores de desacetilación más bajos, lo que, indica la presencia de una cadena polimérica de menor cantidad de unidades monoméricas de D-glucosamina.

La relación de los pesos moleculares del quitosano, (Tabla V-1) en conjunto con su grado de desacetilación, permite establecer, que existe una
tendencia en que a mayor masa molecular se obtiene un menor grado de desacetilación. Esto, puede explicarse considerando que el proceso de desacetilación puede ser favorecido a tamaños moleculares de quitina más pequeños debido a menores impedimentos estéricos de los grupos funcionales frente a la acción de los reactivos, como también a la vez a una simultánea depolimerización.

En base a los resultados obtenidos, para los diversos ensayos realizados en la obtención de quitosano, el desarrollo de la siguiente etapa de esta tesis se basó en el uso de quitosano Q02. Su selección consideró su bajo peso molecular, que permitiría una mejor inserción de la macromolécula de MPEG y los monómeros de ϵ -CL y VP con su posterior crecimiento. Esto, debido a un menor impedimento estérico, con una mayor área superficial y exposición de los grupos reactivos a diferencia de lo que se puede lograr a mayores pesos moleculares.

V.4 SÍNTESIS DE COPOLÍMEROS DE INJERTO

La determinación de los porcentajes de inserción de las cadenas laterales de PCL, PVP y MPEG fue realizada mediante la siguiente ecuación

$$\%G = \frac{M_g - M_i}{M_i} \times 100$$

Donde %G, M_i y M_g corresponden al porcentaje de inserción de cadena lateral, la masa inicial de quitosano y el producto de copolimerización respectivamente. Este último valor fue obtenido posterior a su proceso de purificación y secado. Los resultados de porcentajes de inserción para las distintas síntesis son presentados en la Tabla V-6.

| Tabla V-6 | Porcentajes de inserción de cadena lateral en la obtención de |
|-----------|---|
| | los distintos tipos de copolímeros de injerto. |

| Copolímero | Inserción % |
|------------|----------------|
| Q-g-PCL | 25 |
| Q-g-PVP | 630 |
| Q-g-MPEG | 12 |

De los resultados, se aprecia claramente que la copolimerización tubo diversos grados de inserción de cadenas laterales, según el siguiente orden decreciente de injerto PCL>PVP>MPEG,

La diferencia presentada para los grados de inserción entre los distintos tipos de copolímeros, podrían estar relacionados con la reactividad de los monómeros utilizados y el tamaño de la molécula a injertar.

Para el caso de la inserción de cadenas laterales de MPEG, se aprecia que su bajo grado de adición puede asociarse al tamaño de esta molécula, que al tratarse de una macromolécula con un sólo extremo reactivo capaz de unirse a la cadena de quitosano, presenta un mayor impedimento estérico y disminución de la probabilidad de encuentro entre su extremo reactivo y el o los grupos reactivos del quitosano, lo que otorgaría una baja inserción de MPEG en quitosano.

Para el caso de los monómeros de ε -CL y VP, su menor tamaño permite una mayor movilidad de estas moléculas, aumentando la probabilidad de encuentro entre los grupos reactivos del quitosano y los monómeros, para la adición de estos en la cadena de quitosano y su posterior crecimiento. La diferencia en el grado de inserción para estos monómeros puede estar asociado a la reactividad de cada uno de ello, sus mecanismos de polimerización y la presencia de reacciones paralelas. La inserción de la cadena polimérica de PCL conlleva a una adición de un primer monómero a la cadena de quitosano, que mediante un par electrónico disponible en los grupos amino e hidroxilos, permitirían la apertura del anillo de ε -CL que posteriormente, formaría otro par electrónico disponible para su posterior reacción con una nueva molécula de monómero, lo que conlleva a su crecimiento. A diferencia de esta, la adición de PVP a la cadena de quitosano se lleva a cabo mediante reacciones radicalarias las cuales conllevan reacciones paralelas de polimerización de homopolímeros de PVP, los cuales disminuirían el grado de inserción de cadenas de PVP al quitosano.

En resumen, debido a un menor impedimento estérico y una reacción más específica, la inserción de PCL a la cadena de quitosano resulto con un mayor porcentaje de inserción.

V.5 CARACTERIZACIÓN ESPECTROSCÓPICA

V.5.1 Espectroscopía de infrarrojo

Mediante la técnica espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR), se realizó una primera aproximación para estudiar los cambios estructurales sufridos por la quitina y su conversión en quitosano. Los espectros FTIR de los productos obtenidos en el laboratorio y los comerciales se muestran en Figura V-3.



Figura V-3 Espectros FTIR para muestras de quitina y quitosano comercial y las obtenidas en el laboratorio.

Una de las observaciones características de la transformación de quitina a quitosano por FTIR es la disminución de la banda cercana a 1.600 cm^{-1} correspondiente al estiramiento de los enlaces C=O de los grupos acetilo presentes en la unidad *N*-acetil-D-glucosamina de la quitina. Por otro lado, existe una disminución en la intensidad de los picos correspondientes a los carbonos sp³ y sp² que estarían relacionados con el mismo grupo acetilo.

Para el caso de los copolímeros de injerto obtenidos, los espectros FTIR son presentados en la Figura V-4. A partir de estos espectros, se pueden establecer claras diferencias en las bandas de cada copolímero. Para el caso de la inserción de cadenas laterales de poli(ε -caprolactona) se aprecia un gran aumento en la intensidad de las bandas correspondientes al estiramiento C-H de los carbonos sp² y sp³ (2.860 – 2.940 cm⁻¹). Además, se observa una banda en 1.720 cm⁻¹ que puede estar relacionada con el grupo carbonilo de la poli(ε -

caprolactona). Por otro lado, en la inserción de poli*(N*-vinil-2-pirrolidona), en comparación con quitosano, se aprecian nuevas bandas en 1.665 cm⁻¹, correspondiente a los grupos carbonilos, junto a las señales 2.900 cm⁻¹ de los carbonos sp³ atribuibles a poli*(N*-vinil-2-pirrolidona). Para el caso de la inserción de poli(etilenglicol)metiléter no se logra apreciar mayores cambios en las señales, esto puede deberse a un bajo grado de inserción en la cadena de quitosano.



Figura V-4 Espectroscopía FTIR para quitosano y los copolímeros de injerto obtenidos.

V.5.2 Resonancia magnética nuclear de protones

Los espectros obtenidos por análisis de resonancia magnética nuclear de protones para quitosano y sus copolímeros son presentados en la Figura V-5, donde se muestra la asignación de señales para quitosano y los copolímeros sintetizados. De los análisis de RMN-¹H, se pueden observar claramente, las diferencias presentadas entre los copolímeros, permitiendo confirmar las estructuras propuestas.





Figura V-5 Espectros de RMN-¹H para quitosano y los correspondientes copolímeros de injerto.

De la Figura V-5 se pueden obtener los desplazamientos de la mayoría de los átomos de hidrógeno presentes en el quitosano y sus copolímeros de injerto. A continuación, se enuncian las relaciones de dichos desplazamientos. Quitosano presenta los desplazamientos 4,7 ppm (1); 3,8 ppm (3) y (6); 3,6 ppm (4) y (5); 3,1 ppm (2); 1,9 ppm (7). En el caso del análisis para el copolímero de injerto Q-*g*-PCL se presenta los desplazamientos 4,7 ppm (1); 4,2 (e); 3,9 ppm (3) y (6); 3,5 ppm (4) y (5); 3,0 ppm (2); 2,2 ppm (a); 1,9 ppm (7); 1,3 ppm (b) y (d) 1,2 (c). Para el copolímero de injerto Q-*g*-PVP se tiene los desplazamientos 4,7 ppm (1); 3,8 ppm (3) y (6); 3,5 ppm (4) y (5); 3,3 ppm (g); 3,1 ppm (2); 2,4 ppm (h) y (j) 2,1 ppm (i); 2,0 ppm (f). Para el copolímero Q-*g*-MPEG se presentan los desplazamientos a 4,8 ppm (1); 3,8 ppm (3) y (6); 3,6 ppm (4) y (5); 3,5 ppm (9) y (q); 3,0 ppm (2); 1,9 ppm (7).

V.6 SOLUBILIDAD

Las pruebas de solubilidad a las que fueron sometidas quitosano y los copolímeros de injerto se realizaron con 2,0 mg de muestra en 1 mL de disolvente a temperatura ambiente. En la Tabla V-7, se presentan los resultados de los ensayos para quitosano y sus copolímeros.

Tabla V-7Solubilidades para quitosano y los productos de las diversas
síntesis.

| | Agua | Ácido clorhídrico (0.1 M) | DMF | DMSO | Piridina | Metanol | Cloroformo |
|--|-------|---------------------------------|-------|-------|----------|---------|------------|
| Parámetro de solubilidad (cal/cm ³) ^{0,5} | 22,90 | 7,01 | 11,71 | 13,08 | 10,55 | 12,64 | 9,24 |
| Quitosano | I | S | I | I | I | I | I |
| Q-PVP | S | S | I | I | I | I | I |
| Q-PCL | S | S | I | I | I | I | I |
| Q-MPEG | S | S | I | I | I | I | I |
| MPEGI | I | S | S | S | S | S | S |

S: soluble, I: insoluble.

De la Tabla V-7 se observa la solubilidad de los copolímeros de injerto en agua, lo que permitiría trabajar con estos compuestos en soluciones acuosas o levemente ácidas. Este resultado permite ampliar las alternativas de trabajo y las posibles aplicaciones de estos tipos de compuestos.

V.7 ANÁLISIS TÉRMICO

V.7.1 Análisis termogravimétrico

Los perfiles de degradación térmica tanto para quitina como para quitosano comercial y los preparados en el laboratorio son presentados en la Figura V-6. En estos perfiles se observa que la temperatura de degradación de quitosano comercial y obtenido en el laboratorio no presentan grandes variaciones en su degradación, a diferencia de quitina. En general, la quitina presenta mayor estabilidad térmica que el quitosano.



Figura V-6 Perfiles de descomposición térmica para la quitina y el quitosano comercial, además de la quitina y quitosano obtenidos en el laboratorio.

En los perfiles de degradación de la Figura V-6, se observa que la quitina obtenida en el laboratorio, respecto a la comercial, presenta una mayor estabilidad térmica con una diferencia cercana a los 78 °C considerando su temperatura de inicio de composición, mientras que la temperatura de pérdida del 50% de la masa presenta una diferencia cercana a 43 °C. Estas diferencias pueden estar relacionadas a la procedencia de la quitina, las diferentes metodologías de purificación, grado de desacetilación, ordenamiento de las moléculas y los tamaños de las partículas de quitina, entre otras.

Para el caso del quitosano, se observa que los perfiles de degradación entre la muestra comercial y el obtenido en el laboratorio presentan diferencias mínimas en cuanto a estabilidad térmica, siendo levemente superior para quitosano obtenido en este trabajo de tesis.

Los perfiles de degradación térmica de quitosano y sus copolímeros de injerto son presentados en la Figura V-7 (a). En estos casos se detectan cambios en los perfiles de degradación de los copolímeros en comparación a quitosano. Para el caso de los copolímeros se observan la presencia de dos etapas de degradación, las que pueden estar relacionadas con la estructura principal de quitosano y la cadena polimérica injertada, en el caso de cada copolímero.

En la Figura V-7 (b) se muestran los perfiles de degradación de los homopolímeros PCL, PVP y MPEG como referencia. Se observan perfiles de degradaciones similares para cada uno de estos homopolímeros, evidenciando leves diferencias en la estabilidad térmica existente entre ellas. Cabe señalar que la estabilidad térmica de cada uno de estos homopolímeros resultó ser mayor a quitosano además de ser superiores a las correspondiente a quitosano.



Figura V-7 Perfiles de degradación térmica para a) quitosano y sus copolímeros de injerto y b) homopolímeros de PCL, PVP y MPEG.

En la Tabla V-8 se resumen los valores para las temperaturas de inicio de descomposición (T_{ID}), la temperatura de pérdida del 50 % de la masa (T₅₀), la temperatura de máxima velocidad de degradación (T_{Max}), compuestos volátiles presentes y la cantidad de materia residual obtenida para cada muestra obtenidas del análisis de los perfiles de degradación. Esta última, correspondería a la presencia de material carbonizado y material inorgánico presente.

Tabla V-8Temperaturasdedegradacióndequitosano,loshomopolímerosyloscorrespondientescopolímerossintetizados.

| | Tı⊡ °C | T₅₀ °C | T _{Max} °C | Solventes % | Residuos % |
|---------------------|-----------|-----------|------------------------|----------------|---------------|
| Quitina Fluka | 248,42 | 361,40 | 361,40 | 1,66 | 29,92 |
| Quitina Laboratorio | 326,82 | 404,93 | 408,24 | 5,22 | 22,00 |
| Quitosano Aldrich | 284,22 | 363,36 | 316,98 | 10,12 | 35,83 |
| Q | 287,96 | 411,30 | 320,73 | 0,00 | 39,81 |
| Q-PCL | 212,87 | 341,06 | - 257,88 424,81 | 6,88 | 5,37 |
| PCL | 377,06 | 423,55 | 423,55 | 0,24 | 0,00 |
| Q-PVP | 229,26 | 428,03 | 263,58 - 450,00 | 14,26 | 25,97 |
| PVP | 290,64 | 423,41 | 429,67 | 13,33 | 3,06 |
| Q-MPEG | 256,85 | 375,43 | 314,87 | 4,06 | 37,00 |
| MPEG 2k | 364,92 | 414,01 | 413,04 | 0,02 | 1,82 |

Del análisis de resultados, se observa para la quitina comercial y la obtenida en el laboratorio, diferencias que señalan una mayor estabilidad térmica para esta última, por lo que ésta fue utilizada en la obtención de quitosano. Para el caso de quitosano comercial y obtenido desde quitina, los valores de inicio de degradación son muy cercanos. Para el caso del copolímero de quitosano-*graft*-poli(ɛ-caprolactona), éste presenta dos etapas de degradación las que corresponden a las cadenas de quitosano y el injerto

de poli(ε -caprolactona), obteniéndose además una menor T_{ID} que quitosano y el homopolímero PCL. El copolímero de quitosano-*graft*-poli*(N*-vinil-2pirrolidona) al igual que para el copolímero anterior, presenta dos etapas de degradación. Se observa una disminución de la temperatura de inicio de descomposición respecto a sus homopolímeros. Por último, para el caso del copolímero quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter, éste presenta una única etapa de degradación con una menor T_{ID} y T_{Max} que su homopolímero.

V.7.2 Calorimetría diferencial de barrido

Los resultados obtenidos por calorimetría diferencial de barrido para quitosano y los copolímeros de injerto se pueden observar en los termogramas mostrados en la Figura V-8.





En la Tabla V-9 se presentan las temperaturas de transición vítrea (Tg) para quitosano y sus copolímeros, obtenidos a partir de los termogramas de la Figura V-8.

| Tabla V-9 | Temperaturas | de | transición | vítrea | para | los | distinto |
|-----------|----------------|-------|---------------|--------|------|-----|----------|
| | copolimeros de | injer | to de quitosa | ano. | | | |

| Muestra | Tg, °C |
|-----------|--------|
| Quitosano | 75,30 |
| Q-PCL | 75,97 |
| Q-PVP | 76,37 |
| Q-MPEG | 72,64 |
| PCL | -60,00 |
| PVP | 62,00 |
| MPEG 2k | -22,00 |

Los resultados de la temperatura de transición vítrea expuestos indican que los copolímeros de injerto presentan esta transición a valores de temperatura cercanos a los de quitosano sin modificar, por lo que mayoritariamente el reordenamiento de los copolímeros está influenciado por la cadena de quitosano.

V.8 SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS USANDO QUITOSANO Y SUS COPOLÍMEROS DE INJERTO COMO AGENTES REDUCTORES Y ESTABILIZANTES

Una interesante aplicación que se exploró para quitosano y sus copolímeros de injerto obtenidos en este trabajo, fue su uso en la síntesis de nanopartículas metálicas. Esta aplicación se basa en la existencia de estudios que reportan la utilización de los homopolímeros poli(ε-caprolactona), poli(*N*-vinil-2-pirrolidona)¹⁵, poli(etilenglicol)metiléter⁹⁴ y quitosano⁶⁵ en la síntesis y estabilización de nanopartículas metálicas.

La síntesis de nanopartículas metálicas se realizó a partir de soluciones poliméricas de quitosano y los copolímeros de injerto y de sales de oro (KAuCl₄), plata (AgNO₃) y platino (K₂PtCl₄). En dichas síntesis, se buscó

que el polímero actuara como agente reductor de los iones metálicos y como agente estabilizante de las nanopartículas formadas.

En general, la formación de las nanopartículas fue monitoreada mediante espectroscopía UV-Vis. La determinación de tamaños promedios de las nanopartículas obtenidas se realizó mediante difusión de luz dinámica (DLS), mientras que la estabilidad fue establecida con mediciones de Potencial Z. Finalmente, la forma y tamaño de las nanopartículas metálicas fueron determinadas mediante microscopía de transmisión electrónica (TEM).

V.8.1 Síntesis de nanopartículas de oro usando quitosano y los copolímeros de injerto obtenidos

Para la síntesis de nanopartículas de oro (NPs-Au) se utilizarón 5 soluciones de concentraciones de iones de oro (Au³⁺) variables obtenidas mediante la solubilización de la sal de tetracloroaurato de potasio (KAuCl₄) en agua Milli-Q. Las concentraciones fueron 0,07 mM, 0,14 mM, 0,28 mM, 0,56 mM y 1,12 mM del ion metálico con respecto a Au³⁺.

El quitosano y los copolímeros quitosano-*graft*-poli(ε-caprolactona), quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) y quitosano-*graft*poli(etilenglicol)metiléter, fueron utilizados en solución de ácido acético al 2% a una concentración de 0,5 g/L. Las síntesis fueron llevadas a cabo a 95 °C.

V.8.1.1 Caracterización por espectroscopía UV-Vis de NPs-Au

A continuación, se presentan los resultados de la caracterización mediante espectroscopia UV-Vis de las NPs-Au con el uso de cada polímero como agente reductor y estabilizante.

Como es conocido, las nanopartículas de oro en agua, presentan una tonalidad rojiza que dependen de las características de las nanopartículas formada, dicha tonalidad es debida al plasmón de resonancia que se presenta en valores de longitud de onda cercanos a los 510-580 nm.^{88–90,117,118}

V.8.1.1.1 Síntesis de NPs-Au con quitosano

La síntesis de nanopartículas de oro con el uso de quitosano como agente reductor de los iones metálicos y estabilizante de las nanopartículas formadas, dio como resultado las soluciones mostradas en la Figura V-9, en la que se aprecia la tonalidad característica para este tipo de nanopartículas.



Figura V-9 Soluciones producto de la síntesis de NPs-Au con el uso de quitosano como agente reductor y estabilizante a distinta concentración de Au³⁺.

Los resultados del monitoreo por UV-Vis de la síntesis NPs-Au usando quitosano en un medio de reacción a 95 °C, son presentados en la Figura V-10. Para estudiar las absorbancias correspondientes a las nanopartículas, se utilizó como blanco la solución de quitosano. En la Figura V-10, se puede apreciar una única banda de absorción, bien definida y un máximo entre los 520 y 550 nm para las distintas concentraciones del ion Au³⁺. Estas bandas indican la formación de nanopartículas metálicas de oro, y se deben al fenómeno de plasmón de resonancia superficial característico. En general, se puede observar que a medida que aumenta la concentración del ion Au³⁺, existe un incremento en la absorbancia mencionada, lo cual, está vinculado a la generación de una mayor cantidad de nanopartículas. Para el caso puntual observado en la Figura V-10 e) adicionalmente, se aprecia la aparición de un hombro, el que puede estar relacionado con la formación de agregados de nanopartículas.





Adicionalmente, en la Figura V-10 f), se presentan las máximas absorbancias alcanzadas en función del tiempo de reacción, para las distintas concentraciones de Au³⁺ a 95 °C. Esto, permite establecer claramente, que la mayor cantidad de nanopartículas y menor tiempo de generación se produce a una concentración de Au³⁺ de 1,12 mM, con un tiempo de reacción cercano a los 45 min. Por otro lado, se puede apreciar que al disminuir la concentración del ion Au³⁺, la zona en la que la absorbancia alcanza un valor relativamente constante se ve desplaza a mayores tiempos de reacción. Este efecto se debería a la menor concentración de iones metálicos en solución, lo que

conlleva a la menor cantidad de formación de núcleos, afectando la etapa de crecimiento.

Un aspecto interesante de evaluar es el cambio en la longitud de onda de absorción máxima que experimentan las mezclas de reacción en el tiempo (Figura V-11).

Se observa que la longitud de onda del máximo de absorción permanece relativamente constante, lo que indicaría que el tamaño o forma de las nanopartículas no experimenta grandes cambios.



Figura V-11 Resultados de las síntesis de NPs-Au con quitosano variación de la longitud de onda para los máximos de absorción a distintos tiempos de reacción.

V.8.1.1.2 Síntesis de NPs-Au con quitosano-*g*-poli(ε-caprolactona)

La síntesis de nanopartículas de oro con el uso del copolímero de quitosano-*g*-(ɛ-caprolactona) como reductor de los iones metálicos y estabilizante de las nanopartículas formadas, dio como resultado soluciones

como las mostradas en la Figura V-12, con una coloración característica para las NPs-Au para las distintas concentraciones del ion Au³⁺.



Figura V-12 Soluciones producto de la síntesis de NPs-Au con el uso del copolímero quitosano-*g*-poli(ε-caprolactona) como agente reductor y estabilizante para distintas concentraciones de Au³⁺.

A diferencia de la síntesis de NPs-Au con quitosano, las obtenidas con el copolímero Q-PCL son más rojizas e intensas, siendo incluso apreciables en las soluciones más diluidas. El seguimiento de la síntesis de estas nanopartículas por espectroscopía UV-Vis es presentado en la Figura V-13. Al igual que para el caso de la síntesis de NPs-Au con quitosano, se aprecia que a medida que transcurre la reacción, se intensifica una banda de absorción con un máximo entre los 520 y 540 nm, con la diferencia de que se obtienen bandas más definidas, de menor amplitud y mayores absorbancias en menores tiempos de reacción.

En este caso, la solución más concentrada correspondiente a 1,12 mM de Au³⁺, mantiene la tendencia de formar la mayor cantidad de nanopartículas, aun cuando para el copolímero Q-PCL la intensidad es superior a la obtenida con el quitosano.





Para el caso los máximos de absorbancia, éstas se mantienen con una mayor estabilidad (menor variación) con respecto a la observadas anteriormente con el quitosano, lo cual, *a priori* permite indicar que no hay una gran variación en el tamaño de las nanopartículas formadas (Figura V-14).





V.8.1.1.3 Síntesis de NPs-Au con quitosano-g-poli(N-vinil-2-pirrolidona)

La síntesis de nanopartículas de oro con el uso del copolímero de quitosano-*g*-(*N*-vinil-2-pirrolidona) como reductor de los iones metálicos y estabilizante de las nanopartículas formadas, dan como resultados soluciones como las mostradas en la Figura V-15, donde se observa la coloración característica de la formación de nanopartículas de oro.

Para las síntesis realizadas con el copolímero Q-PVP, se obtienen soluciones de distinta tonalidad. A diferencia con la síntesis con Q-PCL, visualmente, la síntesis con Q-PVP presenta una menor tonalidad, para concentraciones inferiores a 0,56 mM de Au³⁺, pero para el caso de la más concentrada, se torna de un color violeta. Esto puede ser causa de algún cambio en la morfología de las nanopartículas y debido a una agregación de

estas. En efecto, para este último caso, se observa la formación de un precipitado con coloración indicando que contiene nanopartículas.



Figura V-15 Soluciones producto de la síntesis de NPs-Au con el uso de quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) como agente reductor y estabilizante a distintas concentraciones de Au³⁺.

El seguimiento por UV-Vis de la síntesis de nanopartículas formadas con el uso del copolímero de quitosano-*graft*-(*N*-vinil-2-pirrolidona), es presentado en la Figura V-16. En este caso se observa la existencia de bandas de absorción cercanas a los 520-540 nm, que al igual que los casos anteriores, corresponden a la absorción del plasmón de resonancia de las nanopartículas de oro. En general, las soluciones presentan una única banda bien definida la que aumenta en absorbancia hasta alcanzar un valor constante, excepto a la concentración de Au³⁺ de 1,12 mM (Figura V-16 e). En este caso se observa que al alcanzar una alta concentración de Au³⁺ en el medio, se produce un decrecimiento en la absorción. Esta disminución, está relacionada con un cambio en la tonalidad, reflejada en una menor absorbancia, que puede tener correspondencia con la pérdida de nanopartículas debido a su aglomeración o que el polímero junto a las nanopartículas formadas decante o precipite, quedando dispersas en la solución una menor proporción de éstas.





En cuanto a las longitudes de onda del máximo de absorción (Figura V-17), se observa que en los casos de mayor y menor concentraciones del ion Au³⁺, las longitudes de onda son similares, lo cual, puede estar relacionado a nanopartículas y complejos de nanopartículas con el polímero de similares características. Para el caso de las soluciones intermedias, éstas presentan una cercanía en las longitudes de onda, pudiéndose estimar que sus morfologías pueden ser similares. Adicionalmente, es conocido que la presencia de PVP da lugar a la formación de distintos tipos de nanopartículas

entre las que destacan las formas triangulares, las que pueden encontrarse presentes en estas muestras^{15,84,87,90}



Figura V-17 Resultados de la síntesis de NPs-Au con el uso del copolímero quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) evolución de la longitud de onda para los máximos de absorción a distintos tiempos de reacción.

V.8.1.1.4 Síntesis de NPs-Au con quitosano-graft-poli(etilenglicol)metil éter

La síntesis de NPs-Au con el uso del copolímero de quitosano-*graft*poli(etilenglicol)metil éter, da como resultado soluciones como las mostradas en la Figura V-18. En este caso, para todas las concentraciones del ion Au³⁺ se observa la pérdida del color amarillo de la solución de sal KAuCl₄. Pero no se observa a simple vista la aparición del color característico que indique la presencia de nanopartículas de oro.



Figura V-18 Soluciones producto de la síntesis de NPs-Au con el uso del copolímero de quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter como agente reductor y estabilizante, a distintas concentraciones de Au³⁺.

El proceso de síntesis de nanopartículas de oro con el uso de copolímeros de quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter en solución, dio como resultados soluciones que mantuvieron su coloración inicial cuyos espectros UV-Vis son mostrados en la Figura V-19. Se puede apreciar que, a diferencia de las síntesis realizadas con el quitosano y sus copolímeros con PCL y PVP, en el uso del copolímero Q-MPEG no existen indicios mediante UV-Vis de la formación de nanopartículas de oro, debido a que no se observan los picos correspondientes a la absorción del plasmón superficial característico de estas nanopartículas, cercano a 520 nm. La señal correspondiente a la solución de [AuCl4]⁻ cercana a los 255 nm,¹¹⁸ fue disminuyendo su intensidad a medida que transcurría a reacción.

Claramente, se logra apreciar en la Figura V-19 f) el decaimiento de la absorbancia de la banda de 255 nm a través del tiempo de reacción. En un principio, se pensó en la posibilidad de la formación de algún precipitado de las nanopartículas de oro o simplemente oro, que terminó decantando en los distintos ensayos, pero resultó que éste no se observa en ninguno de los casos, por lo cual, la explicación más valida es la formación de un complejo con el polímero que no permitiese su reducción, quedando estabilizado en solución.



Figura V-19 Espectros UV-Vis para la síntesis de NPs-Au con Q-MPEG a 95 °C a las concentraciones de KAuCl₄ de a) 0.07 mM,
b) 0,14 mM, c) 0,28 mM, d) 0,56 mM, e) 1,12 mM y
f) variación de la absorbancia con el tiempo.

V.8.1.2 Difusión de luz dinámica de NPs-Au

La estimación de los tamaños de las nanopartículas sintetizadas y su distribución con cada uno de los polímeros utilizados se realizó mediante difusión de luz dinámica (DLS). A continuación, se presentan los resultados obtenidos con cada polímero.

V.8.1.2.1 Síntesis de NPs-Au con quitosano

La distribución de los tamaños estimados para las nanopartículas de oro sintetizadas con el uso de quitosano es presentada en Figura V-20.



También se muestra como control el resultado obtenido con solo la solución polimérica.



Los resultados de las distribuciones obtenidos en la Figura V-20 son resumidos en la Tabla V-10 para los análisis de población NICOMP aplicable a muestras con más de una distribución de tamaño como es el caso de los resultados a todas las concentraciones de Au³⁺ ensayadas.

| | Pico 1 | | Pico | 2 | Pico 3 | |
|--------------------------|------------|-----------|-------------|-----------|------------|-----------|
| Muestra | Diámetro | Población | Diámetro | Población | Diámetro | Población |
| | nm | % | nm | % | nm | % |
| Quitosano | 1,0±0,2 | 100,00 | - | - | - | - |
| Au ³⁺ 0,07 mM | 3,6±0,5 | 1,07 | 10,9±2,2 | 9,80 | 99,0±19,5 | 89,13 |
| Au³⁺ 0,14 mM | 1,1±0,1 | 5,94 | 14,4±2,4 | 13,80 | 107,3±17,8 | 80,26 |
| Au ³⁺ 0,28 mM | 14,1±2,1 | 6,28 | 101,3±19,9 | 93,72 | - | - |
| Au³⁺ 0,56 mM | 2,2±0,2 | 0,81 | 11,2±1,9 | 9,43 | 82,8±14,8 | 89,77 |
| Au³⁺ 1,12 mM | 113,1±22,8 | 14,38 | 640,7±127,5 | 85,62 | - | - |

Tabla V-10Distribución de tamaños de partículas por DLS para la síntesis
de NPs-Au con guitosano.

De la Tabla V-10 y los valores de distribución de tamaños se desprende que quitosano sólo registró valores menores a 1 nm para tamaño de partículas, lo que puede deberse a pequeños interferentes presentes en la solución polimérica. Por otro lado, para los sistemas de quitosano con distintas concentraciones de Au³⁺, se observan en general, tres poblaciones siendo mayoritarias las que se encuentran cercanas a 100 nm. Para el caso de la mayor concentración de oro, se ve claramente un mayor tamaño de las partículas con su mayor población de aproximadamente 640 nm. Este último hecho es concordante con los resultados obtenidos en la espectroscopía UV-Vis, en donde se obtuvo un hombro y ensanchamiento de la señal del plasmón de superficie hacia longitudes de onda mayores, lo que se debería a la formación de agregados de nanopartículas y polímero.

V.8.1.2.2 Síntesis de NPs-Au con quitosano-graft-poli(ε-caprolactona)

Los resultados del análisis por DLS de tamaños de partículas en la síntesis de nanopartículas de oro con el uso del copolímero quitosano-graft-(ε-caprolactona) son presentados en la Figura V-21, donde se presentan las distribuciones para el copolímero Q-PCL sólo y los sistemas Q-PCL - nanopartículas de oro.





Los resultados de las distribuciones de tamaños de la Figura V-21 son resumidos en la Tabla V-11.

| Tabla V-11 | Distribución de tamaños de partículas por DLS para la síntesis |
|------------|--|
| | de NPs-Au con quitosano <i>-graft-</i> poli(ε-caprolactona) |

| | Pico 1 | | Picc | 2 | Pico 3 | | |
|-----------------|----------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|--|
| Muestra | Diámetro | Población | Diámetro | Población | Diámetro | Población | |
| | nm | % | nm | % | nm | % | |
| Q-PCL | 27,7±3,6 | 1,38 | 547,6±117,7 | 98,62 | - | - | |
| Au³⁺ 0,07 mM | 11,9±2,0 | 3,77 | 79,9±13,4 | 32,33 | 839,1±102,6 | 63,90 | |
| Au³⁺ 0,14 mM | 2,0±0,4 | 19,01 | 19,9±4,2 | 9,75 | 82,4±16,4 | 71,24 | |
| Au³⁺ 0,28 mM | 17,2± | 3,5 | 82,1± | 28,9 | 869,5± | 67,7 | |

| Au ³⁺ 0,56 mM | 2,7±0,5 | 1,98 | 23,9±4,5 | 12,11 | 101,1±85,91 | 85,91 |
|-----------------------------|---------|------|----------|-------|-------------|-------|
| Au³⁺ 1,12 mM | S/I | S/I | 13,7±2,3 | 5,84 | 92,6±16,0 | 94,16 |

En este caso se debe notar que, a diferencia de guitosano, el Q-q-PCL copolímero puro, presenta la formación de partículas mayoritariamente a una población cercana a los 548 nm. Como se trata de un polímero puro, sin nanopartículas metálicas, se puede pensar que, debido a los distintos grupos presentes en el copolímero y la naturaleza de su cadena lateral (PCL), este polímero en solución se agregaría lo que causaría dicha distribución y su detección por el análisis DLS. Por otro lado, en el caso de la síntesis de NPs-Au con el uso del copolímero Q-q-PCL, se aprecia que a medida que aumenta la concentración del ion Au³⁺, se intensifican las señales correspondientes a las distribuciones cercanas a los 100 nm y de las distribuciones cercanas a los 20 nm.

V.8.1.2.3 Síntesis de NPs-Au con quitosano-graft-poli(N-vinil-2-pirrolidona)

La distribución de los tamaños de partículas obtenidos para la síntesis de NPs-Au con el uso del copolímero Q-PVP son expuestos en la Figura V-22. En ésta, se observan diferencias claras entre la distribución de partículas formadas solo por el copolímero Q-PVP y las que contienen nanopartículas de oro.

En este caso, para el copolímero Q-PVP, se observa una situación similar a lo sucedido con el copolímero quitosano-*graft*-(ε-caprolactona). Esto se puede deber, como se mencionó anteriormente, a que los copolímeros presentan algún tipo de formación de agregados. Cabe señalar que, para el caso de mayor concentración de oro, existe un decaimiento en la absorbancia como se aprecia en las Figura V-16 e) y Figura V-16 f). Esto, dada la precipitación observada en el sistema, estaría acorde a los resultados mostrados en la Figura V-22 f), debido a la aparición de entidades de mayor tamaño por aglomeración de las nanopartículas con el polímero y posterior precipitación de estos.





Los resultados de las distribuciones de la Figura V-22, son presentados en la Tabla V-12

| Tabla V-12 | Distribución de tamaños de partículas por DLS para la síntesis |
|------------|---|
| | de NPs-Au con quitosano- <i>graft-</i> poli <i>(N-</i> vinil-2-pirrolidona) |

| | Pico 1 | | Pico | 2 | Pico 3 | | |
|--------------------------|------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|--|
| Muestra | Diámetro | Población | Diámetro | Población | Diámetro | Población | |
| | nm | % | nm | % | nm | % | |
| Q-PVP | 116,0±13,9 | 2,32 | 227,9±16,9 | 14,76 | 855,2±144,8 | 82,92 | |
| Au ³⁺ 0,07 mM | 15,6±2,8 | 3,87 | 100,1±17,4 | 48,43 | 781,8±110,8 | 47,70 | |
| Au ³⁺ 0,14 mM | 10,2±1,5 | 5,19 | 73,5±12,4 | 58,96 | 301,9±62,9 | 35,85 | |
| Au ³⁺ 0,28 mM | 9,2±1,8 | 4,07 | 46,0±8,1 | 28,14 | 217,2±31,5 | 67,80 | |
| Au³⁺ 0,56 mM | 3,5±0,3 | 4,19 | 14,2±2,2 | 10,12 | 82,7±16,5 | 85,69 | |
| Au ³⁺ 1,12 mM | 90,0±6,0 | 12,89 | 862,4±117,7 | 87,11 | - | - | |

De la Tabla V-12, se pueden apreciar poblaciones cercanas a 100 nm que indicarían la presencia de nanopartículas de oro. Esto se confirma más adelante en el análisis de las soluciones mediante microscopía de transmisión electrónica.

V.8.1.2.4 Síntesis de NPs-Au con quitosano-graft-poli(etilenglicol)metil éter

Al igual como no se observa presencia de nanopartículas mediante espectroscopía UV-Vis, este análisis no entrega resultados de la existencia de nanopartículas.

V.8.1.3 Potencial Z de NPs-Au

La determinación de la estabilidad de las nanopartículas sintetizadas con los distintos polímeros fue estimada mediante mediciones del potencial Z. Los valores absolutos de potencial Z obtenidos para cada uno de los sistemas son presentados en la Tabla V-13

| Tabla V-13 | Potencial 2 | Z para | las | soluciones | de | nanopartículas | de | oro, |
|--|-------------|--------|-----|------------|----|----------------|----|------|
| respecto a los distintos polímeros utilizados. | | | | | | | | |

| [KAuCl4] | Potencial Z mV | | | | | |
|----------|-------------------|-------|-------|--|--|--|
| mivi | Quitosano | Q-PCL | Q-PVP | | | |
| 0,07 | 41,3 | 21,5 | 23,2 | | | |
| 0,14 | 39,5 | 26,5 | 20,6 | | | |
| 0,28 | 39,6 | 24,6 | 17,5 | | | |
| 0,56 | 37,1 | 19,6 | 18,4 | | | |
| 1,12 | 34,7 | 20,8 | 16,6 | | | |

De estos valores se puede apreciar cierta tendencia referente a cada par polimero-nanopartícula de oro. En todos los casos se observan valores sobre los 15 mV, pudiendose establecer un orden de estabilidad de la siguiente manera, respecto al polímero con que fueron sintetizadas: quitosano > Q-PCL > Q-PVP.

Los mayores valores son presentados para los casos quitosano, debido a que éste al ser un polímero catiónico que es protonable en su grupo amino, presenta la posibilidad de aumentar el valor de potencial Z.

Para poder apreciar de mejor manera la variación de los valores, éstos son presentados en la Figura V-23 donde se muestra la tendencia de dichas soluciones.



Figura V-23 Variación de potencial Z de las soluciones de nanopartículas de oro respecto a la concentración de sal KAuCl₄ para distintos polímeros.

V.8.1.4 Microscopía de transmisión electrónica de NPs-Au

Una de las formas más efectivas de establecer la presencia de nanopartículas, su tamaño y forma es mediante microscopía de transmisión electrónica. En las imágenes obtenidas con esta técnica, se pueden apreciar

zonas de mayor densidad, que son atribuibles a la presencia de nanopartículas metálicas, debido al aumento de densidad electrónica que éstas tienen.

V.8.1.4.1 Nanopartículas de oro con quitosano

En primer lugar, se realizó el análisis de microscopía de transmisión electrónica de las nanopartículas de oro sintetizadas con el uso de quitosano. En la Figura V-24 se presentan las micrografías TEM junto a los espectros de absorción UV-Vis y la distribución por DLS para las nanopartículas sintetizadas a concentraciones de la sal KAuCl₄ de a) 0,28 mM y b) 1,12 mM.

Para el caso de las micrografías correspondientes a una concentración de Au³⁺ 0,28 mM, se observa que éstas presentan una forma esférica, aunque se aprecia un borde más bien difuso. El tamaño es homogéneo, con un valor medio de 72,5 nm, lo cual confirma lo resultados obtenidos para el espectro UV-Vis con las absorbancias correspondientes a la formación de nanopartículas de oro. Para el caso de la difusión de luz dinámica, los valores obtenidos de tamaños obtenidos se encuentran muy próximos a los determinados mediante las micrografías TEM.

Por otro lado, para el caso de la concentración de la sal KAuCl₄ de 1,12 mM (Figura V-24 b), se obtienen valores medio de nanopartículas de 22,0 nm, lo cual, está relacionado con la espectroscopía UV-Vis que indicaba la presencia de nanopartículas. En este caso, también se apreció un hombro en las bandas de absorbancia, lo cual, está relacionado a la aglomeración de dichas nanopartículas como se observa en la micrografía correspondiente. Para el análisis de difusión de luz dinámica, los valores presentados corresponden a los aglomerados que se obtienen en este proceso de síntesis.



Figura V-24 Micrografías TEM junto a los respectivos espectros UV-Vis y distribuciones de partículas por DLS para las NPS-Au sintetizadas con el uso de quitosano a) 0,28 mM de KAuCl₄ y
 b) 1,12 mM de KAuCl₄.

Los valores correspondientes al tamaño de nanopartículas obtenidas mediante el análisis de las micrografías TEM se presentan en la Tabla V-14.

Tabla V-14Tamaños de partículas determinados mediante análisis de
micrografías TEM para síntesis de NPs-Au con el uso de
quitosano.

| [Au ³⁺] mM | Diámetro nm |
|---------------------------|----------------|
| 0,28 | 72,5 ± 8,1 |
| 1,12 | $22,0 \pm 5,7$ |

De la Tabla V-14 se puede apreciar que las nanopartículas obtenidas con quitosano como agente reductor y estabilizante presentan una desviación de su diámetro no superior a 9 nm, lo cual permite observar tamaños de partículas homogéneos. Estos valores a diferencia a los obtenidos en el análisis DLS pueden estar relacionados a que la difusión de la luz dinámica considera un tamaño adicional debido al polímero que rodea (estabiliza) a las nanopartículas.

Lo interesante de esto, es que se ve claramente que el tamaño alcanzado por las nanopartículas a pesar de su aglomeración, para el caso de la solución más concentrada, es uniforme y de menor tamaño respecto a la solución diluida. Este efecto, puede deberse, en un principio, a la generación de una mayor cantidad de núcleos, los cuales, al estabilizarse con quitosano, terminan produciendo un aglomerado que no permite que continué el crecimiento de éstas. En el caso contrario, para la menor concentración de la sal de oro, al haber una menor cantidad de iones metálicos en solución, la formación inicial de los núcleos sería menor y estos crecerían más, originando nanopartículas más grandes.

V.8.1.4.2 Nanopartículas de oro con quitosano-graft-poli(ɛ-caprolactona)

Para la síntesis de nanopartículas de oro con el uso del copolímero de quitosano-*graft*-poli(ε-caprolactona), se obtienen las micrografías expuestas en Figura V-25, donde se incorporan también sus respectivos espectros UV-Vis y distribución de tamaños obtenidas por DLS.


Figura V-25 Micrografías TEM, espectros UV-Vis y distribuciones de tamaños obtenidos por DLS para las nanopartículas de oro con el copolímero de quitosano-graft-poli(ε-caprolactona)
 a) 0,28 mM de KAuCl₄ y b) 1,12 mM de KAuCl₄.

Los resultados de las distribuciones de tamaños obtenidos mediante el análisis de las micrografías son presentados en la Tabla V-15.

Tabla V-15Tamaños de partículas determinados mediante análisis de
micrografías TEM para la síntesis de NPs-Au con el uso de
copolímero quitosano-graft-poli(ε-caprolactona).

| [Au ³⁺] | Diámetro |
|---------------------|-------------|
| mM | nm |
| 0,28 | 9,3 ± 1,7 |
| 1,12 | 27,3 ± 11,3 |

De los resultados obtenidos se observa que los tamaños de las nanopartículas se encuentran bajo los 30 nm, lo cual, corrobora los resultados observados en los espectros UV-Vis. Para el caso de la síntesis efectuada a la concentración de la sal de oro de 0,28 mM, se observa una gran distribución de nanopartículas, las cuales no superan los 10 nm. La diferencia de los

valores entre la microscopía de transmisión electrónica y las obtenidas por DLS, puede estar relacionado a la técnica. Debido a que el DLS considera la difusión de la luz y esta puede ser afectada por el conjunto NPs-polímero en el cual el polímero estabiliza la nanopartícula rodeándola, generando una capa que no se logra apreciar claramente en las micrografías TEM.

Para el caso de la solución de KAuCl₄ de 1,12 mM, los tamaños de nanopartículas aumentan, como era de esperarse, al contrario de las nanopartículas formadas con quitosano. En este caso, nunca se perdió la solubilidad del polímero, debido a que no se observó la precipitación de éste, ni la formación de un hombro en las bandas de absorbancia UV-Vis. La aglomeración que se observa en la micrografía puede ser a causa del proceso de secado necesario para su análisis en el microscopio de transmisión electrónica, debido a que se observan pequeñas aglomeraciones puntuales y no un gran aglomerado como el caso del quitosano para la misma concentración.

V.8.1.4.3 Nanopartículas de oro con quitosano-graft-poli(N-vinil-2-pirrolidona)

El análisis de las micrografías para la síntesis de nanopartículas de oro con el uso del copolímero quitosano-*graft-(N*-vinil-2-pirrolidona), son presentados en la Figura V-26, junto a los respectivos espectros UV-Vis y distribución de tamaños obtenido por DLS.



Figura V-26 Micrografías TEM, espectros UV-Vis y distribución de tamaños por DLS para las nanopartículas de oro con el copolímero de quitosano-graft-(N-vinil-2-pirrolidona) con a) 0,28 mM de KAuCl₄ y b) 1,12 mM de KAuCl₄ a 95 °C.

En ambos casos se observan distribuciones de nanopartículas, lo cual, al igual que los casos anteriores, corroboran su presencia a través de los resultados obtenidos de los espectros UV-Vis.

Los resultados del análisis de tamaños de las micrografías obtenidas para la síntesis de nanopartículas con el copolímero quitosano-*g*-(*N*-vinil-2-pirrolidona), son presentados en la Tabla V-16.

Tabla V-16Tamaños de partículas determinados mediante análisis de
micrografías TEM para síntesis de NPs-Au con el uso de
copolímero quitosano-graft-poli(N-vinil-2-pirrolidona).

| [Au ³⁺] | Diámetro |
|---------------------|------------|
| mM | nm |
| 0,28 | 15,7 ± 7,4 |
| 1,12 | 51,5 ±17,7 |

En el caso de la síntesis efectuada a concentración de la sal de oro de 0,28 mM, se aprecia que las morfologías no son esféricas como en los casos anteriores, más bien presentan diversas formas siendo en algunos casos más alargadas o con vértices. El tamaño medio, para este caso, es de 15,7 nm. Por otro lado, para la concentración de la sal de oro de 1,12 mM, se observan en las micrografías distintas morfologías de las nanopartículas formadas, como triángulos, triángulos con las puntas cortadas y hexágonos, además de esferas distorsionadas. El tamaño de estas nanopartículas fue muy variado con valores que van desde los 100 nm a 650 nm. Esta diversidad de formas de nanopartículas metálicas son características de la PVP como se señaló anteriormente.

V.8.1.4.4 Nanopartículas de oro con quitosano-graft-poli(etilenglicol)metil éter

El análisis de microscopía de transmisión electrónica para la síntesis de nanopartículas de oro con el uso del copolímero quitosano-graft- (etilenglicol)metil éter no proporcionó resultados que indiquen la presencia de nanopartículas lo cual va acorde a los antecedentes obtenidos mediante las otras metodologías utilizadas.

V.8.1.5 Conclusión preliminar para síntesis de nanopartículas de oro

Fue posible la síntesis de NPs-Au con el uso de quitosano, Q-*g*-PCL y Q-*g*-PVP. Las NPs-Au obtenidas con cada polímero se diferencian en cuanto a cantidad, distribución, tamaños, formas y estabilidad de estas. Por lo tanto, se establece la eficiencia de cada uno de estos copolímeros en la síntesis y estabilización de nanopartículas metálicas de oro.

Para la síntesis de nanopartículas con quitosano, se aprecia que las nanopartículas de oro obtenidas con una concentración de Au³⁺ de 1,12 mM, presentan una notable aglomeración en comparación al resto de los copolímeros utilizados.

El uso del copolímero Q-*g*-PCL con una concentración de iones Au³⁺ 0,28 mM, dio como resultados nanopartículas pequeñas, estables y de una distribución homogénea.

Adicionalmente, se observó que las nanopartículas sintetizadas con el uso de copolímero Q-*g*-PVP a una concentración del ion Au³⁺ de 1,12 mM, dio como resultado nanopartículas de formas triangulares muy delgadas, cuyos vértices permitirían su uso en catálisis. Este tipo de morfologías se atribuye a lo que ha sido reportado para la presencia de PVP, la cual se deposita preferentemente en 1 cara de la estructura cristalina de la nanopartícula, favoreciendo un crecimiento bidimensional permitiendo la generación de nanopartículas con diversas morfologías.

Por otro lado, para el copolímero Q-*g*-MPEG, no se logró confirmar la presencia de nanopartículas. Para este copolímero, debido a su bajo grado de inserción, se hubiese esperado una acción en la síntesis de nanopartículas similar al quitosano. Al contrario, no se apreció la presencia de nanopartículas tanto en el análisis UV-Vis como en las micrografías TEM, para el total de las soluciones de la sal metálica de oro utilizadas. Cabe mencionar que se logró apreciar una disminución de la banda de absorción correspondiente a las soluciones iniciales correspondientes al complejo AuCl⁴⁻, cuyo efecto puede estar relacionado a un cambio en los grupos coordinados al ion Au³⁺.

Respecto a los fenómenos observados para los tamaños de las nanopartículas y sus aglomeraciones, se pueden tratar de establecer una relación respecto a las concentraciones, la movilidad de las diversas moléculas presentes y la estructura del polímero. Como se observa en el Esquema V-1, para el caso del quitosano, si se tiene un medio en el que existe un bajo número de nanopartículas estabilizadas, las cadenas poliméricas y las nanopartículas tendrán cierta libertad de movimiento que permitiría el encuentro entre nanopartículas e iones metálicos favoreciendo el crecimiento de dichas nanopartículas. Por el contrario, al existir una gran cantidad de nanopartículas, estas podrían saturar los grupos estabilizantes del quitosano

88

y disminuir la movilidad de las cadenas poliméricas debido a interacciones intra y extra moleculares. A un menor desplazamiento de las nanopartículas, el encuentro con otros grupos de iones o átomos metálicos puede afectar en el crecimiento de dichas nanopartículas. Esto, explicaría que para la síntesis de nanopartículas de oro con quitosano a una menor concentración Au³⁺ se obtiene nanopartículas de mayor tamaño respecto a lo que se logra a mayores concentraciones.

Para el caso de los copolímeros de Q-g-PCL y Q-g-PVP, se observa en las micrografías TEM una menor formación de aglomerados con nanopartículas de menores tamaños respecto a los observados para la síntesis con quitosano. Esto, puede relacionarse con las cadenas laterales de PCL y PVP, las cuales, al contener una mayor cantidad de grupos estabilizantes de nanopartículas podrían favorecer la distribución de las nanopartículas en el medio. Adicionalmente, la presencia de ramificaciones, podrían aumentar los impedimentos estéricos, favoreciendo la obtención de nanopartículas de menor tamaño y sin la formación de grandes aglomerados como los observados para el quitosano.



Esquema V-1 Representación de estabilización de nanopartículas de oro con a) quitosano y b) los copolímeros Q-g-PCL y Q-g-PVP

Un resumen de las observaciones más importantes realizadas para cada polímero en la síntesis de nanopartículas de oro, son expuestos en la Tabla V-17.

| Tabla V-17 | Resumen de observaciones para la síntesis de nanopartículas |
|------------|--|
| | de oro con el uso de quitosano y los copolímeros sintetizados. |

| Observaciones | Quitosano | Q-g-PCL | Q-g-PVP | Q-g-MPEG |
|--------------------------------------|-----------|---------|---------|----------|
| Presencia de NPs-Au | Si | Si | Si | No |
| Mayor absorbancia UV-Vis (ua) | 1,35 | 1,61 | 1,22 | - |
| Mayor aglomeración | + | | | |
| NPs de mayor tamaño | + | | | |
| NPs de menor tamaño | | + | | |
| Mayor distribución de tamaños de NPs | | | + | |
| Mayor homogeneidad de NPs | | + | | |
| Variedad de formas de las NPs | | | + | |

V.8.2 Nanopartículas de plata

La síntesis de nanopartículas de plata (NPs-Ag) se ensayó con 5 soluciones con concentraciones de iones de plata (Ag⁺) variable, preparadas mediante la solubilización de la sal de nitrato de plata en agua Milli-Q. Estas concentraciones correspondieron a 0,05 mM, 0,1 mM, 0,2 mM, 0,3 mM y 0,4 mM del ion metálico Ag⁺. Para la síntesis de las NPs-Ag las soluciones de Ag⁺ fueron puestas en contacto con soluciones poliméricas correspondientes a quitosano y los copolímeros quitosano-*graft*-poli(ε -caprolactona), quitosano*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) y quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter, a una concentración de 0,5 g/L en cada caso y en una razón de volúmenes 1:2 respectivamente. Todas las síntesis fueron llevadas a cabo a 95 °C adecuando el pH a 12 con el uso de una solución de NaOH 0,5 M.

Cada una de las síntesis de nanopartículas fue monitoreada mediante espectroscopía UV-Vis, y sus productos caracterizados por DLS, potencial Z y TEM.

V.8.2.1 Espectroscopía UV-Vis de NPs-Ag

A continuación, se presentan los resultados de los seguimientos de las síntesis de nanopartículas de plata mediante espectroscopía UV-Vis para cada uno de los polímeros utilizados como agente reductor de los iones metálicos y estabilizante de las nanopartículas formadas.

Es conocido el hecho de que las nanopartículas de plata presentan absorbancias con valores cercanos a 410-425 nm^{121–124}. Dichos valores son dependientes de su tamaño como también de las interacciones que presenten con el medio en que se encuentren.

V.8.2.1.1 Síntesis de NPs-Ag con quitosano

La síntesis de nanopartículas de plata con el uso de quitosano como reductor de los iones metálicos y estabilizante de las nanopartículas formadas,

da como resultado las soluciones mostradas en la Figura V-27, para las distintas concentraciones de AgNO₃, las que presentan una tonalidad amarilla que aumenta con la concentración de iones Ag⁺ agregada.



Figura V-27 Soluciones de NPs-Ag sintetizadas a distinta concentración de la sal de AgNO₃ con el uso de quitosano como reductor y estabilizante.

Debido a que la reacción se lleva a cabo en un medio básico por adición de NaOH, al detenerse la agitación y realizar el enfriamiento de la solución, se produce la precipitación del polímero en conjunto con las nanopartículas formadas. Esto, se debe al pH cercano a 12 del medio lo que evita la protonación de los grupos aminos de la cadena de quitosano y conlleva a la perdida de la solubilidad, a la vez que favorece la reducción de los iones Ag⁺. Se cree que el uso de NaOH favorece la presencia de grupos amino e hidroxilo que coordinan los iones plata y favorecen el proceso de reducción y la obtención de nanopartículas.^{124,125} Al realizarse la agitación de estas soluciones, se obtiene una suspensión como las mostradas en la Figura V-27 que en el transcurso del tiempo, nuevamente decantan, obteniéndose un precipitado de color amarillo que se va atenuando a medida que disminuye la cantidad de la sal de plata que fue adicionada en cada sistema.

El seguimiento mediante espectroscopía UV-Vis de la síntesis de las nanopartículas de plata preparadas con quitosano es presentado en la Figura V-28. En todos los casos los espectros muestran una banda de absorbancia con un máximo que se encuentra entre los 410 y 420 nm. Esta banda de absorbancia se debe al plasmón de superficie de las NPs-Ag.^{126,127}



Figura V-28 Espectros UV-Vis para la formación de nanopartículas de plata con quitosano respecto al tiempo de reacción a 95 °C, a las concentraciones de sal de AgNO₃ de a) 0,05 mM, b) 0,1 mM,
c) 0,2 mM y d) 0,36 mM, e) 0,4 mM y f) máximos de absorbancia en el tiempo.

De los espectros expuestos en la Figura V-28 se puede observar que la absorción aumenta su intensidad a medida que transcurre la reacción.

La variación de la absorbancia máxima respecto la concentración del ion metálico de plata (Ag⁺) es presentado en la Figura V-29. En la figura, se observa que, la concentración más alta presentó una disminución en la banda de absorbancia. Esto, se puede justificar con el pH de la solución, lo que provocaría la pérdida de solubilidad del conjunto polímero/NPs-Ag. Por otro lado, dicho disminución podría relacionarse a un aumento del peso



específico del polímero, debido a las nanopartículas formadas y adsorbidas por éste.



V.8.2.1.2 Síntesis de NPs-Ag con quitosano-graft-poli(ε-caprolactona)

La síntesis de nanopartículas de plata con el uso del copolímero quitosano-*graft*-poli(ɛ-caprolactona) dió como resultado soluciones como las presentadas en la Figura V-30. En ella se observa que a medida que se aumenta la concentración de iones plata en solución, existe un aumento en la tonalidad amarillenta. Cuando estos sistemas se dejan en reposo, se observó una precipitación, debido a que, al realizar la síntesis en medio básico, hay pérdida de la solubilidad del conjunto polímero/NPs-Ag al igual que lo

observado para quitosano. Estos sistemas, al ser agitados, originan una suspensión que después de un tiempo vuelve a decantar.



Figura V-30Suspensiones de NPs-Ag sintetizadas a distinta concentración
de la sal de AgNO3, con el copolímero quitosano-graft-poli(ε-
caprolactona) como reductor y estabilizante.

La síntesis de nanopartículas de plata con el uso del copolímero de quitosano-*graft*-poli(ε-caprolactona) fue seguida mediante espectroscopía UV-Vis para las distintas concentraciones del ion Ag⁺. Los resultados son presentados en la Figura V-31. En los espectros se observa una banda con un máximo de absorbancia cercano a 420 nm, que aumenta de intensidad a medida que se tiene una mayor presencia plata en la solución.



Figura V-31 Espectros UV-Vis para la formación de nanopartículas de plata con quitosano-graft-poli(ε-caprolactona) respecto al tiempo de reacción a 95 °C, a las concentraciones de sal de AgNO₃ de a) 0,05 mM, b) 0,1 mM, c) 0,2 mM, d) 0,3 mM, e) 0,4 mM y f) variación del máximo de absorbancia en el tiempo.

Al considerar la variación de la absorbancia respecto al tiempo de reacción para las distintas concentraciones de plata (Figura V-31 f), se logra apreciar, al igual que para el caso de la síntesis con quitosano expuestos anteriormente, que las soluciones con mayor concentración presentan una mayor variabilidad, lo que, puede estar relacionado a la presencia de turbidez y pérdida de solubilidad en dichas condiciones.

Al graficar la variación de la máxima absorbancia alcanzada respecto las concentraciones de Ag⁺ se obtienen los resultados expuestos en la Figura V-32.





En general, se aprecia que a medida que transcurre el tiempo de reacción, existe un aumento en la cantidad de nanopartículas producidas reflejadp por el aumento de la absorbancia, aun cuando hay casos de disminución, los que pueden asociarse a la perdida de solubilidad del polímero que puede decantar arrastrando NPs-Ag disminuyendo la absorbancia del sistema.

V.8.2.1.3 Síntesis de NPs-Ag con quitosano-graft-poli(N-vinil-2-pirrolidona)

La síntesis de nanopartículas de plata con el uso del copolímero de quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona), da como resultados soluciones como las expuestas en la Figura V-33. Se observa, que a medida que se

aumenta la cantidad de plata en solución, la tonalidad de la misma se torna cada vez más amarillenta.

| HVP 0,5 g/L 1,85 mt ~ 95 % | Q-P/91 Ag e,1 # | 80 0,5 g/L U m - 95 °C | \$-PVP 0,5 g/L 40,3 mH - 95 % | 18,5 g/L 18 - 95 °C |
|-------------------------------|--------------------|---------------------------|----------------------------------|------------------------|
| 2 | C.E.A. | DEC. | | U.S.S |
| AM | 19 | WH I | M: | MF |
| 0 | | | | $ \leftarrow $ |

Figura V-33 Soluciones de NPs-Ag sintetizadas a distinta concentración de la sal de AgNO₃ con el uso del copolímero quitosano-*graft*poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) como reductor y estabilizante.

El seguimiento de las síntesis de nanopartículas de plata con el copolímero quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona), fue realizado mediante espectroscopía UV-Vis, obteniendo los resultados expuestos en la Figura V-34. En esta se puede observar la aparición de una banda con una absorbancia máxima cercana a 420 nm, que indica la presencia de nanopartículas de plata.

A diferencia de los casos anteriores, en estas condiciones se observa una mayor velocidad de síntesis, debido a la alta absorbancia inicial respecto a las obtenidas en el transcurso de la reacción como se aprecia en la Figura V-34 f. En ésta, se puede observar que los valores de la máxima absorbancia son similares, o han tenido una pequeña diferencia respecto a la solución inicial.





Al graficar los valores de absorbancia máxima respecto a la concentración de plata se obtiene los resultados expuestos en la Figura V-35. De la figura es posible inferir que, la variación de absorbancia no necesariamente presenta un aumento a medida que transcurre la reacción, si no que existe un pequeño aumento inicial y luego incluso una disminución. Esta disminución de absorbancia después de un tiempo puede estar relacionada con la pérdida de solubilidad del polímero debido a encontrarse en un medio básico.





V.8.2.1.4 Síntesis de NPs-Ag con quitosano-graft-poli(etilenglicol)metil éter

La síntesis de nanopartículas de plata con el uso del copolímero de quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter, da como resultados soluciones como las mostradas en la Figura V-36. En éstas, al ir aumentando la concentración de plata en la solución, se aprecia un aumento en tonalidad amarilla de la solución obtenida.



Figura V-36 Soluciones de NPs-Ag sintetizadas a distinta concentración de la sal de AgNO₃ con el uso del copolímero de quitosano-*graft*poli(etilenglicol)metil éter como reductor y estabilizante.

Los resultados del seguimiento de la síntesis de las nanopartículas de plata con el uso de este copolímero se pueden apreciar en los espectros UV-Vis, presentados en la Figura V-37. En este caso, a diferencia de los anteriores, para las soluciones más diluidas correspondientes a 0,05 y 0,1 mM en plata, no se aprecia una banda definida correspondiente a la formación de nanopartículas. Para las soluciones por sobre 0,2 mM de plata, se observa claramente la presencia de una banda de absorción con un valor de absorbancia máximo cercano a una longitud de onda de 440 nm. Este valor se encuentra por sobre los publicados correspondientes a la formación de nanopartículas de plata, aun cuando no se puede descartar su presencia y que los valores obtenidos sean resultados de alguna interacción existente entre el copolímero y las nanopartículas sintetizadas. Por otro lado, en la Figura V-37 se puede observar que las bandas obtenidas son menos definidas con cierta deformación en sus bordes. Para el caso del Figura V-37 f) donde se presenta la absorbancia máxima respecto al tiempo, se aprecia un proceso continuo de aumento de la absorción hasta alcanzar un "plateau", siendo esto menos perceptible para la concentración 0,05 mM de plata.





Por otro lado, al graficar la absorbancia máxima respecto la concentración de plata se obtienen los resultados expuestos en la Figura V-38. Como se observa las absorbancias experimentan cambios al ir aumentando la concentración de la sal de plata adicionada, además varían de forma relativamente aleatoria con el tiempo de reacción.



Figura V-38 Evolución de las absorbancias con la concentración de la sal de plata para la síntesis de nanopartículas con el uso del copolímero de quitosano-graft-poli(etilenglicol)metil éter a 95 °C.

V.8.2.2 Difusión de luz dinámica de NPs-Ag

En general, para el caso de los análisis de distribución de tamaños mediante difusión de luz dinámica, correspondientes a la síntesis de nanopartículas de plata, no fueron concluyentes para la verificación de la presencia de éstas. En todos los casos, se estableció que no fue posible esta determinación debido a que en las condiciones que se realizaron dichas síntesis, los polímeros pierden solubilidad, formando una suspensión que termina interfiriendo en el resultado de esta técnica para estos casos puntuales.

V.8.2.3 Potencial Z de NPs-Ag

Una estimación de la estabilidad de los sistemas nanopartículas con los distintos polímeros fue determinada mediante potencial Z. Los valores absolutos para cada uno de los sistemas correspondientes a la síntesis de nanopartículas de plata son presentados en la Tabla V-18.

| [AgNO ₃] | Potencial Z mV | | | | |
|----------------------|----------------------------|------|------|------|--|
| mM | Quitosano Q-PCL Q-PVP Q-MP | | | | |
| 0,05 | 10,6 | 7,8 | 10,3 | 11,8 | |
| 0,10 | 14,2 | 7,3 | 15,1 | 13,1 | |
| 0,20 | 14,1 | 6,9 | 8,1 | 11,3 | |
| 0,30 | 11,3 | 19,4 | 11,2 | 14,7 | |
| 0,40 | 10,3 | 17,9 | 10,5 | 15,8 | |

Tabla V-18Potencial Z para las soluciones de nanopartículas de plata
respecto a los distintos polímeros utilizados.

De estos valores, no se logra visualizar alguna tendencia por lo que no se puede establecer una relación directa entre las distintas concentraciones de metal con los diversos polímeros utilizados. Debido a los valores cercanos a 15 mV registrados es posible asociar una pérdida de estabilidad de estas soluciones, en las cuales el polímero con las nanoparticulas forman una dispersión que pasado un tiempo decanta.

V.8.2.4 Microscopía de transmisión electrónica de NPs-Ag

Mediante la microscopía de transmisión electrónica, se buscó establecer la presencia de nanopartículas metálicas, su forma y tamaño. Las nanopartículas se presentan en las micrografías TEM como zonas oscuras atribuida a una mayor densidad electrónica.

V.8.2.4.1 Nanopartículas de plata con quitosano

Las micrografías obtenidas por la microscopia de transmisión electrónica para la síntesis de nanopartículas de plata con el uso de quitosano

como reductor y estabilizante, son presentados en la Figura V-39, donde además se presentan los respectivos espectros UV-Vis y la distribución de tamaños determinada por análisis de las micrografías.





De las micrografías expuestas en la Figura V-39, en primer lugar y para ambos casos, se logran apreciar manchas oscuras debido a una mayor densidad electrónica, las que indicarían una agregación de las nanopartículas formadas. Esto sería debido a las condiciones en que fueron realizada la síntesis, generando la agregación y precipitación del polímero con las nanopartículas formadas.

En análisis de los tamaños de nanopartículas de plata obtenidos desde las micrografías, son presentados en la Tabla V-19, donde se puede apreciar que los tamaños medios alcanzados para las nanopartículas se

encuentran bajo los 28 nm, con un aumento de sus tamaños al incrementar la concentración de la sal de plata disuelta.

Tabla V-19Tamaños de partículas determinados mediante análisis de
micrografías TEM para la síntesis de NPs-Ag con el uso de
quitosano.

| [Ag⁺] mM | Diámetro nm |
|-------------|----------------|
| 0,2 | 11,1 ± 3,5 |
| 0,4 | 27,5 ± 6,4 |

V.8.2.4.2 Nanopartículas de plata con quitosano-graft-poli(ɛ-caprolactona)

Para el caso de la síntesis de nanopartículas de plata con el uso del copolímero quitosano-*graft*-poli(ε-caprolactona), las micrografías obtenidas mediante microscopio de transmisión electrónica para distintas concentraciones de la sal de plata, junto a sus correspondientes espectros UV-Vis y distribuciones de tamaños, son presentados en la Figura V-40.



Figura V-40 Micrografías TEM junto al análisis de distribuciones de tamaños y los espectros UV-Vis para la síntesis de NPs-Ag a 95 °C con quitosano-graft-poli(ε-caprolactona) a concentraciones de AgNO₃ de a) 0,2 mM y b) 0,4 mM.

En esta figura se logra observar una diferencia notoria en cuanto a las nanopartículas obtenidas. En la Figura V-40 a) se observa una escasa cantidad de nanopartículas, las cuales son muy difusas a pesar de que las absorbancias obtenidas por UV-Vis indican claramente la formación de nanopartículas, éstas son escasamente observables. Para el caso de las nanopartículas sintetizadas a partir de una concentración de 0,4 mM de AgNO₃ (Figura V-40 b)), se logra apreciar claramente presencia de nanopartículas aisladas y aglomeradas. La aglomeración en ciertos puntos puede deberse a la perdida de solubilidad del polímero en las condiciones en que fue realizada dicha síntesis. Como era de esperarse, el sistema de mayor concentración en la sal de plata presenta una mayor cantidad de nanopartículas formadas, lo cual va acorde con el aumento de absorbancia en los espectros UV-Vis. Para el caso de las distribuciones de tamaño mediante DLS, se puede establecer que sus valores corresponden a la aglomeración de los polímeros con las nanopartículas, dado por las condiciones de pH en las cuales fueron efectuadas las síntesis.

Los valores de tamaño de las nanopartículas establecidos mediante el análisis de las micrografías TEM son presentados en la Tabla V-20. En ellos se puede apreciar que, al ir aumentando la concentración de la sal de plata, existe un aumento tanto en el tamaño de las nanopartículas formadas como en su cantidad, lo que va acorde al aumento de la concentración.

Tabla V-20Tamaños de particulas determinados mediante análisis de
micrografías TEM para la síntesis de NPs-Ag con el uso de
copolímero de quitosano-graft-poli(ε-caprolactona).

| [Ag ⁺] | Diámetro |
|--------------------|-------------|
| | 18 4 + 7 3 |
| 0,2 | 43,6 ± 12,3 |

V.8.2.4.3 Nanopartículas de plata con quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2pirrolidona)

La síntesis de nanopartículas de plata con el uso del copolímero quitosano-*graft*-(*N*-vinil-2-pirrolidona), fue corroborada por la técnica TEM como muestra la micrografía presentada en la Figura V-41, donde, es posible estimar los tamaños de las nanopartículas y el espectro UV-Vis correspondiente. Se aprecia que las nanopartículas presentan una morfología esférica distorsionada y son de distintos tamaños. Las absorbancias obtenidas corresponden a las nanopartículas de plata. Se observa que al transcurrir el tiempo de reacción la banda va perdiendo intensidad y experimenta un ensanchamiento, lo que se debería a la pérdida de solubilidad de este sistema o a la aglomeración. Al igual que los casos anteriores, las distribuciones de tamaño obtenidas mediante DLS, muestran que para este sistema se forman agregados del polímero con las nanopartículas.





Los resultados para el tamaño de nanopartículas estimado mediante el análisis de las micrografías son presentados en la Tabla V-21.

Tabla V-21Tamaños de partículas determinados mediante análisis de
micrografías TEM para la síntesis de NPs-Ag con el uso de
copolímero de quitosano-graft-poli(N-vinil-2-pirrolidona).

| [Ag⁺] mM | Diámetro nm |
|-------------|----------------|
| 0,2 | 35,8 ± 25,2 |
| 0,4 | - |

No fue posible obtener las imágenes correspondientes a la concentración 0,4 mM, por lo cual, esos resultados no son expuestos.

V.8.2.4.4 Nanopartículas de plata con quitosano-graft-poli(etilenglicol)metil éter

Los resultados de las micrografías obtenidas para la síntesis de nanopartículas de plata con el uso del copolímero quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter, son presentados en la Figura V-42, junto a los análisis de distribución de tamaños obtenidos desde las micrografías y sus respectivos espectros UV-Vis. En las micrografías se aprecia la formación de nanopartículas aisladas y de agregados de estas.





En la Tabla V-22, son presentados los diámetros promedio de las nanopartículas obtenidas del análisis de las micrografías. Se observa una disminución de tamaños al producirse el aumento de la concentración de la sal de plata disuelta, junto con el aumento de la absorbancia producto del incremento en la cantidad de nanopartículas formadas. Como en todos los casos, debido a las condiciones en que fue llevada a cabo esta síntesis, las distribuciones mostradas en los DLS, corresponderían a las aglomeraciones de los polímeros por pérdida de solubilidad en el medio, generando una dispersión que finalmente decanta.

Tabla V-22Tamaños de partículas determinados mediante análisis de
micrografías TEM para la síntesis de NPs-Ag con el uso del
copolímero quitosano-graft-poli(etilenglicol)metiléter.

| [Ag⁺] mM | Diámetro de NPs-Ag, nm |
|-------------|---------------------------|
| 0,2 | 69,5 ± 21,5 |
| 0,4 | 25,0 ± 10,1 |

V.8.2.5 Conclusión preliminar para la síntesis de nanopartículas de plata

En general, en las síntesis ensayadas con los copolímeros se obtienen partículas de plata de tamaño nanométrico, las cuales se diferencian por la cantidad, distribución, tamaños y formas en cada caso. Por lo tanto, se establece que es posible el uso de cada uno de estos copolímeros en la síntesis y estabilización de nanopartículas metálicas de plata.

Para las nanopartículas de plata, sintetizadas con el uso de quitosano, se aprecia que estas presentan un menor tamaño y mayor cantidad, respecto a las sintetizadas con los copolímeros de injerto, aun cuando estas son más difusas, se logra apreciar su presencia.

Por otro lado, para el copolímero Q-*g*-PCL con una concentración de Ag⁺ de 0,4 mM, se logra apreciar una alta población de nanopartículas, con tamaños homogéneas, aunque su forma no se puede definir claramente debido a la baja resolución de las imágenes logradas, lo cual, *a priori* podríamos asignar a formas esféricas.

Para el caso de las nanopartículas de plata sintetizadas con el copolímero Q-*g*-PVP, se observa una menor concentración, en comparación a las obtenidas con el quitosano y el copolímero Q-*g*-PCL. Esto, se puede relacionar con las intensidades de las bandas de absorción, las cuales, resultaron ser menores para este caso.

Por último, para la síntesis de nanopartículas de plata con el uso del copolímero Q-*g*-MPEG, se aprecian diversas morfologías, las cuales parecieran no ser esféricas, sino más bien un tipo de poliedro. Las nanopartículas obtenidas para una concentración de Ag^+ de 0,2 mM, resultaron ser las de mayor tamaño en comparación con las obtenidas con quitosano y los copolímeros Q-*g*-PCL y Q-*g*-PVP.

Un resumen de las observaciones más importantes realizadas para cada polímero en la síntesis de nanopartículas de plata, son expuestos en la Tabla V-23.

Tabla V-23Resumen de observaciones para la síntesis de nanopartículas
de plata con el uso de quitosano y los copolímeros
sintetizados.

| Observaciones | Quitosano | Q-g-PCL | Q-g-PVP | Q-g-MPEG |
|--------------------------------------|-----------|---------|---------|----------|
| Presencia de NPs-Ag | Si | Si | Si | Si |
| Mayor absorbancia UV-Vis (ua) | 0,56 | 0,59 | 0,50 | 0,47 |
| Mayor aglomeración | + | | | |
| NPs de mayor tamaño | | | | + |
| NPs de menor tamaño | + | | | |
| Mayor distribución de tamaños de NPs | | | | + |
| Mayor homogeneidad de NPs | + | | | |
| Variedad de formas de las NPs | | + | | |

V.8.3 Nanopartículas de platino

La síntesis de nanopartículas de platino (NPs-Pt) se realizó mezclando soluciones de distintas concentraciones de iones de platino (Pt²⁺) con soluciones poliméricas de quitosano y los copolímeros quitosano-*graft*-poli(ϵ -caprolactona), quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) y quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter, a una concentración de 0,5 g/L. Todas las síntesis fueron llevadas a cabo a 95 °C. Las soluciones de Pt²⁺ fueron preparadas por solubilización de la sal de tetracloroplatinato (II) de potasio (K₂PtCl₄) en agua Milli-Q. Las concentraciones ensayadas correspondieron a 0,1 mM, 0,3 mM, 0,6 mM, 1,0 mM y 1,5 mM del ion Pt²⁺.

Cada una de las síntesis de nanopartículas fue monitoreada mediante espectroscopía UV-Vis y los productos caracterizados mediante DLS, potencial Z y TEM.

V.8.3.1 Espectroscopía UV-Vis para NPs-Pt

En esta sección, se presentan los resultados a los seguimientos de la síntesis de nanopartículas de platino, mediante el uso de las absorbancias medidas por espectroscopía UV-Vis, considerando las distintas concentraciones de la sal de platino y cada uno de los polímeros utilizados como agente reductor de los iones metálicos y estabilizante de las nanopartículas formadas. Para las mediciones UV-Vis, se utilizó como blanco en cada caso la solución de polímero mezclada con cada solución de la sal de platino a tiempo cero de reacción.

Se ha reportado que las nanopartículas de platino pueden presentar espectros de absorción diferentes que dependerán de la metodología y estabilizantes utilizados, obteniéndose en general bandas con dos máximos de absorbancias. Por ejemplo, bandas cercanos a 350 y 425 nm para el caso de las síntesis con el uso de hidracina y estabilizados con quitosano¹²⁸, entre 230 y 280 nm para nanopartículas de platino encapsuladas en proteínas¹²⁹ o con valores de 216 y 264 nm para nanopartículas obtenidas por procesos de síntesis mediante radiación con el uso de PVP como estabilizante¹³⁰. Estos dos máximos, están relacionados con dos niveles energéticos del platino (n=5; l=2 ó 5d y n=6; l=0 ó 6s) que pueden encontrarse solapados. Para todos los casos, dichas absorbancias sufren un incremento al aumentar la cantidad de nanopartículas de platino presentes.

V.8.3.1.1 Nanopartículas de platino con quitosano

La síntesis de las nanopartículas de platino con el uso de quitosano como agente reductor de los iones metálicos y estabilizante de dichas nanopartículas para distintas concentraciones de platino, dio como resultado las soluciones mostradas en la Figura V-43.



Figura V-43 Soluciones producto de la síntesis de NPs-Pt con el uso de quitosano como reductor y estabilizante a distinta concentración de Pt²⁺.

Para la verificación de la formación de nanopartículas se realizó el seguimiento en función del tiempo de la reacción mediante espectroscopía UV-Vis, registrando la absorbancia obtenida vs la longitud de onda correspondiente. Los resultados obtenidos se muestran en la Figura V-44





En la Figura V-44, se observa que, al transcurrir el tiempo de reacción y al aumentar la concentración de la sal de platino, se produce un incremento de las absorbancias correspondientes al producto de esta reacción (NPs-Pt). Las absorbancias exhibidas, presentan una banda con dos máxinos siendo el primero cercano a 230-245 nm y el segundo a 260 nm. Además, se observa que a medida que aumenta la concentración de platino y el tiempo de la reacción, el máximo correspondiente a 230 nm se ve disminuido frente al aumento del máximo a 260 nm. Este efecto puede estar relacionado a los niveles energéticos del platino. A medida que aumenta su concentración, las interacciones involucradas hacen posible la presencia de un nivel o especie a expensas de la otra. Posiblemente los máximos de absorción provengan de la

banda de conducción de electrones que se excitan al interactuar con el campo electromagnético UV-Visible, estos máximos se originarían a partir de las transiciones intrabandas de los electrones de la banda de conducción 5d (n=5, l=2) y 6s (n=6,l=0) a estados de energía mayores, lo que entregaría dos máximos de absorbancias correspondientes a cada estado electrónico del platino.¹³⁰

V.8.3.1.2 Nanopartículas de platino con quitosano-graft-poli(ɛ-caprolactona)

Para la síntesis de nanopartículas metálicas de platino con el uso de copolímero quitosano-*graft*-poli(ε -caprolactona), se obtienen como producto soluciones como las mostradas en la Figura V-45, las que corresponden a los productos obtenidos con distintas concentraciones de la sal de platino en solución.

| B1 #3* | B2 #35 | Basar | E4#3* | B5#3* |
|--------|--------|-------|-------|-------|
| | | | | |

Figura V-45Soluciones producto de la síntesis de NPs-Pt con el uso de
quitosano-graft-poli(ε-caprolactona)como
reductory
estabilizante a distintas concentraciones de Pt2+.

El seguimiento de la síntesis de nanopartículas de platino con el uso del copolímero quitosano-*graft*-poli(ε -caprolactona) se realizó mediante espectroscopía UV-Vis, registrando la variación de la absorbancia a través del tiempo para las distintas concentraciones de la sal de platino, como se muestra en la Figura V-46.





En la Figura V-46 se observan claramente dos máximos de absorbancia para cada concentración de muestra con valores cercanos a 240 y 260 nm respectivamente. Estos máximos aumentan en intensidad a medida que se incrementa la concentración de la sal y el tiempo de reacción. Adicionalmente, se observan máximos de absorbancia superiores con el copolímero en comparación a la síntesis con quitosano. En el caso de bajas concentraciones de la sal de platino, el máximo de menor valor es menos definido, lo cual puede deberse a una distribución de las nanopartículas en sus dos niveles energéticos. Por otro lado, y al igual que el caso anterior, se aprecia que hay un cambio de valor en el máximo de absorbancia, lo que nuevamente puede relacionarse al cambio de los niveles energéticos que sufre el platino al ir aumentando su concentración o las interacciones que experimente con el polímero.

V.8.3.1.3 Nanopartículas de platino con quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2pirrolidona)

La síntesis de nanopartículas de platino con el uso del copolímero de quitosano-*graft*-poli*(N*-vinil-2-pirrolidona) a distintas concentraciones de la sal de platino disueltas, dio como resultados las soluciones mostradas en la Figura V-47, donde se observa un aumento de la tonalidad anaranjada-amarilla a medida que la concentración inicial del ion Pt²⁺ aumenta.



Figura V-47 Soluciones de NPs-Pt a distintas concentraciones de la sal de platino, sintetizadas con el uso del copolímero quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) como reductor y estabilizante de dichas nanopartículas.

El seguimiento de la síntesis de nanopartículas de platino con el uso del copolímero de quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) mediante espectroscopía UV-Vis da como resultado los espectros de absorción presentados en la Figura V-48, donde se aprecia un aumento de la absorbancia en relación al tiempo de reacción y al aumento de la concentración inicial de la sal de platino. Nuevamente se obtienen dos máximos que corresponderían a los niveles energéticos del platino.





Estos máximos de absorbancia que aparecen a longitudes de onda de 240 y 260 nm respectivamente, corresponderían cada uno a un nivel energético del platino.

V.8.3.1.4 Nanopartículas de platino con quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter

La síntesis de nanopartículas de platino con el uso del copolímero quitosano-*graft*-(etilenglicol)metil éter como reductor y estabilizante, da como resultado las soluciones expuestas en la Figura V-49, donde se observa un cambio de tonalidad al aumentar la concentración de sal inicial.


Figura V-49 Soluciones de NPs-Pt a distintas concentraciones, sintetizadas con el copolímero quitosano-graftpoli(etilenglicol)metiléter como reductor y estabilizante de dichas nanopartículas.

El seguimiento de la síntesis de nanopartículas de platino con el uso del copolímero de quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metiléter fue realizado mediante el uso de espectroscopía UV-Vis como se muestra en la Figura V-50. En los espectros de absorción se logra apreciar que a medida que transcurre la reacción, se produce un incremento de la banda de absorbancia, la cual, a la vez aumenta cuando se tiene una mayor concentración de la sal de platino disuelta.



Figura V-50 Espectros UV-Vis para el seguimiento de la síntesis de NPs-Pt con el uso de quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter como reductor y estabilizante de nanopartículas a concentraciones de la sal de platino de a) 0,1 mM; b) 0,3 mM;
c) 0,6 mM, d) 1,0 mM y e) 1,5 mM.

Al igual que para el caso de los polímeros anteriores, se observan dos máximos de absorbancia en valores cercanos a 240 y 260 nm aproximadamente. Estos, como se ha mencionado anteriormente, corresponderían a dos niveles energéticos distintos del platino.¹³⁰

V.8.3.2 Difusión de luz dinámica

La estimación de la distribución de los tamaños de las nanopartículas de platino sintetizadas fue realizada mediante la técnica de

difusión de luz dinámica. Los resultados para cada sistema son presentados a continuación.

V.8.3.2.1 Síntesis de NPs-Pt con quitosano

La estimación de la distribución de tamaños mediante DLS, para la síntesis de nanopartículas de platino con quitosano a distintas concentraciones de la sal de platino, son presentados en la Figura V-51.



Figura V-51 Distribución de tamaños mediante DLS para la síntesis de NPs-Pt con quitosano a concentraciones de K₂PtCl₄ de a) 0,0 mM; b) 0,1 mM; c) 0,3 mM; d) 0,6 mM; e) 1,0 mM y f) 1,5 mM.

En la Figura V-51, se observa que en el caso del quitosano puro y quitosano con concentración más diluida de la sal de platino (0,1 mM) no se observan nanopartículas, mientras que cuando la concentración de Pt²⁺

aumenta se obtienen más de una población de a valores próximos a 100 nm y 870 nm, las que indicarían la presencia de nanopartículas de platino y algún agregado de nanopartículas formado debido a la interacción del polímero con las mismas.

Los resultados de las distribuciones de tamaños son presentados en la Tabla V-24.

de NPs-Pt con quitosano.

 Pico 1
 Pico 2
 Pico 3

 Muestra
 Diámetro
 Población
 Diámetro
 Población

Distribución de tamaño de partículas por DLS para la síntesis

Tabla V-24

| | PIC | 0 1 | PICC |) Z | FICO 3 | |
|-------------------------|------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|
| Muestra | Diámetro | Población | Diámetro | Población | Diámetro | Población |
| | nm | % | nm | nm % | | % |
| Quitosano | 1,0±0,2 | 100,00 | - | - | - | - |
| Pt ²⁺ 0,1 mM | 1,0±0,2 | 100,00 | - | - | - | - |
| Pt²⁺ 0,3 mM | 202,8±35,5 | 18,77 | 860,0±140,0 | 81,23 | - | - |
| Pt ²⁺ 0,6 mM | 163,3±27,3 | 21,82 | 866,2±117,1 | 78,18 | - | - |
| Pt²⁺ 1,0 mM | 54,0±5,3 | 26,31 | 861,3±138,7 | 73,69 | | |
| Pt ²⁺ 1,5 mM | 7,2±1,0 | 1,16 | 150,9±25,5 | 43,37 | 870,2±115,6 | 55,46 |

V.8.3.2.2 Síntesis de NPs-Pt con quitosano-graft-poli(ɛ-caprolactona)

La síntesis de nanopartículas de platino con el uso del copolímero quitosano-*graft*-(ε -caprolactona), da como resultado las distribuciones de tamaños como las mostradas en Figura V-52. Se observa que, tanto para el copolímero quitosano-*graft*-(ε -caprolactona) como su mezcla con las soluciones de platino a distintas concentraciones, existe una población de gran tamaño, que estaría relacionada al comportamiento del copolímero en el medio que se encuentra, pudiendo estar originando algún tipo de agregado. Para el caso de las mezclas con las distintas concentraciones de la sal de platino, se observan poblaciones de tamaños cercanos a 100 nm y otros de valores inferiores. Estas nuevas poblaciones indicarían la presencia de nanopartículas metálicas de platino o una mezcla de nanopartículas junto a agregados de nanopartículas con el polímero.





Los resultados de las distribuciones de tamaños obtenidos para la síntesis de nanopartículas de platino con el uso del copolímero quitosanograft-poli(ε-caprolactona), son presentados en la Tabla V-25. Al igual que el caso anterior, aun cuando los valores de distribuciones consideran partículas de tamaños nanométricos, éstas pueden estar distorsionadas por las interacciones del polímero con las nanopartículas.

| | de NPs-Pt co | | con copo | olímero | quitosano <i>-graft-</i> poli(ε | |
|-------------------------|--------------|-----------|-------------|-----------|---------------------------------|-----------|
| | caprola | ctona). | | | | |
| | Pic | o 1 | Pice | o 2 | Pico | o 3 |
| Muestra | Diámetro | Población | Diámetro | Población | Diámetro | Población |
| | nm | % | nm | % | nm | % |
| Q-PCL | 27,7±3,6 | 1,38 | 547,6±117,7 | 98,62 | - | - |
| Pt ²⁺ 0,1 mM | 216,6±26,8 | 30,60 | 749,2±149,8 | 69,40 | - | - |
| Pt ²⁺ 0,3 mM | 12,2±1,2 | 1,08 | 62,7±11,0 | 8,91 | 338,3±62,6 | 90,01 |
| Pt ²⁺ 0,6 mM | 22,7±3,3 | 2,31 | 217,9±38,4 | 45,25 | 712,8±135,4 | 52,44 |
| Pt ²⁺ 1,0 mM | 30,1±4,0 | 1,44 | 258,5±44,7 | 40,85 | 747,2±143,6 | 57,70 |
| Pt ²⁺ 1.5 mM | 10.1±1.3 | 1.67 | 93.9±11.0 | 14.65 | 229.5±31.2 | 83.68 |

Tabla V-25 Distribución de tamaño de partículas por DLS para la síntesis

V.8.3.2.3 Síntesis de NPs-Pt con quitosano-graft-poli(N-vinil-2-pirrolidona)

La síntesis de nanopartículas de platino con el uso del copolímero de quitosano-graft-poli(N-vinil-2-pirrolidona), da como resultado de sus análisis por DLS las distribuciones de tamaños en solución que se muestran en la Figura V-53. Al igual que para los casos anteriores, se observan poblaciones cercanas a 100 nm que pueden relacionarse con la presencia de las nanopartículas de platino o una mezcla de nanopartículas junto a agregados con el polímero.





Los valores de las distribuciones aquí obtenidas son presentados en la Tabla V-26. Al igual que los casos anteriores, los valores de distribuciones consideran partículas de tamaños nanométricos, que pueden estar distorsionados por las interacciones del polímero con las nanopartículas.

Tabla V-26Distribución de tamaños de partículas por DLS para la síntesis
de NPs-Pt con el copolímero quitosano-g-poli(N-vinil-2-
pirrolidona).

| | Pico 1 Diámetro Población | | Pïco | o 2 | Pico 3 | |
|-------------------------|------------------------------|--------|--------------------------|-------|-------------|-----------|
| Muestra | | | ación Diámetro Población | | Diámetro | Población |
| | nm | % | nm | % | nm | % |
| Q-PVP | 116,0±13,9 | 2,32 | 227,9±16,9 | 14,76 | 855,2±144,8 | 82,92 |
| Pt ²⁺ 0,1 mM | 21,6±5,8 | 0,89 | 32,8±3,7 | 1,28 | 246,7±55,1 | 97,83 |
| Pt ²⁺ 0,3 mM | 82,3±13,9 | 3,19 | 349,0±52,3 | 50,66 | 844,0±82,7 | 46,15 |
| Pt ²⁺ 0,6 mM | 246,4±57,7 | 100,00 | - | - | - | - |
| Pt ²⁺ 1,0 mM | 114,4±21,0 | 10,55 | 562,0±117,5 | 89,45 | - | - |
| Pt ²⁺ 1,5 mM | 1,0±0,2 | 100,00 | - | - | - | - |

V.8.3.2.4 Síntesis de NPs-Pt con quitosano-graft-poli(etilenglicol)metil éter

En el caso de la síntesis de nanopartículas de platino con el uso de copolímero quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter, se obtuvieron para las distintas concentraciones de la sal de platino, las distribuciones de tamaño mostradas en la Figura V-54.





Los resultados de los análisis de distribución tamaños mediante difusión de luz dinámica son presentados en la Tabla V-27. Al igual que para los casos anteriores, a pesar de observarse la presencia de partículas de tamaño nanométrico, los valores en general pueden estar distorsionados debido a las interacciones que pueden existir entre el polímero y las nanopartículas, lo cual da como resultados valores que no son acordes a lo esperado. En la Tabla V-27 se resumen los valores de distribuciones de tamaño del análisis DLS de las nanopartículas de platino sintetizadas con el uso del copolímero quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter.

| Tabla V-27 | Distribución de tamaños de partículas por DLS para la síntesis | | | | | |
|------------|--|---------------|----------|-----|------------|--------------------------|
| | de | NPs-Pt | con | el | copolímero | quitosano <i>-graft-</i> |
| | poli(| etilenglicol) | metiléte | er. | | |

| | Pico 1 | | Pico | o 2 | Pico 3 | |
|-------------------------|------------|-----------|-------------|-----------|-------------|-----------|
| Muestra | Diámetro | Población | Diámetro | Población | Diámetro | Población |
| | nm | % | nm | % | nm | % |
| Q-MPEG | 235,6±12,1 | 12,66 | 859,9±140,1 | 87,34 | - | - |
| Pt ²⁺ 0,1 mM | 4,7±0,4 | 4,45 | 213,2±40,3 | 16,82 | 862,1±117,7 | 78,73 |
| Pt ²⁺ 0,3 mM | 63,6±10,2 | 9,26 | 330,7±56,4 | 90,74 | - | - |
| Pt ²⁺ 0,6 mM | 14,4±1,5 | 2,38 | 52,1±6,5 | 6,25 | 213,3±35,5 | 91,37 |
| Pt ²⁺ 1,0 mM | 7,6±0,7 | 1,06 | 126,3±19,3 | 28,27 | 530,8±72,7 | 70,67 |
| Pt ²⁺ 1,5 mM | 14,2±2,4 | 1,10 | 148,7±25,0 | 41,03 | 869,9±115,3 | 57,87 |

V.8.3.3 Potencial Z

La determinación de la estabilidad de las nanopartículas de platino sintetizadas con los distintos polímeros fue determinada mediante los valores de potencial Z. En la Tabla V-28 se presentan los valores para cada uno de los sistemas, donde se observa que, en todos los casos, las muestras presentan una buena estabilidad. Sin embargo, esta estabilidad disminuye a medida que aumenta la concentración de platino.

| | | | 55 utilizados. | | | |
|-------------------------------------|-------------------|-------|----------------|--------|--|--|
| [K ₂ PtCl ₄] | Potencial Z mV | | | | | |
| mw | Quitosano | Q-PCL | Q-PVP | Q-MPEG | | |
| 0,1 | 39,3 | 35,7 | 38,3 | 40,3 | | |
| 0,3 | 41,3 | 36,1 | 39,6 | 45,1 | | |
| 0,6 | 39,1 | 30,8 | 34,7 | 42,4 | | |
| 1,0 | 39,0 | 24,4 | 32,7 | 36,0 | | |
| 1,5 | 32,8 | 17,9 | 26,4 | 31,8 | | |

| Tabla V-28 | Potencial Z para las soluciones de nanopartículas de platino, |
|------------|---|
| | respecto a los distintos polímeros utilizados. |

V.8.3.4 Microscopía de transmisión electrónica para NPs-Pt

Mediante la microscopía de transmisión electrónica, se busca establecer la presencia de nanopartículas de platino, corroborar su tamaño y determinar su forma.

V.8.3.4.1 Nanopartículas de platino con quitosano

Los resultados del análisis mediante microscopía de transmisión electrónica para la síntesis y estabilización de nanopartículas de platino con el uso de quitosano son expuestos en la Figura V-55.



Figura V-55 Micrografías TEM para nanopartículas de platino sintetizadas con el uso de quitosano como reductor y estabilizador para concentraciones de la sal de platino de a) 0,6 mM y b) 1,5 mM, junto a las distribuciones de tamaños y sus respetivos espectros UV-Vis.

De las micrografías obtenidas se ve claramente la presencia de nanopartículas metálicas de platino. Los valores medios de los tamaños y sus desviaciones son presentados en la Tabla V-29. Se observa que al aumentar la concentración de platino, existe un aumento en el tamaño medio de las nanopartículas. Sin embargo, en ambos casos son nanopartículas muy pequeñas menores a 12,0 nm de diámetro.

Tabla V-29Tamaños de partículas determinados mediante análisis de
micrografías TEM para la síntesis de NPs-Pt con el uso de
quitosano.

| [Pt ²⁺] | Diámetro |
|---------------------|------------|
| mM | nm |
| 0,6 | 8,7 ± 2,9 |
| 1,5 | 12,0 ± 3,9 |

V.8.3.4.2 Nanopartículas de platino con quitosano-graft-poli(ɛ-caprolactona)

Las micrografías obtenidas desde el microscopio de transmisión electrónica para los productos de las síntesis y estabilización de nanopartículas de platino con el uso del copolímero quitosano-*graft*-poli(ε-caprolactona) son presentados en la Figura V-56



Figura V-56 Micrografías TEM de nanopartículas de platino sintetizadas con el copolímero quitosano-graft-poli(ε-caprolactona) a concentraciones de su sal de a) 0,6 mM y b) 1,5 mM, junto a las distribuciones de tamaños y sus espectros UV-Vis.

Los resultados de los análisis de las micrografías son presentados en la Tabla V-30. Se observa, al contrario del caso anterior, que al aumentar la concentración de platino los tamaños medios de nanopartículas disminuyen. Para ambos casos, los tamaños medios de las nanopartículas sintetizadas no superan los 10 nm. Tabla V-30Tamaños de partículas determinados mediante análisis de
micrografías TEM para la síntesis de NPs-Pt con el uso de
copolímero quitosano-graft-poli(ε-caprolactona)

| [Pt ²⁺] mM | Diámetro |
|---------------------------|-----------|
| 0,6 | 9,5 ± 2,1 |
| 1,5 | 8,6 ± 2,2 |

V.8.3.4.3 Nanopartículas de platino con quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2pirrolidona)

Los resultados de los análisis de microscopia de transmisión electrónica para la síntesis y estabilización de nanopartículas de platino con el uso del copolímero de quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) son presentados en la Figura V-57. En este caso, sólo fue posible la obtención de las micrografías correspondientes a la síntesis de nanopartículas a concentraciones a la sal de platino de 1,5 mM. En esta se observa la presencia de puntos oscuros correspondientes a centros de mayor densidad electrónica relacionado con la presencia de nanopartículas de platino.



Figura V-57 Micrografías TEM para la síntesis de nanopartículas de platino con el uso del copolímero quitosano-*graft*-poli(*N*-vinil-2pirrolidona) como reductor y estbilizador de dichas nanopartículas a una concentración de la sal de platino de 1,5 mM junto a las distribución de tamaños y su espectro UV-Vis. Los resultados de los análisis de tamaño de la micrografía para la síntesis de nanopartículas de platino son presentados en la Tabla V-31, donde se aprecia que éstas no superan como promedio 7,6 nm.

Tabla V-31Tamaños de partículas determinados mediante análisis de
micrografías TEM de la síntesis de NPs-Pt con el uso de
copolímero quitosano-graft-poli(N-vinil-2-pirrolidona)

| [Pt ²⁺] mM | Diámetro nm |
|---------------------------|----------------|
| 0,6 | - |
| 1,5 | 7,6 ± 1,8 |

V.8.3.4.4 Nanopartículas de platino con quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter

Los resultados de los análisis de microscopía de transmisión electrónica de nanopartículas de platino sintetizadas con el copolímero quitosano-*graft*-poli(etilenglicol)metil éter son presentados en la Figura V-58, donde se puede apreciar la presencia de nanopartículas metálicas de platino.



Figura V-58 Micrografías TEM para NPs-Pt sintetizadas con el uso de Q-*g*-MPEG junto a sus respectivas distribuciones de tamaños y espectro UV-Vis.

De los análisis de las micrografías se obtienen los tamaños de partículas expuestos en la Tabla V-32. Aquí se observa claramente que los

tamaños de las nanopartículas para la solución más concentrada no superan en promedio los 10 nm.

Tabla V-32Tamaños de partículas determinados mediante análisis de
micrografías TEM para la síntesis de NPs-Pt con el uso de
copolímero quitosano-graft-poli(etilenglicol)metil éter.

| [Pt ²⁺] mM | Diámetro nm |
|---------------------------|----------------|
| 0,6 | - |
| 1,5 | $9,9 \pm 2,2$ |

V.8.3.5 Conclusión preliminar para la síntesis de nanopartículas de platino

En general, se puede establecer que, para la totalidad de los polímeros utilizados en la síntesis de nanopartículas metálicas de platino, se logra la obtención de partículas con tamaños inferiores a los 12 nm. Esto, confirma la capacidad de estos polímeros para actuar como reductores de los iones metálicos y posterior estabilización de las nanopartículas.

La síntesis nanopartículas de platino con quitosano, dio como resultado nanopartículas de tamaños similares para las distintas concentraciones de sal utilizadas, siendo notoria la formación de agregados a concentración de 1,5 mM de Pt²⁺.

El uso del copolímero Q-*g*-PCL a una concentración de 0,6 mM de Pt²⁺ dio como resultado nanopartículas más definidas. Para la concentración de 1,5 mM de Pt²⁺ se observa la formación de agregados.

Para la síntesis de nanopartículas de platino con Q-g-PVP y Q-g-MPEG, se aprecia la presencia de un gran número de partículas con una distribución homogéneo y tamaños similares.

Un resumen de las observaciones más importantes realizadas para cada polímero en la síntesis de nanopartículas de platino, son expuestos en la Tabla V-33

Tabla V-33Resumen de observaciones para la síntesis de nanopartículas
de platino con el uso de quitosano y los copolímeros
sintetizados.

| Observaciones | Quitosano | Q-g-PCL | Q-g-PVP | Q-g-MPEG |
|--------------------------------------|-----------|---------|---------|----------|
| Presencia de NPs-Pt | Si | Si | Si | Si |
| Mayor absorbancia UV-Vis (ua) | 1,17 | 1,39 | 1,09 | 1,19 |
| Mayor aglomeración | + | | | |
| NPs de mayor tamaño | + | | | |
| NPs de menor tamaño | | | + | |
| Mayor distribución de tamaños de NPs | + | | | |
| Mayor homogeneidad de NPs | | | + | |
| Variedad de formas de las NPs | | + | | |

VI. CONCLUSIONES

A partir de los resultados obtenidos de este trabajo de Tesis, se puede concluir:

- Fue posible realizar la inserción de unidades poliméricas de poli(ε-caprolactona), poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) y poli(etilenglicol)metiléter en cadenas de quitosano
- Se lograron distintos grados de inserción de cadenas poliméricas sobre quitosano, siendo superiores para el caso de la poli(ε-caprolactona) con una adición por sobre el 600 %, continuada por la poli(*N*-vinil-2-pirrolidona) con una inserción cercana al 25 % y con un mínimo para la macromolécula de MPEG, con un valor cercano al 12 %. En orden decreciente, el porcentaje de inserción alcanzado es PCL>>PVP>MPEG
- El grado de inserción de cadenas laterales alcanzado para cada copolímero puede relacionarse al tamaño de las moléculas a injertar, la capacidad de interacción de sus grupos reactivos y el tipo de mecanismo de polimerización asociada.
- Los copolímeros de quitosano sintetizados presentaron un aumento de la solubilidad en agua en comparación a quitosano sin injertar, presentando solubilidades similares en soluciones levemente ácidas. La mayor solubilidad en agua se logró apreciar en los copolímeros que fueron sintetizados sobre quitosano de bajos peso molecular. La solubilidad del quitosano y los copolímeros Q-g-PCL, Q-g-PVP y Q-g-MPEG en un medio acuoso, dependerá del pH de la solución

- Se logró solubilizar los copolímeros de injerto obtenidos a partir de quitosano con tamaños menores a los 42.000 g/mol.
- No se logró ampliar la capacidad de solubilidad de los copolímeros respecto al quitosano, para solventes como DMF, DMSO, Piridina, metanol y cloroformo.
- La síntesis de nanopartículas de oro y platino, fueron realizadas en un medio ácido homogéneo, a diferencia de la síntesis de nanopartículas de plata que fue necesario un medio básico con la consecuente pérdida de solubilidad de los polímeros. Esto puede indicar que el proceso de reducción de las nanopartículas se lleva a cabo por distintas vías, las que dependerán del metal para un mismo tipo de polímero
- Se logró la síntesis de nanopartículas de oro, plata y platino de acuerdo con distintas condiciones experimentales. Los resultados apuntan a que la solubilidad de los polímeros es un factor clave para la estabilización de las nanopartículas formadas, lográndose establecer que: para una misma cantidad de polímero y un mismo ion metálico, a mayor concentración del ion se puede obtener una mayor concentración de nanopartículas
- El quitosano y los copolímeros de injerto sintetizados Q-g-PCL, Q-g-PVP y Q-g-MPEG presentan capacidades de reducir los iones metálicos de Au³⁺, Ag⁺ y Pt²⁺, en un medio acuoso, además de permitir la estabilización de las nanopartículas formadas. Esto debido a sus respectivos grupos funcionales

hidroxilo, amino, carbonilos y dobles enlaces presentes, los que permiten la reducción de los iones metálicos y la estabilización de las nanopartículas.

- Para el copolímero de injerto de Q-*g*-MPEG no se logró establecer la presencia de nanopartículas de oro.
- La mayor variedad de morfologías se dio para el caso de las nanopartículas de oro con el uso del copolímero Q-g-PVP, siendo posible obtener nanopartículas con geometrías triangulares, hexagonales, esféricas, entre otras. Esto se puede atribuir la presencia de PVP en la estructura polimérica, la que ha demostrado en diversos estudios, que permite la generación de nanopartículas con diversas morfologías
- Las nanopartículas con geometría más irregulares resultaron ser las de plata, las cuales no presentaron formas muy definidas, que puede estar relacionada a las limitaciones y capacidad de equipo utilizado
- Las nanopartículas de platino resultaron ser esféricas, más homogéneas y de menor tamaño que el resto de los metales, no superando los 10 nm de diámetro
- En general, los polímeros presentaron diferencias en la síntesis y estabilización de nanopartículas, las cuales se diferenciaron en forma, cantidad, tamaños y distribución, dando diversas posibilidades para la obtención de nanopartículas

 Es posible sintetizar nanopartículas de oro, plata y platino en un medio acuoso, mediante una metodología simple, sin uso de reactivos adicionales y que pueden ser nocivos para el medio ambiente.

REFERENCIAS

- Turek, P.; Budzik, G.; Oleksy, M.; Bulanda, K. Polymer Materials Used in Medicine Processed by Additive Techniques. *Polimery* 2020, 65 (07/08), 510–515. https://doi.org/10.14314/polimery.2020.7.2.
- (2) Asadi, N.; Del Bakhshayesh, A. R.; Davaran, S.; Akbarzadeh, A. Common Biocompatible Polymeric Materials for Tissue Engineering and Regenerative Medicine. *Mater. Chem. Phys.* **2020**, *242*, 122528. https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.122528.
- Zarrintaj, P.; Jouyandeh, M.; Ganjali, M. R.; Hadavand, B. S.; Mozafari, M.; Sheiko, S. S.; Vatankhah-Varnoosfaderani, M.; Gutiérrez, T. J.; Saeb, M. R. Thermo-Sensitive Polymers in Medicine: A Review. *Eur. Polym. J.* 2019, *117* (May), 402–423. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2019.05.024.
- (4) Ferreira, F.; Pinheiro, I.; de Souza, S.; Mei, L.; Lona, L. Polymer Composites Reinforced with Natural Fibers and Nanocellulose in the Automotive Industry: A Short Review. *J. Compos. Sci.* **2019**, *3* (2), 51. https://doi.org/10.3390/jcs3020051.
- (5) Kumar, R.; Ul Haq, M. I.; Raina, A.; Anand, A. Industrial Applications of Natural Fibre-Reinforced Polymer Composites – Challenges and Opportunities. Int. J. Sustain. Eng. 2019, 12 (3), 212–220. https://doi.org/10.1080/19397038.2018.1538267.
- (6) Billmeyer, F. W. La Ciencia de Las Macromoléculas. In *Ciencia de los polímeros*; Reverté, 1975; pp 6–7.
- Horta Zubiaga, A. *Macromoléculas*; Madrid : Universidad Nacional de Educación a Distanica: Madrid, 1991.
- (8) Seymour, R. B.; Carraher, C. E. Introducción a La Química de Los Polímeros; Reverté, 1995; pp 181–235.
- (9) Nagel, B.; Dellweg, H.; Gierasch, L. M. Glossary for Chemists of Terms Used in Biotechnology (IUPAC Recommendations 1992). *Pure Appl.*

Chem. **1992**, *64* (1), 143–168. https://doi.org/10.1351/pac199264010143.

- Williams, D. F. There Is No Such Thing as a Biocompatible Material.
 Biomaterials 2014, 35 (38), 10009–10014.
 https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2014.08.035.
- (11) Yu, H.; Wang, W.; Chen, X.; Deng, C.; Jing, X. Synthesis and Characterization of the Biodegradable Polycaprolactone-Graft-Chitosan Amphiphilic Copolymers. *Biopolymers* **2006**, *83* (3), 233–242. https://doi.org/10.1002/bip.20551.
- (12) Gargallo, L.; Pérez-Cotapos, J.; Santos, J. G.; Radić, D. Poly(N-Vinyl-2-Pyrrolidone)-Monoalkyl Xanthates.
 1. Adsorption and Chemical Reaction. *Langmuir* 1993, 9 (51), 681–684.
- Bartolozzi, I.; Solaro, R.; Schacht, E.; Chiellini, E. Hydroxyl End-Capped Macromers of N-Vinyl-2-Pyrrolidinone as Precursors of Amphiphilic Block Copolymers. *Eur. Polym. J.* 2007, *43* (11), 4628–4638. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2007.08.011.
- Park, I. K.; Ihm, J. E.; Park, Y. H.; Choi, Y. J.; Kim, S. I.; Kim, W. J.; Akaike, T.; Cho, C. S. Galactosylated Chitosan (GC)-Graft-Poly(Vinyl Pyrrolidone) (PVP) as Hepatocyte-Targeting DNA Carrier. Preparation and Physicochemical Characterization of GC-Graft-PVP/DNA Complex (1). *J. Control. Release* 2003, *86* (2–3), 349–359.
- (15) Koczkur, K. M.; Mourdikoudis, S.; Polavarapu, L.; Skrabalak, S. E.
 Polyvinylpyrrolidone (PVP) in Nanoparticle Synthesis. *Dalt. Trans.* 2015, 44 (41), 17883–17905. https://doi.org/10.1039/C5DT02964C.
- (16) Hoppe, C. E.; Lazzari, M.; Pardiñas-Blanco, I.; López-Quintela, M. A. One-Step Synthesis of Gold and Silver Hydrosols Using Poly(N-Vinyl-2-Pyrrolidone) as a Reducing Agent. *Langmuir* **2006**, *22* (16), 7027–7034. https://doi.org/10.1021/la060885d.
- (17) Leiva, A.; Méndez, M.; Pino, M.; Radić, D. In Situ Synthesis of Gold Nanoparticles at the Air–Water Interface. Spontaneous Reduction of

Au(III) by Poly(N-Vinyl-2-Pyrrolidone) Monolayers. *Eur. Polym. J.* **2013**, *49* (8), 2128–2137. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2013.04.024.

- (18) Chung, T. W.; Cho, K. Y.; Lee, H. C.; Nah, J. W.; Yeo, J. H.; Akaike, T.; Cho, C. S. Novel Micelle-Forming Block Copolymer Composed of Poly (ε- Caprolactone) and Poly(Vinyl Pyrrolidone). *Polymer (Guildf)*. 2004, 45 (5), 1591–1597. https://doi.org/10.1016/j.polymer.2003.12.074.
- (19) Yazdani-Pedram, M.; Retuert, J. Homogeneous Grafting Reaction of Vinyl Pyrrolidone onto Chitosan. J. Appl. Polym. Sci. 1997, 63 (10), 1321–1326. https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19970307)63:10<1321::AID-APP11>3.0.CO;2-7.
- (20) Fangkangwanwong, J.; Akashi, M.; Kida, T.; Chirachanchai, S. One-Pot Synthesis in Aqueous System for Water-Soluble Chitosan-Graft-Poly(Ethylene Glycol) Methyl Ether. *Biopolymers* 2006, *82* (6), 580–586. https://doi.org/10.1002/bip.20511.
- (21) Ganji, F.; Abdekhodaie, M. J. Synthesis and Characterization of a New Thermosensitive Chitosan-PEG Diblock Copolymer. *Carbohydr. Polym.* **2008**, 74, 435–441. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.03.017.
- (22) Gonil, P.; Sajomsang, W. Applications of Magnetic Resonance Spectroscopy to Chitin from Insect Cuticles. *Int. J. Biol. Macromol.* 2012, 51 (4), 514–522. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2012.06.025.
- (23) Hirano, S. Chitin and Chitosan. In Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry; Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA: Weinheim, Germany, 2002. https://doi.org/10.1002/14356007.a06_231.
- (24) Ahmad, M.; Manzoor, K.; Ikram, S. Chitosan Nanocomposites for Bone and Cartilage Regeneration; Elsevier Inc., 2018. https://doi.org/10.1016/b978-0-12-813742-0.00018-3.
- (25) Shi, C.; Zhu, Y.; Ran, X.; Wang, M.; Su, Y.; Cheng, T. Therapeutic Potential of Chitosan and Its Derivatives in Regenerative Medicine. *J. Surg. Res.* 2006, 133 (2), 185–192. https://doi.org/10.1016/j.jss.2005.12.013.

- (26) Thakur, S.; Rao, S. N. Chitosan for Biomaterials I; Jayakumar, R., Prabaharan, M., Muzzarelli, R. A. A., Eds.; Advances in Polymer Science; Springer Berlin Heidelberg: Berlin, Heidelberg, 2011; Vol. 243. https://doi.org/10.1007/978-3-642-23114-8.
- (27) Zheng, L. Y.; Zhu, J. F. Study on Antimicrobial Activity of Chitosan with Different Molecular Weights. *Carbohydr. Polym.* **2003**, *54* (4), 527–530. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2003.07.009.
- (28) Devlieghere, F.; Vermeulen, A.; Debevere, J. Chitosan: Antimicrobial Activity, Interactions with Food Components and Applicability as a Coating on Fruit and Vegetables. *Food Microbiol.* **2004**, *21* (6), 703–714. https://doi.org/10.1016/j.fm.2004.02.008.
- Beck, B. H.; Yildirim-Aksoy, M.; Shoemaker, C. A.; Fuller, S. A.; Peatman, E. Antimicrobial Activity of the Biopolymer Chitosan against Streptococcus Iniae. *J. Fish Dis.* **2019**, *42* (3), 371–377. https://doi.org/10.1111/jfd.12938.
- (30) Garrido Assis, O. B.; de Britto, D. Evaluation of the Antifungal Properties of Chitosan Coating on Cut Apples Using a Non-Invasive Image Analysis Technique. *Polym. Int.* 2011, 60 (6), 932–936. https://doi.org/10.1002/pi.3039.
- (31) López-Mora, L. I.; Gutiérrez-Martínez, P.; Bautista-Baños, S.; Jiménez-García, L. F.; Zavaleta-Mancera, H. A. EVALUATION OF ANTIFUNGAL ACTIVITY OF CHITOSAN IN Alternaria Alternata AND IN THE QUALITY OF "TOMMY ATKINS" MANGO DURING STORAGE. *Rev. Chapingo Ser. Hortic.* 2013, *XIX* (3), 315–331. https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2012.07.038.
- (32) Lopez-Moya, F.; Suarez-Fernandez, M.; Lopez-Llorca, L. V. Molecular Mechanisms of Chitosan Interactions with Fungi and Plants. *Int. J. Mol. Sci.* 2019, 20 (2). https://doi.org/10.3390/ijms20020332.
- (33) Lee, D. W.; Lim, H.; Chong, H. N.; Shim, W. S. Advances in Chitosan Material and Its Hybrid Derivatives: A Review. Open Biomater. J. 2009,

1 (1), 10–20. https://doi.org/10.2174/1876502500901010010.

- (34) Yen, M. T.; Yang, J. H.; Mau, J. L. Antioxidant Properties of Chitosan from Crab Shells. *Carbohydr. Polym.* 2008, 74 (4), 840–844. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2008.05.003.
- (35) Kumar, M. N. V. R.; Muzzarelli, R. a a; Muzzarelli, C.; Sashiwa, H.; Domb, a. J. Chitosan Chemistry and Pharmaceutical Perspectives. *Chem. Rev.* 2004, *104* (12), 6017–6084. https://doi.org/10.1021/cr030441b.
- (36) Li, Y.; Chen, X. G.; Liu, N.; Liu, C. S.; Liu, C. G.; Meng, X. H.; Yu, L. J.; Kenendy, J. F. Physicochemical Characterization and Antibacterial Property of Chitosan Acetates. *Carbohydr. Polym.* 2007, 67 (2), 227– 232. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2006.05.022.
- (37) Yen, M. T.; Mau, J. L. Physico-Chemical Characterization of Fungal Chitosan from Shiitake Stipes. *LWT - Food Sci. Technol.* 2007, 40 (3), 472–479. https://doi.org/10.1016/j.lwt.2006.01.002.
- (38) Illum, L. Ref 10: Chitosan and Its Use as a Pharmaceutical Excipient. *Pharmaceutical Research*. 1998, pp 1326–1331.
- (39) Wang, H.; Qian, J.; Ding, F. Emerging Chitosan-Based Films for Food Packaging Applications. *J. Agric. Food Chem.* 2018. https://doi.org/10.1021/acs.jafc.7b04528.
- (40) Villegas, C.; Albarracín, W. Aplicación y Efecto de Un Recubrimiento Comestible Sobre La Vida Útil de La Mora de Castilla (Rubus Glaucus Benth). *Vitae* **2016**. https://doi.org/10.17533/udea.vitae.v23n3a06.
- (41) Marco A. López-Mata, Saul Ruiz-Cruz1, Clarissa Navarro-Preciado, J. D. J. O.-P.; María I. Estrada-Alvarado, Laura E. Gassos-Ortega, J. R.-G. Efecto De Recubrimientos Comestibles De Quitosano En La Reducción Microbiana Y Effect of Chitosan Edible Coatings in the Microbial Reduction. *Rev. Ciencias Biológicas y la Salud XIV* (1), 33–43.
- (42) Zeng, D.; Wu, J.; Kennedy, J. F. Application of a Chitosan Flocculant to Water Treatment. *Carbohydr. Polym.* 2008, 71 (1), 135–139. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.07.039.

- (43) Soros, A.; Amburgey, J. E.; Stauber, C. E.; Sobsey, M. D.; Casanova, L. M. Turbidity Reduction in Drinking Water by Coagulation-Flocculation with Chitosan Polymers. *J. Water Health* **2019**, 1–15. https://doi.org/10.2166/wh.2019.114.
- (44) Desbrières, J.; Guibal, E. Chitosan for Wastewater Treatment. *Polym. Int.* 2018, 67 (1), 7–14. https://doi.org/10.1002/pi.5464.
- (45) Picos-Corrales, L. A.; Sarmiento-Sánchez, J. I.; Ruelas-Leyva, J. P.; Crini, G.; Hermosillo-Ochoa, E.; Gutierrez-Montes, J. A. Environment-Friendly Approach toward the Treatment of Raw Agricultural Wastewater and River Water via Flocculation Using Chitosan and Bean Straw Flour as Bioflocculants. ACS Omega 2020, 5 (8), 3943–3951. https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03419.
- (46) Mourya, V. K.; Inamdar, N. N. Chitosan-Modifications and Applications: Opportunities Galore. *React. Funct. Polym.* 2008, 68 (6), 1013–1051. https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2008.03.002.
- (47) Harish Prashanth, K. V.; Tharanathan, R. N. Chitin/Chitosan: Modifications and Their Unlimited Application Potential—an Overview. *Trends Food Sci. Technol.* 2007, 18 (3), 117–131. https://doi.org/10.1016/j.tifs.2006.10.022.
- (48) Elsabee, M. Z.; Morsi, R. E.; Fathy, M. Chemical Modifications of Chitin and Chitosan. In *Encyclopedia of Marine Biotechnology*; Wiley: Boston, MA, 2020; pp 885–963. https://doi.org/10.1002/9781119143802.ch36.
- (49) Akopova, T. A.; Demina, T. S.; Cherkaev, G. V.; Khavpachev, M. A.; Bardakova, K. N.; Grachev, A. V.; Vladimirov, L. V.; Zelenetskii, A. N.; Timashev, P. S. Solvent-Free Synthesis and Characterization of Allyl Chitosan Derivatives. *RSC Adv.* **2019**, *9* (36), 20968–20975. https://doi.org/10.1039/C9RA03830B.
- (50) Lu, M.; Yu, S.; Wang, Z.; Xin, Q.; Sun, T.; Chen, X.; Liu, Z.; Chen, X.; Weng, J.; Li, J. Zwitterionic Choline Phosphate Functionalized Chitosan with Antibacterial Property and Superior Water Solubility. *Eur. Polym. J.*

2020,134(June),109821.https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2020.109821.

- (51) Bhavsar, C.; Momin, M.; Gharat, S.; Omri, A. Functionalized and Graft Copolymers of Chitosan and Its Pharmaceutical Applications. *Expert Opin.* Drug Deliv. 2017, 14 (10), 1189–1204. https://doi.org/10.1080/17425247.2017.1241230.
- (52) Liu, L.; Li, Y.; Fang, Y. E.; Chen, L. Microwave-Assisted Graft Copolymerization of e-Caprolactone onto Chitosan via the Phthaloyl Protection Method. *Carbohydr. Polym.* **2005**, *60* (3), 351–356. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.01.009.
- (53) Feng, H.; Dong, C.-M. Preparation and Characterization of Chitosan-Graft -Poly (ε-Caprolactone) with an Organic Catalyst. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 2006, 44 (18), 5353–5361. https://doi.org/10.1002/pola.21625.
- (54) Detchprohm, S.; Aoi, K.; Okada, M. Synthesis of a Novel Chitin Derivative Having Oligo (e-• caprolactone) Side Chains in Aqueous Reaction Media. *Macromol. Chem. Phys.* 2001, 202, 3560–3570. https://doi.org/1022-1352/2001/1812–3560.
- (55) Choi, E.; Kim, C.; Park, J. Synthesis and Characterization of Starch-g -Polycaprolactone Copolymer. *Macromolecules* **1999**, *32*, 7402–7408. https://doi.org/10.1021/ma981453f.
- (56) Charitidis, C. A.; Dragatogiannis, D. A.; Milioni, E.; Kaliva, M.; Vamvakaki, M.; Chatzinikolaidou, M. Synthesis, Nanomechanical Characterization and Biocompatibility of a Chitosan-Graft-Poly(ε-Caprolactone) Copolymer for Soft Tissue Regeneration. *Materials* (*Basel*). **2019**, *12* (1), 150. https://doi.org/10.3390/ma12010150.
- (57) Vaidya, A. A.; Hussain, I.; Gaugler, M.; Smith, D. A. Synthesis of Graft Copolymers of Chitosan-Poly(Caprolactone) by Lipase Catalysed Reactive Extrusion. *Carbohydr. Polym.* 2019, *217* (March), 98–109. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.03.081.

- (58) Xu, Y.; Liu, B.; Zou, L.; Sun, C.; Li, W. Preparation and Characterization of PLLA/Chitosan-Graft-Poly (ε-Caprolactone) (CS-g-PCL) Composite Fibrous Mats: The Microstructure, Performance and Proliferation Assessment. *Int. J. Biol. Macromol.* **2020**, *162*, 320–332. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.06.164.
- (59) Cassan, D.; Becker, A.; Glasmacher, B.; Roger, Y.; Hoffmann, A.; Gengenbach, T. R.; Easton, C. D.; Hänsch, R.; Menzel, H. Blending with Chitosan-g-poly(Caprolactone) Poly(Caprolactone) bv Electrospinning to Produce Functional Fiber Mats for Tissue Engineering 2020. Applications. J. Appl. Polvm. Sci. 137 (18). 48650. https://doi.org/10.1002/app.48650.
- (60) Srivastava, A.; Mishra, D. K.; Behari, K. Graft Copolymerization of N-Vinyl-2-Pyrrolidone onto Chitosan: Synthesis, Characterization and Study of Physicochemical Properties. *Carbohydr. Polym.* **2010**, *80* (3), 790–798. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.12.031.
- (61) Budianto, E.; Al-Shidqi, M. F.; Cahyana, A. H. Effects of Pore Forming Agents on Chitosan-Graft-Poly(N-Vinylpyrrolidone) Hydrogel Properties for Use as a Matrix for Floating Drug Delivery. *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.* **2017**, 223 (1), 012038. https://doi.org/10.1088/1757-899X/223/1/012038.
- (62) Kriegel, C.; Kit, K. M.; McClements, D. J.; Weiss, J. Electrospinning of Chitosan–Poly(Ethylene Oxide) Blend Nanofibers in the Presence of Micellar Surfactant Solutions. *Polymer (Guildf).* **2009**, *50* (1), 189–200. https://doi.org/10.1016/j.polymer.2008.09.041.
- (63) Jeong, Y. II; Kim, D. G.; Jang, M. K.; Nah, J. W. Preparation and Spectroscopic Characterization of Methoxy Poly(Ethylene Glycol)-Grafted Water-Soluble Chitosan. *Carbohydr. Res.* **2008**, *343* (2), 282– 289. https://doi.org/10.1016/j.carres.2007.10.025.
- (64) Gorochovceva, N.; Naderi, a; Dedinaite, a; Makuska, R. Chitosan–N-Poly(Ethylene Glycol) Brush Copolymers: Synthesis and Adsorption on

Silica Surface. *Eur. Polym. J.* **2005**, *41* (11), 2653–2662. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2005.05.021.

- (65) Vo, K. D. N.; Guillon, E.; Dupont, L.; Kowandy, C.; Coqueret, X. Influence of Au(III) Interactions with Chitosan on Gold Nanoparticle Formation. *J. Phys. Chem. C* 2014, 118 (8), 4465–4474. https://doi.org/10.1021/jp4112316.
- (66) Leiva, A.; Bonardd, S.; Pino, M.; Saldías, C.; Kortaberria, G.; Radić, D. Improving the Performance of Chitosan in the Synthesis and Stabilization of Gold Nanoparticles. *Eur. Polym. J.* **2015**, *68*, 419–431. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2015.04.032.
- (67) Chen, Z.; Zhang, C.; Tan, Y.; Zhou, T.; Ma, H.; Wan, C.; Lin, Y.; Li, K. Chitosan-Functionalized Gold Nanoparticles for Colorimetric Detection of Mercury Ions Based on Chelation-Induced Aggregation. *Microchim. Acta* 2015, 182 (3–4), 611–616. https://doi.org/10.1007/s00604-014-1365-8.
- (68) Regiel-Futyra, A.; Kus-Liškiewicz, M.; Sebastian, V.; Irusta, S.; Arruebo, M.; Stochel, G.; Kyzioł, A. Development of Noncytotoxic Chitosan-Gold Nanocomposites as Efficient Antibacterial Materials. ACS Appl. Mater. Interfaces 2015, 7 (2), 1087–1099. https://doi.org/10.1021/am508094e.
- (69) Wu, Y.; Zuo, F.; Lin, Y.; Zhou, Y.; Zheng, Z.; Ding, X. Green and Facile Synthesis of Gold Nanoparticles Stabilized by Chitosan. *J. Macromol. Sci. Part A Pure Appl. Chem.* **2014**, *51* (5), 441–446. https://doi.org/10.1080/10601325.2014.893142.
- (70) Shahid-ul-Islam; Butola, B. S.; Kumar, A. Green Chemistry Based In-Situ Synthesis of Silver Nanoparticles for Multifunctional Finishing of Chitosan Polysaccharide Modified Cellulosic Textile Substrate. *Int. J. Biol. Macromol.* 2020, 152, 1135–1145. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.10.202.
- (71) Shahid-ul-Islam; Butola, B. S.; Verma, D. Facile Synthesis of Chitosan-Silver Nanoparticles onto Linen for Antibacterial Activity and Free-Radical Scavenging Textiles. *Int. J. Biol. Macromol.* **2019**, *133*, 1134–

1141. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.186.

- (72) Ramakritinan, C. M.; Kalaivani, R.; Maruthupandy, M.; Anand, M.; Muneeswaran, T.; Hameedha Beevi, A.; Kumaraguru, A. K. Synthesis of Chitosan Mediated Silver Nanoparticles (Ag NPs) for Potential Antimicrobial Applications. *Front. Lab. Med.* **2018**, *2* (1), 30–35. https://doi.org/10.1016/j.flm.2018.04.002.
- (73) Hajji, S.; Khedir, S. Ben; Hamza-Mnif, I.; Hamdi, M.; Jedidi, I.; Kallel, R.; Boufi, S.; Nasri, M. Biomedical Potential of Chitosan-Silver Nanoparticles with Special Reference to Antioxidant, Antibacterial, Hemolytic and in Vivo Cutaneous Wound Healing Effects. *Biochim. Biophys. Acta - Gen. Subj.* 2019, 1863 (1), 241–254. https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2018.10.010.
- (74) Nguyen, T. K. L.; Nguyen, N. D.; Dang, V. P.; Phan, D. T.; Tran, T. H.; Nguyen, Q. H. Synthesis of Platinum Nanoparticles by Gamma Co-60 Ray Irradiation Method Using Chitosan as Stabilizer. *Adv. Mater. Sci. Eng.* 2019, 2019, 1–5. https://doi.org/10.1155/2019/9624374.
- (75) Zhu, X.; Ding, A. One-Step Construction of Sensor Based on Nanocomposite of Platinum and Chitosan Formed by Electrodeposition and Its Application for Determination of Nitrite. *Int. J. Electrochem. Sci.* **2013**, *8* (1), 135–148.
- (76) Fikriyyah, A. K.; Chaldun, E. R.; Indriyati. Synthesis and Properties of Platinum on Multiwall Carbon Nanotube Modified by Chitosan. *J. Phys. Conf. Ser.* **2018**, *985* (1), 012057. https://doi.org/10.1088/1742-6596/985/1/012057.
- (77) Deng, H.-H.; Lin, X.-L.; Liu, Y.-H.; Li, K.-L.; Zhuang, Q.-Q.; Peng, H.-P.; Liu, A.-L.; Xia, X.-H.; Chen, W. Chitosan-Stabilized Platinum Nanoparticles as Effective Oxidase Mimics for Colorimetric Detection of Acid Phosphatase. *Nanoscale* **2017**, *9* (29), 10292–10300. https://doi.org/10.1039/C7NR03399K.
- (78) Turkevich, J.; Stevenson, P. C.; Hillier, J. A Study of the Nucleation and

Growth Processes in the Synthesis of Colloidal Gold. *Discuss. Faraday Soc.* **1951**, *11* (c), 55–75. https://doi.org/10.1039/df9511100055.

- (79) Teranishi, T.; Kurita, R.; Miyake, M. Shape Control of Pt Nanoparticles.
 J. Inorg. Organomet. Polym. 2000, 10 (3), 145–156. https://doi.org/10.1023/A:1009476128466.
- (80) Zhao, P.; Li, N.; Astruc, D. State of the Art in Gold Nanoparticle Synthesis. *Coord. Chem. Rev.* **2013**, 257 (3–4), 638–665. https://doi.org/10.1016/j.ccr.2012.09.002.
- (81) Castillo-Henríquez, L.; Alfaro-Aguilar, K.; Ugalde-Álvarez, J.; Vega-Fernández, L.; Montes de Oca-Vásquez, G.; Vega-Baudrit, J. R. Green Synthesis of Gold and Silver Nanoparticles from Plant Extracts and Their Possible Applications as Antimicrobial Agents in the Agricultural Area. *Nanomaterials* 2020, 10 (9), 1763. https://doi.org/10.3390/nano10091763.
- (82) Pokhodenko, V. D.; Pavlishchuk, V. V. Green Chemistry and Modern Technology. *Theor. Exp. Chem.* **2002**, *38* (2), 69–87. https://doi.org/10.1023/A:1016080416792.
- (83) Kumar, K. P.; Paul, W.; Sharma, C. P. Green Synthesis of Gold Nanoparticles with Zingiber Officinale Extract: Characterization and Blood Compatibility. *Process Biochem.* **2011**, *46* (10), 2007–2013. https://doi.org/10.1016/j.procbio.2011.07.011.
- (84) Alexandridis, P. Gold Nanoparticle Synthesis, Morphology Control, and Stabilization Facilitated by Functional Polymers. *Chem. Eng. Technol.* **2011**, 34 (1), 15–28. https://doi.org/10.1002/ceat.201000335.
- (85) Saldías*, C.; Bonardd, S.; Quezada, C.; Radi'c, D.; Leiva, A. The Role of Polymers in the Synthesis of Noble Metal Nanoparticles: A Review. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2017, 17 (1), 87–114. https://doi.org/10.1166/jnn.2017.13016.
- (86) Voronov, A.; Kohut, A.; Vasylyev, S.; Peukert, W. Mechanism of Silver Ion Reduction in Concentrated Solutions of Amphiphilic Invertible

Polyesters in Nonpolar Solvent at Room Temperature. *Langmuir* **2008**, *24* (21), 12587–12594. https://doi.org/10.1021/la801769v.

- (87) Zhai, Y.; DuChene, J. S.; Wang, Y.-C.; Qiu, J.; Johnston-Peck, A. C.; You, B.; Guo, W.; DiCiaccio, B.; Qian, K.; Zhao, E. W.; Ooi, F.; Hu, D.; Su, D.; Stach, E. A.; Zhu, Z.; Wei, W. D. Polyvinylpyrrolidone-Induced Anisotropic Growth of Gold Nanoprisms in Plasmon-Driven Synthesis. *Nat. Mater.* 2016, *15* (8), 889–895. https://doi.org/10.1038/nmat4683.
- (88) Leiva, A.; Saldías, C.; Quezada, C.; Toro-Labbé, A.; Espinoza-Beltrán, F. J.; Urzúa, M.; Gargallo, L.; Radic, D. Gold-Copolymer Nanoparticles: Poly(ε-Caprolactone)/Poly(N-Vinyl-2-Pyrrolydone) Biodegradable Triblock Copolymer as Stabilizer and Reductant. *Eur. Polym. J.* 2009, 45 (11), 3035–3042. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2009.08.005.
- (89) Saldías, C.; Leiva, A.; Quezada, C.; Jaque, P.; Gargallo, L.; Radic, D. Structural Effects of Amphiphilic Block Copolymers on the Gold Nanoplates Synthesis. Experimental and Theoretical Study. *Eur. Polym. J.* 2011, 47 (10), 1866–1876. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2011.07.007.
- (90) Urzúa, M.; Leiva, A.; Espinoza-Beltrán, F. J.; Briones, X.; Saldías, C.; Pino, M. Spontaneous Adsorption of Gold Nanoparticles by Polyelectrolyte Thin Films. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 2012, *12* (11), 8382–8390. https://doi.org/10.1166/jnn.2012.6669.
- (91) Xu, P.; Han, X.; Zhang, B.; Du, Y.; Wang, H. L. Multifunctional Polymer-Metal Nanocomposites via Direct Chemical Reduction by Conjugated Polymers. *Chem. Soc. Rev.* **2014**, *43* (5), 1349–1360. https://doi.org/10.1039/c3cs60380f.
- Balkan, T.; Kizir, S.; Tuncel, D. One-Pot Synthesis of Hybrid Conjugated Oligomer-Ag Nanoparticles. ACS Omega 2017, 2 (9), 5470–5477. https://doi.org/10.1021/acsomega.7b00879.
- (93) Dai, J.; Bruening, M. L. Catalytic Nanoparticles Formed by Reduction of Metal Ions in Multilayered Polyelectrolyte Films. *Nano Lett.* **2002**, *2* (5),

497–501. https://doi.org/10.1021/nl025547l.

- (94) Luo, C.; Zhang, Y.; Zeng, X.; Zeng, Y.; Wang, Y. The Role of Poly(Ethylene Glycol) in the Formation of Silver Nanoparticles. *J. Colloid Interface* Sci. 2005, 288 (2), 444–448. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2005.03.005.
- (95) Sakai, T.; Alexandridis, P. Spontaneous Formation of Gold Nanoparticles in Poly(Ethylene Oxide)–Poly(Propylene Oxide) Solutions: Solvent Quality and Polymer Structure Effects. *Langmuir* **2005**, *21* (17), 8019– 8025. https://doi.org/10.1021/la050756h.
- (96) Faure, B.; Salazar-Alvarez, G.; Ahniyaz, A.; Villaluenga, I.; Berriozabal, G.; De Miguel, Y. R.; Bergström, L. Dispersion and Surface Functionalization of Oxide Nanoparticles for Transparent Photocatalytic and UV-Protecting Coatings and Sunscreens. *Sci. Technol. Adv. Mater.* 2013, *14* (2). https://doi.org/10.1088/1468-6996/14/2/023001.
- (97) Principles and Mechanisms of Nanoparticle Stabilization by Polymers. In Springer Series in Materials Science; 2005; Vol. 81, pp 65–113. https://doi.org/10.1007/3-540-26523-6 3.
- (98) Hussain, S. A.; Paul, P. K.; Bhattacharjee, D. Role of Various LB Parameters on the Optical Characteristics of Mixed Langmuir–Blodgett Films. J. Phys. Chem. Solids 2006, 67 (12), 2542–2549. https://doi.org/10.1016/j.jpcs.2006.07.011.
- (99) Asharani, P. V; Lianwu, Y.; Gong, Z.; Valiyaveettil, S. Comparison of the Toxicity of Silver, Gold and Platinum Nanoparticles in Developing Zebrafish Embryos. *Nanotoxicology* 2011, 5 (1), 43–54. https://doi.org/10.3109/17435390.2010.489207.
- (100) Buzea, C.; Pacheco, I. I.; Robbie, K. Nanomaterials and Nanoparticles: Sources and Toxicity. *Biointerphases* 2007, 2 (4), MR17. https://doi.org/10.1116/1.2815690.
- (101) Asharani, P. V; Lian Wu, Y.; Gong, Z.; Valiyaveettil, S. Toxicity of Silver Nanoparticles in Zebrafish Models. *Nanotechnology* **2008**, *19* (25),

255102. https://doi.org/10.1088/0957-4484/19/25/255102.

- (102) Aydın, A.; Sipahi, H.; Charehsaz, M. Nanoparticles Toxicity and Their Routes of Exposures. In *Recent Advances in Novel Drug Carrier Systems*; Sezer, A. D., Ed.; 2012. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.5772/51230.
- (103) Liu, L.; Wang, Y.; Shen, X.; Fang, Y. Preparation of Chitosan-g-Polycaprolactone Copolymers through Ring-Opening Polymerization of ε-Caprolactone onto Phthaloyl-Protected Chitosan. *Biopolymers* 2005, 78 (4), 163–170. https://doi.org/10.1002/bip.20261.
- (104) Duan, K.; Chen, H.; Huang, J.; Yu, J.; Liu, S.; Wang, D.; Li, Y. One-Step Synthesis of Amino-Reserved Chitosan-Graft-Polycaprolactone as a Promising Substance of Biomaterial. *Carbohydr. Polym.* **2010**, *80* (2), 498–503. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.12.013.
- (105) Liu, L.; Li, Y.; Liu, H.; Fang, Y. Synthesis and Characterization of Chitosan-Graft-Polycaprolactone Copolymers. *Eur. Polym. J.* 2004, 40 (12), 2739–2744. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2004.07.016.
- (106) Guan, X.; Quan, D.; Shuai, X.; Liao, K.; Mai, K. Chitosan-Graft-Poly(ε-Caprolactone)s: An Optimized Chemical Approach Leading to a Controllable Structure and Enhanced Properties. *J. Polym. Sci. Part A Polym. Chem.* 2007, 45 (12), 2556–2568. https://doi.org/10.1002/pola.22015.
- (107) Hu, Y.; Jiang, H.; Xu, C.; Wang, Y.; Zhu, K. Preparation and Characterization of Poly(Ethylene Glycol)-g-Chitosan with Water- and Organosolubility. *Carbohydr. Polym.* 2005, 61 (4), 472–479. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2005.06.022.
- (108) Gorochovceva, N.; Makuška, R. Synthesis and Study of Water-Soluble Chitosan-O-Poly(Ethylene Glycol) Graft Copolymers. *Eur. Polym. J.* **2004**, 40 (4), 685–691. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2003.12.005.
- (109) Kong, X.; Li, X.; Wang, X.; Liu, T.; Gu, Y.; Guo, G.; Luo, F.; Zhao, X.; Wei, Y.; Qian, Z. Synthesis and Characterization of a Novel MPEG-

Chitosan Diblock Copolymer and Self-Assembly of Nanoparticles. *Carbohydr. Polym.* **2010**, 79 (1), 170–175. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.07.037.

- (110) Ouchi, T.; Nishizawa, H.; Ohya, Y. Aggregation Phenomenon of PEG-Grafted Chitosan in Aqueous Solution. *Polymer (Guildf)*. **1998**, 39 (21), 5171–5175. https://doi.org/10.1016/S0032-3861(97)10020-9.
- (111) Verheyden, J. P. H.; Moffatt, J. G. Halo Sugar Nucleosides. I. Iodination of the Primary Hydroxyl Groups of Nucleosides with Methyltriphenoxyphosphonium Iodide. J. Org. Chem. **1970**, 35 (7), 2319– 2326. https://doi.org/10.1021/jo00832a047.
- (112) Abdou, E. S.; Nagy, K. S. A.; Elsabee, M. Z. Extraction and Characterization of Chitin and Chitosan from Local Sources. *Bioresour. Technol.* 2008, 99 (5), 1359–1367. https://doi.org/10.1016/j.biortech.2007.01.051.
- (113) Engineered, T.; Product, M. Standard Test Method for Determining Degree of Deacetylation in Chitosan Salts by Proton Nuclear Magnetic Resonance (1H NMR). 2003, 03 (May), 1–5. https://doi.org/10.1520/F2260-03R12E01.2.
- (114) Einbu, A.; Grasdalen, H.; Vårum, K. M. Kinetics of Hydrolysis of Chitin/Chitosan Oligomers in Concentrated Hydrochloric Acid. *Carbohydr. Res.* 2007, 342 (8), 1055–1062. https://doi.org/10.1016/j.carres.2007.02.022.
- (115) Mohammed, M. H.; Williams, P. a.; Tverezovskaya, O. Extraction of Chitin from Prawn Shells and Conversion to Low Molecular Mass Chitosan. *Food Hydrocoll.* 2013, 31 (2), 166–171. https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2012.10.021.
- (116) Chebotok, E. N.; Novikov, V. Y.; Konovalova, I. N. Depolymerization of Chitin and Chitosan in the Course of Base Deacetylation. *Russ. J. Appl. Chem.* 2006, 79 (7), 1162–1166. https://doi.org/10.1134/S1070427206070238.
- (117) Esumi, K.; Takei, N.; Yoshimura, T. Antioxidant-Potentiality of Gold– Chitosan Nanocomposites. *Colloids Surfaces B Biointerfaces* 2003, 32
 (2), 117–123. https://doi.org/10.1016/S0927-7765(03)00151-6.
- (118) Sakai, T.; Horiuchi, Y.; Alexandridis, P.; Okada, T.; Mishima, S. Block Copolymer-Mediated Synthesis of Gold Nanoparticles in Aqueous Solutions: Segment Effect on Gold Ion Reduction, Stabilization, and Particle Morphology. *J. Colloid Interface Sci.* **2013**, *394* (1), 124–131. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2012.12.003.
- (119) Pestov, A.; Nazirov, A.; Modin, E.; Mironenko, A.; Bratskaya, S. Mechanism of Au(III) Reduction by Chitosan: Comprehensive Study with 13C and 1H NMR Analysis of Chitosan Degradation Products. *Carbohydr. Polym.* **2015**, *117*, 70–77. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.09.030.
- (120) Peveler, W. J.; Parkin, I. P. Rapid Synthesis of Gold Nanostructures with Cyclic and Linear Ketones. *RSC Adv.* 2013, 3 (44), 21919. https://doi.org/10.1039/c3ra44842h.
- (121) Wei, D.; Sun, W.; Qian, W.; Ye, Y.; Ma, X. The Synthesis of Chitosan-Based Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Activity. *Carbohydr. Res.* 2009, 344 (17), 2375–2382. https://doi.org/10.1016/j.carres.2009.09.001.
- (122) Li, L.-H.; Deng, J.-C.; Deng, H.-R.; Liu, Z.-L.; Li, X.-L. Preparation, Characterization and Antimicrobial Activities of Chitosan/Ag/ZnO Blend Films. *Chem. Eng. J.* **2010**, *160* (1), 378–382. https://doi.org/10.1016/j.cej.2010.03.051.
- (123) Chen, D.-H.; Huang, Y.-W. Spontaneous Formation of Ag Nanoparticles in Dimethylacetamide Solution of Poly(Ethylene Glycol). *J. Colloid Interface* Sci. 2002, 255 (2), 299–302. https://doi.org/10.1006/jcis.2002.8674.
- (124) Murugadoss, A.; Chattopadhyay, A. A 'Green' Chitosan–Silver Nanoparticle Composite as a Heterogeneous as Well as Micro-

Heterogeneous Catalyst. *Nanotechnology* **2008**, *19* (1), 015603. https://doi.org/10.1088/0957-4484/19/01/015603.

- (125) Akmaz, S.; Dilaver AdJgüzel, E.; Yasar, M.; Erguven, O. The Effect of Ag Content of the Chitosan-Silver Nanoparticle Composite Material on the Structure and Antibacterial Activity. *Adv. Mater. Sci. Eng.* **2013**, *2013*, 12–18. https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2013/690918.
- (126) Twu, Y.-K.; Chen, Y.-W.; Shih, C.-M. Preparation of Silver Nanoparticles Using Chitosan Suspensions. *Powder Technol.* 2008, *185* (3), 251–257. https://doi.org/10.1016/j.powtec.2007.10.025.
- (127) Falk, M.; Smith, D. G.; McLachlan, J.; McInnes, A. G. Studies on Chitan (β-(1 → 4)-Linked 2-Acetamido-2-Deoxy-D-Glucan) Fibers of the Diatom Thalassiosira Fluviatilis Hustedt: II. Proton Magnetic Resonance, Infrared, and x-Ray Studies. *Can. J. Chem.* **1966**, *44* (19), 2269–2281. https://doi.org/10.1139/v66-342.
- (128) Adlim, M.; Abu Bakar, M.; Liew, K. Y.; Ismail, J. Synthesis of Chitosan-Stabilized Platinum and Palladium Nanoparticles and Their Hydrogenation Activity. *J. Mol. Catal. A Chem.* 2004, *212* (1–2), 141– 149. https://doi.org/10.1016/j.molcata.2003.08.012.
- (129) Sennuga, A.; van Marwijk, J.; Whiteley, C. G. Ferroxidase Activity of Apoferritin Is Increased in the Presence of Platinum Nanoparticles. *Nanotechnology* **2012**, *23* (3), 035102. https://doi.org/10.1088/0957-4484/23/3/035102.
- (130) Gharibshahi, E.; Saion, E. Influence of Dose on Particle Size and Optical Properties of Colloidal Platinum Nanoparticles. *Int. J. Mol. Sci.* 2012, *13* (12), 14723–14741. https://doi.org/10.3390/ijms131114723.