

NANOCOMPÓSITOS BASADOS EN ZnO: COMPOSICIÓN, ESTRUCTURA, PROPIEDADES ÓPTICAS Y BIOCONJUGACIÓN.

UNIDAD EJECUTORA PRINCIPAL: Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales (IMRE), Universidad de La Habana (UH)

AUTORES PRINCIPALES: Dr. Osvaldo L. Estévez Hernández^{a)} y Dr. Edilso Reguera Ruiz^{b)}

OTROS AUTORES: Dra. Linnavel Jiménez Hernández^{a)}, Dra. Mayra P. Hernández Sánchez^{a)}, Mario H. Farías Sánchez^{c)}

FILIACIÓN: a) Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales (IMRE), Universidad de La Habana, Cuba; b) Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología de Avanzada (CICATA), Instituto Politécnico Nacional, Distrito Federal, México; c) Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN), Universidad Nacional Autónoma de México, Ensenada, Baja California, México.

COLABORADORES:

-Jesús Antonio Díaz (Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNyN), Universidad

Nacional Autónoma de México, Ensenada, Baja California, México).

-Patricia Santiago Jacinto (Instituto de Física, Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad de México, México).

-Joelis Rodríguez (Departamento de Materiales Avanzados, Centro de Investigaciones en

Química Aplicada, Saltillo, Coahuila).

-Marlene González (Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología de Avanzada

(CICATA), Instituto Politécnico Nacional, Distrito Federal, México).

AUTOR PARA LA CORRESPONDENCIA:

Osvaldo L. Estévez Hernández,

Instituto de Ciencia y Tecnología de Materiales (IMRE), Universidad de La Habana. Zapata y G, Vedado. Código postal: 10400. Ciudad de la Habana;

correo electrónico: osvaldo@imre.uh.cu

RESUMEN

Las nanotecnologías en general y sus desarrollos en el contexto de la Biología en particular son de las áreas de investigación-desarrollo más “activas” en los años en curso, por el gran impacto prospectivo que las mismas tienen. Nuestro grupo de trabajo viene trabajando en la síntesis, caracterización y conjugación con biomoléculas de nanocompuestos basados en ZnO con potenciales aplicaciones en biomedicina. Específicamente, el trabajo que se presenta recoge los resultados obtenidos en la preparación de nanopartículas de ZnO y ZnO dopado con Cu, Mn, Co y Ni, así como su funcionalización posterior con los ácidos 3-mercaptopropiónico y 4-piperidinacarboxílico o isonipecótico. Además del estudio de sus propiedades ópticas y magnéticas, se muestran los resultados de la bioconjugación de dos de estos sistemas ($\text{Cu}_x \text{Zn}_{1-x} \text{O}$ y $\text{Mn}_x \text{Zn}_{1-x} \text{O}$) con la peroxidasa. Estos resultados abarcan un período de tiempo de 4 años y han dado lugar a la publicación de 5 artículos científicos en revistas de la *web of science*, 8 ponencias en eventos y 1 tesis de doctorado defendida. Nuestra propuesta parte del principio de que estamos en condiciones de incorporarnos al desarrollo de la nanotecnología en nuestro país, para contribuir al conocimiento universal que se está generando en esa área y en ese proceso también recibir conocimientos, formando simultáneamente recursos humanos altamente calificados, con sólida preparación académica y con perfil multidisciplinario, listos para enfrentar los retos del futuro y evitar la completa dependencia tecnológica en este campo del conocimiento.

COMUNICACIÓN CORTA

El óxido de zinc (ZnO) es un semiconductor intrínseco de tipo *n*, que presenta transiciones directas. Tanto sus propiedades ópticas como eléctricas dependen de su morfología, tamaño y composición¹. Este compuesto se presenta en la naturaleza con una estructura cristalina hexagonal tipo *Wurtzita*, aunque también puede presentarse con estructura cúbica tipo *blenda* (Figura 1). Algunas de las aplicaciones más importantes en su forma macrocristalina son: como aditivo en la fabricación de cerámicas, en la industria del hule como relleno y en la producción de pinturas.

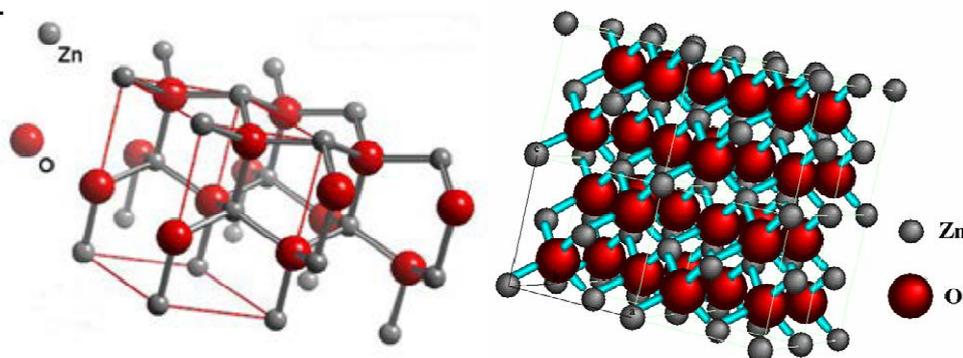


Figura 1. Estructuras hexagonal (tipo *wurtzita*) y cúbica (tipo *blenda de zinc*) del ZnO.

Por su parte, el ZnO nanoestructurado se ha venido estudiando en los últimos años debido a sus interesantes propiedades ópticas y eléctricas. Este material presenta baja toxicidad, elevada estabilidad y buena transparencia en la región de longitud de onda visible. Adicionalmente, su bajo costo lo hace un material atractivo para diversas aplicaciones en sensores² y fotocatalisis³. Cada día surgen nuevas aplicaciones del ZnO nanoestructurado. Por ejemplo, en medicina se ha reportado el uso de este material para la construcción de biosensores⁴ y en el diagnóstico de células cancerígenas por imageneología⁵. Adicionalmente, presenta propiedades antifúngicas⁶ y antibacteriales⁷. El dopaje de estructuras semiconductoras (ZnO entre ellas) con metales de transición, entre ellos Fe, Co, Ni, Mn y Cu, puede producir nuevas propiedades ópticas⁸, magnéticas⁹ y electromecánicas¹⁰ en estos materiales las cuales son muy útiles para aplicaciones tecnológicas.

Los marcadores fluorescentes son sistemas químicos que pueden detectar selectivamente la presencia de analitos a través de variaciones en sus espectros de fluorescencia. Esta propiedad es una de las herramientas más útiles que la química ha proporcionado a la investigación biomédica, permitiendo el monitoreo intracelular de muchas especies diferentes para fines médicos y biológicos. El ZnO es un material que está siendo estudiado para esta última aplicación, dada la sensibilidad de sus propiedades ópticas a la variación de de la morfología, tamaño y composición del material¹. La modificación de las nanopartículas de ZnO con ligandos orgánicos ha sido reportada por numerosos autores¹¹. La estrategia para la conjugación de biomoléculas a nanoestructuras de ZnO incluye una etapa de funcionalización mediante el recubrimiento de la superficie con un ligando que posea grupos funcionales apropiados (carboxilo, amino, tiol) para el anclaje de la biomolécula. El recubrimiento de la superficie conduce a la pasivación de la misma, lo que mejora la intensidad de emisión (fotoluminiscencia) a temperatura ambiente del nanomaterial. Esto favorece su empleo como sonda fluorescente para el estudio de muestras biológicas¹².

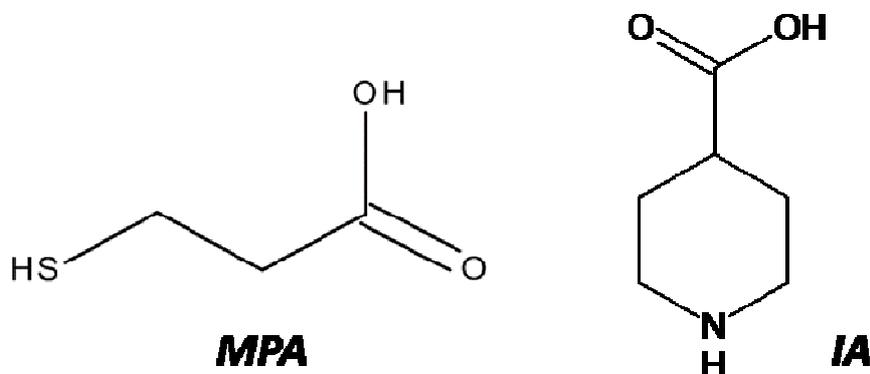


Figura 2. Estructuras de los ácidos 3-mercaptopropiónico (MPA) y 4-piperidinacarboxílico (IA).

El trabajo que se presenta consiste en la síntesis de materiales nanoestructurados basados en ZnO (puro y dopado con Cu, Mn, Ni y Co) y estudiar sus propiedades ópticas y magnéticas para investigar la influencia del dopante. Se empleó el método de co-precipitación como vía para la preparación de los sistemas en estudio, con variaciones en cuanto a la temperatura, la activación con ultrasonido y el empleo de surfactante para favorecer la obtención de diferentes tamaños y morfologías. Algunos de estos sistemas (los dopados con Cu, Mn y Ni) fueron funcionalizados con moléculas orgánicas, específicamente los ácidos 3-mercaptopropiónico (MPA) y 4- piperidinacarboxílico o isonipecótico (IA); ver Figura 2. Además, los sistemas dopados con Cu y Mn, y funcionalizados con MPA e IA respectivamente, se sometieron a una reacción de bioconjugación con la peroxidasa mediante el método de la carbodiimida¹³. Para el sistema dopado con Co se realizó un estudio de la influencia del porcentaje de dopaje en la estructura y en las propiedades electrónicas y físicas de los materiales. Estos resultados son fruto de la colaboración complementaria entre nuestro grupo de trabajo del IMRE y el laboratorio del Dr. Edilso Reguera Ruiz en el Centro de Investigación en Ciencia Aplicada y Tecnología de Avanzada (CICATA), Unidad Legaria, del Instituto Politécnico Nacional de México, y han dado lugar a la publicación de

5 artículos científicos (4 de ellos en los dos últimos años) en revistas de la *Web of Science*, una tesis de doctorado defendida, y numerosos trabajos presentados en congresos científicos internacionales en Cuba y en el extranjero. El liderazgo compartido de la Universidad de La Habana en esta investigación se muestra explícitamente en las publicaciones científicas al aparecer los autores de la UH dentro de los primeros autores o autores para la correspondencia.

El principal objetivo de nuestro trabajo fue la preparación de materiales semiconductores nanoestructurados basados en ZnO y estudiar sus interesantes propiedades ópticas con vistas a su aplicación, fundamentalmente como marcadores fluorescentes. Paralelamente, se investigó el efecto en estas propiedades de dopar con metales de transición (Cu, Mn, Co y Ni) la estructura tipo *wurzita* del ZnO, previendo, además, la posibilidad de introducir nuevas propiedades (ferromagnetismo) en los materiales dopados ($M_x Zn_{1-x} O$). Las propiedades ópticas y magnéticas de los materiales obtenidos son los que determinan fundamentalmente las aplicaciones potenciales de los mismos. Tres de estos sistemas (los dopados con Cu, Mn y Ni) fueron funcionalizados con dos ligandos orgánicos que introdujeron en los nanocompuestos formados, grupos funcionales ($-COO^-$, $-NH$ y $-SH$) disponibles para reacciones de bioconjugación (se utilizó la peroxidasa de rábano picante como biomolécula sonda). Los resultados que aquí se presentan muestran la viabilidad de los métodos utilizados, y puede ser una referencia válida para el desarrollo de materiales

nanoestructurados funcionalizados. Adicionalmente, se realizaron estudios muy exhaustivos y completos mediante Espectroscopía de fotoelectrones de rayos-X que alcanzaron gran complejidad en el caso del sistema con Mn, debido al elevado número de estados de oxidación que puede presentar este metal. Los resultados alcanzados en esa dirección constituyen también un importante aporte de esta investigación.

Para lograr nuestros objetivos, los materiales basados en ZnO se obtuvieron en una primera etapa mediante el método de co-precipitación^{14,15}. Este método es relativamente sencillo, de bajo costo y viable para la preparación de materiales nanoestructurados. Los nanocompositos así obtenidos se estudiaron mediante técnicas espectroscópicas y de análisis, para investigar la estructura y la composición de los mismos. También se determinó el tamaño promedio de las partículas obtenidas. El diseño de estos materiales tuvo en cuenta la introducción de metales de transición de abundancia relativa como el Cu, Mn, Co y Ni con la finalidad de desarrollar Semiconductores Magnéticos Diluidos (DMS). En una segunda etapa, tres de estos materiales dopados se funcionalizaron con moléculas orgánicas (MPA e IA) con el objetivo de anclar a la superficie de las nanopartículas base los grupos funcionales necesarios para en una tercera etapa llevar a cabo la bioconjugación con peroxidasa. En el caso del sistema dopado con Co, se hizo un estudio completo de la influencia de la concentración del dopante en las propiedades estructurales, físicas y ópticas de la disolución sólida, así como se estudiaron sus propiedades magnéticas. Todos estos resultados permitieron avanzar en el desarrollo de marcadores fluorescentes basados en ZnO.

Los resultados obtenidos pueden resumirse en la preparación, caracterización y estudio de sus propiedades ópticas y magnéticas de los siguientes sistemas:

- 1) **Nanobarras de ZnO**. En este caso la co-precipitación se realizó con asistencia de ultrasonido. El material obtenido presentó una alta cristalinidad en forma de nanobarras con un tamaño promedio de 25x 100 nm y emisión en la zona violeta del espectro visible (411 nm).
- 2) **Nanopartículas de $M_x Zn_{1-x} O$ (siendo M=Cu, Mn, Co y Ni) de varias composiciones y tamaños entre 1-10 nm**. Tres de estos sistemas sirvieron de base para una posterior funcionalización con los ligando MPA e IA.
- 3) **Nanopartículas de $M_x Zn_{1-x} O@L$ (siendo M/ L=Cu/ MPA por una parte, y M/ L= Mn, Ni/ IA por otra) de varias composiciones y tamaños entre 1-10 nm**. Estos sistemas demostraron su viabilidad para la bioconjugación posterior con peroxidasa, utilizada como biomolécula modelo. Son sistemas con potencialidades como marcadores fluorescentes.

CONCLUSIONES

Se presenta un trabajo multidisciplinario, novedoso y con potencialidades para su aplicación en biomedicina y bioquímica analítica, en un área de impacto y desarrollo estratégico como son las nanotecnologías. Los principales resultados han salido publicados en revistas de reconocimiento internacional y comienzan a dar visibilidad a las investigaciones realizadas en la Universidad de La Habana en esta área del conocimiento.

BIBLIOGRAFÍA

1. A.B. Djurisić, Y.H. Leung, *Small* 2 (2006) 944.
2. Z.L. Wang, J. Song, *Science* 312 (2006) 242.
3. I.O. Sosa, C.Noguez, R.G. Barrera, *J. Phys. Chem. B* 107 (2003) 6269.
4. R. Khan, A. Kaushik, P.R. Solanki, A.A. Ansari, M.K. Pandey, B.D. Malhotra, *Analytica Chimica Acta* 616 (2008) 207.
5. A. SalmanOgli, *Cancer Nanotechnology* 2 (2011) 1.
6. P. Patra, S Mitra, N. Debnath, A. Goswami, *Langmuir* 28 (2012) 16966.
7. M.Veerapandian, K.Yun, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 90 (2011) 1655.
8. M. El-Hilo, A.A. Dakhel., A.Y. Ali-Mohamed, *J. Magn. Magn. Mat.* 321 (2009) 2279.
9. M. Kapilashrami, J. Xu, V. Ström, K.V. Rao, L. Belova, *Appl. Phys. Lett.* 95 (2009) 033104.
10. T. Kataoka, Y.Yamazaki, V. R. Singh, Y. Sakamoto, A. Fujimori, Y. Takeda, T. Ohkochi, S.I. Fujimori, T. Okane, Y. Saitoh, H. Yamagami, A. Tanaka, M. Kapilashrami, L. Belova, K.V. Rao, *Appl. Phys. Lett.* 99 (2011) 132508.
11. A. Guptaa, B. Kim, E. Edwards, C. Brantley, P. Ruffin, *Mat. Sci. & Eng. B* 177 (2012) 1583.
12. M. Premanathan, K. Karthikeyan., K. Jeyasubramanian, G. Manivannan, *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 7 (2011). 184.
13. Z.M Saiyed, S. Sharma, R. Godawat, S.D Telang, C.N Ramchand, *J. Biotechnol.* 131 (2007) 240.
14. U.S.U. Thampy, Ch.R. Krishna, Ch.V. Reddy, B. Babu, Y.P. Reddy, P.S. Rao, R.V.S.S.N Ravikumar, *Appl. Magn. Reson.* 41 (2011) 69.
15. W. Yan, Q. Liu, Ch. Wang, X. Yang, T. Yao, J. He, Z. Sun, Z. Pan, F. Hu, Z. Wu, Z. Xie, S. Wei, *J. Am. Chem. Soc.* 136 (2014) 1150.