

Xerogeles de Colágeno-Carboximetilcelulosa como Adsorbentes de Azul de Metileno

E.R. ROCHA-VAZQUEZ*, J.A. CLAUDIO-RIZO¹, L.F. CANO-SALAZAR¹, T.E. FLORES-GALARZA¹
D.A. CABRERA-MUNGUÍA¹.

¹Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, Saltillo, Coahuila, México.

Resumen: Se sintetizaron por el método de microemulsión hidrogeles basados en colágeno y carboximetilcelulosa (CMC) cuyo porcentaje en la matriz colagénica fue variada en un 0, 8.3, 16.6 y 33.3 % en peso. Se determinó el índice de reticulación e hinchamiento máximo de los hidrogeles, obteniéndose que ambos parámetros tienen una relación directa con la máxima concentración de CMC, ya que se obtuvo una red interpenetrada (IPN) y con hinchamiento máximo de 1855% para el hidrogel con el mayor porcentaje en peso (CMC-400), esto se relaciona a los grupos hidroxilo presentes en la estructura química de la CMC. La caracterización de los xerogeles mediante ATR-FTIR indican que la reticulación entre la cadena polimérica de colágeno y CMC se debe no sólo a la participación del reticulante, sino también, a la interacción por puente de hidrógeno entre los grupos amino y carboxilo del colágeno, con los grupos hidroxilo de la CMC. Finalmente, la adsorción de azul de metileno se efectuó a 40°C y 60°C empleando los xerogeles, los datos cinéticos dieron un mejor ajuste lineal con la ecuación de Natarajan y Khalaf, el cual corresponde a una cinética de adsorción de 1er orden. Siendo el material con un porcentaje en peso de CMC del 8.3% (CMC-100) el que presentó una mayor constante cinética de adsorción. El aumento de la temperatura de adsorción de 40°C a 60°C, incrementó la constante cinética de adsorción en un 40%, no obstante, en detrimento de la estabilidad mecánica de los xerogeles.

Introducción

El azul de metileno es un compuesto químico orgánico heterocíclico aromático con fórmula molecular de $C_{16}H_{18}N_3S$, el cual es empleado como colorante bacteriológico, citogenética, microscopía, tratamiento de enfermedades, tratamiento de peces y pintura. La Norma Oficial Mexicana (NOM) 127-SSA1-1994 establece que el límite máximo de azul de metileno en el agua para consumo humano es de 0.1 miligramos por litro (mg/L), es decir, 0.1 ppm. En primera por ser un agente tóxico y su difícil degradación natural como contaminante en efluentes textiles [1].

Entre las tecnologías de tratamiento más relevantes para el tratamiento de colorantes como lo es el azul de metileno, se destacan los procesos de adsorción y filtración, las tecnologías avanzadas de oxidación (fotocatálisis, ozonación, fenton/UV, electrocoagulación, etc) y los procesos biológicos secuenciales (del tipo anaerobio - aerobio) [2].

Dentro de estas opciones la adsorción ha probado ser la forma más económica y

eficiente para la remoción de colorantes textiles con estructuras químicas a base de compuestos aromáticos empleando materiales naturales de alta disponibilidad, fácil obtención y de bajo costo [2].

Algunos materiales empleados como adsorbentes son los materiales silíceos, arcilla, zeolita, quitina, quitosano y carbón activado producido a partir de desechos sólidos, biomasa y subproductos y materiales industriales [3]. Por su parte los hidrogeles y sus xerogeles son polímeros reticulados con varios grupos funcionales hidrofílicos que pueden servir como sitios adsorptivos para la remoción de colorantes en efluentes contaminantes [4]. En este sentido la utilización de biopolímeros como el colágeno y la carboximetilcelulosa (CMC) con gran cantidad de grupos hidrofílicos ($-NH_2$ y OH^-), pueden ser útiles como un adsorbente biodegradable de colorantes capaz de disminuir la generación de nuevos residuos contaminantes [5, 6]

En este trabajo se realizó la síntesis de xerogeles adicionando diferentes cantidades de CMC (0, 8.3, 16.7 y 33.3% en masa) en una

matriz polimérica de colágeno para analizar el efecto de la concentración de CMC en sus propiedades de índice de reticulación, hinchamiento, reticulación química (ATR-FTIR) y su relación con sus propiedades adsorptivas para la eliminación de azul de metileno.

Parte experimental.

Síntesis de los hidrogeles de colágeno-carboximetilcelulosa (CMC).-Preparar una solución de carboximetilcelulosa (CMC) disolviendo 0.5 g de CMC en 100 mL de agua. Para iniciar con la síntesis de hidrogeles se utilizará como molde una placa de cultivo de 24 pozos. Posteriormente, se agregará a cada pozo 1 mL de colágeno y 100, 200 o 400 μ L de CMC según la composición deseada (Tabla 1). Luego, agregar a cada pozo 20 μ L del reticulante y 250 μ L de PBS 10X a cada pocillo, mezclar perfectamente. Posteriormente, la placa de cultivo es tapada y envuelta en papel parafilm para ser llevada a una incubadora a 37°C durante 24 h. Finalmente, los hidrogeles fueron secados a temperatura ambiente para su posterior uso en forma de xerogel.

Tabla 1. Composición de los Xerogeles de colágeno-CMC

Formulación	Colágeno	CMC, mg	CMC, μ L	Masa CMC, %
CMC-0	6	0.0	0	0
CMC-100	6	0.5	100	8.3
CMC-200	6	1.0	200	16.7
CMC-400	6	2.0	400	33.3

Índice de reticulación.- Para cada formulación y por triplicado se coloca un hidrogel en un tubo de 15 mL, al cual se le añaden 3 mL de agua y 1 mL de ninhidrina al 1% m/v. Para la preparación del blanco, en un lugar de colocar un hidrogel, se coloca 1 mL de colágeno sin reticular y 250 μ L de PBS 10 X. Posteriormente, los tubos se colocan en un baño seco a 90°C durante 2 h. Se toman alícuotas de 200 μ L que se colocan en una placa de 96 pozos para la posterior lectura de su absorbancia en un espectrofotómetro UV-Vis *Multiskan Sky ThermoScientific* a 567 nm. El cálculo del porcentaje de reticulación se realiza mediante la siguiente ecuación:

$$\% \text{ Reticulación} = \left(1 - \frac{A_{\text{Muestra}}}{A_{\text{Blanco}}}\right) * 100 \quad \text{Ec. (1)}$$

Donde A_{Muestra} y A_{Blanco} es la absorbancia del hidrogel de cualquier formulación y la absorbancia de colágeno sin reticular, respectivamente.

Hinchamiento máximo.- Se toman 3 hidrogeles de cada formulación y se registra su masa. Luego, se ponen a secar a temperatura ambiente para después registrar la masa del xerogel. De esta manera el hinchamiento máximo se calcula como:

$$\% \text{ Hinchamiento M}á\text{x.} = \frac{m_{\text{Hidrogel}} - m_{\text{Xerogel}}}{m_{\text{Xerogel}}} * 100 \quad \text{Ec. (2)}$$

Donde m_{Hidrogel} y m_{Xerogel} indican la masa del hidrogel y xerogel, respectivamente.

Caracterización de los xerogeles de colágeno-carboximetilcelulosa.- Los grupos funcionales involucrados en el entrecruzamiento del colágeno, la CMC y el reticulante estudiando los xerogeles mediante radiación de infrarrojo empleando un espectrómetro Perkin Elmer Frontier con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR), los espectros fueron adquiridos en un intervalo de 4000 a 600 cm^{-1} con una resolución de 4 cm^{-1} .

Experimentos de adsorción de azul de metileno.- Todos los experimentos de adsorción de azul de metileno fueron realizados por triplicado. Se realizó la comparación de la adsorción efectuada por las diferentes formulaciones de los xerogeles agregando aproximadamente 0.1 g de xerogel (2 obleas) en 20 mL de una solución de 100 ppm de azul de metileno a 40°C y 60°C. Se tomaron alícuotas de 200 μ L cada 30 minutos durante 4 h y la última alícuota a 24 h, para ser colocadas en una placa de 96 pozos y tomarse lectura a 680 nm en un espectrofotómetro UV-Vis *Multiskan Sky ThermoScientific*.

Resultados y discusión.

Reticulación.-La prueba de ninhidrina es una medida indirecta del grado de reticulación de los hidrogeles basados en colágeno-CMC. Como se observa en la Fig.1 es notorio un aumento general en el grado de reticulación a medida que se incrementa el porcentaje de

carboximetilcelulosa añadido. De forma tal que la formulación con mayor porcentaje de reticulación es CMC-400, obteniendo un valor dos veces superior a la formulación que no contiene CMC, este gran aumento en el índice de reticulación es un indicio de la formación de redes interpenetradas (IPN) entre el colágeno y la carboximetilcelulosa.

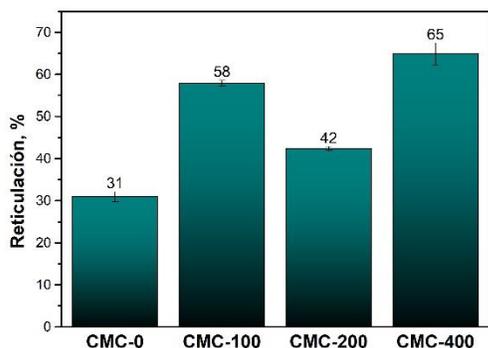


Figura 1. Reticulación de hidrogeles de colágeno-CMC(X)

Hinchamiento máximo.-El hinchamiento máximo de un hidrogel hace alusión a la concentración de grupos hidrofílicos que contiene su red tridimensional. Es evidente el aumento en el porcentaje de hinchamiento conforme se incrementa el porcentaje de CMC incorporado a la matriz de colágeno. Obteniéndose una mejora del 36.7% de hinchamiento máximo de la formulación CMC-400 respecto a la formulación que no contiene colágeno. Esto se atribuye a la mayor concentración de grupos hidroxilos que aporta la estructura química de la CMC a la estructura del colágeno.

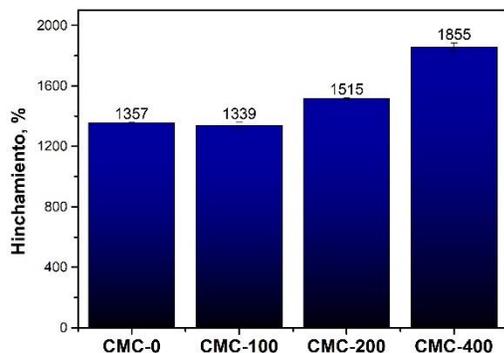


Figura 2. Hinchamiento máximo de hidrogeles de colágeno-CMC(X)

Espectroscopía infrarrojo (ATR-FTIR).- La Fig. 3 muestra los espectros de ATR-FTIR de los xerogeles de colágeno-CMC(X). En general los espectros muestran cerca de la región de 2900 cm^{-1} se encuentran dos bandas pertenecientes al estiramiento simétrico de los grupos metileno encontrados en la cadena alifática del colágeno. El pequeño hombro localizado en 1744 cm^{-1} hace referencia al grupo carbonilo del enlace tipo urea formado entre los grupos diisocianato del reticulante y los grupos amino presentes en el colágeno [7].

Además, los espectros muestran las bandas características de las proteínas en 1635 cm^{-1} (Amida I) atribuido al estiramiento del grupo carbonilo y su enlace mediante puente de hidrógeno, en 1536 cm^{-1} (Amida II) correspondiente al estiramiento de los grupos amino, mientras que en 1392 cm^{-1} (Amida III) se tiene el estiramiento C-N, cuyas intensidades disminuyen a mayor cantidad de CMC. Algo similar ocurre en la banda amplia en 3300 cm^{-1} relativas al estiramiento de grupos hidroxilo y amino provenientes de las cadenas poliméricas de CMC y colágeno, respectivamente. Lo anterior, sugiere interacciones por puente de hidrógeno entre los grupos amino del colágeno y los grupos hidroxilo de la CMC. Esto corrobora la formación de redes IPN entre el colágeno y la CMC, tal como se observó en los resultados de ninhidrina.

Finalmente, las bandas en la región de 1400 a 1000 cm^{-1} corresponden a la huella digital del colágeno, ya que en dicha región se encuentran bandas asociadas a la torsión de los enlaces C-H encontrados en los aminoácidos prolina e hidroxiprolina y que conforman la estructura helicoidal del colágeno [8].

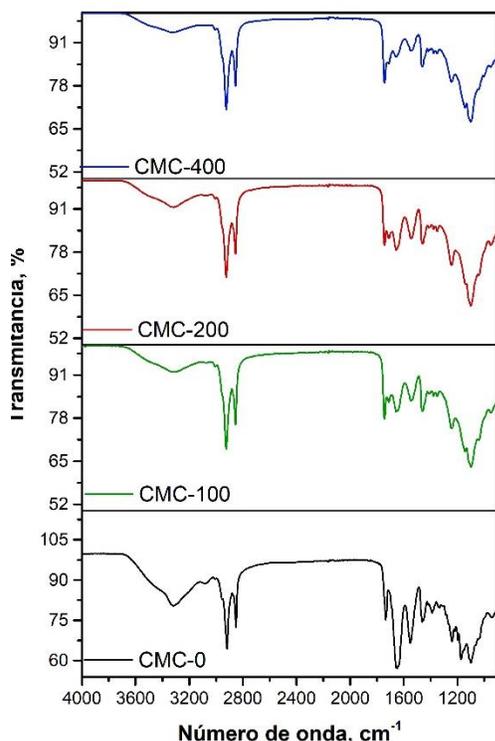


Figura 3. Espectros ATR-FTIR de xerogeles de colágeno-CMC(X)

Cinética de Adsorción. - Los xerogeles de colágeno-CMC(X) fueron comparados al realizar una cinética de adsorción de azul de metileno a 40°C y 60°C, partiendo en ambos casos de una solución inicial de 100 ppm (mg/L). Los datos cinéticos (Fig. 4) de todos los materiales a una temperatura de adsorción de 40°C y 60°C fueron ajustados al modelo cinético de Natarajan y Khalaf (Ec. 3) la cual refleja la relación entre la concentración inicial del adsorbato y la concentración a cualquier tiempo. La forma lineal se expresa como [9]:

$$\log\left(\frac{C_0}{C_t}\right) = \left(\frac{k}{2.303}\right)t \quad \text{Ec. (3)}$$

Donde C_0 y C_t son las concentraciones en mg/L (ppm) en el tiempo cero y a cualquier tiempo, respectivamente. La k indica la constante de adsorción de primer orden en unidades de min^{-1} . La Tabla 2, indica los valores del factor de correlación (R^2) y de la constante de adsorción de los materiales colágeno-CMC(X), observándose un aumento en el valor de la constante de adsorción que oscila entre el 7 y 30 % cuando se emplea el material CMC-100 en comparación con los demás materiales a 40°C. Mientras que a

60°C la constante cinética fluctúa de un 5.6% a un 36.4%. En forma general, conforme se incrementa la temperatura de 40°C a 60°C la constante cinética de adsorción se incrementa en un 40%. No obstante, a 60°C se observa que los xerogeles comienzan a degradarse debido a su composición a base de biopolímeros.

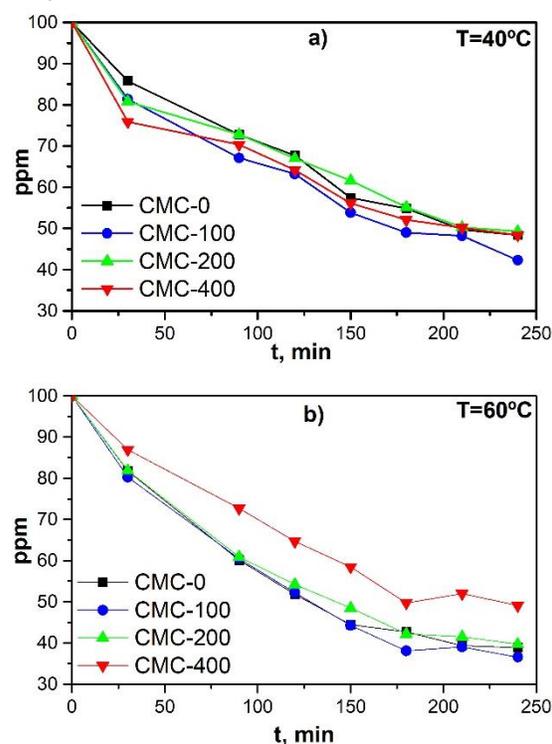


Figura 4. Cinética de adsorción de los xerogeles de colágeno-CMC(X) a a) 40°C y b) 60°C.

Tabla 2. Constante cinética de los Xerogeles de colágeno-CMC a 40°C y 60°C

Formulación	T=40°C		T=60°C	
	$k \times 10^3$, min^{-1}	R^2	$k \times 10^3$, min^{-1}	R^2
CMC-0	2.897	0.979	4.114	0.967
CMC-100	3.104	0.983	4.344	0.963
CMC-200	2.575	0.981	3.910	0.975
CMC-400	2.383	0.962	3.185	0.954

Conclusiones.

La caracterización de los hidrogeles de colágeno-CMC indican un aumento en el grado de reticulación e hinchamiento máximo conforme se incrementa la concentración de CMC en la matriz de colágeno, destacándose siempre la formulación CMC-400. Por otro lado, el incremento en la concentración de

CMC en la matriz polimérica de colágeno produce un aumento en las interacciones de bajo alcance (puente de hidrógeno) entre los grupos hidroxilo de la CMC y los grupos amino del colágeno. Lo anterior se observa en la disminución de las bandas asociadas a los grupos hidroxilo, amino y tipo amida como se indica en los espectros de infrarrojo, indicando la formación de redes interpenetradas (IPN). La adsorción con azul de metileno demuestra que la formulación CMC-100 presenta la mayor rapidez de adsorción tanto a 40°C como 60°C, a pesar de no presentar el mayor grado de hinchamiento ni de reticulación. Lo anterior, indica que al formarse redes IPN entre el colágeno y la CMC, una menor concentración de CMC hace que se obtenga una mayor concentración de grupos amino e hidroxilo libres en colágeno y CMC, respectivamente; capaces de realizar una más rápida adsorción de azul de metileno.

Agradecimientos.

JACR agradece al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología (CONAHCYT) for el financiamiento otorgado en el proyecto FORDECYT-PRONACES-6660.

Referencias.

1. I. Khan, K. Saeed, I. Zekker, B. Zhang, A.H. Hendi, A. Ahmad, S. Ahmad, N. Zada, H. Ahmad, LA. Shah, T. Shah, I. Khan. *Water* 14 (2022) p.242–272.
2. M. Shabir, M. Yasin, M. Hussain, I. Shafiq, P. Akhter, A-S. Nizami, B-H. Jeon, Y-K. Park. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 112 (2022) p.1-19.
3. Y. Zhou, J. Lu, Y. Zhou, Y. Liu. *Environmental Pollution* 252 (2019) p. 352-365.
4. Y. Yang, Q. Zhu, X. Peng, J. Sun, C. Li, X. Zhang, H. Zhang, H. Zhang, J. Chen, X. Zhou, H. Zeng, Y. Zhang. *Environmental Chemical Letters* 20 (2022) p. 2665-2685.
5. G.B. Marandi, Z.P. Kermani, M. Kurdtabar. *Polymer-Plastics Technology and Engineering* 52(3) (2013) p. 310-318.
6. H. Zhao, Z-X. Liang, Z-Z. Gao. *Colloid and Interface Science Communications* 49 (2022) 100637
7. J.A. Claudio-Rizo, I.A. González-Lara, T.E. Flores-Guia, L.F. Cano-Salazar, D.A. Cabrera-Munguia, J.J. Becerra-Rodríguez. *International Journal of Biological Macromolecules* 156 (2020) p. 27-39.
8. K. Belbachir, R. Noreen, G. Gouspillou, C. Petibois. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 395(3) (2009) p. 829-837.
9. M. Musah, Y. Azeh, J.T. Mathew, M. T. Umar, Z. Abdulhamid, A.i. Muhammad. *Caliphate Journal of Science & Technology* 1 (2022) p. 20-26.