

DECLARACIÓN

Declaro que la información contenida en la Parte Experimental así como en la Parte de Resultados y Discusiones de este documento y que forman parte de las actividades de investigación y desarrollo realizadas durante el período que se me asignó para llevar a cabo mi trabajo de tesis, será propiedad del Centro de Investigación en Química Aplicada.

Saltillo, Coahuila a 7 de Octubre de 2010



MARÍA GUADALUPE RODRÍGUEZ DELGADO

Nombre y Firma



CENTRO DE INFORMACIÓN

19 ABR 2012

RECIBIDO

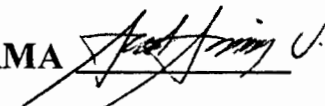
TESIS CON CARACTER ABIERTO

PROGRAMA: MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

AUTOR: MARÍA GUADALUPE RODRÍGUEZ DELGADO FIRMA 

TITULO: Estudio de la incorporación y dispersión de nanopartículas de plata en recubrimientos poliméricos a base de hidrogeles y su efecto en las propiedades antimicrobianas.

ASESORES: M.C. Isaura Gpe. Yáñez Flores FIRMA 

Dr. Saúl Sánchez Valdés FIRMA 

El Centro de Investigación en Química Aplicada clasifica el presente documento de tesis como ABIERTO.

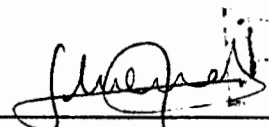
Un documento clasificado como Abierto se expone en los estantes del Centro de Información para su consulta. Dicho documento no puede ser copiado en ninguna modalidad sin autorización por escrito del Titular del Centro de Información o del Director General del CIQA.

Saltillo, Coahuila, a 7 de octubre de 2010



19 ABR 2012



 RECIBIDO
Dr. Juan Méndez Nonell
Director General del CIQA



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUIMICA
APLICADA**

TESIS

**ESTUDIO DE LA INCORPORACIÓN Y DISPERSIÓN DE
NANOPARTÍCULAS DE PLATA EN RECUBRIMIENTOS
POLIMÉRICOS A BASE DE HIDROGELES Y SU EFECTO EN
LAS PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS**

Presentada por:

L.C.Q. María Guadalupe Rodríguez Delgado

Para Obtener el Grado de:

MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

Saltillo, Coahuila. Octubre de 2010

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA
Programa de Maestría en Tecnología de Polímeros

TESIS

Estudio de la incorporación y dispersión de nanopartículas de plata en recubrimientos poliméricos a base de hidrogeles y su efecto en las propiedades antimicrobianas

Presentada por:

MARÍA GUADALUPE RODRÍGUEZ DELGADO

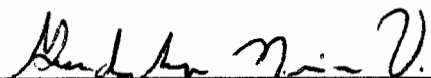
Para obtener el grado de:

MAESTRO EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

Asesorada por:

M.C. Isaura Gpe. Yáñez Flores
Dr. Saúl Sánchez Valdés

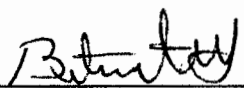
SINODALES



Dra. Ma. Guadalupe Neira Velazquez
Presidente



Dr. Luis Alfonso García Cerda
Secretario



Dra. Rebeca Betancourt Galindo
Vocal

Saltillo, Coahuila

Octubre, 2010

DEDICATORIA

A Dios por permitirme realizar este proyecto y llegar a la culminación de esta etapa de mi vida.

A mis padres Juana María y Manuel, por estar conmigo en todo momento, por los consejos y apoyo que me han brindado siempre, y sobre todo, por su amor y comprensión.

¡Gracias, los quiero mucho!

A mi esposo Juan Antonio, por todo su apoyo y comprensión, por sus palabras de aliento e impulso a seguir, motivándome día a día.

¡Gracias amor, te amo!

A una personita muy importante que se encuentra dentro de mí y que ha venido a cambiar mi vida llenándome de dicha y felicidad, acompañándome en estos últimos meses de mayor trabajo y esfuerzo para llegar a la meta y que, sin duda alguna, me dio toda la fuerza necesaria y más para lograrlo.

¡Gracias bebé, con todo mi amor para ti!

AGRADECIMIENTOS

A todos mis compañeros y amigos de generación por todos los momentos vividos que sin duda alguna serán bonitos recuerdos. A mis amigas Lili, Claudia, Marlene, Edna, Cris, y Adriana por estar conmigo siempre dándome su apoyo y amistad, y por aguantarme.

A mi amiga Marissa por todos los momentos que vivimos juntas en nuestra infancia y por permitirme nuevamente contar con su amistad.

A mis hermanos Mireya, Marisol, Julio y Manuel por su cariño y apoyo.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero proporcionado para cursar mis estudios de posgrado en el Programa de Maestría y Tecnología de polímeros.

Al Centro de Investigación en Química Aplicada (CIQA) por la oportunidad de realizar mis estudios de Maestría en esta institución.

A mis asesores la M.C. Isaura Gpe. Yañez Flores por su confianza, comprensión y apoyo, por sus consejos y conocimientos brindados durante la realización de mi tesis, los cuales fueron de gran ayuda, y al Dr. Saúl Sánchez Valdés por todo su apoyo para realizar este trabajo.

A mis sinodales la Dra. María Guadalupe Neira Velázquez, Dra. Rebeca Betancourt Galindo y Dr. Luis Alfonso García Cerda, por sus atinadas correcciones y sugerencias para mejorar mi tesis.

A la Lic. Patricia del Carmen Siller Flores por su disponibilidad y ayuda en la búsqueda de material bibliográfico requerido para la realización de este trabajo.

A la Dra. Alma Rosa Paredes Ramírez Coordinadora de Investigación Básica en la Facultad de Medicina de la UAdeC, por su apoyo en la realización de las pruebas antimicrobianas, así como a la Dra. Hortensia Ortega Ortíz.

Al L.C.Q. Luis Enrique Reyes Vielma, T.L.Q. Marcelina Sánchez Adame, Ing. Adán Herrera Guerrero e Ing. María Concepción González Cantú por todo su apoyo en la facilitación de instalaciones, material y equipo requerido para la realización de este proyecto. Al L.C.Q. Alejandro Espinoza Muñoz y M.P. José Ángel Sánchez Molina, por su valiosa colaboración en la caracterización por espectroscopia de absorción atómica. Así como a la M.C. Anabel Ochoa Córdoba, M.C. Rosario Rangel Ramírez, L.C.Q. Sandra Luz Ramos Ramírez y L.C.Q. José Javier Borjas Ramos,

A los técnicos Fabián Chávez Espinoza, Sergio Zertuche Rodríguez, Francisco Zendejo Rodríguez, José López Rivera y Jesus Rodríguez Velázquez por su apoyo en todo lo relacionado a la planta piloto.

A la M.C. María Luisa López Quintanilla, M.C. Silvia Torres Rincón, M.C. Blanca M. Huerta Martínez, Lic. Josefina Zamora Rodríguez, M.C. Mónica Aimeé Ceniceros Reyes y Dr. Arturo Ponce Pedraza, por su disponibilidad y ayuda en las caracterizaciones requeridas con los equipos de SEM, IR, Rayos x, MOP y estereoscopia, así como TEM.

ÍNDICE

	Pág.
1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. ANTECEDENTES	5
3.1 Geles	5
3.1.1 Características de los geles poliméricos	6
3.1.2 Clasificación general de los geles	7
3.1.2.1 Clasificación por formación de entrecruzamiento	8
3.2 Hidrogeles	9
3.2.1 Clasificación de hidrogeles	10
3.2.2 Métodos de preparación de hidrogeles	10
3.2.3 Características de los hidrogeles	12
3.2.4 Propiedades de los hidrogeles	13
3.3 Nanopartículas	16
3.3.1 Organización estructural.	16
3.4 Nanopartículas de plata	17
3.4.1 Síntesis de nanopartículas de plata	17
3.4.1.2 Incorporación de nanopartículas de plata	19
3.4.1.2.1 En hidrogeles	19
3.4.1.2.2 En fibras textiles	21
3.4.2 Propiedades físicas	23
3.4.3 Propiedades químicas	25
3.4.3.1 Área superficial	25
3.4.3.2 Toxicidad	26
3.4.4 Propiedades antimicrobianas	28
4. HIPÓTESIS	33
5. OBJETIVOS	34

6.	PARTE EXPERIMENTAL	35
6.1	Reactivos y materiales	35
6.1.1	Reactivos	35
6.1.2	Materiales	36
6.2	Preparación de hidrogeles	37
6.2.1	Pruebas preliminares	38
6.3	Incorporación de nanopartículas de plata comerciales	39
6.3.1	Dispersión mediante ultrasonificación de las nanopartículas de plata en el medio de reacción previo a la polimerización	39
6.3.2	Dispersión de las nanopartículas de plata en el hidrogel por ultrasonificación	40
6.4	Síntesis de nanopartículas de plata e incorporación en el hidrogel y en el sustrato textil	41
6.4.1	Recubrimiento del hidrogel en el sustrato textil A y/o V (AH o VH)	41
6.4.2	Síntesis de nanopartículas de plata coloidal	41
6.4.2.1	Incorporación de plata coloidal en el hidrogel y el sustrato textil	41
6.4.3	Síntesis de nanopartículas de plata mediante la incorporación “in situ” en el sustrato textil	42
6.5	Caracterización	47
6.5.1	Caracterización de nanopartículas de plata coloidal	47
6.5.1.1	Espectroscopia UV	47
6.5.1.2	Microscopia electrónica de transmisión	47
6.5.2	Caracterización de sustratos textiles G, V y A sin tratar y con hidrogel y nanopartículas de plata incorporados	47
6.5.2.1	Microscopia óptica (MOP) y estereoscópica	48
6.5.2.2	Espectroscopia infrarroja	48
6.5.2.3	Microscopia electrónica de barrido (SEM) y EDAX	48
6.5.2.4	Difracción de rayos x de ángulo amplio (WAXS)	48

6.5.2.5	Espectroscopia de absorción atómica (AA)	49
6.6	Pruebas antimicrobianas	49
7.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	50
7.1	Pruebas preliminares	50
7.2	Dispersión de las nanopartículas de plata en el medio de reacción previo a la polimerización por ultrasonificación	50
7.3	Dispersión de las nanopartículas de plata en el hidrogel por ultrasonificación	51
7.4	Síntesis de nanopartículas de plata	52
7.4.1	Síntesis de nanopartículas de plata coloidal	53
7.4.2	Síntesis de nanopartículas de plata “in situ”	54
7.5	Caracterización	56
7.5.1	Caracterización de plata coloidal	56
7.5.1.1	Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-vis)	56
7.5.1.2	Microscopia electrónica de transmisión (TEM)	57
7.5.1.3	Espectroscopia de absorción atómica (AA)	58
7.5.2	Caracterización de sustratos textiles G, V y A sin tratar y tratados con hidrogel y nanopartículas de plata	58
7.5.2.1	Microscopia óptica (MOP) y estereoscópica	59
7.5.2.2	Espectroscopia infrarroja (IR)	63
7.5.2.3	Microscopia electrónica de barrido (SEM) y Espectroscopia de energía dispersiva de rayos x (SEM-EDAX)	67
7.5.2.4	Difracción de rayos x de ángulo amplio (WAXS)	81
7.5.2.5	Absorción atómica (AA)	82
7.6	Pruebas antimicrobianas	84
7.6.1	Determinaciones cualitativas	84
7.6.1.1	Pseudomona Aeruginosa	85
7.6.1.2	Staphylococcus Aureus	85
7.6.2	Determinaciones cuantitativas	88
7.6.2.1	Porcentajes de inhibición para Pseudomona Aeruginosa	88

7.6.2.2	Porcentajes de inhibición para Staphylococcus Aureus	89
8.	CONCLUSIONES	92
9.	BIBLIOGRAFÍA	95
Apéndice A.	Procedimiento para la realización de pruebas antimicrobianas	100

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
3.1	Ejemplos ilustrativos de geles	5
3.2	Fotografía de un hidrogel	10
3.3	Representación esquemática de la relación de las propiedades de un hidrogel y su estructura	13
3.4	Etapas de transformación de un átomo metálico a nanopartícula	17
3.5	Formación de nanopartículas de plata por reducción química dentro de un hidrogel	19
3.6	Incorporación “in situ” de nanopartículas de plata y obtención de un hidrogel	20
3.7	Síntesis de hidrogel con nanopartículas de plata por polimerización fotoinducida y reducción simultánea de cationes de plata	20
3.8	Intercambio de iones metálicos y reducción a nanopartículas de plata en un sustrato de una película multicapa	22
3.9	Representación del espectro UV-vis de nanopartículas de plata esféricas para diferentes tamaños	24
3.10	Espectros UV-vis de nanopartículas de plata de morfología esférica, pentagonal y triangular	25
3.11	Acción bactericida por formación de radicales libres	30
3.12	Mecanismo de triple acción bactericida	31
3.13	Organización estructural de membranas Gram-positiva y Gram-negativa	32
6.1	Sustratos textiles de prueba	37
6.2	Diagrama de flujo general de la parte experimental	44
6.3	Diagrama de flujo “síntesis de nanopartículas de plata coloidal e impregnación en el sustrato textil con hidrogel”	45
6.4	Diagrama de flujo “síntesis de nanopartículas de plata “in situ” e impregnación en el sustrato textil con hidrogel”	46

7.1	Dispersión de nanopartículas de plata comerciales en el medio de reacción	51
7.2	Dispersión de nanopartículas de plata comerciales en el hidrogel	52
7.3	Solución coloidal de plata	53
7.4	Imágenes fotográficas de muestras preparadas con solución coloidal de plata VHNS L, VHNS SL y VHNS20	53
7.5	Muestras VHNSI, VHsNSI y AHAgNSI o VHAgNSI	55
7.6	Espectro UV-vis de plata coloidal	57
7.7	Micrografía de análisis por TEM de partículas de plata coloidal	58
7.8	Micrografías de MOP y estereoscopio del sustrato textil G, GH, GHNC	59
7.9	Micrografías de MOP y estereoscopio del sustrato textil V (venda) y VH (venda con hidrogel)	60
7.10	Micrografías de MOP y estereoscopio del sustrato textil VHNS, VHNS20, VHNSI y VHAgNSI	62
7.11	Espectro infrarrojo, V (venda) y VH (venda con hidrogel)	63
7.12	Espectro infrarrojo, VH, VHNS L y SL y VHNS20	64
7.13	Espectro infrarrojo, muestras VHAgNSI	65
7.14	Espectro infrarrojo, sustrato textil A (tela de algodón) y AH (tela de algodón con hidrogel)	66
7.15	Espectro infrarrojo, muestras AHAgNSI	67
7.16	Micrografías de SEM de la muestra de la prueba F, GHNC	68
7.17	Micrografías de SEM de la muestra VH (venda con hidrogel)	69
7.18	Micrografías de SEM de la muestra VHNS SL	69
7.19	Micrografías de SEM de la muestra VHNS20	70
7.20	Micrografías de SEM de las muestras VHNSI y VHsNSI	71
7.21	Micrografías de SEM de la muestra VHAgNSI 0.02 M	72
7.22	Micrografías de SEM de la muestra AHAgNSI 0.06 M e histograma de distribución de tamaños de partícula	73
7.23	Micrografías de SEM de la muestra VHAgNSI 0.1 M e histograma de distribución de tamaños de partícula	74
7.24	Micrografías de SEM de la muestra VHAgNSI 0.14 M e histograma de	75

	distribución de tamaños de partícula	
7.25	Micrografías de SEM de la muestra VHAgNSI 0.2 M	76
7.26	Micrografías de SEM de la muestra VHAgNSI 1 M	77
7.27	Representación esquemática de la estabilización de nanopartículas de plata por un exceso de borohidruro de sodio	77
7.28	Micrografías de SEM de la muestra comercial “venda adhesiva”	78
7.29	Análisis elemental de la muestra VHAgNSI 0.06 M	79
7.30	Mapeo elemental mediante SEM/EDAX para las muestras V y A-HAgNSI 0.06 M	80
7.31	Mapeo elemental mediante SEM/EDAX para las muestras VHAgNSI 0.1 M	80
7.32	Difracción de rayos x de las muestras VHAgNSI 0.02 y 0.1 M	81
7.33	Imágenes fotográficas de pruebas antibacteriales con la bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i> de las muestras de sustratos textiles tratados, sin tratar (blancos) y muestra comercial	86
7.34	Imágenes fotográficas de pruebas antibacteriales con la bacteria <i>Staphylococcus Aureus</i> de las muestras de sustratos textiles tratados, sin tratar (blancos) y muestra comercial	87

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla		Pág.
6.1	Reactivos para elaboración del hidrogel por copolimerización por radicales libres y sus características	35
6.2	Reactivos para síntesis de nanopartículas de plata y sus características	36
6.3	Relación de pruebas preliminares para la obtención de hidrogeles	39
6.4	Contenido de nanopartículas de plata y tiempos de aplicación de ultrasonido para la dispersión e incorporación de éstas en el medio de reacción	40
6.5	Contenido de nanopartículas de plata y tiempo de aplicación de ultrasonido para la incorporación de éstas al hidrogel	40
7.1	Cuantificación de plata por absorción atómica	83
7.2	Muestras utilizadas en pruebas antimicrobianas	84
7.3	Porcentajes de inhibición para muestras probadas con la bacteria <i>Pseudomona Aeruginosa</i>	89
7.4	Porcentajes de inhibición para muestras probadas con la bacteria <i>Staphylococcus Aureus</i>	90

1. RESUMEN

En este trabajo se preparó un hidrogel mediante copolimerización por radicales libres, empleando como monómeros ácido acrílico y ácido itacónico, así como un iniciador y un agente entrecruzante tipo acrilamida, estableciendo concentraciones y condiciones para obtener un hidrogel de una consistencia adecuada, tal que permitiera lograr una buena impregnación en un sustrato textil. Se llevó a cabo la incorporación de diferentes concentraciones de nanopartículas de plata comerciales en el medio de reacción previo a la polimerización y en el hidrogel polimérico utilizando ultrasonido.

Se obtuvieron nanopartículas de plata mediante dos métodos: a) en solución coloidal, b) “in situ”, por el método de reducción química utilizando AgNO_3 como sal precursora de plata y NaBH_4 como agente reductor; para ser incorporados, posteriormente, al hidrogel y al sustrato textil. Se utilizaron tres sustratos textiles de prueba (Gasa “G”, tela de algodón “A” y venda de algodón y poliéster “V”) para ser impregnados con el hidrogel y las nanopartículas de plata. Se llevó a cabo la dispersión de nanopartículas de plata coloidal en el hidrogel e incorporación del mismo al sustrato textil V, así como de manera “in situ” al hidrogel y sustrato textil A y V.

La caracterización de las muestras se llevó a cabo mediante Espectroscopia infrarroja por reflectancia total atenuada (IR-ATR), Espectroscopia ultravioleta visible (UV-vis), Microscopia óptica (MOP) y estereoscopia, Microscopia electrónica de transmisión (TEM), Microscopia electrónica de barrido y energía dispersiva de rayos X (SEM/EDAX), Absorción atómica (AA) y Difracción de rayos X.

Se realizaron además pruebas antimicrobianas cualitativas y cuantitativas a las muestras de sustratos textiles A y V tratadas y sin tratar, obtenidas “in situ”, probando las bacterias del tipo de membrana Gram-positiva, *Staphylococcus Aureus* y Gram-negativa, *Pseudomona Aeruginosa*, las cuales están presentes en infecciones y quemaduras de la piel evaluando así la acción antibacteriana de cada muestra.

La síntesis “in situ” mostró ser el método más adecuado tanto para la obtención de nanopartículas de plata con un tamaño adecuado, con una buena distribución y dispersión; así como, para lograr una incorporación efectiva en el sustrato textil con hidrogel. Por otra parte, el sustrato textil que mostró un mejor desempeño en las pruebas efectuadas fue la venda de algodón y poliéster “V”.

El análisis infrarrojo permitió detectar la presencia de hidrogel en las muestras mediante la identificación de las bandas de los grupos característicos de éste. Las determinaciones de Microscopía electrónica y de análisis elemental permitieron observar al hidrogel y la dispersión de plata sobre las fibras textiles, así como determinar el tamaño de las partículas de plata las cuales se encontraron en tamaños por debajo de los 100 nm, e identificar cualitativamente la presencia de plata.

Las pruebas antimicrobianas mostraron cualitativa y cuantitativamente el efecto antimicrobiano, sobre las bacterias probadas, con las diversas muestras preparadas “in situ” (procedimiento 3) obteniendo halos de inhibición visibles y porcentajes de inhibición superiores a 90 %.

2. INTRODUCCIÓN

La preparación de recubrimientos con nanopartículas de plata presenta gran interés académico e industrial por la variedad de aplicaciones tecnológicas; actualmente la industria y la academia buscan nuevos métodos de preparación de recubrimientos que permitan su obtención de manera sencilla y económica y que permita una mayor eficiencia en su actividad antimicrobiana. El uso de materiales y recubrimientos antimicrobiológicos se ha incrementado en muchas áreas de aplicación, especialmente en ropa de protección para uso médico y uso militar, en ropa deportiva, ropa interior y otros productos relacionados con la salud ^[1].

El control de microorganismos en las fibras textiles se requiere dentro de diversas áreas como el ambiente de hospitales y en el hogar. Las telas ya sea elaboradas con fibras naturales o sintéticas, no tienen resistencia a bacterias u hongos patógenos ^[2]. Recientemente un mayor conocimiento sobre higiene en general, la transmisión de enfermedades por contacto, y la protección personal ha llevado al desarrollo de fibras con características antibacterianas para proteger a los usuarios contra las bacterias precursoras de enfermedades ^[3], favorecer la cicatrización y cura de heridas y quemaduras; así como, reducir el crecimiento de hongos y bacterias en diversas partes del cuerpo humano. Con este propósito diversas técnicas para proporcionar características antibacteriales y de desinfección se han desarrollado para todo tipo de telas.

Los hidrogeles son materiales poliméricos entrecruzados en forma de red tridimensional de origen natural o sintético, que se hinchan en contacto con el agua formando materiales blandos y elásticos, que retienen una fracción significativa de la misma, en su estructura, sin disolverse ^[4]. El uso de hidrogeles en el tratamiento y cuidado de quemaduras y heridas es bien conocido. Los apósitos de hidrogel son especialmente favorables debido a que el exudado de la herida, por lo general, no se seca; por consiguiente, la retirada de estos apósitos normalmente no es ni dolorosa ni perjudicial para el proceso de curación.

Se ha sugerido que los apósitos de hidrogel pueden ser particularmente favorables para el tratamiento de quemaduras porque pueden acelerar su curación. Aunque el mecanismo mediante el cual los hidrogeles estimulan la curación no es totalmente claro, se ha documentado que el contenido de agua en los hidrogeles permite que los mismos efectúen un enfriamiento inmediato de la superficie de la herida o quemadura y mantenga la temperatura reducida durante un período de hasta seis horas ^[5].

En años recientes ha sido de gran interés la incorporación funcional de nanopartículas metálicas en redes de hidrogeles tridimensionales. Combinando las nanopartículas metálicas con una matriz de hidrogel adecuada proporciona la posibilidad para controlar las propiedades físicas y químicas de los materiales híbridos, lo que extenderá sus aplicaciones en muchas áreas. La plata es un importante metal disponible comercialmente y sus nanopartículas son mejores a otras partículas metálicas de tamaños nanométricos por la variedad de propiedades que presenta como, su excelente conductividad eléctrica, propiedades ópticas y catalíticas, pero sobre todo por sus grandes efectos antimicrobianos ^[6]. Se sabe que las nanopartículas de plata son altamente tóxicas para ciertos microorganismos, mostrando efectos biocidas fuertes en varias especies, tales como E. Coli, S. Epidermis entre otras ^[7].

Considerando lo anterior, este trabajo se ha enfocado a la obtención de un material textil con un recubrimiento polimérico de hidrogel con nanopartículas de plata, las cuales confieren al material propiedades antimicrobianas que permitirán su aplicación en el área médica como material de curación específicamente para heridas y quemaduras en la piel.

3. ANTECEDENTES

3.1 Geles

Aunque muchas definiciones han sido sugeridas y atribuidas a los geles en la literatura, se sabe que son difíciles de definir como una clase de materiales, ya que representan un estado de algún modo intermedio entre un sólido y un líquido, pero normalmente muestran en conjunto un aspecto sólido aunque también pueden presentarse algunos rasgos del líquido (Figura 3.1). Aunque un gel puede estar formado de 99.9% de líquido, puede todavía comportarse como un sólido. Bajo condiciones normales, los geles son capaces de guardar el trabajo o fuerza empleada en su deformación, y recobrar su forma original, la cual es su propiedad de “elasticidad” y es esencial de un sólido [8].

Sin embargo, la mayoría de los autores definen a los geles como materiales poliméricos con estructuras de redes tridimensionales que son insolubles en solventes. Esta definición podría presentar una confusión con respecto a los hidrogeles por lo que **Issa Katime y colaboradores** [9] definen a los geles como una red tridimensional de cadenas flexibles, constituida por segmentos conectados de una determinada manera e hinchada por un líquido. Si el líquido que solvata las cadenas es orgánico recibe el nombre de organogel, mientras que si el responsable de la solvatación es el agua, entonces se denominan **hidrogeles**.



Figura 3.1. Ejemplos ilustrativos de geles.

Los geles existen bajo condiciones especiales, “los geles hinchados que tienden a absorber una gran cantidad de solvente se encuentran en un estado entre sólido y líquido y sus propiedades cambian de líquido viscoso a sólido conforme a la composición química y a otros factores como pH, temperatura etc.” La formación del gel ocurre vía entrecruzamiento, sin embargo, no necesariamente requiere formación de enlaces covalentes. Puede también lograrse mediante fuerzas secundarias como lo son los puentes de hidrógeno. Así los geles pueden definirse como redes tridimensionales entrecruzadas, que absorben solventes y se hinchan a un limitado grado sin disolverse, que presentan características entre un sólido y un líquido ^[10].

Los organismos vivos están formados en su mayoría de geles. A excepción de los huesos, los dientes, las uñas y las capas externas de la piel, los tejidos de los mamíferos son materiales constituidos de gel acuoso principalmente compuesto de proteínas y redes de polisacáridos. Esto permite que el organismo transporte los iones y moléculas con mayor facilidad y eficacia, manteniendo su solidez ^[11].

3.1.1 Características de los geles poliméricos

Los geles poliméricos están constituidos por dos componentes, redes de polímero y solventes. La red de polímero envuelve al líquido y previene que este escape. En otras palabras, el gel juega el papel de un contenedor que sostiene una gran cantidad de solvente. Un gel muy hinchado actúa como un líquido porque el coeficiente de difusión de las moléculas pequeñas es muy alto. Los geles también tienen las propiedades de un sólido suave; se encogen o cambian de forma cuando se cortan o se les aplica una fuerza, algunos geles también se extienden o contraen de forma reversible debido a una transición de fase cuando se sumergen en determinados disolventes bajo ciertas condiciones ^[10]. Las transiciones de fase en geles, han atraído mucha atención de los investigadores desde que Tanaka las observara por primera vez en 1979 en geles poliméricos de acrilamida ^[12].

Las propiedades de un gel polimérico dependen grandemente de la estructura de la red que forma al gel y de la interacción entre la red y el solvente. La movilidad de las redes de polímero se encuentra restringida por su estructura entrecruzada. Sin embargo, los geles poseen gran movilidad porque las macromoléculas que los constituyen se extienden en un

espacio. Otra importante característica de los geles es que son materiales abiertos que están en un estado de no equilibrio, es decir, que pueden intercambiar energía, materia e información. Los geles también funcionan como un lugar en donde las reacciones químicas pueden llevarse a cabo, responden fuera de los ambientes y exhiben sus propias características y funciones por cambios de formas y estados. Además, los geles también pueden exhibir conductividad eléctrica, estereoregularidad y respuesta a estímulos externos como el pH, calor, luz y campos eléctricos dependiendo del polímero que constituye el gel^[10].

3.1.2 Clasificación general de los geles

En 1974 se presentó, en uno de los artículos mas citados sobre geles y gelación de Paul Flory, una clasificación general de geles los cuales se denominaron respectivamente, Flory I, II, III y IV. Esta clasificación fue establecida considerando las siguientes bases^[8]:

- 1) Estructuras lamelares bien definidas, incluyendo mesofases de gel.
- 2) Redes poliméricas covalentes, completamente desordenadas.
- 3) Redes de polímeros formadas a través de agregación física, predominantemente desordenada pero con regiones ordenadas.
- 4) Estructuras particuladas desordenadas.

Recientemente, los geles se han clasificado en naturales y artificiales, de acuerdo al tipo de agente de entrecruzamiento que da lugar a la red tridimensional, etc. Por otra parte, existen varios tipos de clasificación de geles poliméricos. Generalmente son divididos en tres categorías^[10].

- 1) clasificación basada en líquidos que llenan redes tridimensionales.
- 2) clasificación basada en polímeros que forman geles; y
- 3) clasificación basada en el método de formación de redes poliméricas.

De acuerdo con esta clasificación nos enfocaremos en la categoría 3 “Clasificación por formación de redes poliméricas (entrecruzamiento)”.

3.1.2.1 Clasificación por formación de entrecruzamiento

Esta clasificación puede ser dividida en:

Geles químicos. Aquellos formados por una reacción química mediante enlaces covalentes. Formados por unión de hidrógeno como fuerzas de Van der Waals o unión iónica. Generalmente, los geles formados mediante enlace químico no pueden ser disueltos, y son también llamados geles irreversibles.

Geles físicos. Formados por enredamiento físico de cadenas de polímero, los cuales son creados de una manera reversible, por cambios en la temperatura, composición del solvente, y pH son también llamados reversibles. Muchos de los polímeros naturales caen dentro de esta categoría.

Los *geles químicos* se dividen de acuerdo al método de entrecruzamiento en:

Métodos de entrecruzamiento durante las reacciones de polimerización

- Geles sintetizados usando polimerización de condensación
- Geles sintetizados usando polimerización por radicales libres
 - Polimerización térmica
 - Polimerización por radiación
 - Fotopolimerización
 - Polimerización por Plasma

Métodos de entrecruzamiento de algunas cadenas de polímero

- Métodos de entrecruzamiento usando los grupos funcionales del polímero
- Entrecruzamiento por radiación
- Foto entrecruzamiento
- Entrecruzamiento por plasma
- Entrecruzamiento mediante enlaces de hidrógeno
- Entrecruzamiento vía enlaces iónicos
- Entrecruzamiento mediante coordinación de enlaces

Específicamente nos es de gran interés, de los métodos de entrecruzamiento durante las reacciones de polimerización, los geles sintetizados térmicamente mediante polimerización por radicales libres debido a que en este trabajo los geles sintetizados, los cuales son solvatados por agua “hidrogeles”, fueron preparados mediante este método.

Geles sintetizados usando polimerización térmica por radicales libres.

Este procedimiento consiste en utilizar iniciadores de radicales libres, se obtienen geles mediante polimerización con un monómero apropiado, agente entrecruzante e iniciador en un buen solvente del polímero.

Los iniciadores de radicales libres inician la polimerización a baja temperatura, los iniciadores redox solo son utilizados en ocasiones. Para estos iniciadores hay una temperatura óptima a la cual se generan los radicales libres. Por lo general, para crear un gel con una red uniforme es importante seleccionar monómeros y agente entrecruzante similares ^[10].

3.2 Hidrogeles

No existe una definición precisa del término hidrogel, la descripción más usual se refiere a ellos como materiales poliméricos entrecruzados en forma de red tridimensional de origen natural o sintético, que se hinchan en contacto con el agua formando materiales blandos y elásticos, y que retienen una fracción significativa de la misma en su estructura sin disolverse ^[4].

Una definición más precisa de hidrogeles, desde un punto de vista químico, es: Geles que contienen agua al hincharse en presencia de ésta aumentando su volumen considerablemente pero manteniendo su forma hasta alcanzar un equilibrio físico-químico (Figura 3.2), son estructuras poliméricas entrecruzadas producidas por la reacción de uno o más monómeros, o asociación de enlaces tal como, enlaces hidrógeno y fuerzas de Van der Waals, interacciones entre cadenas caracterizadas por hidrofiliidad e insolubilidad en agua ^[9, 13, 14].



Figura 3.2. Fotografía de un hidrogel.

3.2.1 Clasificación de hidrogeles

Los hidrogeles pueden clasificarse de varias formas dependiendo de qué características y propiedades particulares se tomen como referencia ^[4].

- *En base a la naturaleza de los grupos laterales*
Pueden clasificarse en neutros o iónicos (aniónicos, catiónicos, anfóteros).
- *De acuerdo a sus características mecánicas y estructurales*
Se pueden clasificar en redes afines o redes fantasma.
- *De acuerdo al método de preparación*
Red homopolimérica, copolimérica, multipolimérica, o red polimérica interpenetrada.
- *En base a la estructura física de la red*
En hidrogeles amorfos, semicristalinos, estructuras por enlaces de hidrógeno y agregados hidrocoloidales.

3.2.2 Métodos de preparación de hidrogeles

En la síntesis de un hidrogel, junto a los elementos habituales de cualquier reacción de polimerización, tales como el disolvente, monómero o monómeros y el iniciador, se necesita de un agente entrecruzante, que va a ser el responsable de la estructura reticulada del gel ^[4, 9].

Al sintetizar un hidrogel se puede elegir entre un gran número de monómeros, los cuáles se pueden agrupar en tres categorías:

1) *Monómero con sustituyentes laterales no ionizables:*

En esta categoría pueden incluirse la acrilamida ^[15, 16], la N-vinilpirrolidona ^[17,18], el metacrilato de 2-hidroxietilo ^[19,20], etc.

2) *Monómeros con grupos funcionales ionizables:*

Como, por ejemplo, los ácidos acrílicos ^[21-23], metacrílicos ^[24, 25], itacónico ^[3, 7, 22, 23], sulfónicos y aminas; de los cuales se obtienen hidrogeles que absorben gran cantidad de agua y tienen pobres propiedades mecánicas.

3) *Monómeros zwitteriónicos o sales internas:*

El sustituyente lateral consiste en dos grupos cargados y unidos a la cadena principal, por ejemplo: hidrogeles donde cadenas de acrilamida fueron formadas en soluciones acuosas de polielectrolitos de poli-estirensulfonato de sodio (NaPSS), poli(cloro N,N'-dimetil-N,N'-dialilamonio) (PDMDAAC), complejo estequiométrico interpolioelectrolito de NaPSS-PDMDAAC ^[26]. Su característica primordial es que para el polímero entrecruzado el hinchamiento de la red es mayor en disolución salina que en agua.

Los hidrogeles se preparan mediante el hinchamiento de una estructura entrecruzada en agua o en fluidos biológicos que contienen grandes cantidades de ésta. La mayoría de las veces, el fluido puede estar presente durante la formación de la estructura entrecruzada.

Existen varios métodos para preparar *hidrogeles entrecruzados* entre ellos ^[4]:

Entrecruzamiento por radiación: Esta reacción utiliza la emisión de electrones, rayos gamma, rayos X o luz ultravioleta para excitar el polímero y producir la estructura entrecruzada.

Reacción química: Este método es una reacción de copolimerización y entrecruzamiento entre uno o más monómeros y un monómero multifuncional el cual está presente en muy pequeñas cantidades, este último actúa como agente entrecruzante y presenta una masa molecular pequeña, se une a cadenas de peso molecular grande a través de sus grupos multifuncionales.

Independientemente del tipo de polimerización y de los monómeros que se utilicen, es necesario emplear un agente desencadenante de la reacción de polimerización o iniciador. Los sistemas de iniciación que pueden emplearse son los habituales en la síntesis de polímeros: radicales libres, temperatura, iniciadores iónicos, radiación gamma o par redox.

El *entrecruzamiento covalente* puede obtenerse por una variedad de técnicas:

Polimerización de una disolución concentrada de ácido acrílico que puede causar auto-entrecruzamiento a través de la eliminación de átomos de hidrógeno del esqueleto del polímero, seguida de combinaciones de radicales.

Radiación ionizante que puede ser controlada a través de la dosis y la velocidad de la radiación aplicada al sistema.

Copolimerización del monómero principal con una pequeña cantidad de un comonómero multifuncional (la ruta más común). Las fuerzas cohesivas que permiten el entrecruzamiento no son tan sólo de carácter covalente. También intervienen otras fuerzas, como por ejemplo, las electrostáticas, hidrófobas, interacciones dipolo-dipolo o enlaces de hidrógeno.

La elección del agente entrecruzante es fundamental para optimizar las propiedades del hidrogel. Estos agentes han de poseer varios grupos reactivos en su estructura, siendo habitual la utilización de compuestos tetra- y hexa-funcionales. Un ejemplo de este tipo de monómeros y uno de los más utilizados es la N,N-metilenbisacrilamida ^[25, 27-30], empleada en muchas copolimerizaciones para la formación de hidrogeles.

3.2.3 Características de los hidrogeles

Los hidrogeles presentan una serie de características particulares como son ^[4, 9]:

- Carácter hidrófilo: debido a la presencia en la estructura de grupos solubles en agua (-OH, -COOH, -CONH₂, -CONH, SO₃H).
- Insolubles en agua: debido a la existencia de una red polimérica tridimensional en su estructura.

- Presentan una consistencia suave y elástica la cual está determinada por el monómero hidrófilo de partida y la baja densidad de entrecruzamiento del polímero.
- Se hinchan en agua aumentando considerablemente su volumen hasta alcanzar un equilibrio químico-físico, pero sin perder su forma. La forma no hidratada se denomina xerogel.

El entrecruzamiento en los hidrogeles ocurre debido no solo a uniones covalentes (enlaces σ), típicas de cualquier material entrecruzado sino también a fuerzas intermoleculares de Van der Waals, interacciones dipolo-dipolo y a los enlaces de hidrógeno. En los hidrogeles existen, además, otros tipos de interacciones como son las fuerzas electrostáticas, tanto atractivas como repulsivas, uniones intermoleculares de componentes hidrófobos e interacciones iónicas^[4,9].

3.2.4 Propiedades de los hidrogeles

Existe una relación directa entre las propiedades de un hidrogel (o un polímero en general) y su estructura, de tal forma que ambas características no pueden considerarse de forma aislada, ya que el método de síntesis influye de manera decisiva sobre ellas (Figura 3.3). Por lo tanto, cuando se exponen las propiedades de los hidrogeles ha de hacerse referencia a los parámetros estructurales que las condicionan^[4, 14,15].

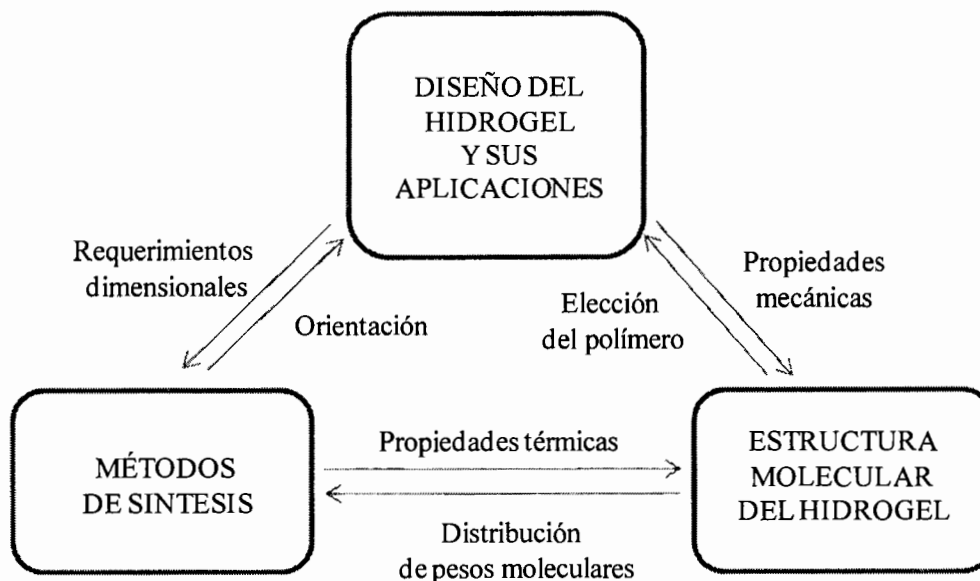


Figura 3.3. Representación esquemática de la relación de las propiedades de un hidrogel y su estructura.

Hinchamiento

Una red polimérica tridimensional puede absorber una gran cantidad de agua o fluido con el que se ponga en contacto. Durante el hinchamiento, las cadenas que conforman la red asumen una configuración elongada y esta dilatación va acompañada de la aparición de una fuerza retráctil en oposición al proceso de hinchamiento, que actúa como una presión que las cadenas de la malla ejercen sobre el disolvente contenido en ella. A medida que la malla se hincha con el disolvente aumenta dicha presión elástica y el hinchamiento alcanza su valor máximo o de equilibrio cuando se obtiene un balance entre ambas fuerzas ^[4].

El hinchamiento en los hidrogeles es dependiente del medio externo, se dice entonces que son hidrogeles fisiológicamente sensibles. El primer hidrogel sensible fue sintetizado por Katchalsky en 1941. Este hidrogel se preparó mediante entrecruzamiento de un polielectrolito soluble, el cual se hinchaba y se contraía en respuesta a los cambios del pH, la temperatura y la fuerza iónica, los cuales son algunos de los factores que afectan el hinchamiento ^[31].

Estudios realizados han mostrado resultados obtenidos en pruebas de hinchamiento en hidrogeles poliméricos, un ejemplo es: el hidrogel de poli(acrilamida-co-N-vinil-2-pirrolidona) el cual se equilibra en agua destilada a 27 °C, se remueve y seca a diversos tiempos para determinar el porcentaje de hinchamiento mediante gravimetría ^[32], similarmente fueron realizadas cinéticas de hinchamiento en hidrogeles de ácido acrílico-co-ácido itacónico ^[13], mientras que en hidrogeles de poliacrilamida-co-ácido itacónico y quitosan también se determinó el porcentaje de hinchamiento gravimétricamente, pero en agua, solución buffer de pH 4 y de pH 10 ^[33].

El calculo del porcentaje de hinchamiento esta dado por la ecuación 3.1.

$$H = \frac{W_t - W_0}{W_0} \times 100 \quad \text{Ec. 3.1}$$

Donde H es el porcentaje de hinchamiento del hidrogel, W_t es el peso del hidrogel hinchado a determinado tiempo y W₀ es el peso inicial del hidrogel antes de sumergirse al agua.

La *relación de entrecruzamiento* es uno de los factores más importantes que afectan al hinchamiento de los hidrogeles y se define como la relación entre los moles de agente entrecruzante y los de las unidades repetidas de monómero. A mayor entrecruzamiento, mayor cantidad de agente entrecruzante es incorporado en la estructura del hidrogel. Los hidrogeles muy entrecruzados tienen una estructura más compacta y se hinchan mucho menos comparándolos con el mismo hidrogel con un entrecruzamiento menor.

La *estructura molecular del polímero* también puede afectar al hinchamiento. Aquellos hidrogeles que contienen grupos hidrófilos en su estructura se hinchan en mayor grado que aquellos que contienen grupos hidrófobos, los cuales se colapsan en presencia de agua, minimizando su interacción con las moléculas de agua y dando como resultado hidrogeles mucho menos hinchados.

Derivadas de la situación de hinchamiento del hidrogel, existen una serie de propiedades muy importantes que, de acuerdo al tipo de hidrogel y aplicación deseada, en este trabajo son de gran interés y se describen a continuación.

Permeselectividad

Las membranas de hidrogeles presentan una baja tensión superficial con los fluidos acuosos o biológicos y su contenido en agua asociada permite controlar la permeabilidad. Así, se ha observado que el transporte de iones a través de la membrana no solamente depende de su tamaño, sino del contenido de agua que es el factor que condiciona el tamaño del poro. Teniendo en cuenta que el contenido de agua depende de la estructura molecular, pueden diseñarse membranas de diferente tamaño de poro y que, por tanto, permitan el paso selectivo de diferentes iones.

Biocompatibilidad

En el campo de los polímeros el término biocompatibilidad se refiere a dos aspectos diferentes pero que se encuentran directamente relacionados:

- La elevada tolerancia que han de mostrar los tejidos ante ese agente extraño, fundamentalmente cuando el polímero va a ser implantado o estará en contacto con la piel.
- La estabilidad química y especialmente, física del material polimérico durante todo el tiempo en el que se encuentre en contacto con el organismo.

Desde que los hidrogeles se introdujeron en el campo de la biomedicina, ha quedado demostrado que poseen un gran potencial como biomateriales, debido a su buena biocompatibilidad. Esta característica se debe a que las propiedades físicas de los hidrogeles se asemejan a las de los tejidos vivos más que cualquier otra clase de biomateriales sintéticos, particularmente, en lo referente a su contenido en agua, su consistencia blanda y su baja tensión superficial.

Densidad de entrecruzamiento

La densidad de entrecruzamiento en un hidrogel se refiere a el grado de entrecruzamiento del hidrogel el cual es dependiente del agente entrecruzante y de la cantidad de monómero o monómeros funcionales empleados en su síntesis, a mayor densidad entrecruzante menor será el grado de hinchamiento del hidrogel y a menor densidad entrecruzante mayor será el grado de hinchamiento del hidrogel debido a que hay mas espacios entre cadenas donde pueden entrar las moléculas de agua.

3.3 Nanopartículas

Las nanopartículas son partículas ultrafinas en el orden de tamaño nanométrico. El término “Nano” se refiere a una dimensión: 10^{-9} metros. Son generalmente consideradas como nanopartículas aquellas partículas que se encuentran dentro del intervalo desde 1 a 100 nm^[33].

3.3.1 Organización estructural.

La Figura 3.4 ilustra las principales etapas de formación de nanopartículas, partiendo de un átomo individual en estado de valencia cero (M^0) hasta llegar a la formación de varios

agregados de átomos, los cuales fungen como núcleos para culminar con la formación de nanopartículas metálicas^[34].

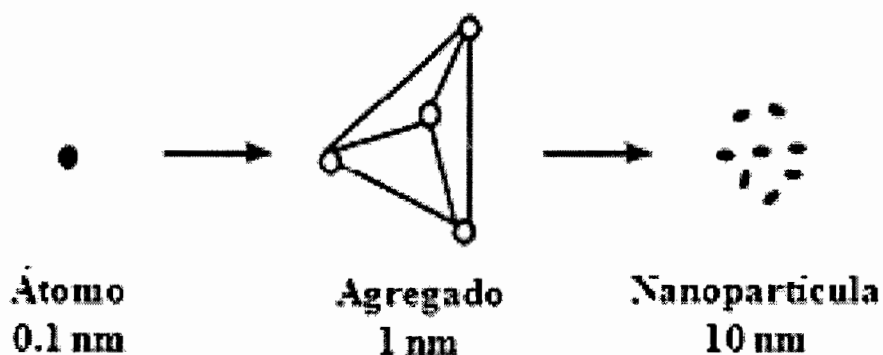


Figura 3.4. Etapas de transformación de un átomo metálico a nanopartícula.

3.4 Nanopartículas de plata

La plata es un importante metal disponible comercialmente y sus nanopartículas son mejores a otras partículas metálicas de tamaños nanométricos por su excelente conductividad eléctrica, efectos antimicrobianos, propiedades ópticas y catalíticas^[6, 35]. Por tales efectos, las nanopartículas de plata tienen aplicaciones potenciales en varios campos como ambientales, biomédico, catálisis, electrónico y muchas otras áreas biotecnológicas^[36, 37].

3.4.1 Síntesis de nanopartículas de plata

Se han reportado varios procesos de síntesis para la obtención de nanopartículas de plata tales como reducción química^[38-41], fotólisis UV^[42, 43], irradiación gama^[44], deposición de vapor^[45, 46], ablación láser^[47]. Entre estos la reducción química ha sido extensamente estudiada donde el precursor de plata más comúnmente empleado es el AgNO_3 y el agente reductor NaBH_4 debido a su gran potencial y velocidad de reacción para llevar a cabo la reducción de los iones de plata.

Sin embargo, se han realizado otras síntesis por reducción química con diferentes precursores de plata, así como agentes reductores, y según el medio en el cual se lleva a cabo se pueden emplear diversos modificadores superficiales o estabilizadores que contribuyen a disminuir la

cantidad de aglomerados formados durante el proceso y por consiguiente a mejorar la dispersión y distribución de las nanopartículas, como es el caso en solución. Ejemplo de ello fueron: **Roldán y colaboradores** ^[41] los cuales realizaron la síntesis de nanopartículas de plata con AgNO_3 , empleando etanol como reductor y ATS (N-[(3trimetoxisilil)propil] dietrilentriamina) como modificador superficial, así como también AgNO_3 con polietilenglicol al cual atribuyen su participación en la reacción como reductor fuerte a través de la oxidación de sus grupos OH y estabilizador de las nanopartículas, coordinándose a su superficie a través de sus átomos de oxígeno, caso similar es el empleo de ácido gálico el cual también actúa como agente reductor y estabilizador en la reducción química de plata ^[39].

Thi Phuong Phong y colaboradores ^[36] realizaron la descomposición de complejos de oxalato de plata para fabricar nanopartículas de alta pureza por reducción con etilenglicol usando PVP (polivinil pirrolidona) como estabilizador.

Por otra parte, **Pastoriza-Santos y colaboradores** ^[48] obtuvieron nanopartículas de plata utilizando AgNO_3 y/o AgClO_4 como precursor de plata, N,N-dimetilformamida (DMF) como un reductor fuerte y ATS (3-(aminopropil)trimetoxisilano) como estabilizador, encontrando que un exceso de éste formará una delgada capa de sílice sobre las nanopartículas lo cual contribuye a su estabilidad y mejor dispersión.

Cabe señalar que se ha buscado contribuir a disminuir el empleo de reactivos tóxicos que afectan el ambiente, por lo que se han empleado otros agentes de tipo natural como sacáridos. Por ejemplo la glucosa y el almidón soluble los cuales son baratos, renovables y no tóxicos ya que son amigables con el medio ambiente y aunque a menor velocidad de reacción la glucosa reduce los iones metálicos obteniendo nanopartículas de hasta 1-8 nm, y el almidón proporciona superficies de pasivación estables que previenen la agregación de las nanopartículas ^[49, 50].

3.4.1.2 Incorporación de nanopartículas de plata

3.4.1.2.1 En hidrogeles

Cuando las nanopartículas son obtenidas “*in situ*” comúnmente no se emplean agentes estabilizadores ya que la mayoría de las veces el medio o sustrato sobre el cual se realiza la síntesis permite la dispersión y distribución homogénea de las nanopartículas al irse formando sobre y/o dentro de él. Como ejemplos de ello podemos citar a **Varsha Thomas y colaboradores** ^[51] los cuales muestran el desarrollo de manera ilustrativa de un hidrogel de poli(N-isopropilacrilamida-co-acrilato de sodio) empleado como reactor para la síntesis de nanopartículas de plata donde los geles hinchados se colocan en una solución de AgNO_3 para que los iones Ag^+ penetren en el interior de la red hinchada y finalmente se transfieren a la solución de NaBH_4 para reducir los iones plata y formar las nanopartículas (Figura 3.5).

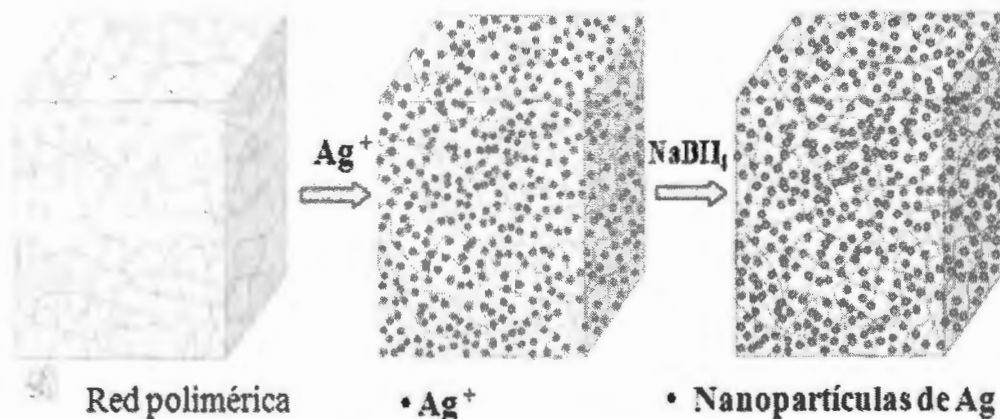


Figura 3.5. Formación de nanopartículas de plata por reducción química dentro de un hidrogel.

Trabajos similares fueron realizados por **Dong Ma y colaboradores** ^[6] (Figura 3.6) donde se uso un copolímero de bloque de (PEO-PPO-PEO) para preparar hidrosoles de plata coloidal por reducción química de AgNO_3 , el copolímero en bloque no solo actuó como un agente reductor sino como un agente estabilizador, al incorporar α -ciclodextrina se llevó a cabo la formación del gel en el sistema obteniendo así hidrogeles híbridos con nanopartículas de plata.

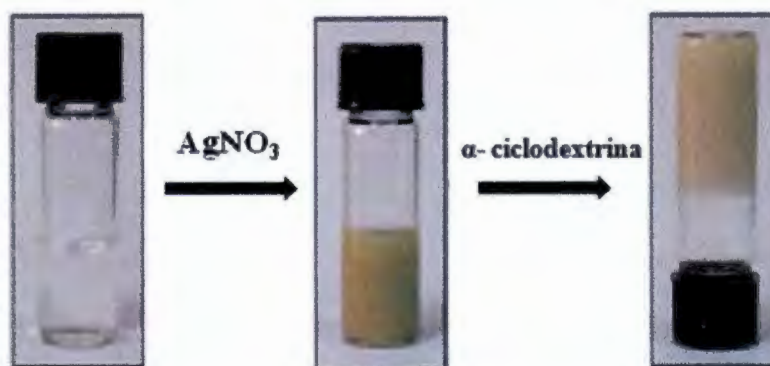


Figura 3.6 Incorporación “in situ” de nanopartículas de plata y obtención de un hidrogel.

Por otra parte, Uygun y colaboradores ^[52] obtuvieron hidrogeles con nanopartículas de plata por reducción “in situ” de AgNO_3 en presencia citrato como agente estabilizante durante la copolimerización fotoinducida de acrilamida y N,N' -metilbisacrilamida (Figura 3.7).

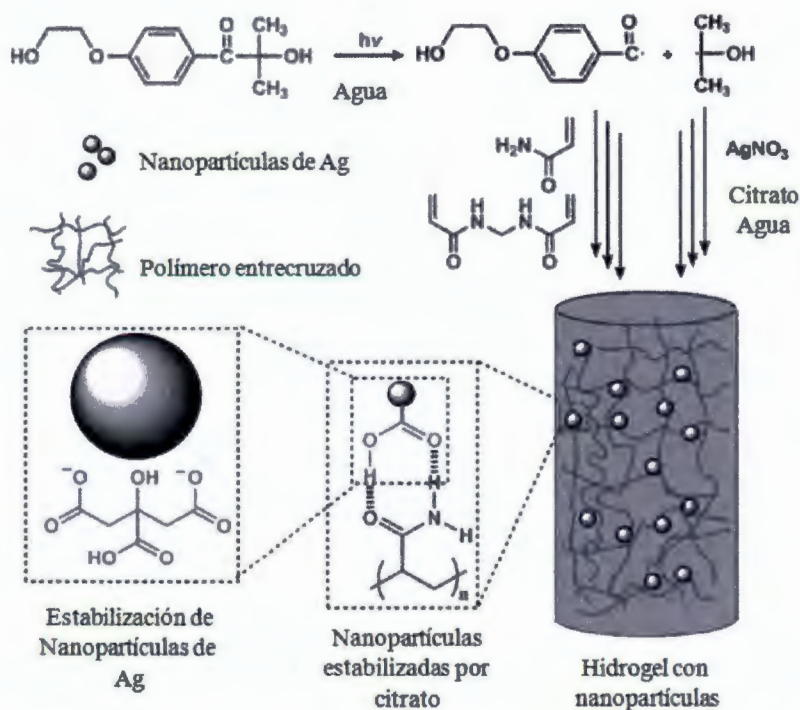


Figura 3.7. Síntesis de hidrogel con nanopartículas de plata por polimerización fotoinducida y reducción simultánea de cationes de plata.

3.4.1.2.2 En fibras textiles

En este trabajo nos es de gran interés la incorporación de nanopartículas de plata sobre un sustrato, específicamente un “sustrato textil”.

Los materiales textiles decoran y dan confort a nuestras vidas en un sinnúmero de aplicaciones, se encuentran entre los más importantes productos fabricados y comercializados por la humanidad y han desempeñado un papel central en la historia. La invención de tejidos data desde principios de la civilización, el tejido actual de tela de fibras naturales como el cáñamo, el lino, el algodón y la seda, apareció en casi en todo el mundo durante o justo antes del tercer milenio antes de Cristo. Desde entonces, se han hecho grandes esfuerzos para mejorar la durabilidad de estas fibras naturales y para ampliar sus campos de aplicación^[53].

La funcionalización de los productos textiles para mantener las propiedades actuales y crear nuevas propiedades físicas y químicas de materiales tanto naturales como sintéticos se ha logrado mediante diversas técnicas. La aplicación de las nanopartículas en materiales textiles ha atraído considerable interés debido a sus novedosas propiedades fisicoquímicas y sus aplicaciones potenciales^[54].

Existen pocos estudios sobre la incorporación de nanopartículas de plata sobre sustratos textiles mediante un método “in situ”, **Gupta y colaboradores**^[3] reportan la síntesis de nanopartículas sobre un sustrato textil de algodón injertado con poli(acrilamida-co-ácido itacónico) el cual fue equilibrado en agua para después sumergirse en la solución de AgNO_3 y permitir la incorporación de los iones Ag^+ , finalmente se colocó en la solución de NaBH_4 para llevar a la reducción y formación de nanopartículas de plata. En la Figura 3.8 se representa un método similar de síntesis “in situ” de nanopartículas de plata usando películas multicapa de poli-ácido acrílico/ polil (hidrocloruro de polilamina) donde los grupos ácidos carboxílicos se enlazan a los cationes de plata mediante intercambio de iones con los protones ácidos, subsecuentemente se da la reducción de la plata y formación de las nanopartículas^[51]. Aunque en el caso de Gupta y colaboradores el sustrato textil está constituido exterior e interiormente por esos grupos carboxílicos debido al hidrogel de poli(acrilamida-co-ácido itacónico).

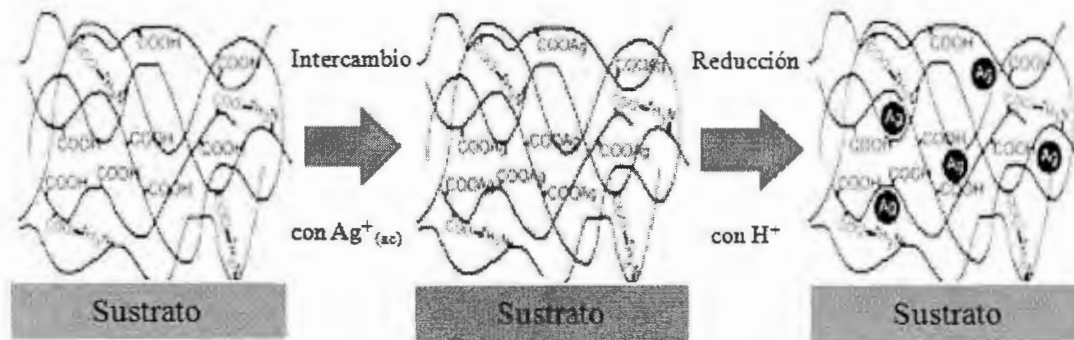


Figura 3.8. Intercambio de iones metálicos y reducción a nanopartículas de plata en un sustrato de una película multicapa.

Otros estudios reportados de incorporación de nanopartículas particularmente en sustratos textiles pero no “in situ” son: En fibras sintéticas como poliéster, poliamida y polipropileno para aplicaciones industriales como tapices automotrices y sus filtros, la plata es usualmente agregada en partículas de tamaños de 15 nm durante la etapa de fusión en el proceso. Esta producción incrementa la complejidad y costos de los productos finales, principalmente debido a la presencia de partículas sólidas metálicas de tamaños nanométricos^[55, 56].

Por otra parte, el empleo de soluciones de plata coloidal como un agente para el tratamiento antibacteriano de fibras textiles ha sido ampliamente utilizado^[57]. Como en el caso del algodón que es un material textil común, usado para la producción de telas deportivas y de descanso, posee una excelente capacidad de absorción de humedad debido a que es higroscópico y es de los más adecuados para aplicaciones en cicatrización de heridas y otros tratamientos médicos^[56]. Sin embargo, la presencia de humedad en el algodón puede propiciar que sea fácilmente atacada por bacterias por lo que se ha empleado la incorporación de nanopartículas de plata por inmersión de las fibras en una solución coloidal^[54, 58]. También han sido incorporadas mediante solución en una matriz vítrea de sílica estabilizadas con dodecanodiol^[59]. Además de telas de algodón también se han funcionalizado telas de poliéster y lana^[42, 57] y de algodón/poliéster por inmersión en solución coloidal de plata^[2].

3.4.2 Propiedades físicas

Dentro de las propiedades físicas de las nanopartículas de plata, sobresalen sus propiedades ópticas, las cuales son dominadas por la colección de las oscilaciones producidas por electrones conductores, resultantes de las interacciones con la radiación electromagnética. Estas propiedades son principalmente observadas en el oro, plata, platino y cobre, por la presencia de electrones conductores libres. El campo eléctrico producido por la radiación, induce la formación de un dipolo en la nanopartícula, una fuerza restauradora en la nanopartícula intenta compensar este efecto y, como resultado, se obtiene una única y característica resonancia a una longitud de onda determinada^[60].

La longitud de onda a la cual se detecta la absorción de las nanopartículas, depende de factores como tamaño de partícula, morfología, naturaleza del medio que lo rodea, así como distancia promedio entre nanopartículas vecinas, entre otros^[61]. Las técnicas más utilizadas para la identificación y caracterización de nanopartículas de plata son: espectrofotómetro ultravioleta visible (UV-Vis)^[38, 57], apoyado por el uso del microscopio electrónico de transmisión (TEM)^[62, 63] en particular, las propiedades ópticas de las nanopartículas de plata, pueden ser predichas por la teoría de **Mie**^[64, 65] y las aportaciones realizadas por **Mock y colaboradores**^[61].

Según la teoría de **Mie**^[64, 65], en el espectro de absorción UV-Vis de nanopartículas de plata, aumenta la intensidad del pico de absorción al incrementar el tamaño de las nanopartículas, acompañado de una disminución en el ancho de la banda; por otro lado, el espectro de absorción de nanopartículas, es menos intenso y con un incremento en el ancho de la banda. La Figura 3.9 muestra una representación del espectro UV-vis para varios tamaños de nanopartículas esféricas.

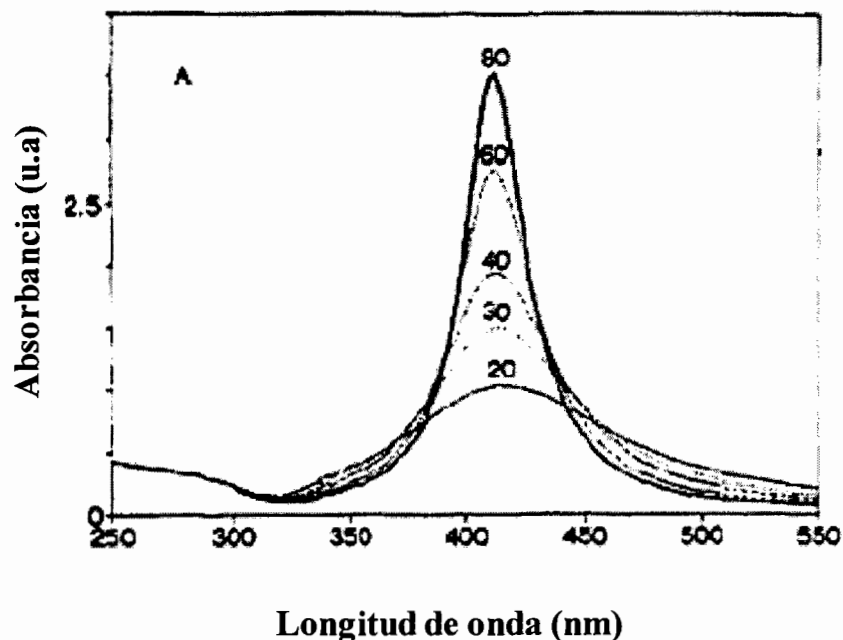


Figura 3.9. Representación del espectro UV-vis de nanopartículas de plata esféricas para diferentes tamaños.

Mock y colaboradores ^[61] obtuvieron los espectros UV-vis de tres diferentes morfologías de nanopartículas de plata, relacionando cada longitud de onda a la que aparece la absorbancia correspondiente a cada morfología de nanopartícula. En la Figura 3.10 se muestra dicha comparación donde se pueden ver las bandas de absorbancia a través de una micrografía de alta resolución TEM, donde se concluye y es posible observar que, conforme las nanopartículas pierden simetría, la absorbancia se desplazará hacia longitudes mayores, similarmente observaron que, a mayores tamaños de las nanopartículas, también ocurre un ligero desplazamiento hacia longitud mayor pero sin salirse del intervalo correspondiente al tipo de morfología. El sorprendente efecto óptico de las nanopartículas en el color se conoce desde la antigüedad cuando diminutas partículas metálicas fueron utilizadas en vitrales de las ventanas en iglesias, las cuales proporcionaban un peculiar color amarillo al vidrio ^[66].

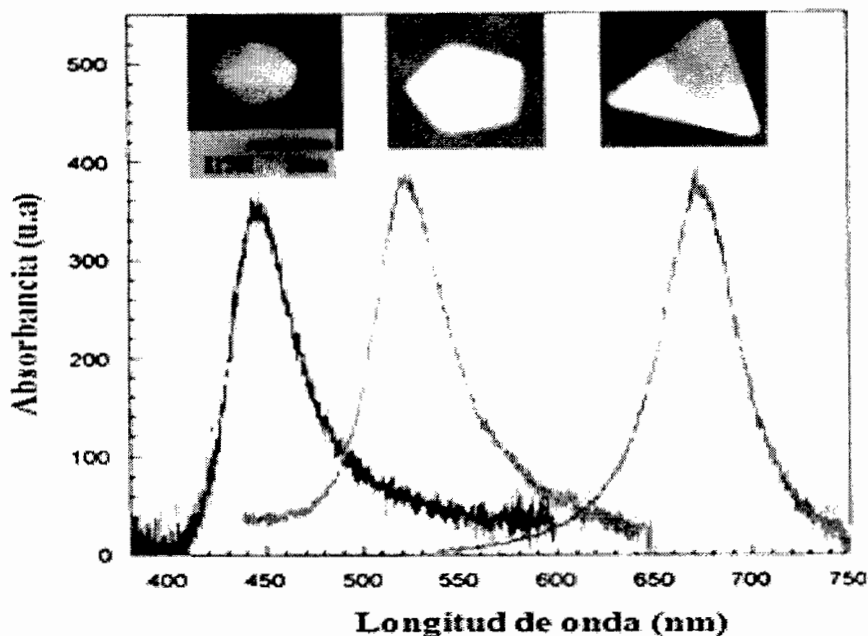


Figura 3.10. Espectros UV-vis de nanopartículas de plata de morfología esférica, pentagonal y triangular.

3.4.3 Propiedades químicas

Entre las propiedades químicas encontradas en las partículas de plata de tamaño nanométrico sobresalen: el área superficial, su toxicidad y su elevada actividad microbiológica, de las cuales se habla más detalladamente a continuación.

3.4.3.1 Área superficial

El área superficial de las nanopartículas de plata es una propiedad importante que proporciona muchas ventajas y beneficios a los materiales o productos terminados que contienen nanopartículas de plata. El área superficial específica disponible de las nanopartículas para reacciones químicas e interacciones superficiales se incrementa significativamente con la disminución del tamaño. Sin embargo, el control del tamaño en la síntesis de nanopartículas representa un paso crucial en la preparación de formulaciones con funcionalidades específicas deseadas^[57]. Nanopartículas con un tamaño de 1 nm tendrán el 100 % de sus átomos en la superficie, en cambio las nanopartículas con un tamaño de 10 nm, tendrá cerca del 15 % de sus átomos en la superficie, por lo que una nanopartícula con gran área superficial será mucho más reactiva y tendrá excelentes propiedades catalíticas^[60].

3.4.3.2 Toxicidad

Los efectos, sobre la salud humana, de la exposición a cualquier sustancia van a depender de la dosis, la duración y el tipo de exposición a ésta. Desde principios del siglo pasado, los médicos saben que los compuestos de plata pueden teñir de gris o de gris azulado algunas partes de la piel o de los tejidos del cuerpo. Los médicos llamaban a esta enfermedad "argiria". La argiria ocurre en personas que comen o inhalan compuestos de plata durante mucho tiempo (varios meses o muchos años). Una vez que se presenta, se vuelve permanente. Sin embargo solo se le considera un problema "cosmético". La mayoría de los médicos y de los científicos cree que la decoloración de la piel que se ve con la argiria es el efecto más grave que causa la plata en la salud.

La exposición al polvo como nanopartículas con niveles relativamente altos de compuestos de plata, como el nitrato de plata o el óxido de plata, puede causar problemas respiratorios, irritación en los pulmones y la garganta, así como dolor de estómago. Se han observado estos efectos en los trabajadores de las plantas químicas donde se produce nitrato de plata y óxido de plata^[67].

La EPA (Agencia protectora del medio ambiente) recomienda que la concentración de plata en el agua para beber no exceda 0.10 mg/l debido a que puede causar la coloración de la piel. La Administración de Seguridad y Salud Ocupacionales (OSHA) y la Administración de Seguridad Minera (MSHA) establecen un límite de exposición permitida (PEL) 0.01mg/m³ para compuestos de plata soluble y metálicos. El Instituto Nacional para la Seguridad y Salud Ocupacional (NIOSH) también señala que el límite de exposición recomendado (REL) sea de 0.01 mg/m³ para los dos compuestos de plata, soluble y en polvo. La comisión europea asistida por grupos expertos en límites de exposición ocupacional recomienda un tiempo promedio de 8 horas a la exposición de plata en polvo de 0.1 mg/m³^[68].

La toxicidad impartida por las nanopartículas de plata específicamente hacia microorganismos como hongos y bacterias es sin duda la propiedad química de mayor importancia encontrada en las nanopartículas de plata. Se dice que es capaz de acabar con más de 650 tipos de microorganismos que causan enfermedades^[45]. Por ejemplo, algunos investigadores

encontraron que 16 especies de bacterias que ellos probaron, incluida la E. Coli, Pseudomona Aeruginosa y Staphylococcus Aureus fueron inhibidas por 1.25 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de plata mientras que 4 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de plata no mostraron ningún efecto perjudicial evidente para las células de médula ósea de ratón (probado como un susceptible sistema mamífero normal) ^[69].

Para la aplicación práctica de telas recubiertas con nanopartículas de plata, especialmente en apósitos antisépticos, se realizó un experimento de irritación de la piel utilizando conejillos de indias de acuerdo con el código de cosméticos coreanos funcionales, que es la pauta oficial para las pruebas de irritación de la piel, regulada por la administración de alimentos y medicamentos de Corea (KFDA). En estas pruebas se observó que no se presenta edema en las pieles probadas con la tela por lo cual se puede concluir que estas telas con nanopartículas de plata no causan irritación en la piel al estar en contacto directo. Por lo que tiene aplicación medica para tratamiento de quemaduras y heridas en la piel, y como un antiséptico universal para aparatos de aplicaciones clínicas ^[70].

Durante el uso de las nanopartículas de plata, éstas liberan iones Ag^+ que es uno de los metales más tóxicos para los microorganismos. Todavía no esta claro si la toxicidad de las nanopartículas de plata se debe sólo a la plata disuelta o si las nanopartículas de plata en sí también muestran un efecto tóxico ^[71]. Por tal motivo la plata nanométrica ha sido utilizada en una gran cantidad de productos para el cuidado de la salud, como preparaciones para quemaduras, sistemas de purificación de agua y dispositivos médicos, entre muchos otros, todos ellos están directamente en contacto con el ser humano sin llegar a ser perjudiciales de ninguna manera. Tan es así, que las nanopartículas de plata tienen abierta una nueva era en la lucha contra las enfermedades como fibrosis quística, síndrome de inmunodeficiencia adquirida y en el tratamiento de heridas ^[21]. También se ha demostrado *in vitro* la interacción de nanopartículas de plata de 1-10 nm con el virus HIV-1 que inhiben la unión del virus a las células ^[72].

Debido a lo anterior y a la elevada actividad microbiológica de las nanopartículas de plata, en el siguiente apartado nos enfocaremos en las propiedades antimicrobianas, las cuales han sido

ampliamente estudiadas debido al gran auge que han presentado al proporcionar un sinnúmero de aplicaciones para diversas áreas gracias a esta propiedad en específico.

3.4.4 Propiedades antimicrobianas

Las acciones antibacteriales y antivirales de la plata, iones plata, y compuestos de plata han sido ampliamente estudiadas. Entre los agentes antibacteriales inorgánicos la plata ha sido identificada como un material extensamente estudiado desde tiempos atrás para luchar contra las infecciones, debido a que tiene una historia en curaciones de heridas que data desde al menos 2000 años, en la antigua Roma y Grecia ^[21, 69].

Las civilizaciones más antiguas como los egipcios o los fenicios ya construían las cisternas de almacenamiento de agua con plata para reducir las enfermedades causadas por el consumo de aguas contaminadas o para mantenerla en buenas condiciones durante sus largas travesías en barco. Los emperadores chinos utilizaban cubiertos de plata, igual que más tarde lo hicieron las familias acomodadas europeas, como medida preventiva de infecciones. En el año 1000 el Vaticano decretó el uso de cálices de plata para la comunión con el propósito de reducir las frecuentes «indisposiciones» entre sus sacerdotes y feligreses ^[73, 74].

Las referencias de la plata como protectora contra las infecciones son continuas a lo largo de la historia, aunque no fue hasta 1893 cuando Karl Wilhelm von Nageli, botánico suizo, hizo pública la primera investigación demostrando las características antimicrobianas de la plata. Es el caso de la introducción de monedas de plata en los tanques de agua o leche para evitar su deterioro, así como su temprana utilización en la medicina: limaduras de plata para curar heridas, ungüentos antibióticos para quemaduras, gotitas en los ojos de los recién nacidos, amalgama dental, incluso la NASA utilizó iones de plata para proteger el agua durante los viajes espaciales ^[73, 74].

Los compuestos con nanopartículas de plata son agentes antimicrobiales atractivos debido a dos ventajas únicas ^[69]:

1. Poseen un amplio espectro antimicrobial contra las bacterias constituidas por el tipo de membrana, tanto Gram positiva, como Gram negativa.
2. Pueden atacar múltiples blancos u objetivos celulares dentro de las bacterias, y por consiguiente proporcionan a la bacteria menos oportunidad para desarrollar resistencia a las nanopartículas.

La plata ha sido descrita como “oligodinámica” porque tiene la capacidad de ejercer un efecto bactericida a bajas concentraciones, y es capaz de acabar con más de 650 tipos de microorganismos que causan enfermedades ^[45]. Los materiales pueden ser químicamente antimicrobianos por la adición funcional de agentes de este tipo en la superficie o dentro de la matriz para matar o inhibir el crecimiento de los microorganismos. Los científicos de biomateriales han enfocado su investigación en partículas de metal de tamaño nanométrico como la plata. Con el uso de nanopartículas, el número de partículas por unidad de área incrementa, y así el efecto antibacterial es maximizado ^[7]. Ya que la profunda actividad de las nanopartículas de plata es debida a su gran área superficial, a las proporciones de volumen y rasgos cristalográficos de la superficie estructural ^[21].

El mecanismo de inhibición de crecimiento en los microorganismos debido a la acción antimicrobiana de las nanopartículas de plata todavía no ha sido bien definido, aunque se han publicado diversas teorías de la acción de las nanopartículas. Se ha reportado que la inhibición del crecimiento bacteriano puede estar relacionada con la formación de radicales libres en la superficie de la plata. Esta generación de radicales libres puede atacar los lípidos de la membrana y luego conducir a un colapso de la función de la membrana (Figura 3.11). Para dar mayor confiabilidad a esta teoría, se ha corroborado la formación de radicales libres por ESR (espectroscopia de resonancia de espín electromagnético) ^[75].

La carga total de las células bacterianas a valores de pH biológico es negativa por exceso en el número de grupos carboxílicos, lo que hace que la disociación en la superficie celular sea negativa ^[45]. Se dice que la carga positiva de los iones plata es crucial para la actividad antimicrobiana a través de la atracción electrostática entre la carga negativa de la membrana celular del microorganismo y la carga positiva de las nanopartículas ^[75].

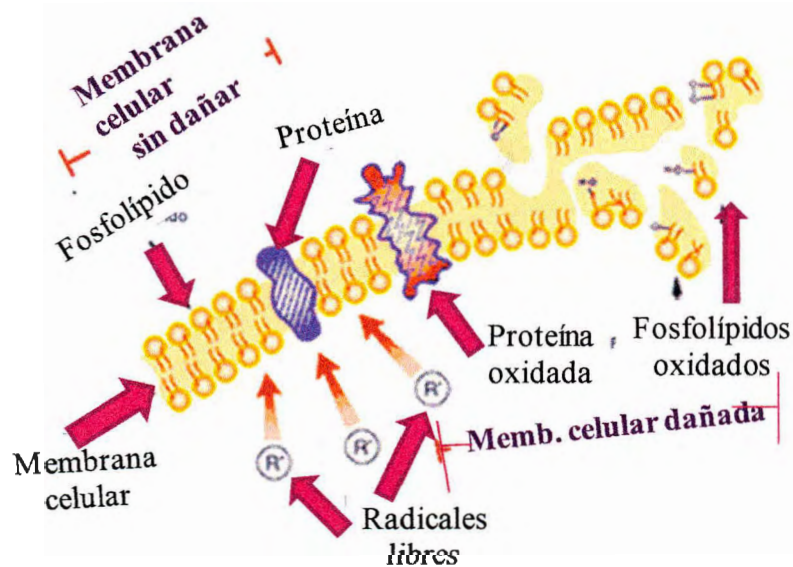


Figura 3.11. Acción bactericida por formación de radicales libres.

Por otra parte, **Sondi y Salopek-Sondi** ^[76] reportaron la actividad antimicrobial de bacterias Gram-negativa que fue dependiente de la concentración de nanopartículas de plata, y fue asociada estrechamente con la formación de hoyos en la pared celular de las bacterias. Tanto **Sondi y Salopek-Sondi** ^[76], así como, **M. Raffi y colaboradores** ^[45] concluyeron, específicamente para la bacteria *E. coli* que las nanopartículas de plata acumuladas en la membrana celular causan mayor permeabilidad dejando a las células bacterianas incapacitadas para regular adecuadamente el transporte a través de la membrana plasmática, provocando la muerte de las células. Se ha reportado en diversos estudios que la plata tiene afinidad hacia sulfuros o fosfuros lo cual, es la llave elemental de esta propiedad antibacteriana. Las proteínas que contienen grupos azufre en la membrana o dentro de las células y elementos como el fósforo, como por ejemplo el ADN, son probablemente, los sitios preferidos para atacar de las nanopartículas de plata afectando así la viabilidad celular ^[63, 70, 77]. Reportes de la literatura muestran que el ADN tratado con plata pierde su habilidad de réplica y expresión de proteínas sub-unidad ribosomal; así como, algunas otras proteínas celulares y enzimas esenciales para la producción de ATP (trifosfato de adenosina). También se ha planteado la hipótesis de que la Ag^+ afecta principalmente la función de las enzimas membrana-limite, como los de la cadena respiratoria ^[62, 63, 69, 70]. Se dice que estas acciones bactericidas

reportadas pueden actuar de manera conjunta como un mecanismo de triple acción o de manera individual (Figura 3.12).

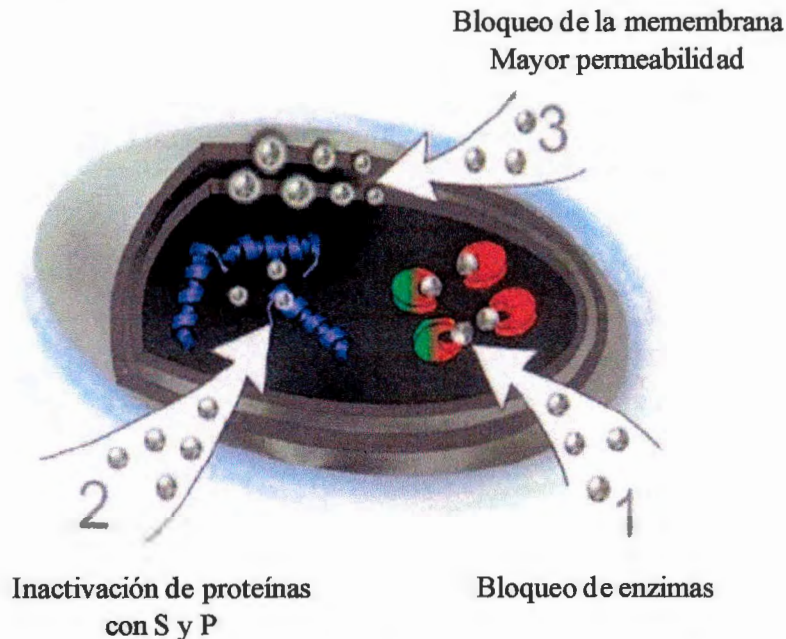


Figura 3.12. Mecanismo de triple acción bactericida.

La actividad antimicrobiana para un mismo material probado con una bacteria constituida por un tipo de membrana Gram-positiva y con una del tipo Gram-negativa generalmente no resulta ser de la misma significancia, lo cual se puede atribuir a las diferencias estructurales de la membrana celular de cada tipo de bacteria. La diferencia estructural reside en la organización del peptidoglucano, que es el componente clave de la estructura de la membrana (Figura 3.13). La bacteria Gram negativa tiene una membrana adicional exterior pero exhibe una capa delgada de peptidoglucano de un espesor de 2-3 nm entre la membrana citoplasmática (membrana interna) y la pared celular externa; se ha demostrado que este tipo de bacterias son mas resistentes a antibióticos, (la membrana externa de las células de la E. coli está predominantemente constituida por moléculas de lipopolisacáridos herméticamente empacados que proporcionan una efectiva barrera de permeabilidad). Mientras que la bacteria Gram-positiva tiene una capa adicional de peptidoglucano espeso, (como la bacteria *Staphylococcus Aureus*). La drástica diferencia entre la naturaleza de la pared celular en contacto con el ambiente es, a menudo la respuesta básica de las células a las fuerzas ambientales como los agentes antimicrobianos^[45, 73].

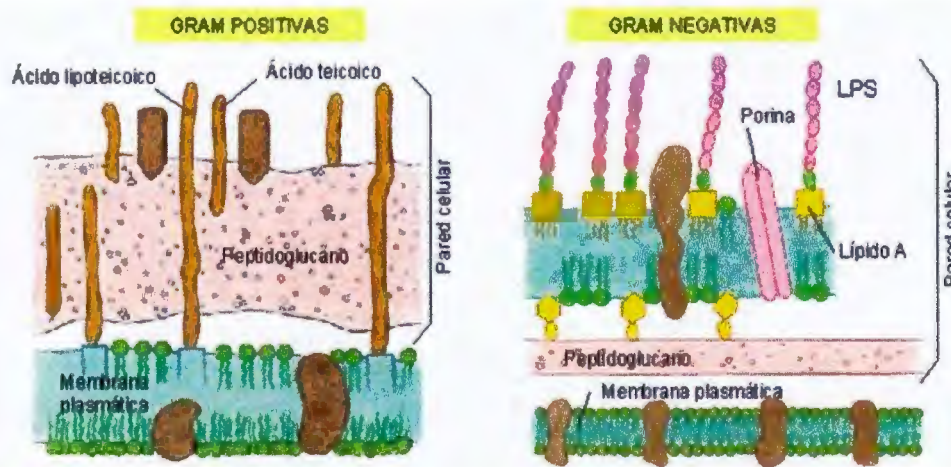


Figura 3.13. Organización estructural de membranas Gram-positiva y Gram-negativa.

Es lógico afirmar que la unión de las nanopartículas con la membrana de la bacteria depende del área de la superficie disponible para interactuar. Las nanopartículas tienen una gran área superficial disponible para interactuar, que mejora el efecto bactericida de las partículas de mayor tamaño; por lo tanto imparten la citotoxicidad a los microorganismos ^[45]. **Boris Mahltig y colaboradores** ^[53] mencionan que se han encontrado excelentes efectos antimicrobiales de nanopartículas de plata sobre algodón y tejidos de poliéster contra las bacterias Gram-positiva y (preferiblemente) Gram-negativa: una cantidad de 0.006 a 0.5 ppm inhiben el crecimiento de bacterias.



4. HIPÓTESIS

Se plantea como hipótesis que el hidrogel con nanopartículas de plata utilizado como recubrimiento de un sustrato textil; va a actuar como un estabilizador de las nanopartículas de plata y así asegurar una buena dispersión y distribución de éstas en el mismo. Se asume que una tela con un recubrimiento de estas características tendrá un notable efecto sobre el crecimiento de microorganismos y buen control aséptico, ya que el hidrogel se hincha en contacto con la humedad, y esto facilitara la liberación de iones plata y por lo tanto, acelerará la acción antibacteriana del material inhibiendo el crecimiento de bacterias desde los primeros minutos en contacto con la herida.

5. OBJETIVOS

Objetivo general

Preparar un material textil con un recubrimiento polimérico a base de un hidrogel de ácido acrílico/ácido itacónico, el cual será obtenido por copolimerización por radicales libres conteniendo nanopartículas de plata, las cuales confieren una propiedad antimicrobiana al material.

Objetivos particulares.

Caracterizar los materiales obtenidos y demostrar la presencia y dispersión de nanopartículas de plata en el hidrogel.

Evaluar la actividad antimicrobiana de los materiales textiles recubiertos con el hidrogel y nanopartículas de plata en presencia de una bacteria con un tipo de membrana Gram-positiva y otra Gram-negativa.

6. PARTE EXPERIMENTAL

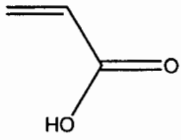
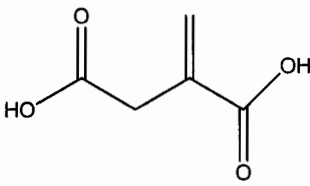
6.1 Reactivos y materiales

En los apartados siguientes se mencionan reactivos y materiales que fueron utilizados durante el desarrollo del presente trabajo.

6.1.1 Reactivos

En la Tabla 6.1 y 6.2 se enlistan los reactivos utilizados y sus características para la síntesis del hidrogel de ácido acrílico-co-ácido itacónico mediante copolimerización por radicales libres y de nanopartículas de plata mediante reducción química.

Tabla 6.1. Reactivos para elaboración del hidrogel por copolimerización por radicales libres y sus características.

Reactivos	Estructura química	Propiedades físico-químicas
<p>Ácido Acrílico (AA)</p> <p>Monómero</p>	 <p>Aldrich</p>	<p>Líquido incoloro</p> <p>Peso molecular: 72 g/mol</p> <p>Densidad: 1.051 g/cm³</p>
<p>Ácido Itacónico (AI)</p> <p>Co-monómero</p>	 <p>Aldrich</p>	<p>Polvo crema</p> <p>Peso molecular: 130.1 g/mol</p> <p>Densidad: 1.573 g/cm³</p> <p>Punto de fusión: 166 °C</p>

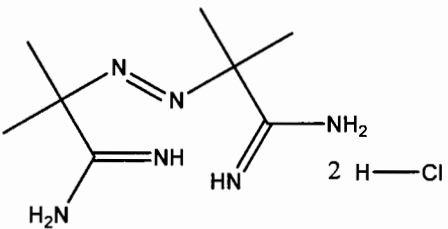
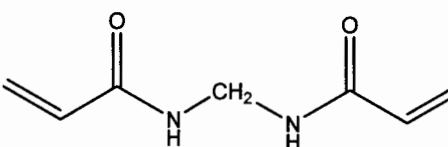
<p>2-2'-Azobis(2-metilpropionamida)dichlorhidrato</p> <p>Iniciador</p>	 <p>Aldrich 97%</p>	<p>Polvo amarillo pálido</p> <p>Peso molecular: 271.2 g/mol</p>
<p>N,N'-Metilenebis(acrilamida)</p> <p>Agente entrecruzante</p>	 <p>Sigma-Aldrich</p>	<p>Polvo</p> <p>Peso molecular: 154.17 g/mol</p> <p>Punto de fusión: 300 °C</p>

Tabla 6.2. Reactivos para síntesis de nanopartículas de plata y sus características.

Reactivos	Propiedades físico-químicas
AgNO ₃	Cristales de sal, incolora e inodora, Densidad: 4.35 g/cc, punto de fusión: 212 °C, Punto de ebullición: 444 °C, Peso molecular: 169 g/mol.
NaBH ₄	Sólido blanco, punto de fusión: 400 °C, Punto de ebullición: 500 °C Peso molecular: 37.83 g/mol

6.1.2 Materiales

Se utilizaron tres tipos de sustratos textiles los cuales fueron empleados para realizar las diversas pruebas de incorporación del hidrogel y las nanopartículas de plata, dichos sustratos fueron identificados como sigue, indicando la composición de cada uno de ellos:

- Sustrato textil G: GASA, composición 100% algodón.
- Sustrato textil V: VENDA, composición 60% algodón/40% poliéster.
- Sustrato textil A: ALGODÓN, composición 100% algodón.

En la Figura 6.1 se pueden ver las características físicas de cada sustrato.

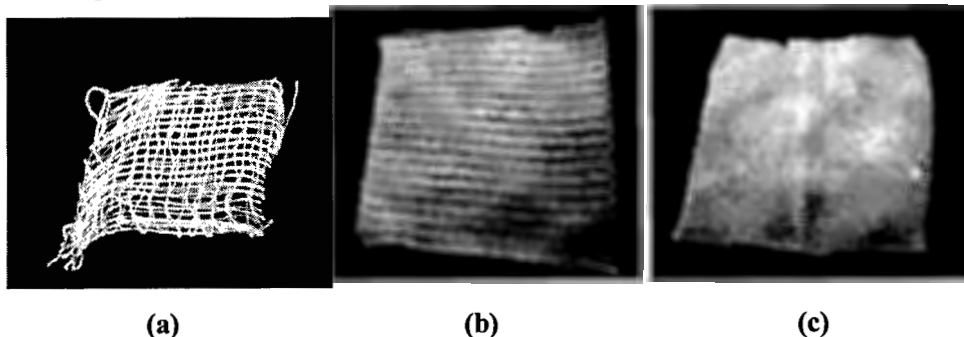


Figura 6.1. Sustratos textiles de prueba.

Se utilizaron nanopartículas comerciales de plata recubiertas con 0.2% de ácido oleico, tamaño 30-50 nm y 99% de pureza para llevar a cabo las pruebas de incorporación de éstas, tanto en el hidrogel como en el medio de reacción previo a la polimerización.

Nota: Todos los reactivos y materiales se utilizaron tal como se obtuvieron del proveedor.

6.2 Preparación de hidrogeles

Se han reportado diferentes estrategias para la impregnación de nanopartículas de plata en diferentes tipos de estructuras textiles; sin embargo, la disolución de nanopartículas de plata para impregnarlo utilizando un atomizador (espreado) o mediante inmersión generalmente tiende a ser inestable por lo que no es muy adecuada para el tipo de aplicación de interés, el cual es la utilización de dichos sustratos para materiales de curación.

Por esta razón, para la obtención de estructuras textiles con características antimicrobianas se optó por preparar hidrogeles de ácido acrílico-co-ácido itacónico con nanopartículas de plata dispersas en ellos para impregnar, con éstos, los sustratos textiles. Los hidrogeles de ácido acrílico-co-ácido itacónico debido al contenido de agua en su estructura, facilitarían el transporte de iones o moléculas hacia el exterior, cumpliendo así en este caso el propósito de liberar los iones plata e impartir la acción antibacteriana al material.

Algunos de los artículos ^[15, 23, 32] que reportan la preparación de estos hidrogeles los obtienen con un alto grado de entrecruzamiento dando lugar a materiales de alta rigidez cuando se encuentran secos; los requerimientos de los hidrogeles, en este trabajo, no son del mismo tipo ya que, como se ha mencionado, éstos se encontrarán impregnando sustratos textiles que serán utilizados como material de curación y, estos materiales deben ser suaves al tacto ya que estarán en contacto con superficies expuestas en la piel tales como heridas, laceraciones o quemaduras. Por lo que, partiendo de la información recopilada se realizaron, primero, una serie de pruebas preliminares para la obtención de un hidrogel de consistencia adecuada que permita, por una parte, llevar a cabo una buena dispersión de las nanopartículas de plata en el hidrogel, así como una buena impregnación de éste en el sustrato textil, sin que esto modifique su consistencia suave y blanda.

6.2.1 Pruebas preliminares

Con la finalidad de encontrar las condiciones adecuadas para la preparación del hidrogel, se llevaron a cabo varias pruebas preliminares, las cuales se realizaron a una temperatura de 60 °C, utilizando un peso constante de iniciador de 0.4% (0.025g). El propósito de esta serie de experimentos era encontrar, en primer lugar, las concentraciones y condiciones para obtener un hidrogel con una viscosidad adecuada que permitiera su impregnación en el sustrato textil, sin que éste adquiriera una consistencia rígida. El sustrato que se seleccionó para estas pruebas preliminares fue una gasa de algodón (sustrato textil G), en la Tabla 6.3 se muestran las condiciones de las pruebas que permitieron la obtención del hidrogel con las características requeridas.

Tabla 6.3. Relación de pruebas preliminares para la obtención de hidrogeles.

Pruebas preliminares	% en peso Ác. Acrílico/Ác. Itacónico*	Volumen de solución de monómeros	% de agente entrecruzante (g)*	Incorporación al sustrato G
Prueba 5	80/20	50 mL	0.72% (0.045)	-
				G
Prueba 6	80/20	50 mL	a) 0.4% (0.025)	-
			b) 0.48% (0.03)	
			c) 0.6% (0.0375)	
			d) 0.64% (0.04)	

*Calculados en base a la concentración total de los monómeros.

6.3 Incorporación de nanopartículas de plata comerciales

La propuesta de trabajo contempló, en primer lugar, la incorporación de nanopartículas de plata comerciales al hidrogel con el cual, posteriormente, se impregnó el sustrato textil (G) para ser utilizado como material de curación. La incorporación de estas nanopartículas de plata, al hidrogel, se abordó de varias formas que se describen a continuación.

6.3.1 Dispersión mediante ultrasonificación de las nanopartículas de plata en el medio de reacción previo a la polimerización.

La incorporación de las nanopartículas de plata comerciales se llevó a cabo en el medio de reacción (Prueba 5), es decir, en la solución de monómeros 80/20% en peso de AA/AI (50 mL), 0.4% iniciador y 0.75% agente entrecruzante; se utilizó un equipo de ultrasonido de 750W a un 38% de potencia para dispersar las partículas. Para estas pruebas se utilizaron diferentes contenidos de plata y tiempos de aplicación del ultrasonido, (Tabla 6.4).

Tabla 6.4. Contenido de nanopartículas de plata y tiempos de aplicación de ultrasonido para la dispersión e incorporación de éstas en el medio de reacción.

Pruebas de dispersión en el medio de reacción	% de nanopartículas de plata (g)	Tiempo de aplicación de ultrasonido
A	6.4% (0.4)	5 min
B	2.56% (0.16)	5 min
C	1.28% (0.08)	5 min
D	0.064% (0.004)	20 min
E	0.032 % (0.002)	20 min

6.3.2 Dispersión de las nanopartículas de plata en el hidrogel por ultrasonificación

Se utilizaron las condiciones de reacción establecidas en la prueba 6 (Tabla 6.3) para obtener el hidrogel, una vez obtenido, en éste se realizaron las pruebas para la dispersión de las nanopartículas de plata comerciales variando el contenido de las mismas, los cuales se muestran en la Tabla 6.5. El hidrogel con nanopartículas de la prueba F se utilizó posteriormente para ser impregnado en el sustrato textil G (gasa). La dispersión de las nanopartículas en el hidrogel se llevó a cabo por ultrasonificación de acuerdo a los parámetros establecidos en las pruebas previas.

Tabla 6.5. Contenido de nanopartículas de plata y tiempo de aplicación de ultrasonido para la incorporación de éstas al hidrogel.

Pruebas de dispersión en el hidrogel	% de Agente entrecruzante en el hidrogel (g)	% de nanopartículas de plata (g)	Tiempo de aplicación de ultrasonido
F	0.4% (0.025)	0.08% (0.005)	20 min
G	0.4% (0.025)	0.8% (0.05)	20 min

6.4 Síntesis de nanopartículas de plata e incorporación en el hidrogel y en el sustrato textil

Con la finalidad de lograr una mejor dispersión e incorporación de nanopartículas de plata al hidrogel y, posteriormente, al sustrato textil se procedió a realizar una serie de pruebas para la obtención de nanopartículas de plata; mediante síntesis utilizando dos procedimientos: síntesis en solución coloidal y síntesis “in situ”.

Para proceder a la incorporación y dispersión de las nanopartículas de plata obtenidas se requería contar con el sustrato textil recubierto con el hidrogel. A continuación se describe el procedimiento general utilizado para recubrir el sustrato textil con el hidrogel. Es importante señalar que en virtud de las dificultades que presentó el sustrato textil G (gasa) para su manejo y para la incorporación del hidrogel en éste, se optó por utilizar para el resto de las pruebas el sustrato textil V (venda) y el sustrato textil A (algodón).

6.4.1 Recubrimiento del hidrogel en el sustrato textil A y/o V (AH o VH)

A una solución de 40 mL de ácido acrílico y 10 mL de ácido itacónico se agregaron 0.025g de iniciador y 0.025g de agente entrecruzante a una temperatura de 60 °C para la formación del hidrogel. Se sumergió el sustrato textil en el hidrogel durante 30 minutos y se dejó secar a temperatura ambiente por 24 horas. A los sustratos recubiertos con hidrogel se les identificó como AH y VH, respectivamente.

6.4.2 Síntesis de nanopartículas de plata coloidal

La solución coloidal de plata se obtuvo por titulación añadiendo gota a gota una solución de AgNO_3 0.001M a una solución fría ($\pm 3^\circ\text{C}$) de NaBH_4 0.002M con agitación constante para reducir los iones Ag^+ a Ag^0 .

6.4.2.1 Incorporación de plata coloidal en el hidrogel y el sustrato textil

Para llevar a cabo la incorporación y dispersión de la plata obtenida en solución coloidal sobre el sustrato textil con hidrogel se manejaron tres procedimientos, a los cuales se les asignó una clave para cada uno identificando así la muestra preparada por dicho método, cabe señalar que en estos experimentos solo se utilizó el sustrato textil V.

1. Venda con hidrogel con nanopartículas en solución “lavada” (VHNS L)

Una muestra seca del sustrato textil VH se colocó en 60 mL de solución coloidal de plata durante 24 horas. Después se enjuagó en agua desionizada, y por último, se secó en estufa a 50 °C por 24 horas.

2. Venda con hidrogel con nanopartículas en solución “sin lavar” (VHNS SL)

Una muestra seca del sustrato textil VH se colocó en 60 mL de solución coloidal de plata durante 24 horas. Finalmente se secó en estufa a 50 °C por 24 horas.

3. Venda con hidrogel con 20 mL de nanopartículas en solución (VHNS20)

A 25 mL de agua desionizada a 60 °C, se agregaron 4.76 mL de ácido acrílico y 1.2608g de ácido itacónico, posteriormente se agregaron 0.025g de iniciador y 0.025g de agente entrecruzante y, finalmente 20 mL de la solución de plata coloidal; con la finalidad de que, al término del tiempo de reacción, el hidrogel formado tuviera en su estructura las nanopartículas de plata.

6.4.3 Síntesis de nanopartículas de plata mediante la incorporación “in situ” en el sustrato textil

La síntesis “in situ” consistió básicamente en la incorporación de AgNO_3 como sal precursora de Ag, y el agente reductor NaBH_4 directamente sobre el sustrato textil con hidrogel, variando algunas de las condiciones que han sido reportadas, para llevar a cabo esta síntesis.

1. Venda con hidrogel y nanopartículas sintetizadas “in situ” (VHNSI)

Una muestra seca del sustrato textil VH se colocó en 33 mL de AgNO_3 al 0.001 y 0.1 M por 24 horas, enseguida se colocó en 50 mL de NaBH_4 al 0.002 y 0.2 M, respectivamente, a ± 3 °C, durante 4 horas con agitación para llevar a cabo la reducción de los iones Ag^+ a Ag^0 , finalmente se enjuagó en agua desionizada por 15 segundos y se llevó a una estufa de secado a 50 °C.

2. Venda con hidrogel secado previo y nanopartículas sintetizadas “in situ” (VHsNSI)

Una muestra seca del sustrato textil VH se puso en 33 mL de AgNO_3 al 0.001 y 0.1 M por 24 horas, posteriormente se secó a 50 °C por 24 horas y se colocó en 50 mL de NaBH_4 al 0.002 y 0.2 M, respectivamente, a ± 3 °C para reducir los iones Ag^+ a Ag^0 , por un tiempo de 4 horas en agitación, luego se enjuagó tres veces en agua desionizada y se secó en la estufa a 50°C.

3. Venda o tela de algodón con hidrogel y nanopartículas sintetizadas “in situ” a partir de AgNO_3 en polvo incorporado al hidrogel (VHAgNSI, AHAgNSI)

Una muestra de sustrato textil V o A se sumergió en 50 mL de hidrogel conteniendo la cantidad calculada de $\text{AgNO}_{3(s)}$ para obtener la concentración requerida, se secó por 24 horas a temperatura ambiente, y se sumergió en 50 mL de NaBH_4 frío a la concentración requerida por 3 horas en agitación para reducir los iones Ag^+ a Ag^0 en la muestra con hidrogel, por último, se enjuagó tres veces en agua desionizada y se secó en la estufa a 50 °C. Se utilizaron concentraciones 0.01, 0.02, 0.06, 0.1, 0.14, 0.2 y 1 M de AgNO_3 y concentraciones de NaBH_4 0.0075, 0.015, 0.045, 0.075, 0.105, 0.15 y 2 M, respectivamente.

Se presenta un diagrama de flujo general (Figura 6.2) para esquematizar la parte experimental realizada en este trabajo, así como dos diagramas correspondientes al procedimiento empleado para la obtención de las muestras con las nanopartículas de plata sintetizadas de manera “coloidal” (Figura 6.3) e “In situ” (Figura 6.4).

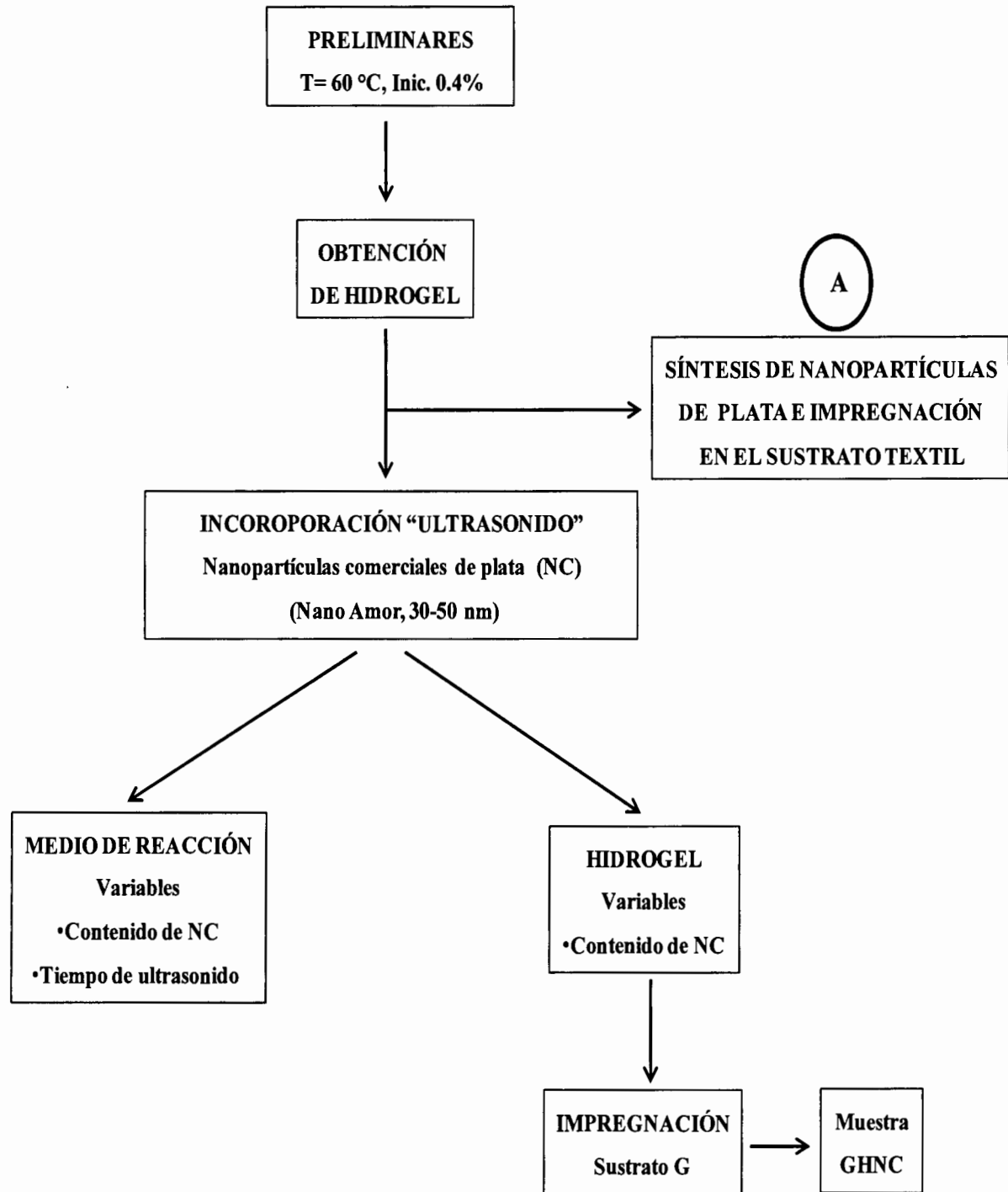


Figura 6.2. Diagrama de flujo general de la parte experimental.

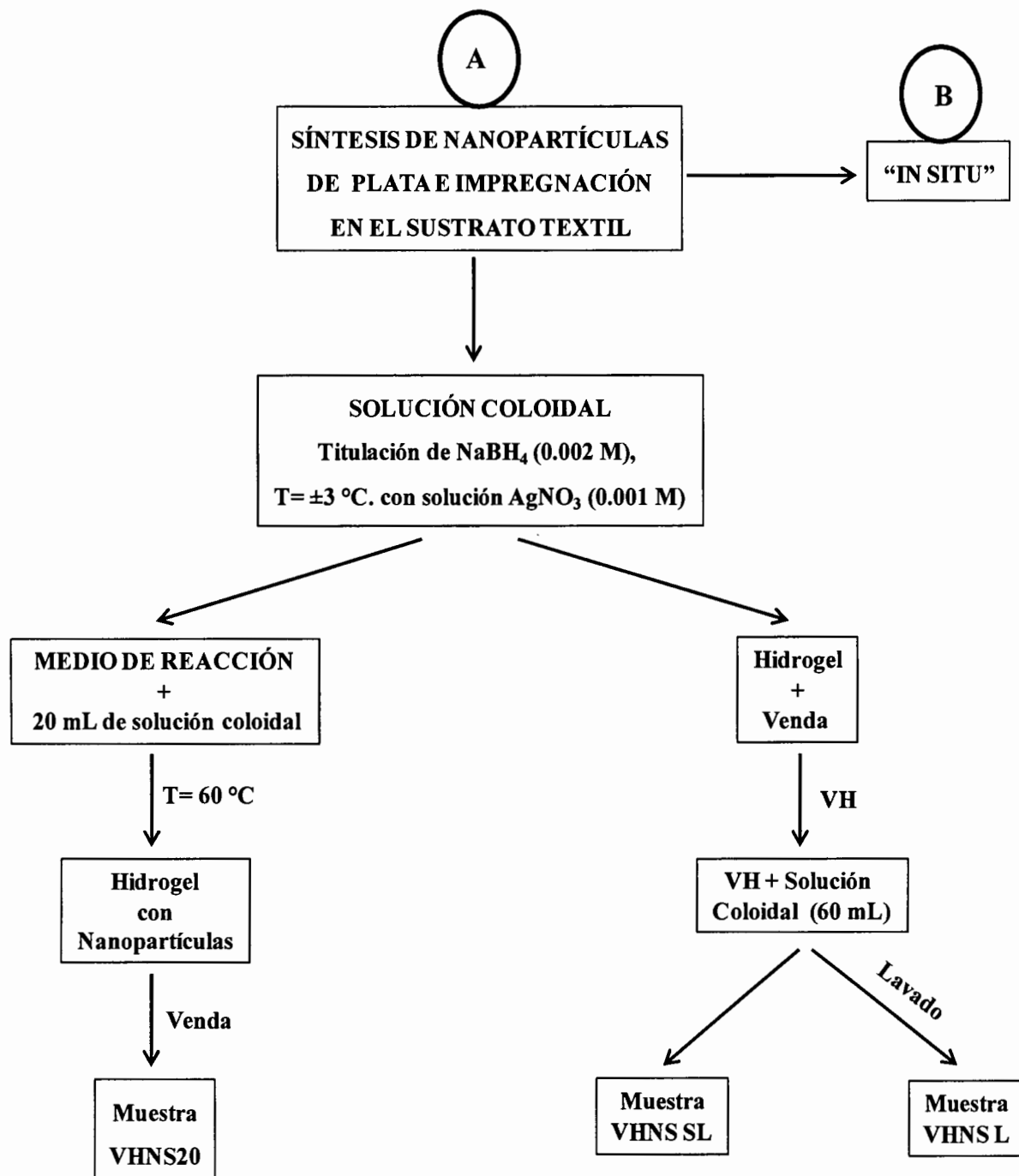


Figura 6.3. Diagrama de flujo “síntesis de nanopartículas de plata coloidal e impregnación en el sustrato textil con hidrogel”.

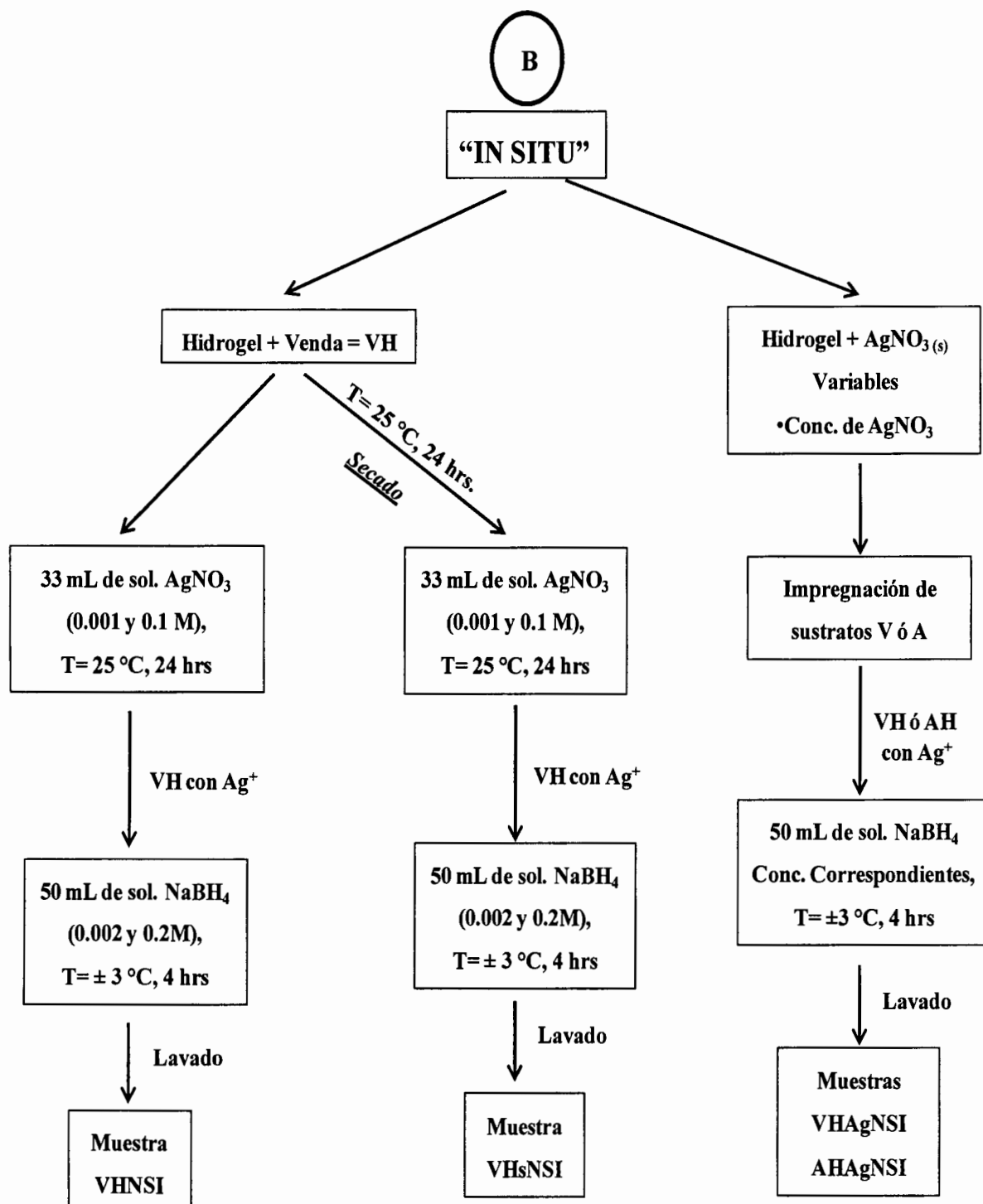


Figura 6.4. Diagrama de flujo “síntesis de nanopartículas de plata “in situ” e impregnación en el sustrato textil con hidrogel”.

6.5 Caracterización

Se realizó la caracterización tanto de las nanopartículas sintetizadas antes de ser empleadas en pruebas para la elaboración del recubrimiento de hidrogel, así como de los diferentes tipos de muestras obtenidas por los diversos métodos, utilizando varias técnicas de caracterización las cuales son descritas en el apartado correspondiente a cada una.

6.5.1 Caracterización de nanopartículas de plata coloidal

Para verificar la formación de las nanopartículas de plata en la solución coloidal y determinar su tamaño y dispersión, se caracterizó la solución coloidal mediante espectroscopia ultravioleta visible (UV-vis) y mediante microscopia electrónica de transmisión (TEM).

6.5.1.1 Espectroscopia UV

La solución de plata coloidal en una celdilla de cuarzo, se colocó en un espectrofotómetro UV-visible con arreglo de fotodiodos marca Shimadzu, modelo Multispec-1501 analizando el intervalo de longitud de onda de 400-800 cm^{-1} después de haberse determinado el blanco (agua) para obtener la banda característica correspondiente a la absorbancia de las nanopartículas de plata.

6.5.1.2 Microscopia electrónica de transmisión

Se colocó una gota de la solución coloidal sobre una rejilla de cobre con malla de carbono y se llevó al microscopio electrónico de transmisión (TEM) de alta resolución modelo FEI-TITÁN-300 Kv para observar el tamaño de las nanopartículas de plata.

6.5.2 Caracterización de sustratos textiles G, V y A sin tratar y con hidrogel y nanopartículas de plata incorporados.

Se llevó a cabo la caracterización de las muestras de los sustratos textiles G,V y A sin tratar, así como de estos mismos con la incorporación del hidrogel y las nanopartículas de plata por diversos equipos de caracterización descritos a continuación donde son especificadas sus características de operación.

6.5.2.1 Microscopia óptica (MOP) y estereoscópica

Para la caracterización de apariencia física de las muestras se utilizó un estereomicroscopio marca Leica modelo MZ-6 el cual cuenta con un intervalo de magnificaciones que van desde 6 a 40 aumentos. También se utilizó un microscopio óptico marca Olympus modelo BX60. Ambos equipos fueron acoplados a una cámara de video adaptada a un analizador de imágenes (Image-Pro Plus) la cual permitió la captura de las imágenes de las muestras, donde por medio de éstas se pudieron observar las fibras de los sustratos textiles, la presencia o ausencia del hidrogel en los sustratos y la coloración de la muestra.

6.5.2.2 Espectroscopia infrarroja

Se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo por reflectancia total atenuada (IR-ATR), modelo Magna-IR spectrometer 550 marca Nicolet en un intervalo espectral de 400 a 4000 cm^{-1} con un promedio de 100 barridos por muestra, el análisis proporcionó información de los grupos funcionales presentes en la muestra.

6.5.2.3 Microscopia electrónica de barrido (SEM) y EDAX

Para poder observar la morfología, el tamaño y dispersión de las nanopartículas de plata, así como la distribución en el hidrogel fue empleado un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo marca JEOL modelo JSM-7401F a una potencia de operación de 10 y 15 kV. La muestra fue recubierta con oro-paladio para darle la conductividad necesaria y posteriormente colocada en un porta muestras de bronce e introducida al equipo al vacío para impedir la interferencia de moléculas de aire y facilitar al detector captar los electrones desprendidos de la muestra. También se realizó microanálisis de un área específica y mapeo a varias muestras utilizando la técnica SEM/EDAX para verificar la presencia de la plata y de otros elementos presentes.

6.5.2.4 Difracción de rayos x de ángulo amplio (WAXS)

La caracterización de dos muestras representativas se llevó a cabo por difracción de rayos X, en un difractómetro marca Siemens modelo D-5000, con un voltaje aplicado de 35 kV a 25 mA y un paso de $0.06^\circ/2$ seg en un intervalo 2θ de $4-40^\circ$ y $4-80^\circ$ para poder comprobar por

medio de las bandas presentes en el difractograma los planos característicos de la estructura cristalina de la plata.

6.5.2.5 Espectroscopia de absorción atómica (AA)

Para determinar el contenido de plata presente en las muestras se utilizó un equipo de absorción atómica (AA) modelo Spectr AA-250 plus, operado a una longitud de onda de 328.1 nm, utilizando flama de aire-acetileno con un flujo de aire de 13.5 l/min, en el cual la muestra en forma líquida y libre de impurezas es succionada por un capilar pasando por la flama y detectada por una lámpara del elemento en cuestión, las mediciones son realizadas en 5 réplicas para cada muestra. La preparación de la muestra se realizó colocando 0.05 g de muestra en 5 mL de ácido nítrico y se calentó para disociar la plata, una vez obtenida la completa disociación de la plata en el ácido, éste se aforó con agua desionizada a un volumen de 50 mL, cabe señalar que para algunas muestras fue necesario una segunda aforación a 100 mL para diluir la concentración de la plata debido a su elevada concentración. Mientras que la muestra en solución coloidal se analizó directamente sin dilución.

6.6 Pruebas antimicrobianas

Se realizaron pruebas antimicrobianas tanto cualitativas como cuantitativas a muestras con y sin tratamiento en base a la norma ASTM E 2149-01 ^[78], éstas fueron realizadas por un laboratorio externo en la Facultad de Medicina, en virtud de que no se contaba con las instalaciones adecuadas en nuestro laboratorio de trabajo para el manejo de las bacterias y procedimientos empleados, descritos en el apéndice A.

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 Pruebas preliminares

Durante las pruebas preliminares se observó, en primer lugar, que a mayor concentración de agente entrecruzante mayor viscosidad y mayor grado de entrecruzamiento; por lo tanto, consistencia sólida en el hidrogel. Esta consistencia no permite lograr la impregnación adecuada del sustrato textil. Otra observación importante a partir de estas pruebas preliminares es que las soluciones a utilizar deben ser recién preparadas, ya que de otra manera no se lleva a cabo la polimerización del hidrogel. Con la información que se generó en esta serie de pruebas preliminares se establecieron las concentraciones más adecuadas para lograr la formación del hidrogel con las características requeridas de viscosidad para su manipulación e impregnación en los diferentes sustratos textiles. Estableciendo una concentración en peso de 80/20 (AA/AI) en un volumen total de 50 mL, porcentaje de iniciador y agente entrecruzante de 0.4% para ambos.

7.2 Dispersión de las nanopartículas de plata en el medio de reacción previo a la polimerización por ultrasonificación.

Una vez establecidas las condiciones para la preparación del hidrogel, se procedió a la incorporación de nanopartículas comerciales de tamaños de 30-50 nm, utilizando ultrasonido. En las primeras pruebas de dispersión de las nanopartículas en el medio de reacción, previo a la polimerización, se encontró que: Las soluciones toman una coloración negra al inicio de la ultrasonificación debido a la dispersión de las nanopartículas las cuales presentan ese color, aparentemente las cantidades de nanopartículas de plata utilizadas fueron excesivas ya que no se obtuvo una buena dispersión en el medio de reacción, al observarse en su mayoría aglomerados en el fondo (pruebas A,B,C), como se muestra en la Figura 7.1 por lo cual, también se consideró insuficiente el tiempo de aplicación del ultrasonido.

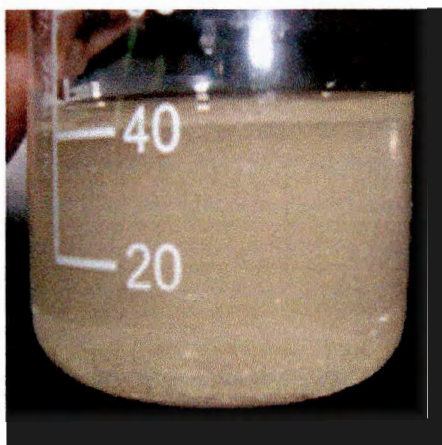


Figura 7.1. Dispersión de nanopartículas de plata comerciales en el medio de reacción.

Al disminuir los contenidos de nanopartículas (pruebas D y E “0.064 y 0.032 %”) y aumentar el tiempo de ultrasonificación aplicado al medio de reacción (20 min) se observó que hubo una mejora en la dispersión y que promovió una mayor estabilidad de éstas en el medio de reacción; sin embargo, durante el tiempo transcurrido al efectuarse la reacción de copolimerización para la obtención del hidrogel ocurrió la desestabilización y sedimentación de una buena parte de éstas. Por lo tanto, no se realizaron pruebas de impregnación al sustrato textil, ya que se consideró insuficiente la cantidad de nanopartículas de plata que finalmente pudiera estar presente en el recubrimiento del sustrato textil.

7.3 Dispersión de las nanopartículas de plata en el hidrogel por ultrasonificación

Los resultados de dispersión de nanopartículas de plata comerciales en el medio de reacción no fueron favorables, por lo que se procedió a la dispersión de nanopartículas de plata comerciales directamente en el hidrogel.

Se observó que aparentemente se lleva a cabo una buena dispersión de las nanopartículas de plata en el hidrogel (prueba F “0.08 % de plata”) aunque se presenta una cierta cantidad de aglomerados en el fondo (Figura 7.2), se realizó la incorporación de éste al sustrato textil G. Por otra parte, debido al mayor contenido de nanopartículas “0.8%” en la prueba G, el hidrogel toma una consistencia mas viscosa, hasta volverse una pasta pesada y pegajosa desde los primeros minutos de ultrasonificación, por lo que parte de éste se adhiere en la lanza; se

asume que esto ocurre debido al aumento en la temperatura del medio (55 °C), la cual casi alcanza la temperatura a la que se lleva a cabo la reacción de copolimerización y entrecruzamiento (60 °C). Bajo las condiciones utilizadas el hidrogel aún tiene la capacidad de seguirse entrecruzando y, por ende, seguir aumentando su viscosidad e ir cambiando su consistencia, por lo que se utilizó un baño de hielo para controlar la temperatura y llevar a cabo dicha prueba; sin embargo, debido a la cantidad de nanopartículas utilizada se observaron aglomerados en el fondo.

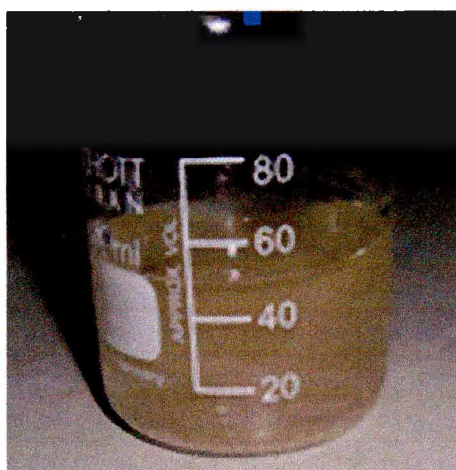


Figura 7.2. Dispersión de nanopartículas de plata comerciales en el hidrogel.

7.4 Síntesis de nanopartículas de plata

Se sabe que existen varias formas de obtener nanopartículas de plata, las cuales han sido reportadas por diversos investigadores, entre éstas podemos encontrar la síntesis por reducción química empleando nitrato de plata como sal precursora de plata y borohidruro de sodio como agente reductor ^[40, 42, 63]. En este trabajo se ha realizado la síntesis de plata coloidal para ser incorporada al hidrogel y posteriormente al sustrato textil. También se realizó la síntesis de nanopartículas de plata por reducción química “in situ” directamente sobre el sustrato textil con hidrogel, empleando los reactivos antes mencionados. Existen escasas publicaciones en la literatura de investigadores que reporten este tipo de síntesis “in situ” sobre sustratos textiles con hidrogel, dentro de las cuales se encontró únicamente a **Gupta y colaboradores** ^[3].

7.4.1 Síntesis de nanopartículas de plata coloidal

Como se ha visto en los resultados anteriores las nanopartículas de plata comerciales no mostraron resultados favorables tanto en el medio de reacción como en el hidrogel, por lo cual se procedió a obtener las partículas en solución coloidal a partir de la síntesis por reducción química, donde se obtuvo una solución líquida de color amarillo ámbar, (Figura 7.3).



Figura 7.3. Solución coloidal de plata.

La Figura 7.4 muestra las imágenes fotográficas de las muestras obtenidas por los distintos métodos experimentales utilizando la solución coloidal de plata, se observó la coloración y apariencia física de cada una de ellas. Fue posible ver las diferencias de las muestras VHNS L la cual presentó la apariencia del sustrato textil V solo y la muestra VHNS SL que presentó una coloración café claro debido a la plata presente, mientras que para la muestra VHNS20 se pudo apreciar el hidrogel presente y una coloración amarilla en la muestra debido a la plata coloidal.



Figura 7.4. Imágenes fotográficas de muestras preparadas con solución coloidal de plata VHNS L y VHNS SL (venda con hidrogel con nanopartículas en solución “lavada” y “sin lavar”), VHNS20 (venda con hidrogel con 20 mL de nanopartículas en solución).

7.4.2 Síntesis de nanopartículas de plata “in situ”

Al llevar a cabo la síntesis de nanopartículas de plata “in situ”, cuando el sustrato textil venda con hidrogel (VH) fue sumergido en la solución de AgNO_3 al paso del tiempo tomó una coloración morada y al llevarse a cabo la reducción de los iones Ag^+ a Ag^0 con NaBH_4 el sustrato tomó una coloración café lo cual indicó la formación de nanopartículas de plata de acuerdo a lo reportado en la literatura^[3, 66].

En la Figura 7.5 se muestran las imágenes fotográficas de las muestras obtenidas por los diversos métodos “in situ” descritos anteriormente, en ellas se observaron las diferencias físicas entre cada muestra, además se menciona el método de incorporación de la plata en el hidrogel y el sustrato textil que fue utilizado para ello, donde es posible observar la coloración café de cada muestra en función de las concentraciones empleadas de la sal precursora de plata y del agente reductor, el cual aumenta su intensidad a mayor concentración de sal empleada, y como ya se mencionó indica la formación de nanopartículas de plata en las muestras. Adicionalmente se muestra la imagen de una muestra comercial con plata “venda adhesiva” tomada como referencia de una aplicación similar que se pretende dar a los materiales obtenidos.



Figura 7.5. Muestras VHNSI (venda con hidrogel y nanopartículas sintetizadas "in situ"), VHsNSI (venda con hidrogel secado previo y nanopartículas sintetizadas "in situ") y AHAgNSI o VHAgNSI (tela de algodón o venda con hidrogel y nanopartículas sintetizadas "in situ" a partir de AgNO_3 en polvo incorporado al hidrogel).

7.5 Caracterización

Se emplearon diversas técnicas de caracterización descritas previamente en la parte experimental, tanto para las partículas sintetizadas y los sustratos textiles con y sin tratamiento. A continuación se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los procedimientos utilizados y la discusión de los mismos.

7.5.1 Caracterización de plata coloidal

Se llevó a cabo la caracterización de la solución coloidal de plata obtenida por reducción química de AgNO_3 con NaBH_4 por espectroscopia UV-vis, TEM y AA.

7.5.1.1 Espectroscopia ultravioleta-visible (UV-vis)

Por medio de espectroscopia UV/visible se obtuvo el espectro correspondiente a la plata coloidal, donde se puede observar el pico de absorbancia a 404 nm (Figura 7.6), el cual es un efecto característico de resonancia de plasmón superficial (oscilaciones de densidad de carga conferidas a nanopartículas de plata o nanoestructuras metálicas).

La excitación de esta superficie de plasmón localizada ocurre por un campo eléctrico aplicado a una longitud de onda incidente sobre las nanoestructuras metálicas, la absorción máxima o color y la intensidad de las bandas de absorción de la superficie de plasmón son características del tipo de material (típicamente oro, plata o platino), y su alta sensibilidad se atribuye al tamaño, distribución de tamaño y forma de las nanoestructuras^[79]. Indicando así, en nuestro caso con la presencia de esta banda característica, la formación de nanopartículas de plata.

El aumento en el pico de la absorbancia en nanopartículas de plata se ha atribuido en algunos estudios al incremento en el tamaño de las nanopartículas^[18, 36].

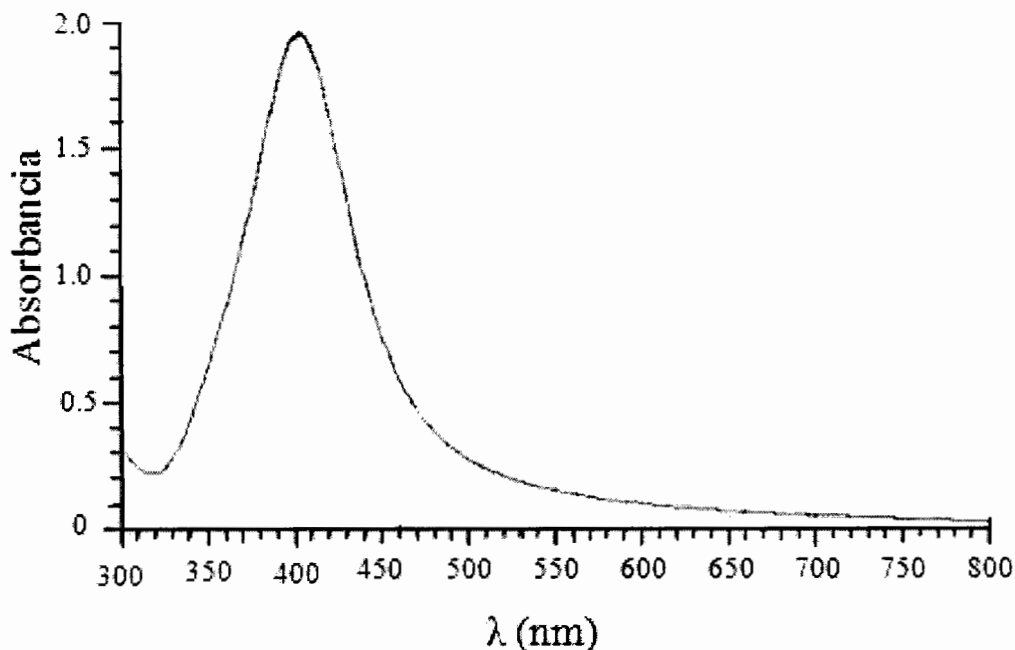


Figura 7.6. Espectro UV-vis de plata coloidal.

7.5.1.2 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

La técnica de caracterización TEM ha sido ampliamente usada en diversos estudios realizados para la identificación de nanopartículas de plata ya sea sintetizadas por diferentes métodos o simplemente incorporadas a una matriz polimérica, esta técnica se ha utilizado para analizar la dispersión y distribución de las nanopartículas, aunque también es una herramienta importante empleada en numerosos estudios para corroborar que las partículas de plata sintetizadas sean en realidad de tamaño nanométrico ^[57, 80, 81].

En este trabajo se obtuvieron las micrografías mostradas en la Figura 7.7 mediante estudios de TEM para la solución coloidal de plata, donde se pudo observar la distribución y el tamaño de las partículas, los cuales están representados a escalas de 10 y 20 nm, respectivamente. Se observan tamaños de partículas desde los 5 nm hasta los 25 nm y una buena dispersión de las nanopartículas.

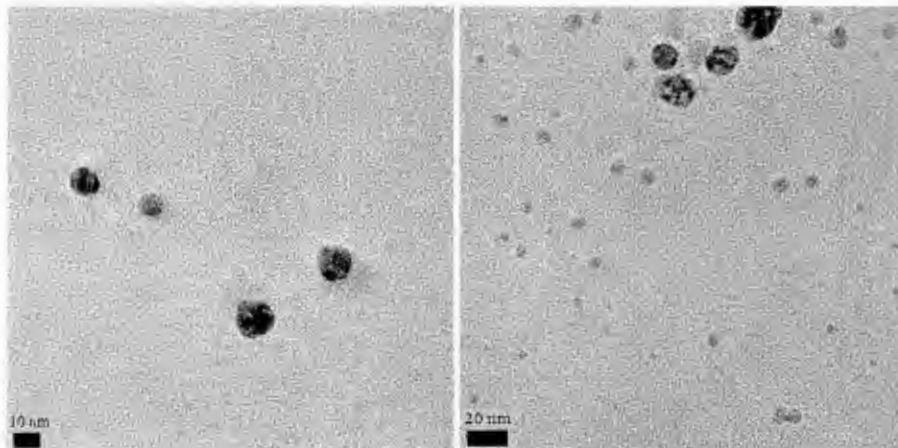


Figura 7.7. Micrografía de análisis por TEM de partículas de plata coloidal.

7.5.1.3 Espectroscopia de absorción atómica (AA)

Se llevó a cabo la caracterización de la solución coloidal de plata por absorción atómica para cuantificar la cantidad de plata presente en la solución, arrojando una concentración de plata en solución de 15.2 mg/L o ppm, la cual fue calculada de acuerdo a la ecuación 7.1 utilizada para muestras líquidas.

$$C_m = C_s * FD \quad Ec. 7.1$$

Donde C_m es la concentración del metal en la muestra en ppm (mg/g) y FD es el factor de dilución que en este caso fue de 1, C_s es la concentración en solución en ppm (mg/L).

7.5.2 Caracterización de sustratos textiles G, V y A sin tratar y tratados con hidrogel y nanopartículas de plata.

Se observaron las diferencias químicas funcionales y apariencia física por medio de espectroscopia infrarroja (IR-ATR) y microscopia óptica (MOP) y estereoscópica, respectivamente.

Para observar la dispersión y tamaños de partícula se utilizó microscopia electrónica de barrido (SEM), y análisis elemental por mapeo con EDAX para verificar la presencia de los principales elementos constituyentes de la muestra y, principalmente, para detectar la plata en algunas muestras representativas. Por difracción de rayos X, se detectaron los planos

característicos de la estructura cristalina de la plata. Para determinar la cantidad presente de plata en cada muestra se llevó a cabo un análisis por espectroscopia de absorción atómica (AA). Los resultados de esta caracterización se discuten a continuación.

7.5.2.1 Microscopia óptica (MOP) y estereoscópica

Mediante el microscopio óptico y estereoscópico fue posible distinguir la apariencia física de las muestras del sustrato textil G con y sin tratamiento, la Figura 7.8 muestra las micrografías del sustrato textil G, a diferentes magnificaciones.

Se puede apreciar la incorporación del hidrogel en el inciso b y c al compararse con la muestra original del inciso a. Se puede observar una ligera coloración crema en el hidrogel de la muestra GHNC, debido a la baja cantidad de nanopartículas de plata dispersada por ultrasonido (0.005g) en ella.

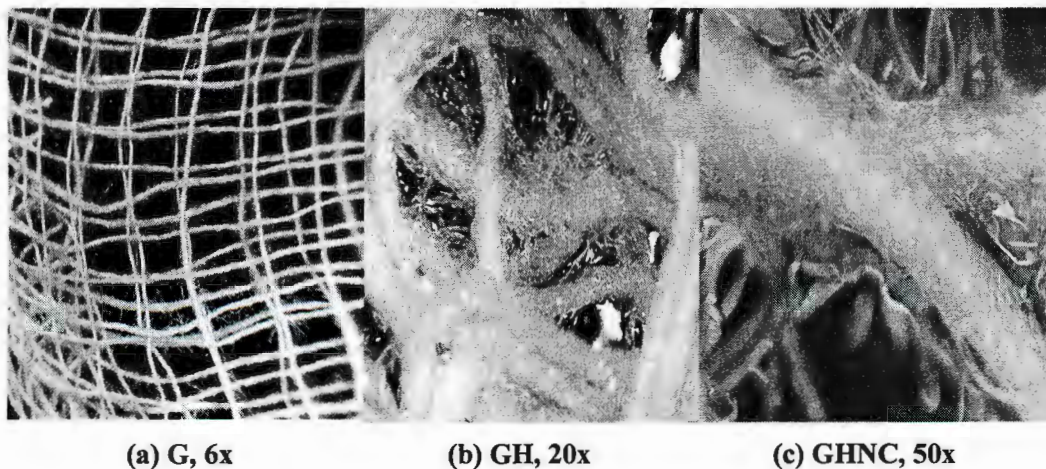


Figura 7.8. Micrografías de MOP y estereoscopia del sustrato textil G (gasa), GH (gasa con hidrogel), GHNC (gasa con hidrogel y nanopartículas comerciales).

En la Figura 7.9 se pueden ver las micrografías del sustrato textil V a 10 y 32x y la muestra VH a 32x observando que es difícil apreciar la presencia del hidrogel debido a que las fibras de poliéster del sustrato textil son muy transparentes y similares a la apariencia del hidrogel.

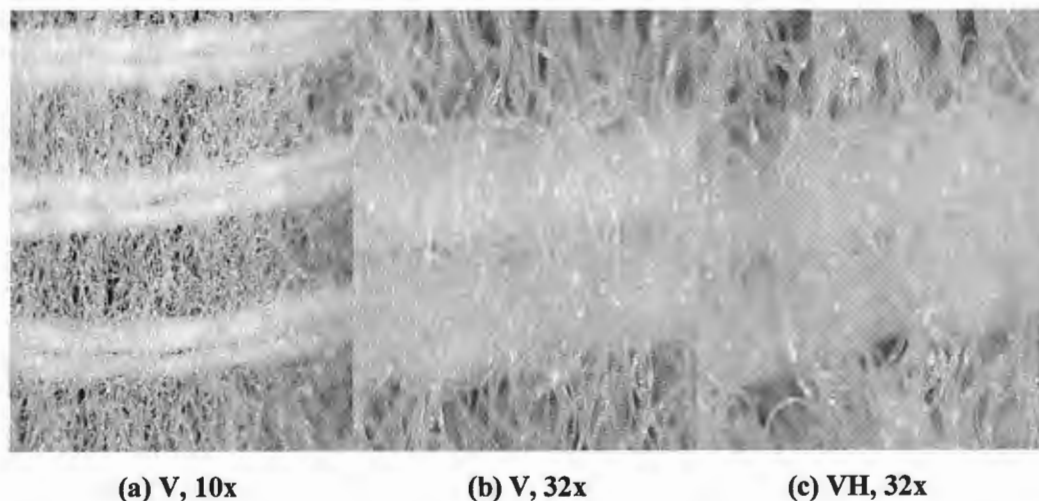


Figura 7.9. Micrografías de MOP y estereoscopio del sustrato textil V (venda) y VH (venda con hidrogel).

Fue posible apreciar mediante MOP y estereoscopia la presencia del hidrogel, observar la coloración y con ello asumir la presencia de plata en algunas de las muestras analizadas del sustrato textil V preparado mediante diversos procedimientos; en la Figura 7.10 se presenta un bloque de dichas micrografías a 10, 32 y 50x.

En el caso de las micrografías correspondientes a la muestra VHNS se pueden observar las fibras de algodón y poliéster del sustrato aparentemente sin ningún efecto para 10 y 32x, aunque es posible observar a 50x algunas porciones pequeñas color ámbar adheridas a las fibras de poliéster; ambas fibras carecen de hidrogel. Durante la etapa experimental se pudo apreciar que el hidrogel tiende a ser arrastrado por la solución coloidal al colocarse el sustrato VH en ésta.

Para la muestra VHNS20 se observó una ligera coloración crema sobre las fibras de algodón, y también es posible apreciar la presencia del hidrogel y la ligera coloración crema en el hidrogel impregnado en las fibras debido a la solución coloidal de plata de color amarillo, la cual fue incorporada a la solución con los reactivos previamente a su copolimerización para la formación del hidrogel; esto corrobora la presencia de plata en el hidrogel sobre el sustrato textil.

En las micrografías correspondientes a la muestra VHNSI se puede observar la coloración de las fibras de algodón del sustrato, mientras que las fibras de poliéster no presentan ninguna coloración; durante la parte experimental se pudo observar que cierta cantidad de hidrogel es arrastrada por la solución de AgNO_3 y otra parte por el agente reductor. Las fibras de algodón al estar más compactadas se impregnaron de solución de AgNO_3 y en ellas se llevó a cabo la reducción de plata mediante el NaBH_4 presentando así la coloración ámbar apreciada en la micrografía. Sin embargo, no es el método más adecuado ya que no se logró que las nanopartículas se encontraran dispersas en el hidrogel y éste a su vez recubriendo el sustrato textil para llevar a cabo la función requerida, la cual es el transporte de los iones de plata facilitado a través del hidrogel, estos resultados también se corroboraron mas adelante por IR.

Por último, fue posible apreciar que la preparación “in situ” de las nanopartículas de plata da lugar a una coloración café oscura en las muestras VHAgNSI. Además se observa una buena distribución del hidrogel, con plata bien dispersa, en las fibras tanto de algodón como de poliéster de la venda. Esto nos permite asumir que éste es un buen método de dispersión e incorporación de nanopartículas de plata en el hidrogel sobre un sustrato textil.

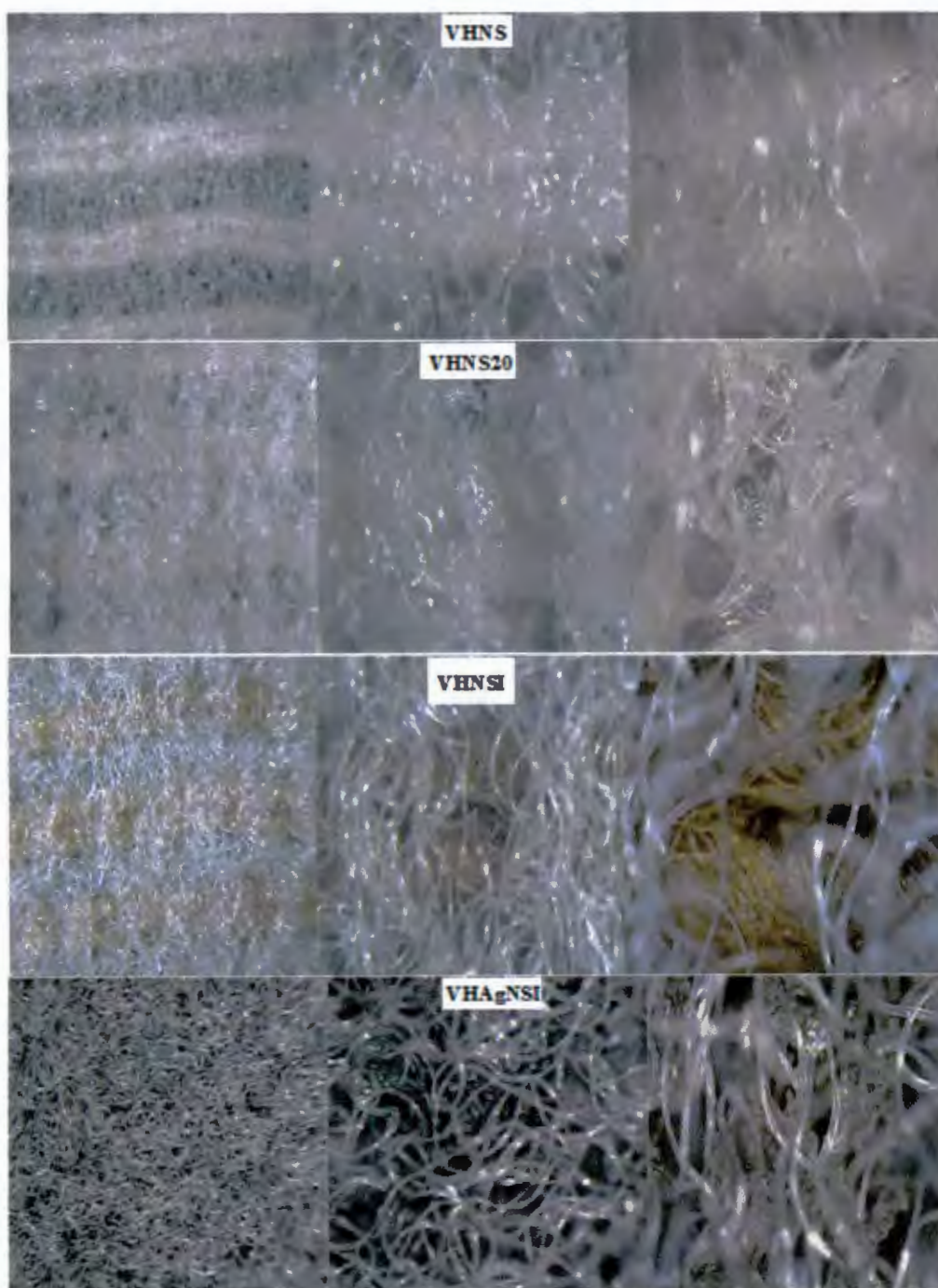


Figura 7.10. Micrografías de MOP y estereoscopio del sustrato textil VHNS, VHNS20, VHNSI y VHAgNSI. 10, 32 Y 50 x para cada una.

7.5.2.2 Espectroscopia infrarroja (IR)

Mediante esta técnica se llevó a cabo la identificación de las principales bandas características correspondientes a los grupos funcionales presentes en los sustratos textiles sin tratamiento A y V, así como en aquellos sustratos con hidrogel y nanopartículas de plata.

La Figura 7.11 muestra los espectros infrarrojos del sustrato textil V y VH donde es posible observar las diferencias químicas estructurales representadas por las bandas características de cada uno, en el caso del sustrato textil V sin hidrogel aparece un pico localizado a una longitud de onda de 3340 cm^{-1} correspondiente a los grupos OH, estiramientos C-H de metilos y metilenos en $2850\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$, así como una banda intensa en 1717 cm^{-1} representativa de los grupos C=O del algodón y del poliéster ^[20,28] y deformaciones C-O en 1095 cm^{-1} , es posible detectar la presencia del hidrogel en el sustrato textil VH por medio del ensanchamiento de las bandas localizadas en 3340 cm^{-1} y $2850\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$ debido al aumento de grupos OH y de C-H de metilos y metilenos por la presencia del hidrogel formado por el copolímero ácido acrílico-co-ácido itacónico ^[20,23].

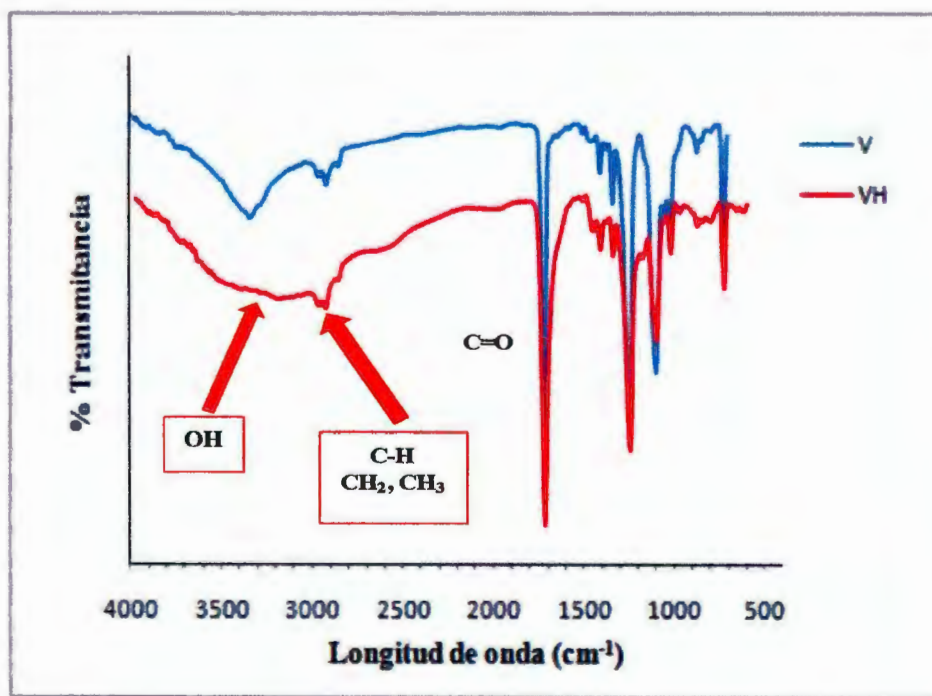


Figura 7.11. Espectro infrarrojo, V (venda) y VH (venda con hidrogel).

En la Figura 7.12 es posible detectar las diferencias entre las muestras donde se emplearon nanopartículas sintetizadas en solución coloidal, se observan para todas las muestras las bandas características del sustrato textil V mostradas anteriormente, en el caso de la muestras VHNS L es posible observar la disminución de las bandas de los grupos OH y C-H de metilos y metilenos en 3340 cm^{-1} y en $2850\text{-}2950\text{ cm}^{-1}$, respectivamente, que corresponden a la presencia del hidrogel formado por el copolímero ácido acrílico-co-ácido itacónico, esta disminución es debida a la pérdida del hidrogel cuando la muestra permaneció en la solución coloidal y en la solución de lavado, mostrando el espectro infrarrojo igual al del sustrato textil V, esta pérdida también se pudo apreciar por MOP y estereoscopia.

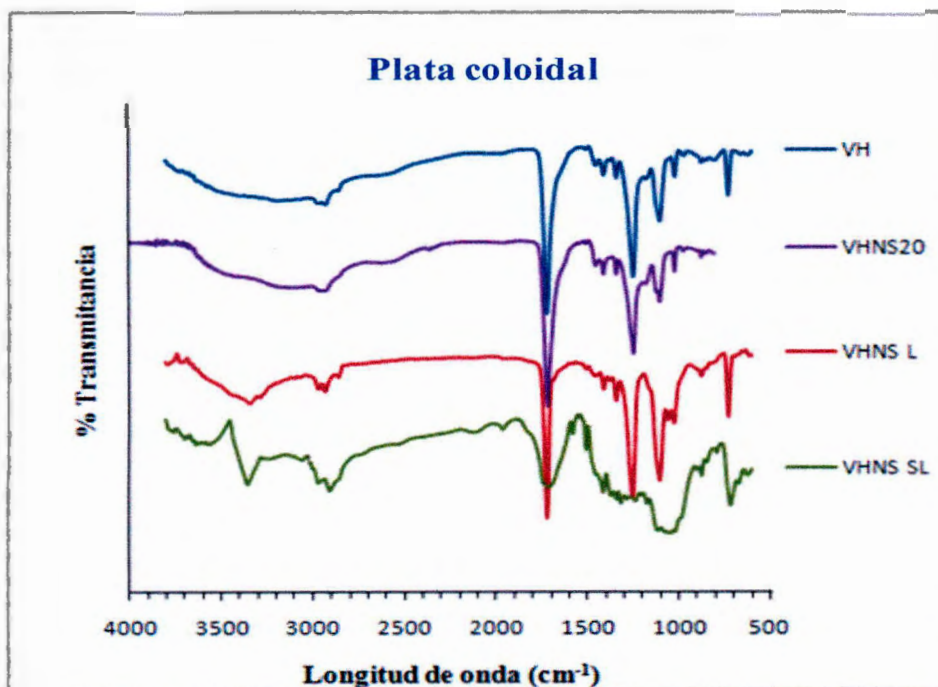


Figura 7.12. Espectro infrarrojo, VH, VHNS L y SL y VHNS20.

Por otra parte, en la muestra VHNS SL se observó que las bandas correspondientes a los grupos OH y C-H de metilos y metilenos aumentan su intensidad respecto a V debido a la presencia del hidrogel, mientras las demás bandas muestran un ensanchamiento a partir de 1713 cm^{-1} hasta 500 cm^{-1} lo cual suponemos pudiera ser debido a las impurezas de las sales presentes en la muestra, por falta de lavado.

Para la muestra VHNS20 es posible observar un espectro infrarrojo muy similar al de la muestra VH observándose el ensanchamiento de las bandas características de los grupos OH y C-H del hidrogel, sin presentar ensanchamiento de las bandas restantes.

La Figura 7.13 muestra los espectros infrarrojos correspondientes a las muestras VHA_gNSI a las concentraciones especificadas, donde es posible observar las bandas características del sustrato textil VH, principalmente las representativas del hidrogel localizadas en 3340 cm⁻¹ y en 2850-2950 cm⁻¹ de los grupos OH y C-H del copolímero ácido acrílico-co-ácido itacónico. Es importante señalar la presencia de una banda localizada en 1520 cm⁻¹ la cual aumenta su intensidad a medida que aumenta la concentración (0.1, 0.14 y 0.2 M) y de la cual no se han encontrado reportes en la literatura.

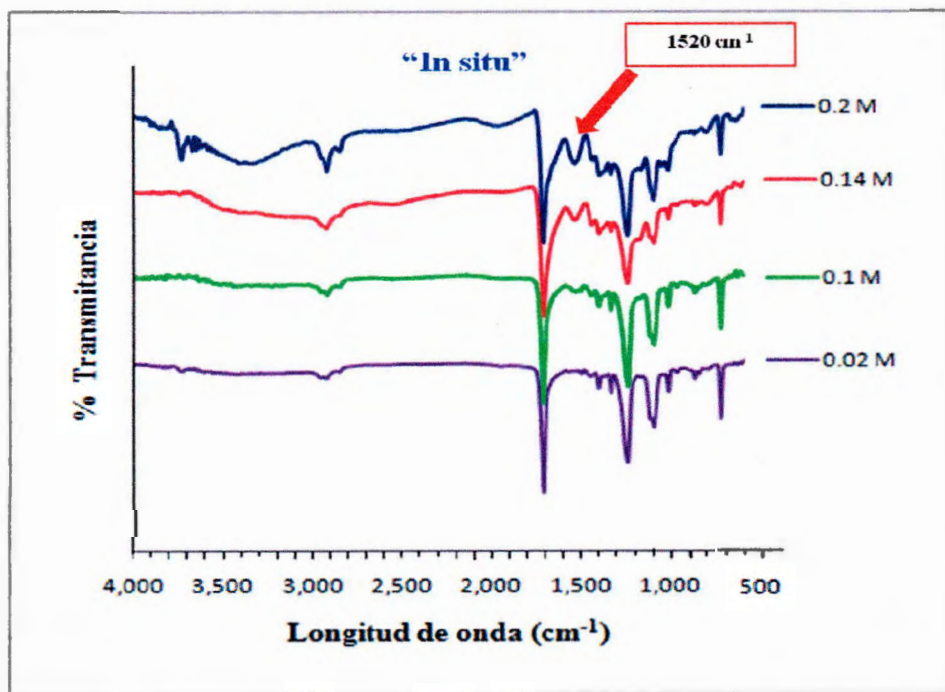


Figura 7.13. Espectro infrarrojo, muestras VHA_gNSI.

Con respecto, a las muestras de sustrato textil (A) solo y con hidrogel (AH) se presentan los espectros infrarrojos correspondientes en la Figura 7.14 donde se pueden observar las bandas características del sustrato A en 3350 cm⁻¹ de los grupos OH y en 2902-2914 de C-H de metinos y metilenos, se observa una banda adicional en la muestra AH en 1700 cm⁻¹ la cual

corresponde a los grupos C=O del hidrogel ácido acrílico-co-ácido itacónico, corroborando así su presencia.

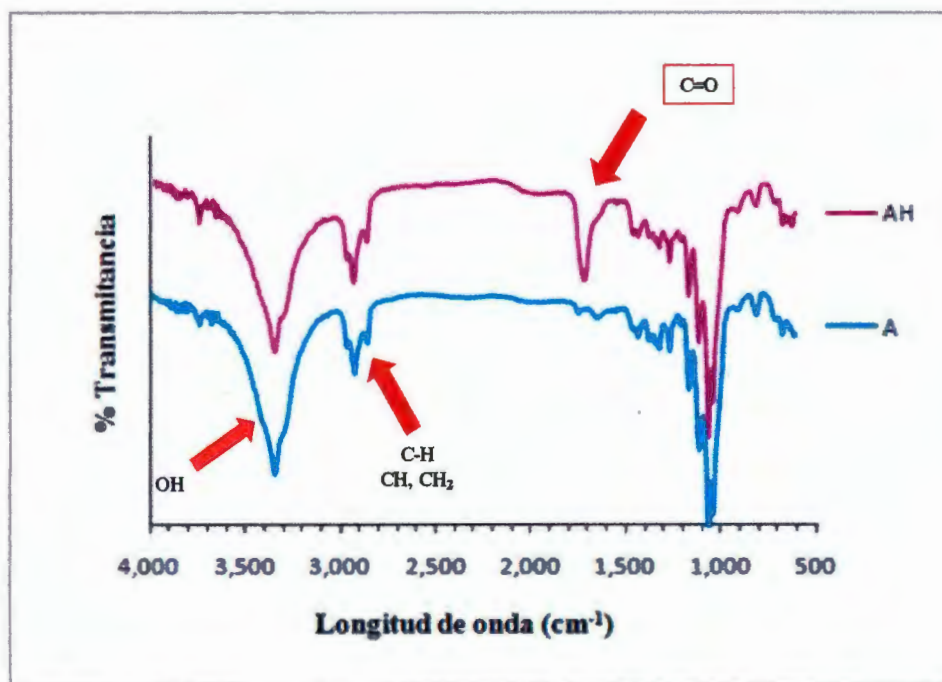


Figura 7.14. Espectro infrarrojo, sustrato textil A (tela de algodón) y AH (tela de algodón con hidrogel).

En la Figura 7.15 se observan los espectros infrarrojo de las muestras AHAgNSI a diferentes concentraciones donde se pueden ver las bandas identificadas anteriormente para las muestras que contienen hidrogel observando un corrimiento de la banda correspondiente al grupo C=O, que en el sustrato con hidrogel AH sin plata es localizada en 1700 cm^{-1} , y al tener presencia de plata es recorrida a $1691, 1662, 1653, 1639$ y 1603 cm^{-1} para cada muestra en orden creciente respecto a la concentración de sal precursora de plata utilizada; es decir, a medida que aumenta la concentración el corrimiento de la banda se presenta hacia campos mas bajos, caso similar fue reportado en la literatura por **Wen-Fu Lee y colaboradores** ^[17] donde atribuyen ese corrimiento a la unión Ag-O. Sin embargo, en estos espectros también es posible apreciar la presencia de la banda en 1520 a 1540 cm^{-1} para las concentraciones $0.06, 0.1, 0.14$ y 0.2 M , observándose nuevamente un incremento en la intensidad de la banda a mayor concentración.

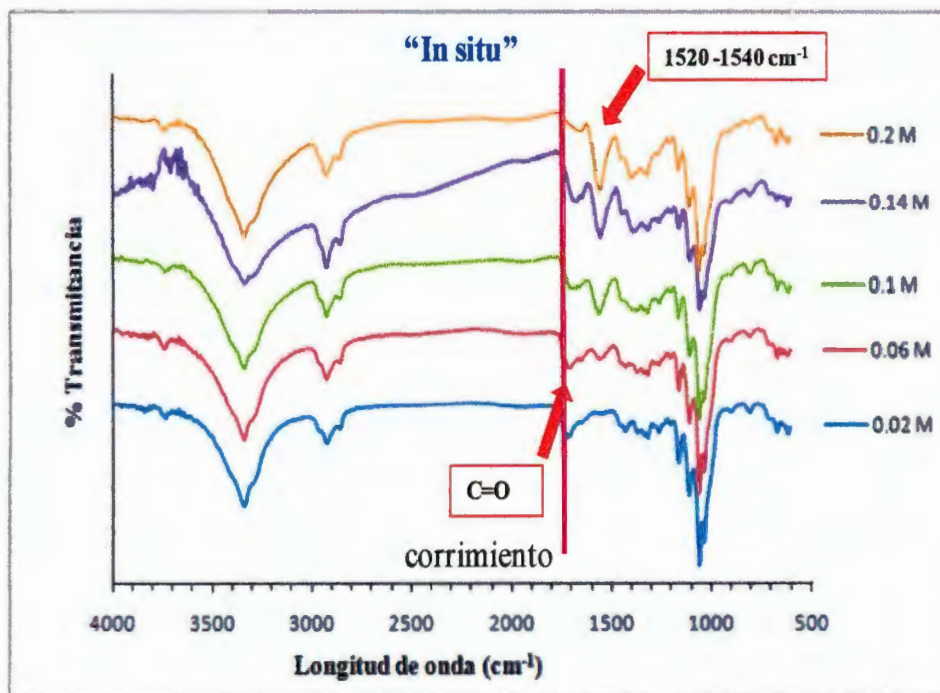


Figura 7.15. Espectro infrarrojo, muestras AHAgNSI.

7.5.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM) y Espectroscopia de energía dispersiva de rayos x (SEM-EDAX)

Por medio de SEM se obtuvieron las micrografías correspondientes a las muestras donde fue observada la dispersión y tamaños de partícula de plata, así como la distribución de la misma en las fibras de los sustratos textiles con hidrogel, en conjunto se realizó un análisis cualitativo de la composición de algunas muestras por análisis elemental mediante EDAX y se verificó la presencia de plata.

Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Muestra con nanopartículas comerciales

En la Figura 7.16 se pueden ver en conjunto las micrografías de la muestra GHNC impregnada a partir de un hidrogel cuyo contenido de nanopartículas dispersas por ultrasonido fue de 0.08% (Prueba F), donde es posible apreciar una buena incorporación del hidrogel (a y b), sin embargo, la distribución y dispersión de las nanopartículas de plata no es adecuada, ya que se observan como aglomerados micrométricos en algunos sitios de las fibras del sustrato (a-d), así como un enmarañamiento y desorden de las fibras debido a la complicada manipulación de

este sustrato textil al llevar a cabo la impregnación con el hidrogel y nanopartículas de plata, por lo cual se optó por cambiar de sustrato textil para realizar las pruebas posteriores.

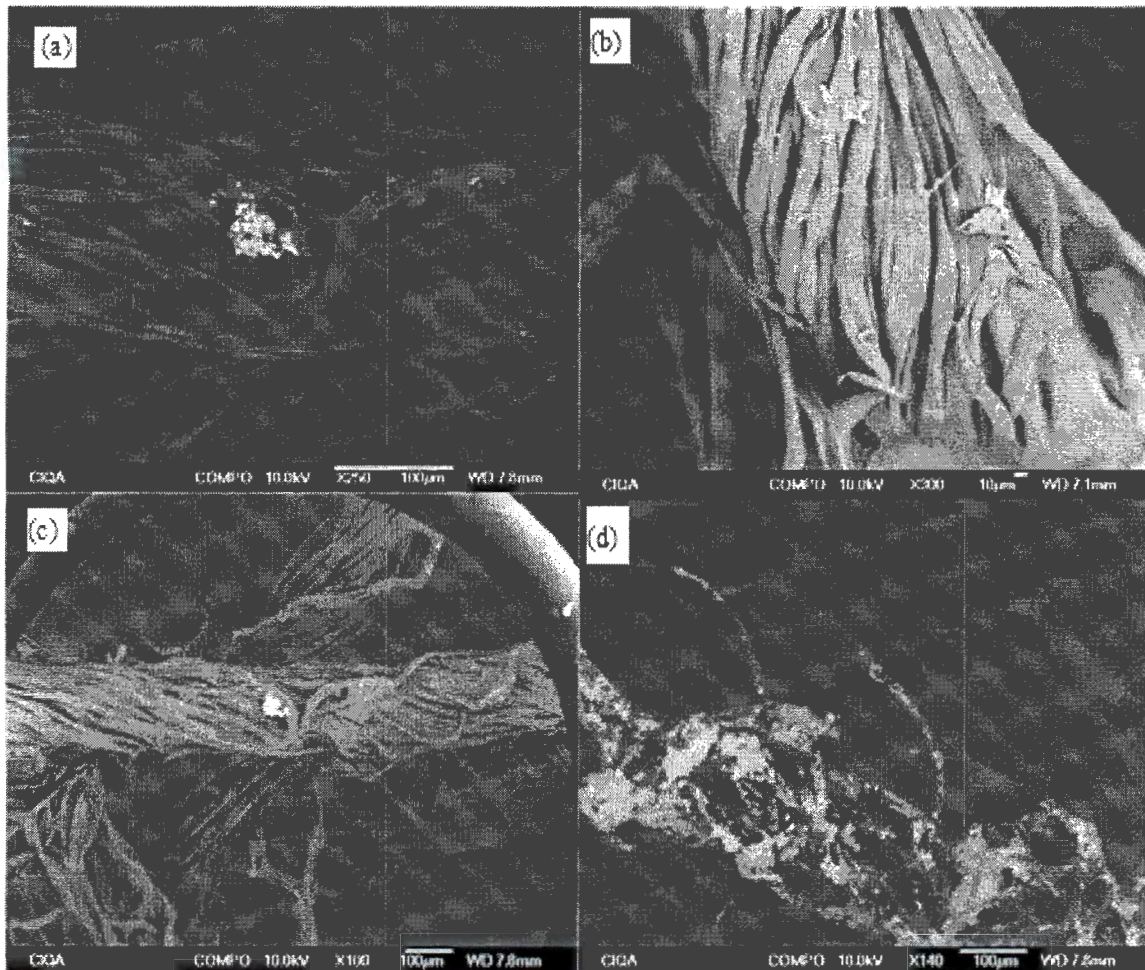


Figura 7.16. Micrografías de SEM de la muestra de la prueba F, GHNC (gasa con hidrogel y nanopartículas de plata comerciales).

Sustrato textil con hidrogel

Para corroborar la presencia del hidrogel en el sustrato textil V se observó, mediante SEM, la impregnación del hidrogel en las fibras de este sustrato (Figura 7.17), ya que era crítico para proceder a la incorporación de las nanopartículas en éste.

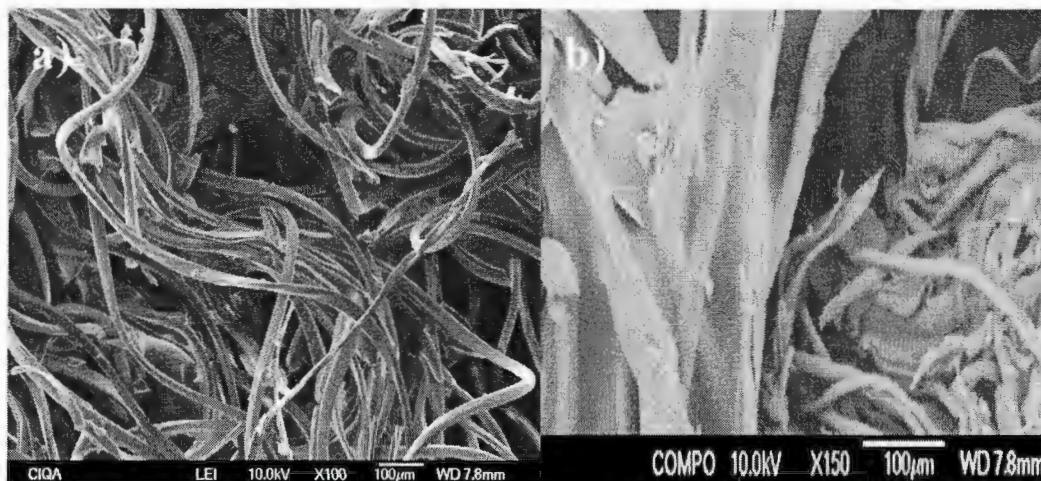


Figura 7.17. Micrografías de SEM de la muestra VH (venda con hidrogel).

Muestras con nanopartículas sintetizadas en solución coloidal

La muestra VHNS SL se presenta en las micrografías de la Figura 7.18 donde es posible observar una distribución homogénea de la nanopartículas en las fibras del sustrato textil, sin embargo, también se observa una inadecuada dispersión de las mismas al encontrarse en forma de aglomerados micrométricos, los cuales pudieron apreciarse desde bajas magnificaciones (a), además se puede observar la escasa presencia de hidrogel “señalado por círculos” (a y b), esto permite corroborar los resultados analizados de la caracterización por IR, MOP y estereoscópica donde se observó la ausencia o escasez del hidrogel en la muestra.

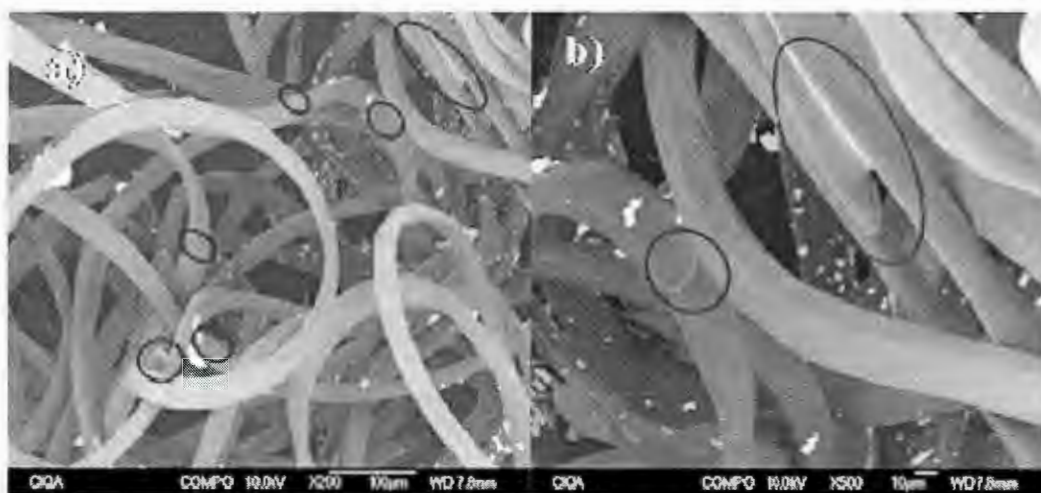


Figura 7.18. Micrografías de SEM de la muestra VHNS SL (venda con hidrogel y nanopartículas en solución “sin lavar”).

Para la muestra VHNS20 se puede observar en la Figura 7.19 la presencia del hidrogel sobre las fibras textiles indicando una buena impregnación de éste; sin embargo, se aprecia la presencia de aglomerados de plata envueltos con hidrogel sobre algunas fibras y pocas partículas de menor tamaño dispersas en el hidrogel que recubre las fibras textiles (a). Se tomó como referencia uno de los aglomerados, el cual está indicado con una flecha roja, en éste se pudo ver a mayor magnificación que se trata de cientos de partículas encapsuladas con hidrogel las cuales tienen tamaños promedio que van desde los 88 a los 200 nm (b). Es posible que la solución coloidal de plata adicionada al medio de reacción para llevar a cabo la copolimerización, se haya desestabilizado debido al pH ácido, lo cual pudo originar la formación de partículas de tamaños mayores antes de que se llevara a cabo la copolimerización, como ha sido reportado por algunos autores [42].

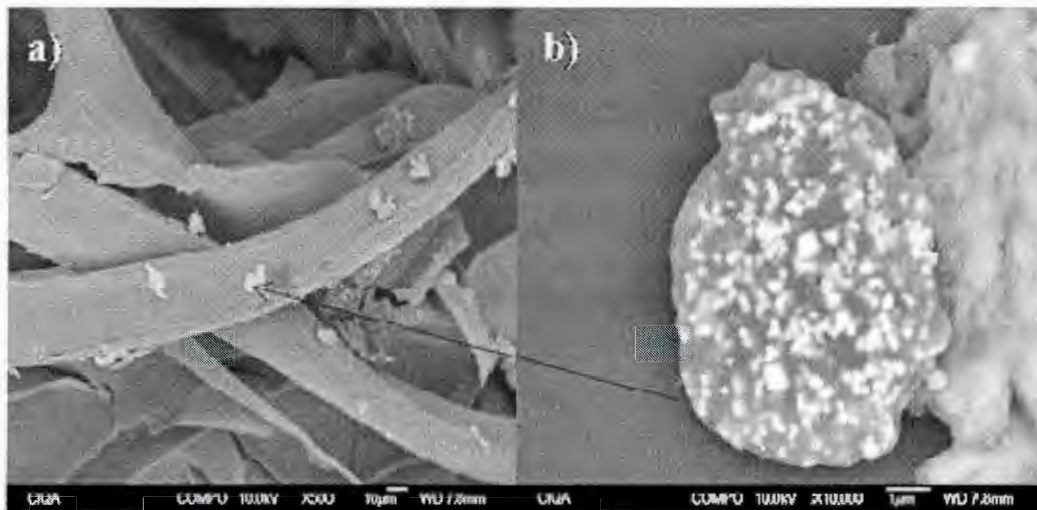


Figura 7.19. Micrografías de SEM de la muestra VHNS20 (venda con hidrogel con 20 mL de nanopartículas en solución).

Muestras con nanopartículas sintetizadas “in situ”

En la Figura 7.20 se muestran las micrografías correspondientes a la muestra VHNSI 0.1M, se observa poca presencia de hidrogel sobre las fibras del sustrato, que como ya se mencionó anteriormente fue arrastrado por la solución de AgNO_3 y del agente reductor (a), mientras que en el inciso (b) VHsNSI 0.1M se aprecia mayor contenido de hidrogel sobre las fibras debido al secado previo de la muestra VH con AgNO_3 antes de sumergirse en la solución reductora lo que permitió que el hidrogel restante permaneciera en el sustrato con la sal precursora en éste.

Al llevarse a cabo la reducción en contacto con el NaBH_4 se logró la formación de partículas de plata en el sustrato con hidrogel y aunque se asume que una parte de éste pudo ser arrastrado en la solución reductora, la consistencia y apariencia física del sustrato permaneció constante hasta el final de la reacción obteniendo un sustrato textil con hidrogel de color café. Es importante señalar que las magnificaciones a las que fueron tomadas estas micrografías son muy bajas por lo que es difícil saber si, además de los aglomerados observados, también se obtuvieron nanopartículas de plata.

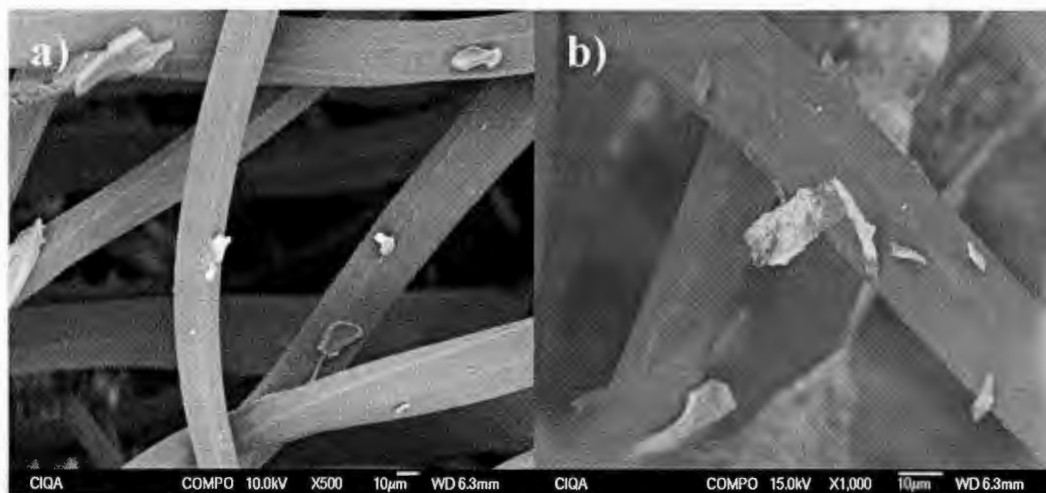


Figura 7.20. Micrografías de SEM de las muestras VHNSI y VHsNSI.

Las micrografías de las muestras correspondientes a la preparación “in situ” de muestras A y V-HAgNSI a partir de AgNO_3 en polvo incorporado al hidrogel en sus diferentes concentraciones se muestran a continuación. Se empleó el software “ImageJ” para la determinación de tamaño de partículas.

La Figura 7.21 representa la muestra de concentración 0.02M en donde es posible observar, en dos micrografías a 2000 (a) y 100,000x (b), la dispersión y distribución de plata sobre la fibra textil, se observa la presencia de aglomerados micrométricos de plata así como, la dispersión de nanopartículas de plata de tamaños entre 11 a 15 nm en el hidrogel presente en el sustrato.

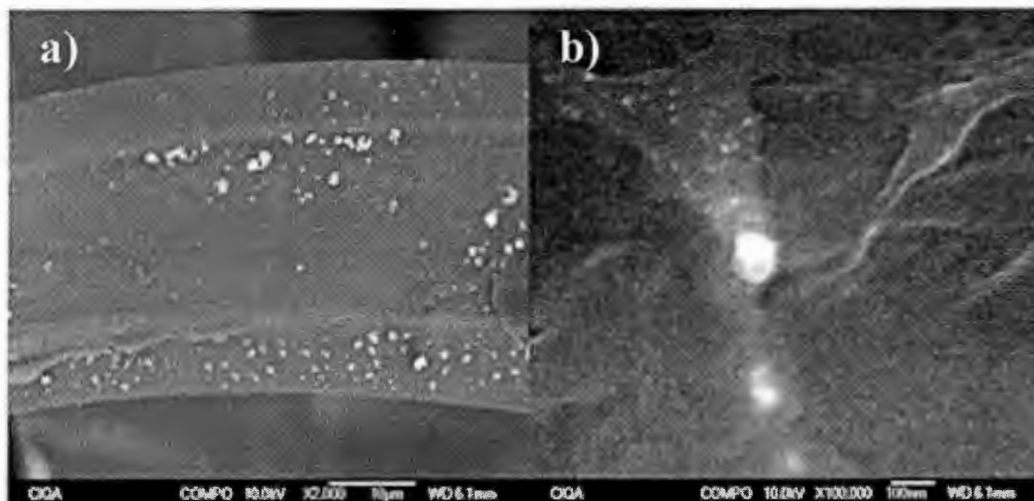


Figura 7.21. Micrografías de SEM de la muestra VHAgNSI 0.02 M.

En el caso de las micrografías correspondientes a una muestra de sustrato textil A (Figura 7.22) con una concentración de 0.06 M puede apreciarse, en la de menor magnificación, las fibras cubiertas con hidrogel en tono blancuzco debido a la plata que contiene así como algunos aglomerados micrométricos contenidos en las fibras; sin embargo, a mayor magnificación se puede ver claramente la buena dispersión y distribución de nanopartículas de plata de forma esférica en el hidrogel sobre las fibras. Se realizó el conteo de las nanopartículas tomando como referencia un total de 220 nanopartículas y se graficó la distribución de tamaños en el histograma correspondiente, donde es posible apreciar en su mayoría tamaños entre 10-15 nm, encontrando el resto por debajo de los 30 nm.

Cabe señalar que, aparentemente en las muestras preparadas con el sustrato textil A, el hidrogel contenido en las fibras se encuentra en menor proporción que en las preparadas con el sustrato textil V, lo cual suponemos puede atribuirse a la diferencia en textura, arreglos y espacios disponibles entre las fibras de estos sustratos textiles, siendo el sustrato V el que presentó un tejido que permite una mayor retención del hidrogel y por ende a una mejor impregnación sobre las fibras.

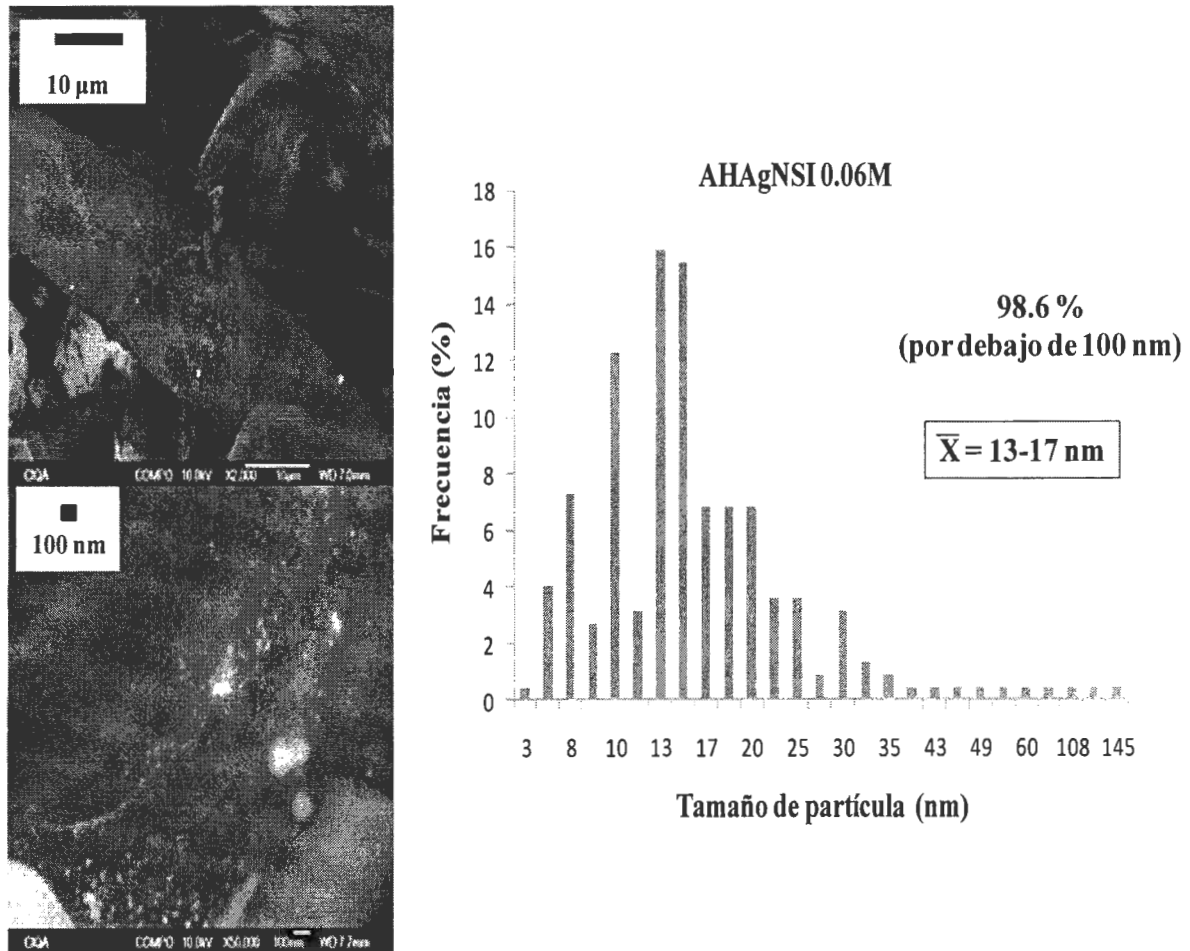


Figura 7.22. Micrografías de SEM de la muestra AHAgNSI 0.06 M, e histograma de distribución de tamaños de partícula.

En la Figura 7.23 se muestran las micrografías para la concentración 0.1 M, (micrografía superior) donde se observa una buena distribución y dispersión de plata sobre la fibra textil con hidrogel, distinguiéndose algunos aglomerados de plata de tamaños promedio entre 120 y 200 nm. También se observa el color blancuzco del hidrogel atribuido a la presencia de nanopartículas de plata. A mayor magnificación (micrografía inferior) se aprecia más claramente la dispersión y distribución de las nanopartículas que se encuentran en el hidrogel; así como, la presencia de aglomerados, algunos no mayores a 100 nm los cuales pudieran considerarse como nanopartículas. Se corroboró el tamaño de las nanopartículas midiendo un total de 255 y graficando su distribución en el histograma correspondiente, donde es posible

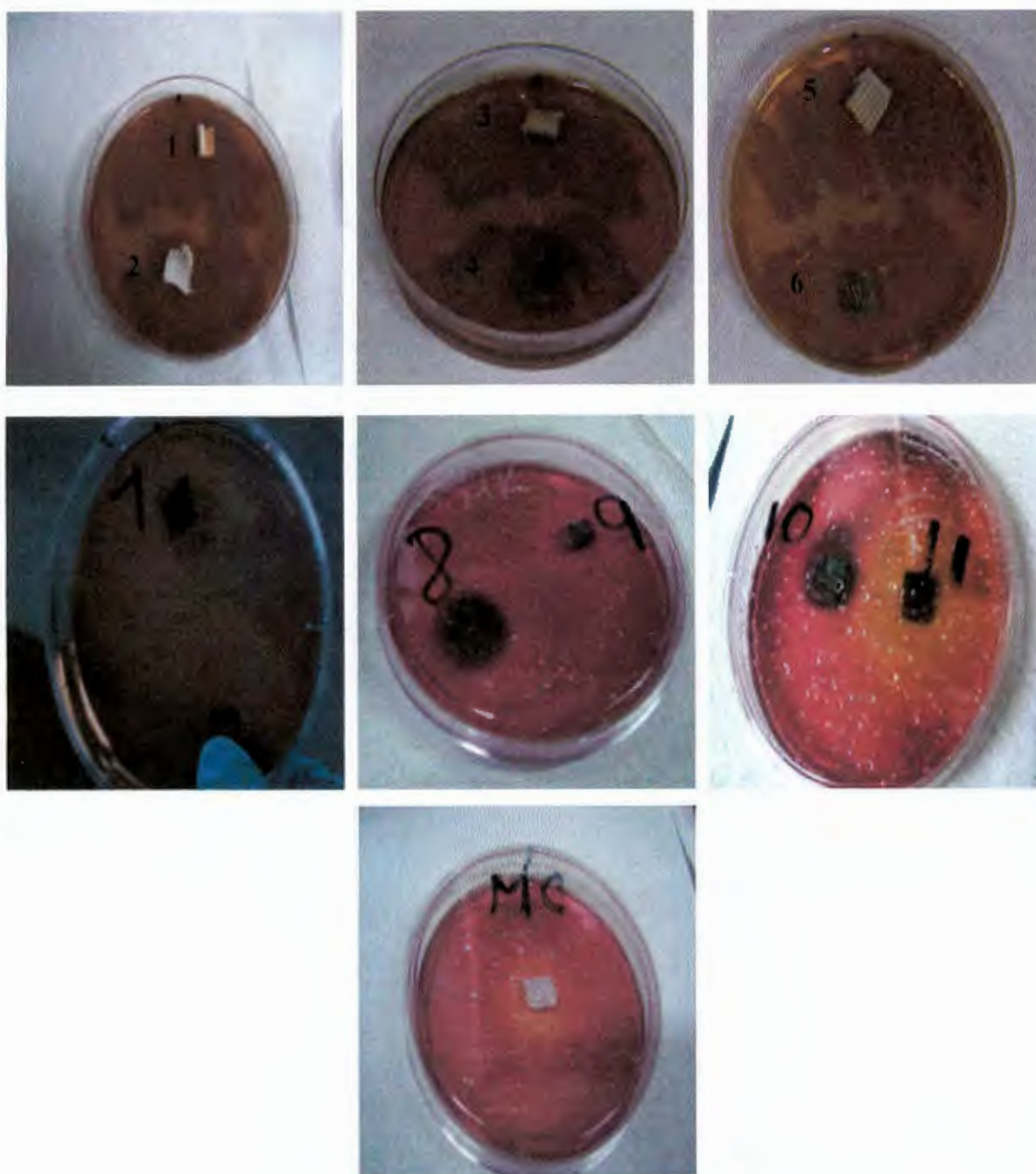
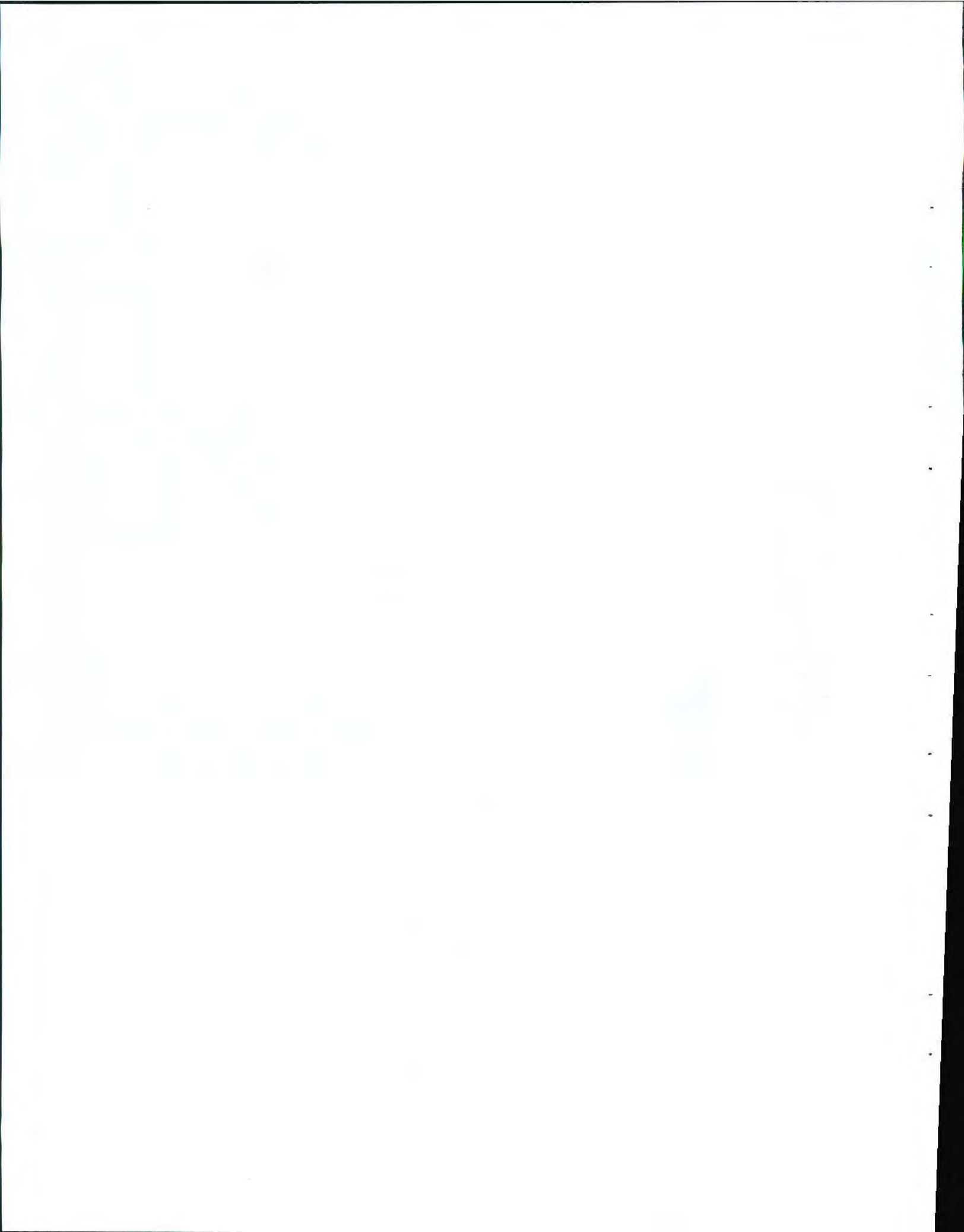


Figura 7.33. Imágenes fotográficas de pruebas antibacteriales con la bacteria *Pseudomonas Aeruginosa* de las muestras de sustratos textiles tratados, sin tratar (blancos) y muestra comercial.



la distribución de tamaños de partícula determinado en un muestreo de 250 partículas, donde se puede ver que la mayoría se encuentra entre 61-91 nm las cuales representan el 51.6% y son consideradas nanopartículas, al encontrarse por debajo de los 100 nm, mientras que un 18.4% excede éste valor solo por 6 unidades.

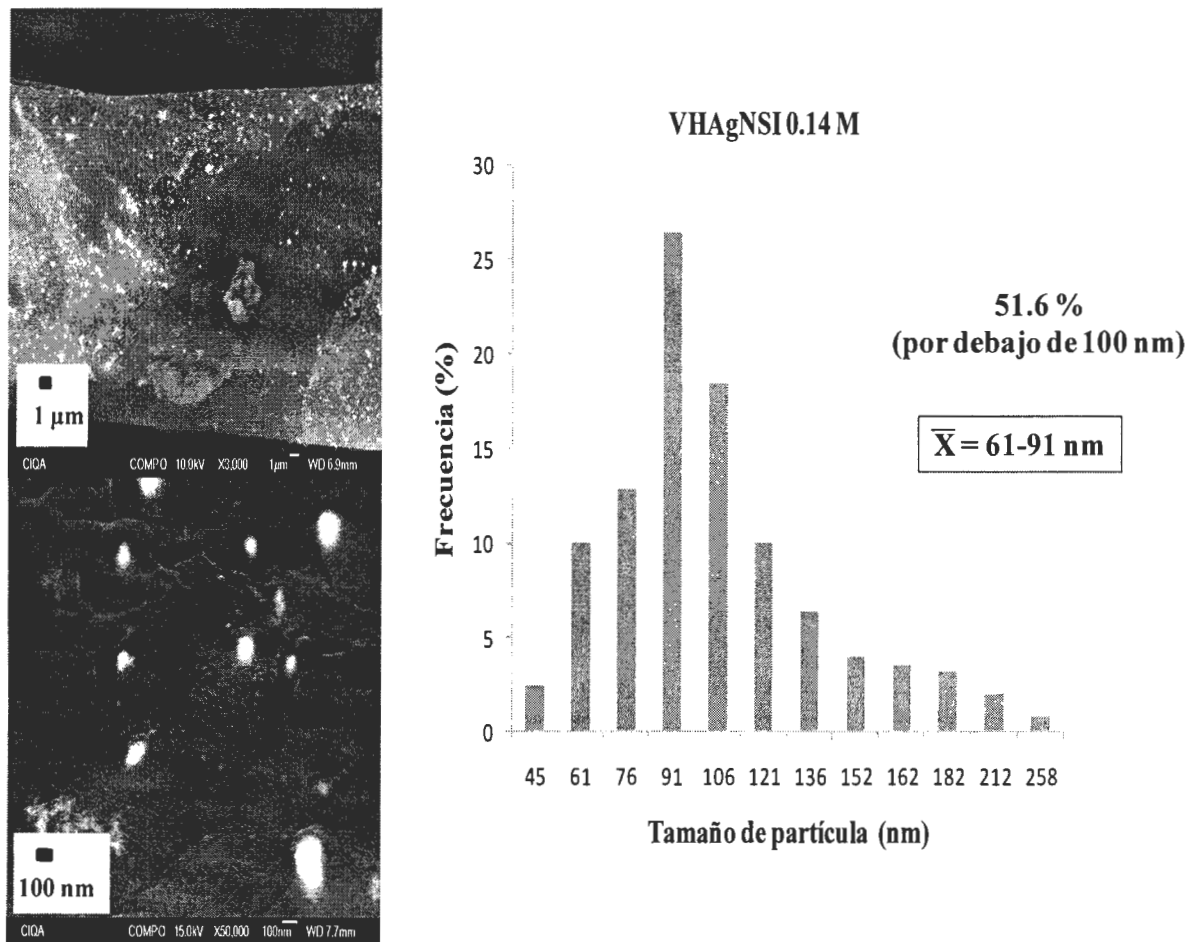


Figura 7.24. Micrografías de SEM de la muestra VHAgnSI 0.14 M, e histograma de distribución de tamaños de partícula.

Al aumentar la concentración de sal precursora de plata y, por ende, de agente reductor se pudo observar para el caso de la concentración 0.2M (Figura 7.25) la presencia del hidrogel con una inadecuada dispersión de plata. Se observaron (a), a 3500x, grandes aglomerados de varias micras, lo cual se corroboró a mayor magnificación (b). Además del aumento en tamaño observado previamente este resultado muestra la tendencia de las partículas a formar

aglomerados. En este sentido **Lee H. y colaboradores** ^[70] reportan que el tamaño de las nanopartículas de plata aumenta con un incremento en la concentración de los reactivos, y las partículas tienden a agregarse gradualmente.

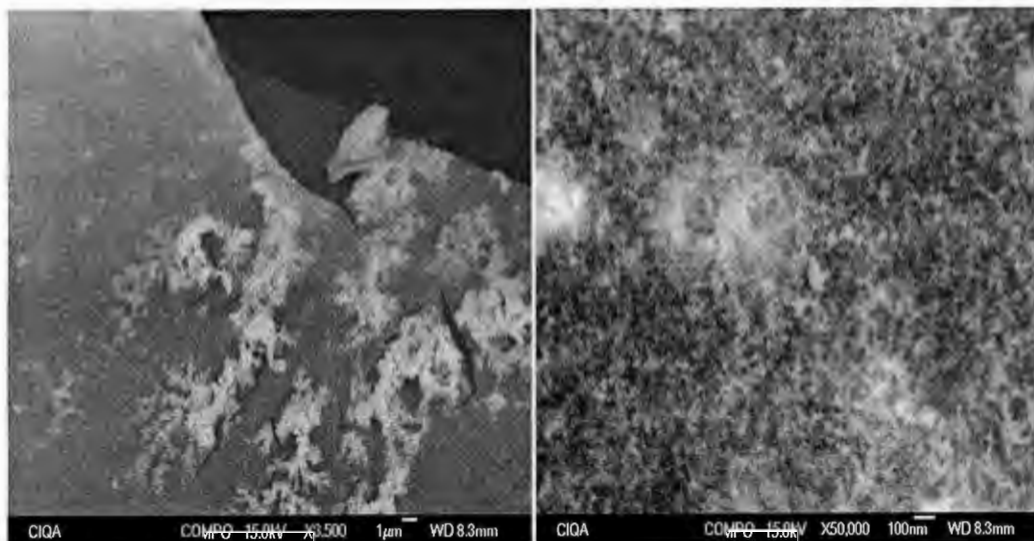


Figura 7.25. Micrografías de SEM de la muestra VHAgNSI 0.2 M.

En la Figura 7.26 se observan las micrografías correspondientes a la muestra preparada con sal precursora de plata 1M y borohidruro de sodio 2M, observándose en la micrografía a 1500x la distribución de plata sobre las fibras textiles con hidrogel y la presencia de aglomerados de tamaños mayores a 100 nm. A mayor magnificación es posible apreciar la presencia de nanopartículas dispersas alrededor de estos aglomerados. A diferencia de la muestra VHAgNSI 0.2 M además de los aglomerados, en esta muestra, se pudo apreciar la presencia de nanopartículas dispersas.

Ha sido reportado en la literatura por **Sally Solomon y colaboradores** ^[66] que un exceso de borohidruro de sodio proporciona estabilidad a las nanopartículas de plata formadas, debido a que alrededor de las nanopartículas las fuerzas repulsivas de BH_4 actúan manteniendo separadas las partículas (Figura 7.27). Sin embargo, ahí mismo se señala que después de la reacción, demasiado borohidruro de sodio aumenta la fuerza iónica y se producirá la agregación global. Esto permite explicar la presencia de aglomerados y nanopartículas dispersas en esta muestra que contiene alta concentración de sal precursora de plata.

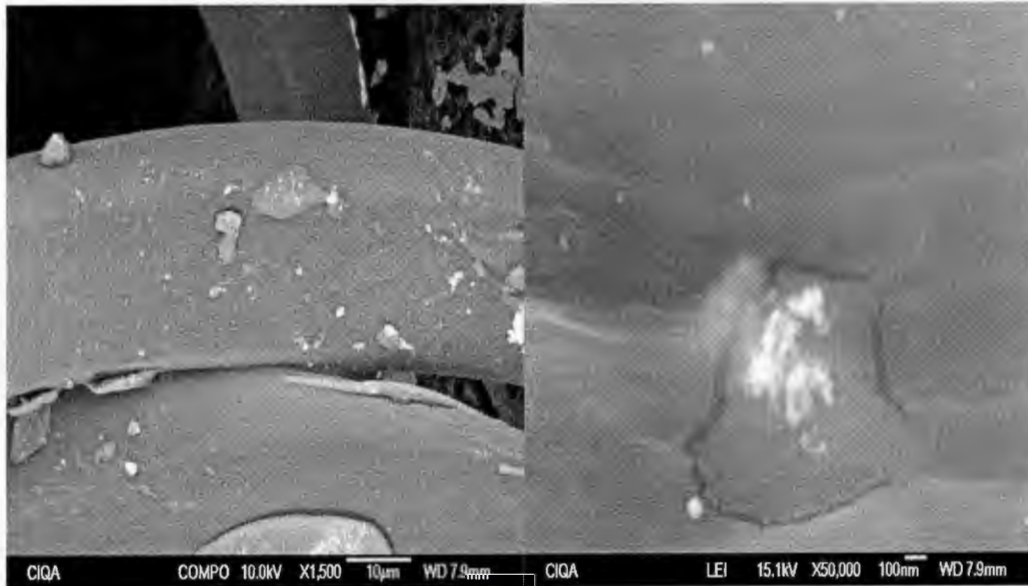


Figura 7.26. Micrografías de SEM de la muestra VHAgnSI 1 M.

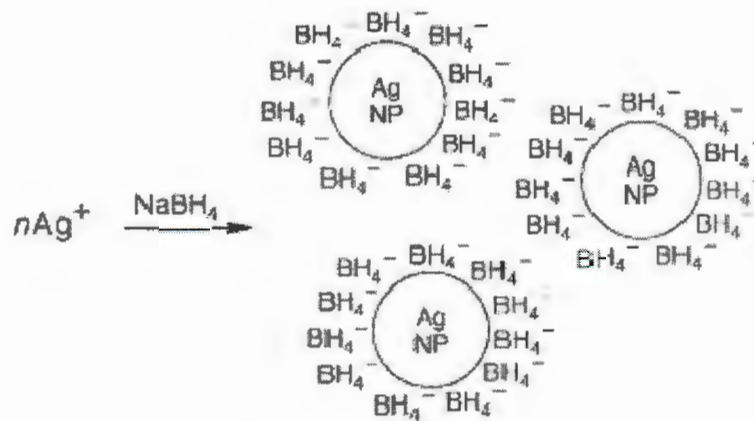


Figura 7.27. Representación esquemática de la estabilización de nanopartículas de plata por un exceso de borohidruro de sodio.

El análisis de SEM a una muestra comercial “venta adhesiva”, tomada como referencia de una aplicación similar a la que se quiere dar al material obtenido, permitió comprobar la presencia y distribución de la plata en las fibras que constituyen este material.

En la Figura 7.28 se presentan dos micrografías a 250 y 1500x donde se observa la presencia de aglomerados micrométricos presentes sobre las fibras del material. Se realizaron

mediciones en las micrografías para tratar de determinar la presencia de partículas de tamaño nanométrico y calcular un promedio de los tamaños de partícula presentes; con las micrografías disponibles las mediciones mostraron partículas de tamaños micrométricos en el intervalo de 2 a 7 μm .

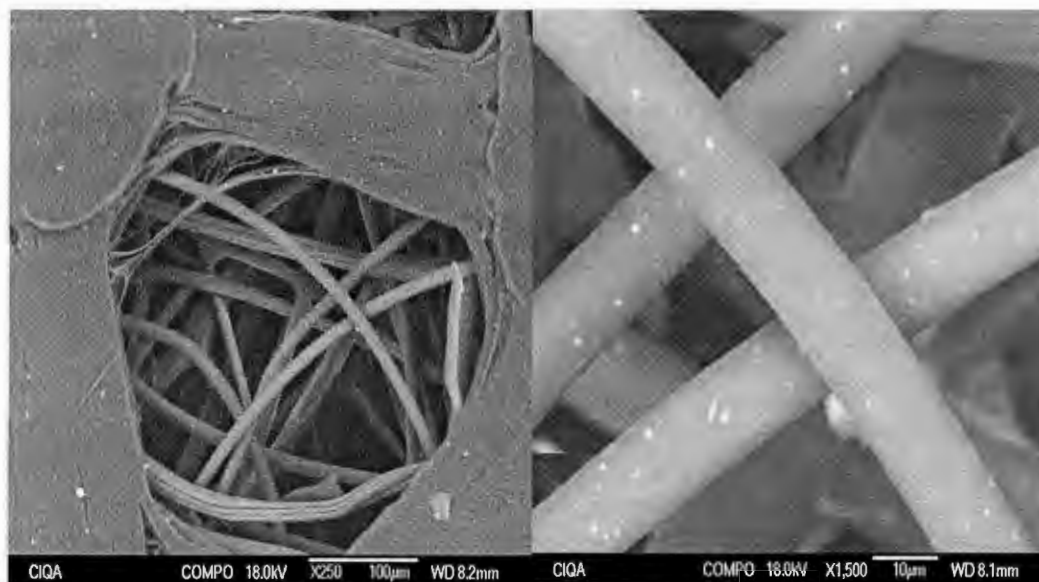


Figura 7.28. Micrografías de SEM de la muestra comercial “venta adhesiva”.

Espectroscopia de energía dispersiva de rayos x (SEM-EDAX)

Con ayuda del microscopio electrónico de barrido utilizando la técnica SEM-EDAX fue llevado a cabo un mapeo elemental para diferentes muestras para corroborar la presencia y distribución de plata en éstas. La Figura 7.29 proporciona la composición de la muestra VHA_gNSI 0.06 M, donde se observa la presencia de C y O que son los principales constituyentes del sustrato textil. A diferente intensidad se pueden observar claramente bandas características que corroboran la presencia de la plata en la muestra.

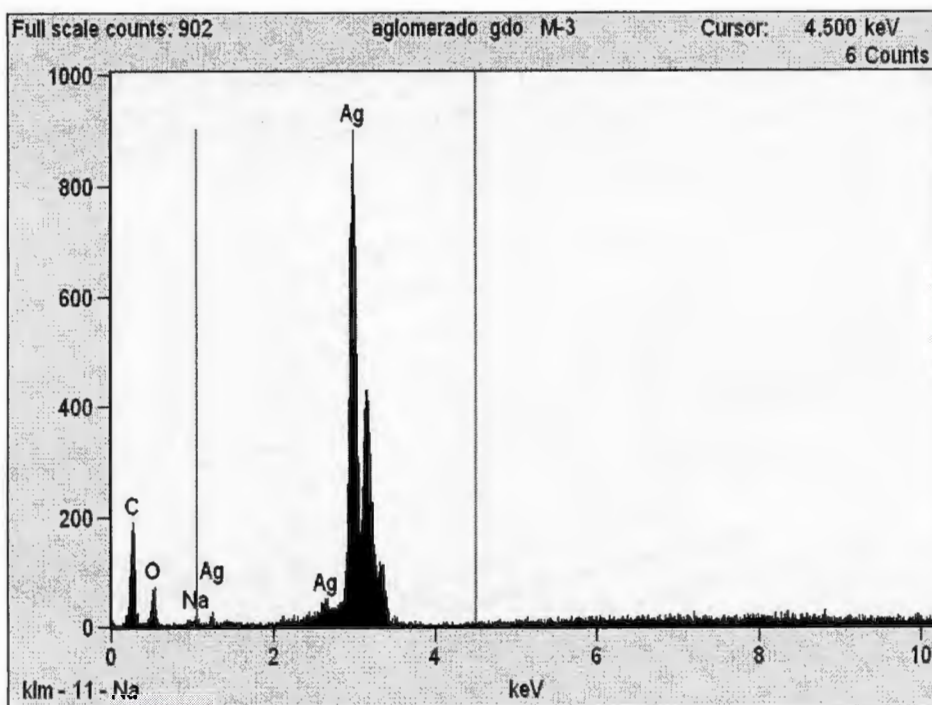


Figura 7.29. Análisis elemental de la muestra VHAgNSI 0.06 M.

En la Figura 7.30 se presentan las micrografías y el mapeo elemental por SEM/EDAX para cada una de las muestras VHAgNSI y AHAgNSI, a una concentración de sal precursora de plata de 0.06 M, donde se observa la presencia, distribución y dispersión de plata. El mapeo elemental de éstas se presenta en forma de puntos brillantes color rosa sobre la micrografía, se puede observar la presencia y distribución de una proporción similar de plata en cada una de las muestras.

Para la muestra VHAgNSI 0.1 M se observa la micrografía tomada por SEM y el mapeo elemental realizado mediante SEM/EDAX (Figura 7.31), donde es posible apreciar el hidrogel y diminutas partículas sobre éste; el mapeo permitió detectar la plata en gran parte de la muestra resaltada en forma de puntos brillantes color rosa sobre la micrografía. En este caso se observan zonas con mayor contenido de hidrogel y se aprecia una mayor concentración de plata en el hidrogel de dichas zonas. Debido a que el hidrogel contiene los iones Ag^+ para ser reducidos con NaBH_4 y es en éste donde se forman las nanopartículas de plata^[3], por lo tanto una mayor cantidad de hidrogel presente en ciertas zonas del sustrato dará lugar a mayor contenido de plata.

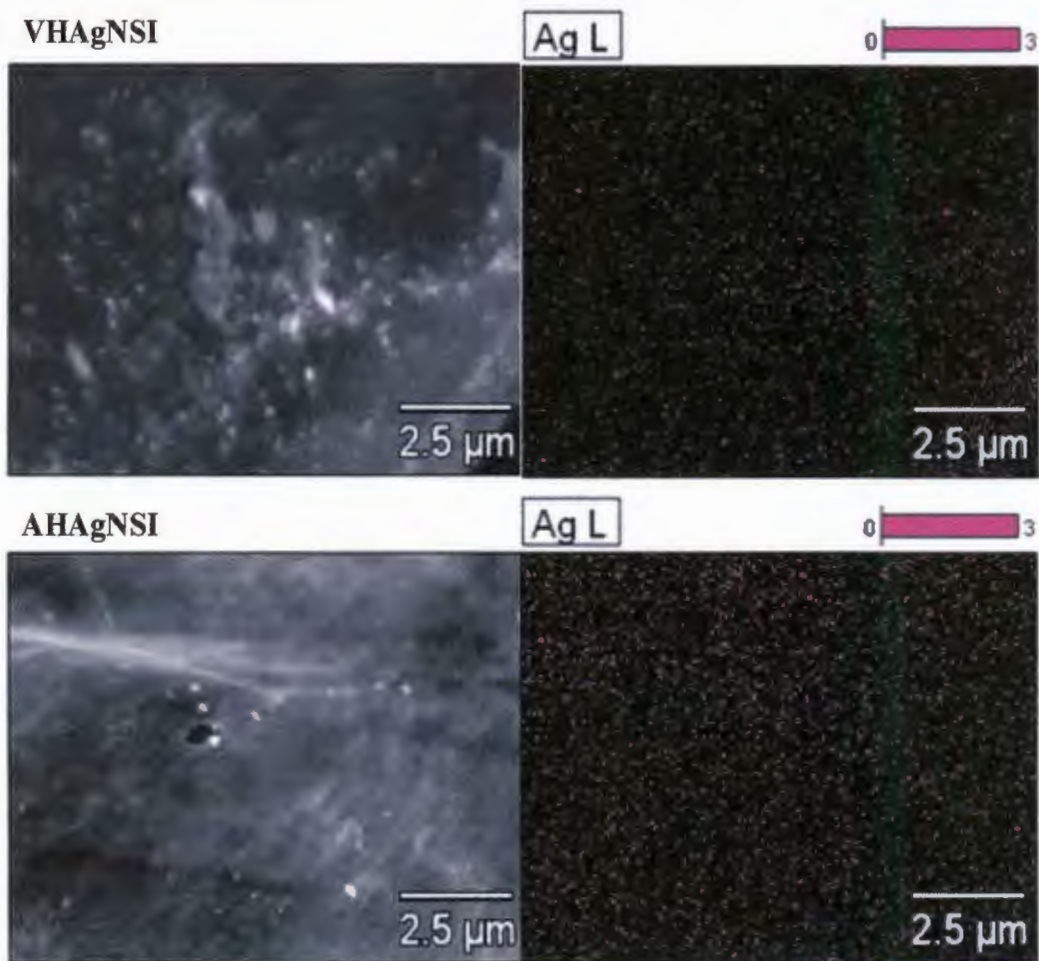


Figura 7.30. Mapeo elemental mediante SEM/EDAX para las muestras V y A-HAgNSI 0.06 M.

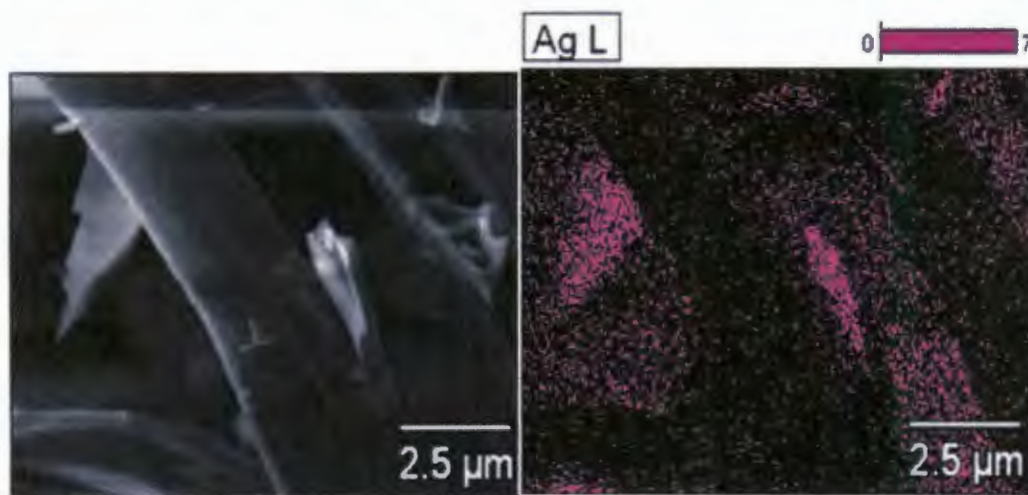


Figura 7.31. Mapeo elemental mediante SEM/EDAX para la muestra VHAgsNSI 0.1 M.

7.5.2.4 Difracción de rayos x de ángulo amplio (WAXS)

La detección de los planos característicos de la plata mediante difracción de rayos x permitió verificar la presencia de plata en las muestras obtenidas. La Figura 7.32 (a) presenta el espectro de difracción de rayos x de muestras representativas VHAgNSI con el contenido de plata especificado, se pueden observar bandas en el intervalo desde 16 a 27 ° las que han sido atribuidas, en otros estudios, al sustrato de algodón y poliéster ^[2]; por otra parte, también se observó la presencia de la banda localizada en 38.1 ° el cual es atribuido al plano característico (111) de la plata en su estructura cristalina cúbica centrada en las caras, regularmente éste aparece seguido de los planos (200), (220) y (311) localizados en 44.26, 64.5 y 77.42 ° que también corresponden a dicha estructura cristalina de la plata ^[80, 82], los cuales se pueden observar en la Figura 7.32 (b).

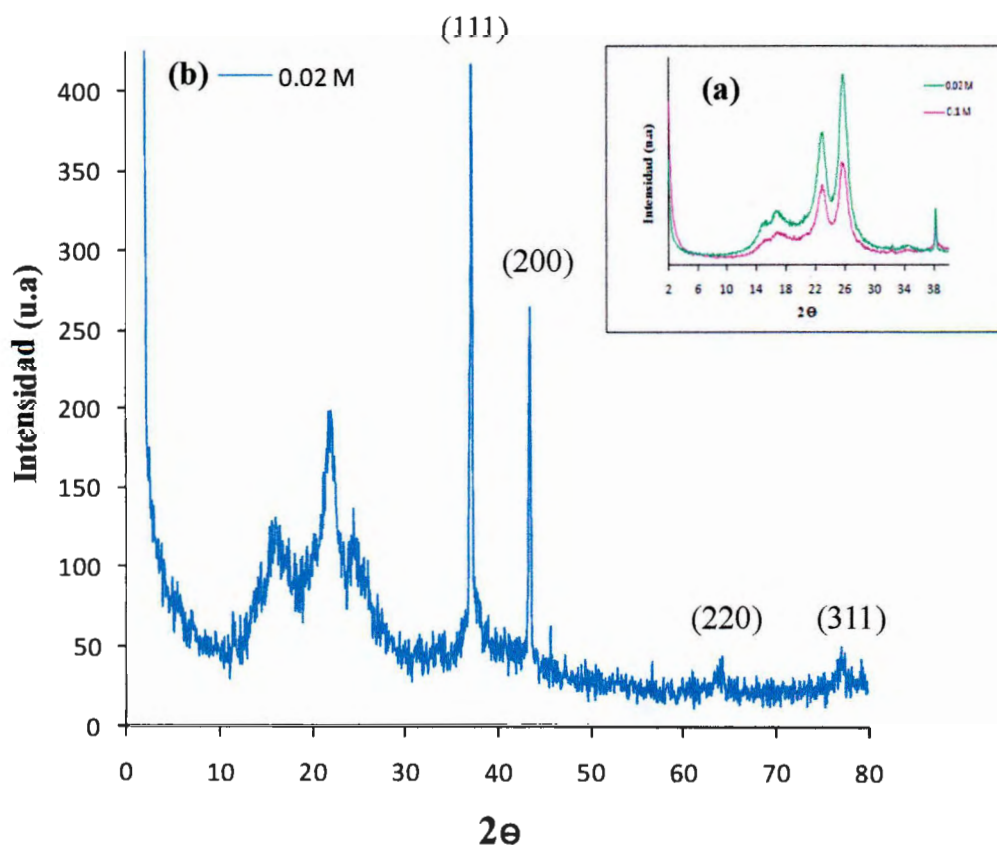


Figura 7.32. Difracción de rayos x de las muestras VHAgNSI 0.02 y 0.1 M.

7.5.2.5 Absorción atómica (AA)

Para cuantificar la plata presente se realizó el análisis por espectroscopia de absorción atómica a las muestras con hidrogel y nanopartículas de plata.

En la Tabla 7.1 se muestran la absorbancia y los contenidos de plata presentes en cada muestra, donde se puede observar que en las muestras preparadas utilizando solución coloidal (VHNS), los contenidos de plata presentes son muy bajos, mientras que en las muestras preparadas “in situ” (VHNSI, AHAgNSI y VHAgNSI) a mayor concentración de sal precursora de plata mayor es el contenido de plata presente. Por otra parte, comparando el sustrato textil A con el V, a la misma concentración de AgNO_3 , las cantidades de plata presentes tienden a ser menores en A, lo cual pudiera atribuirse a que las fibras de este sustrato, como se mencionó anteriormente, se encuentran mas compactadas entre si lo que puede restringir la impregnación del hidrogel en ellas. Por otra parte, considerando que el hidrogel contiene los iones Ag^+ para ser reducidos con NaBH_4 y es en éste donde se forman las nanopartículas de plata, una menor cantidad de hidrogel presente en el sustrato dará lugar a menor contenido de plata. En la muestra comercial “venta adhesiva” se encontró una concentración muy baja de plata 28.9 ppm equivalente a un 0.003%.

Tabla 7.1. Cuantificación de plata por absorción atómica.

Muestra	Absorbancia (nm)	Conc. en solución en ppm	Conc. en muestra en ppm ($\mu\text{g/g}$)	Conc. en muestra en %
solución coloidal	0.344	15.200	-	-
VHNS L	0.038	0.621	310.23	0.031
VHNS SL	0.055	0.915	457.54	0.046
VHNS20	0.008	0.095	93.69	0.009
VHsNSI 0.1 M	0.261	5.196	5164.58	0.516
AHAgNSI 0.01 M	0.035	0.639	632.79	0.063
VHAgNSI 0.01 M	0.037	0.679	666.11	0.067
AHAgNSI 0.02 M	0.085	1.647	1611.72	0.161
VHAgNSI 0.02 M	0.126	2.474	2459.04	0.246
AHAgNSI 0.06 M	0.018	0.269	5271.48	0.527
VHAgNSI 0.06 M	0.022	0.343	6728.89	0.673
AHAgNSI 0.1 M	0.09	1.598	31452.48	3.145
VHAgNSI 0.1 M	0.059	1.026	20313.47	2.031
AHAgNSI 0.14 M	0.138	2.483	49568.76	4.957
VHAgNSI 0.14 M	0.203	3.683	73213.85	7.321
AHAgNSI 0.2 M	0.154	2.779	54589.35	5.459
VHAgNSI 0.2 M	0.291	5.306	103638.15	10.354
VHAgNSI 1 M	0.152	3.575	70655.71	7.066
Muestra comercial	0.005	0.030	28.94	0.003

VHNS = venda con hidrogel con nanopartículas en solución “L” lavada y “SL” sin lavar y 20 = 20 mL de nanopartículas en solución.

VHsNSI = Venda con hidrogel secado previo y nanopartículas sintetizadas “in situ”

V ó AHAgNSI = Venda o tela de algodón con hidrogel y nanopartículas sintetizadas “in situ” a partir de AgNO_3 en polvo incorporado al hidrogel.

7.6 Pruebas antimicrobianas

Se realizaron pruebas antimicrobianas a las muestras obtenidas por los métodos “in situ” a partir del AgNO_3 incorporado al hidrogel en sustratos textiles A y V, en base a la norma ASTM E 2149-01 ^[78] por el método de difusión de agar (Apéndice A) empleando las bacterias *Pseudomona Aeruginosa* y *Staphylococcus Aureus*.

7.6.1 Determinaciones cualitativas

Para determinar cualitativamente las muestras que presentaban algún efecto de inhibición se tomaron fotografías a todas las muestras tratadas con la bacteria *Pseudomona Aeruginosa* y con *Staphylococcus Aureus* para poder observar la presencia o ausencia del halo de inhibición alrededor de la muestra.

En la Tabla 7.2 se presentan las nomenclaturas y números asignados a cada muestra evaluada.

Tabla 7.2 Muestras utilizadas en pruebas antimicrobianas.

Muestra	Clave de identificación
1	A (Algodón)
2	V (Venda)
3	AHAgNSI 0.02 M
4	AHAgNSI 0.14 M
5	VHAgNSI 0.01 M
6	VHAgNSI 0.02 M
7	VHAgNSI 0.06 M
8	VHAgNSI 0.1 M
9	VHAgNSI 0.14 M
10	VHAgNSI 0.2 M
11	VHAgNSI 1 M
MC	Muestra comercial “venda adhesiva”

V ó AHAgNSI = Venda o tela de algodón con hidrogel y nanopartículas sintetizadas “in situ” a partir de AgNO_3 en polvo incorporado al hidrogel.

7.6.1.1 Pseudomona Aeruginosa

La Figura 7.33 presenta las imágenes fotográficas de las muestras enlistadas anteriormente evaluadas con la bacteria *Pseudomona Aeruginosa* donde se observan para las muestras 4, y 7-11, halos formados alrededor de éstas, indicando la inhibición de crecimiento de la bacteria *Pseudomona Aeruginosa* en dichas muestras; también fue posible observar un halo para la muestra comercial “venda adhesiva” evaluada como referencia de una de las aplicaciones a las que pueden ser enfocados los materiales obtenidos. Se puede verificar que los blancos de ambos sustratos textiles A y V no tienen ningún carácter de inhibición sobre la bacteria empleada al observarse un crecimiento total de ésta por debajo y alrededor de los sustratos sin tratar. Por otra parte, en las muestras de menor concentración 3, 5 y 6 no se aprecia visualmente un halo alrededor de ellas.

7.6.1.2 Staphylococcus Aureus

Para las muestras probadas con la bacteria *Staphylococcus Aureus* se presentan las imágenes fotográficas en la Figura 7.34, donde es posible observar que la presencia de halos visibles o zonas claras formadas alrededor de las muestras, indican la inhibición que presentan las muestras 3, 4 y 6-11 al crecimiento de la bacteria *Staphylococcus Aureus*; mientras que, para las muestras 1 y 2 correspondientes a los blancos de los sustratos textiles A y V, no existe un control de crecimiento de la bacteria al no presentar halo de inhibición, observándose el crecimiento de la misma abajo y alrededor de las muestras lo cual comprueba que carecen de cualquier actividad antimicrobiana, tanto sobre la bacteria *Staphylococcus Aureus* como sobre la *Pseudomona Aeruginosa*. Para la muestra comercial “venda adhesiva” no se presenta un halo de inhibición significativo observándose, alrededor de ella, un gran crecimiento de la bacteria lo que indica que no presenta una actividad antimicrobiana significativa sobre *Staphylococcus Aureus*.

Cabe señalar que la muestra 11 probada con *Staphylococcus Aureus* y las muestras 8 y 10 probadas con *Pseudomona Aeruginosa* presentaron un halo de color rojo lo cual ha sido atribuido a la actividad catalítica que pudieran presentar dichas muestras debido a la plata o sales excesivas presentes que, en contacto con las células de las bacterias, puede causar la tinción de las zonas a su alrededor^[83].

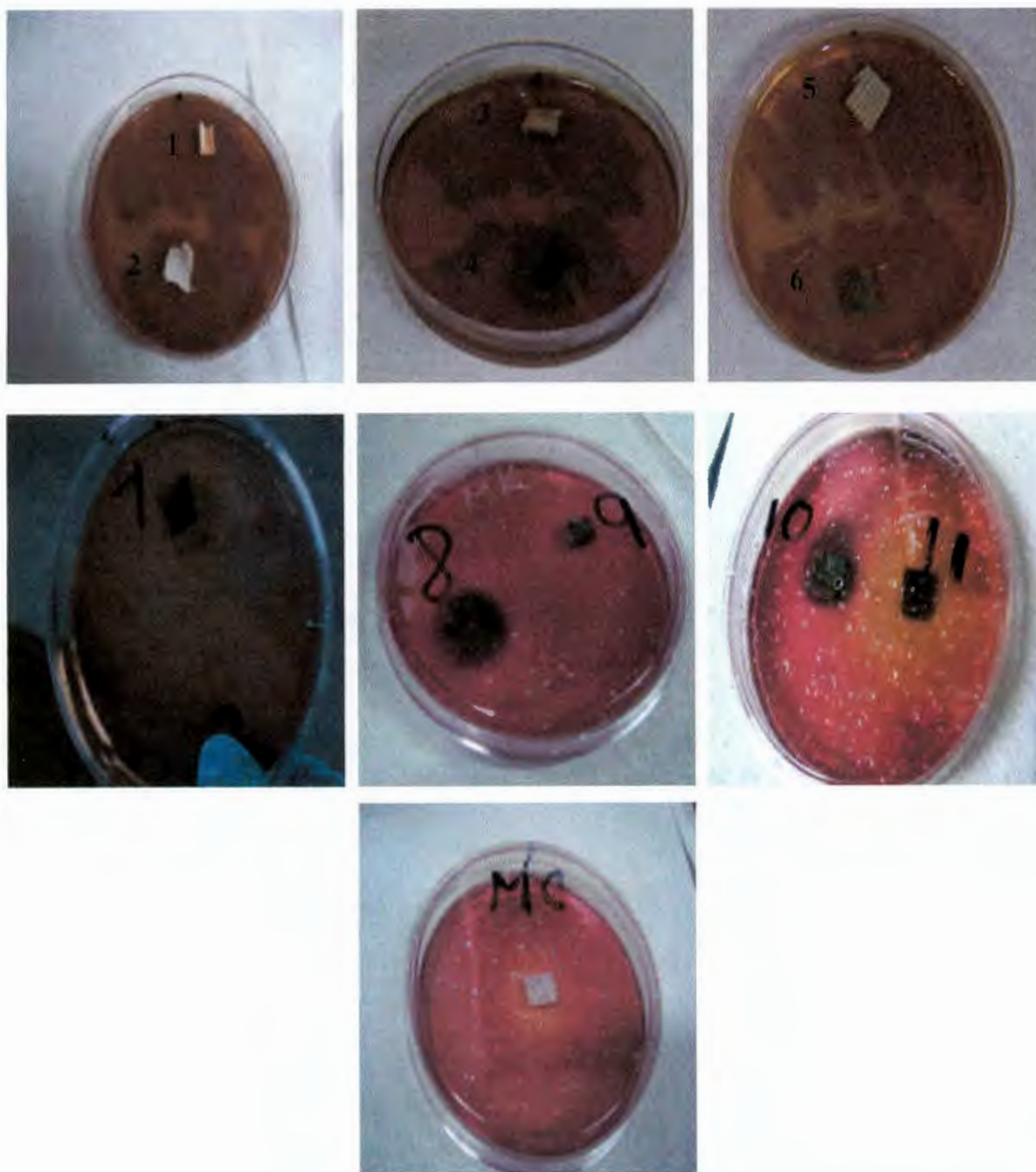


Figura 7.33. Imágenes fotográficas de pruebas antibacteriales con la bacteria *Pseudomona Aeruginosa* de las muestras de sustratos textiles tratados, sin tratar (blancos) y muestra comercial.

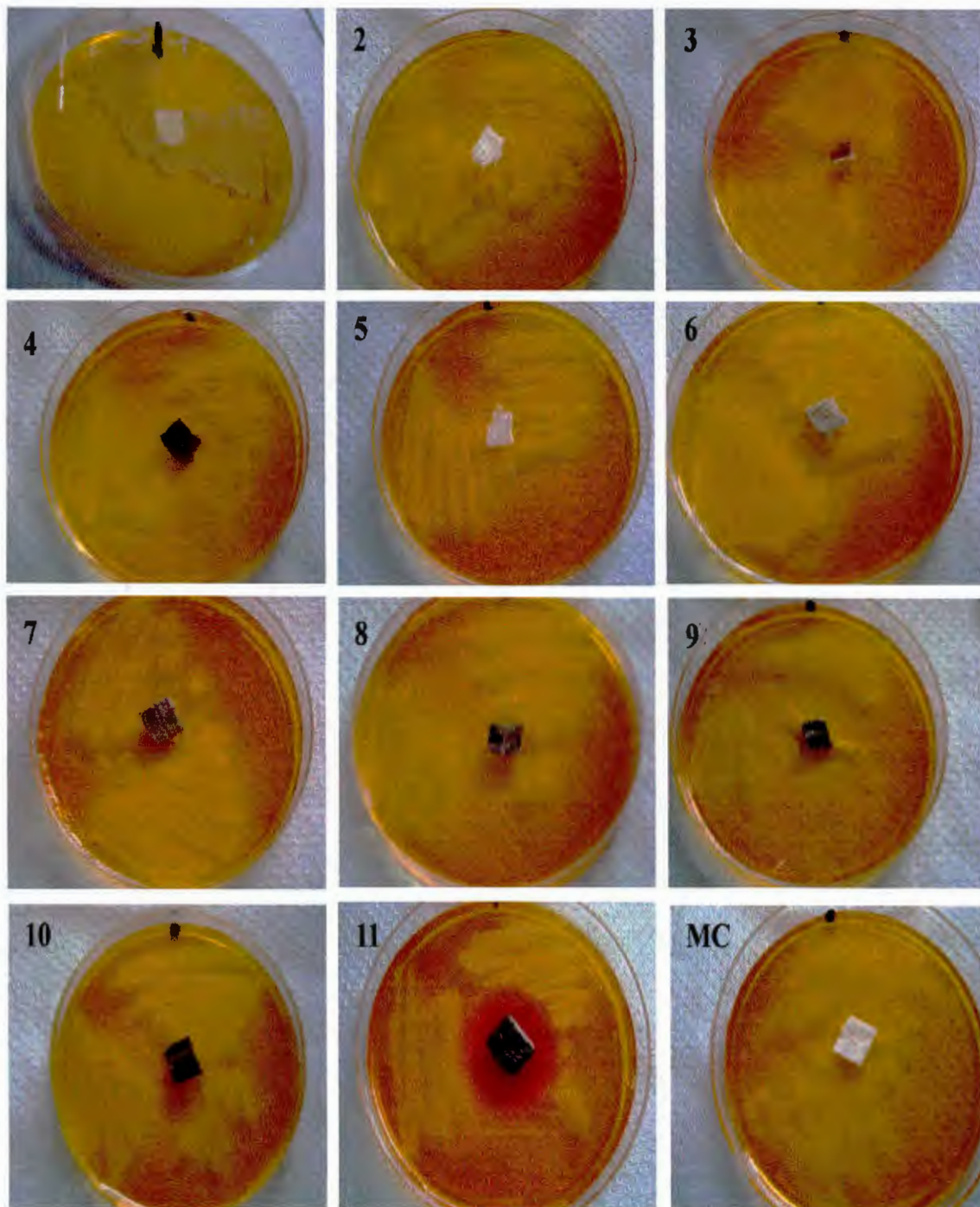


Figura 7.34. Imágenes fotográficas de pruebas antibacteriales con la bacteria *Staphylococcus Aureus* de las muestras de sustratos textiles tratados, sin tratar (blancos) y muestra comercial.

7.6.2 Determinaciones cuantitativas

Después del procedimiento llevado a cabo la técnica cuantitativa consistió en el conteo de las colonias y las unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL), determinándose el porcentaje de inhibición (% I) de unidades formadoras de colonias mediante la ecuación 1 (Apéndice A).

7.6.2.1 Porcentajes de inhibición para Pseudomona Aeruginosa

Los porcentajes de inhibición para cada muestra probada con la bacteria *Pseudomona Aeruginosa* se muestran en la Tabla 7.3, donde podemos comprobar la nula inhibición para los blancos de los sustratos textiles A y V, así como porcentajes de inhibición superiores a 90 % en el caso de las muestras obtenidas AHAgNSI 0.14 M y VHAgNSI de concentraciones 0.06, 0.1, 0.14, 0.2 y 1 M. Mientras que, para el caso de la muestra comercial “venta adhesiva” se obtuvo un porcentaje de inhibición del 53.28 %. Por lo cual podemos comprobar el efecto de las partículas de plata contenidas en las muestras obtenidas que, como ya se demostró anteriormente, en su mayoría son de tamaño nanométrico y se encuentran en forma dispersa y bien distribuidas en el hidrogel contenido sobre el sustrato textil; éstas son las responsables de la inhibición que presenta cada material. El resto de las muestras tratadas (0.01 y 0.02 M) presentaron porcentajes de inhibición menores, en un intervalo de 5 a 25 %.

Tabla 7.3. Porcentajes de inhibición para muestras probadas con la bacteria *Pseudomona Aeruginosa*.

Muestra	UFC/mL (unidades formadoras de colonias por mililitro)	% de inhibición
A (Algodón)	2.63×10^7	0.00
V (Venda)	2.59×10^7	0.00
AHAgNSI 0.02 M	2.48×10^7	5.70
AHAgNSI 0.14 M	1.56×10^6	94.07
VHAgNSI 0.01 M	1.94×10^7	25.10
VHAgNSI 0.02 M	2.08×10^7	19.69
VHAgNSI 0.06 M	1.39×10^6	94.63
VHAgNSI 0.1 M	1.46×10^6	94.36
VHAgNSI 0.14 M	2.01×10^6	92.24
VHAgNSI 0.2 M	1.29×10^6	95.02
VHAgNSI 1 M	1.15×10^6	95.56
Muestra comercial "venda adhesiva"	1.21×10^7	53.28

V ó AHAgNSI = Venda o tela de algodón con hidrogel y nanopartículas sintetizadas "in situ" a partir de AgNO_3 en polvo incorporado al hidrogel.

7.6.2.2 Porcentajes de inhibición para *Staphylococcus Aureus*

En la Tabla 7.4 se muestran los porcentajes de inhibición para cada muestra evaluada con la bacteria *Staphylococcus Aureus* donde nuevamente se obtiene la nula actividad bactericida para los sustratos textiles A y V empleados como blancos, y porcentajes de inhibición superiores a 90 % en las muestras AHAgNSI 0.14 M y VHAgNSI 0.1, 0.14, 0.2 y 1 M. En comparación con la bacteria *Pseudomona Aeruginosa*, se observó una diferencia en la actividad antimicrobiana para la muestra VHAgNSI 0.06 M la cual mostró un porcentaje de inhibición de 41.26 % el cual es menor que el obtenido para la bacteria *Pseudomona Aeruginosa*, además esta disminución se presentó también para la muestra comercial "venda adhesiva" donde se obtuvo un porcentaje de inhibición bajo de 9.87 %.

Tabla 7.4. Porcentajes de inhibición para muestras probadas con la bacteria *Staphylococcus Aureus*.

Muestra	UFC/mL	% de inhibición
A (Algodón)	2.19×10^7	0.00
V (Venda)	2.23×10^7	0.00
AHAgNSI 0.02 M	2.01×10^7	8.22
AHAgNSI 0.14 M	1.63×10^6	92.56
VHAgNSI 0.01 M	1.93×10^7	13.45
VHAgNSI 0.02 M	1.86×10^7	16.59
VHAgNSI 0.06 M	1.31×10^7	41.26
VHAgNSI 0.1 M	1.43×10^6	93.59
VHAgNSI 0.14 M	1.39×10^6	93.77
VHAgNSI 0.2 M	1.24×10^6	94.44
VHAgNSI 1 M	1.19×10^6	94.66
Muestra comercial "venda adhesiva"	2.01×10^7	9.87

V ó AHAgNSI = Venda o tela de algodón con hidrogel y nanopartículas sintetizadas "in situ" a partir de AgNO_3 en polvo incorporado al hidrogel.

En general, los resultados obtenidos en las pruebas antimicrobianas tanto cualitativas como cuantitativas nos muestran un buen efecto antibacteriano en la mayoría de las muestras obtenidas con las bacterias *Pseudomona Aeruginosa* y *Staphylococcus Aureus*, observando amplios halos sin crecimiento bacteriano alrededor de las muestras y porcentajes de inhibición mayores a 90 %, así como la nula actividad antimicrobiana de ambos sustratos textiles A y V sin tratamiento.

Mientras que, para la muestra comercial, solo se observó actividad antimicrobiana media para la bacteria *Pseudomona Aeruginosa*, se puede atribuir este efecto al tipo de membrana de las bacterias probadas, de las cuales es más fácil de atacar la Gram-negativa debido a que esta formada por una capa de peptidoglucano mucho más delgada que la Gram-positiva^[51], como

es el caso de la *Pseudomona Aeruginosa*. Se demostró por medio de SEM que los tamaños de partícula de plata presentes en ella son micrométricos por lo cual disminuye su actividad antimicrobiana, además los resultados de absorción atómica mostraron un bajo contenido de plata presente lo cual, en un producto de este tipo comercialmente disponible, parece ser suficiente para impartir una acción antimicrobiana. **Boris Mahltig y colaboradores** ^[53] mencionan efectos antimicrobiales con concentraciones desde 0.006 a 0.5 ppm. Por otra parte, las muestras obtenidas en este trabajo presentan tamaños de partícula nanométricos por lo que la actividad antimicrobiana es más alta al tener disponible mayor área de contacto del agente biocida con las bacterias ^[45] y al contribuir el hidrogel a una liberación mas rápida de los iones debido a la presencia de humedad al contacto con las bacterias ^[4, 11].



8. CONCLUSIONES

Se obtuvo un hidrogel ácido acrílico-co-ácido itacónico vía radicales libres con las características requeridas para impregnación en un sustrato textil utilizando: concentración 80/20 % en peso AA/AI, y 0.4 % en peso de iniciador y agente entrecruzante.

Las nanopartículas de plata comerciales, no presentaron una buena dispersión y distribución ni en el medio de reacción previo a la polimerización ni en el hidrogel.

Se obtuvo una adecuada dispersión de las nanopartículas de plata en el hidrogel impregnado sobre los diversos sustratos textiles “in situ” y su distribución de tamaños de partícula mostrando tamaños por debajo de los 100 nm al utilizar concentraciones de AgNO_3 menores a 0.2 M.

Se corroboró la presencia de plata preparada “in situ”, en los diferentes sustratos textiles, mediante diferentes técnicas.

Se demostró que los sustratos textiles Algodón (A) y venda (V) fueron más adecuados para lograr una buena impregnación del hidrogel con nanopartículas de plata con respecto al sustrato textil gasa (G), lo cual se atribuyó a la diferencia en el tejido de las fibras en cada sustrato.

La preparación “in situ” de partículas de plata mostró ser el método más adecuado tanto para la obtención de tamaños nanométricos, buena distribución y dispersión; así como, para lograr una incorporación efectiva de éstas en el sustrato textil con hidrogel.

Se obtuvieron porcentajes de inhibición para la bacteria *P. Aeruginosa* mayores al 90 % en muestras preparadas “in situ” con concentraciones mayores al 0.06 M de AgNO_3 . Mientras que para la *S. Aureus* los porcentajes de inhibición fueron mayores a 90 % cuando se

utilizaron concentraciones mayores al 0.1 M de AgNO₃. Por otro lado, la muestra comercial “venda adhesiva” mostró una inhibición de 53 % para P. Aeruginosa y 9 % para S. Aureus.

En general, se puede concluir que fue posible obtener un sustrato textil con un recubrimiento, a base de un hidrogel con nanopartículas de plata, con buenas propiedades antimicrobianas; el cual podría emplearse en una gran variedad de productos que requieran de cierto efecto antimicrobiano como en la elaboración de: vendas adhesivas para heridas, ropa de quirófano desechable como guantes, batas, etc.

TRABAJO FUTURO

- Probar otros sustratos con diferente tejido en sus fibras.
- Evaluar otro tipo de bacterias y hongos nocivos para el ser humano.
- Elucidar el mecanismo de acción antibacteriana que se lleva a cabo con cada una de las bacterias (S. Aureus y P. Aeruginosa).
- Analizar las opciones de confinamiento o recuperación de los sustratos textiles con nanopartículas de plata.
- Elucidar la presencia de la banda de IR apreciada en 1520 cm^{-1} .

9. BIBLIOGRAFÍA

- 1.- Wong, Y.W.H., Yuen, C.W.M., et al, *H.L.I. AUTEX Res. J.*, 6(1), 1(2006).
- 2.- Lee, H. Yeo, S. y Jeong, S., *J. Mat. Sci.*, 38, 2199–2204(2003).
- 3.- Gupta, P., Bajpai, M. y Bajpai, K., *J. Cotton Sci.*, 12, 280-286(2008).
- 4.- Katime, I. Katime, O. y Katime, D., **Los materiales inteligentes de este milenio: Los hidrogeles macromoleculares. Síntesis, propiedades y aplicaciones**, Editorial de la Universidad del País Vasco., (2004).
- 5.- Patente Española ES 2 177 563 T3(1994).
- 6.- Dong, Ma. Xie, Xi. Zhang, Li-Ming., *J. Pol. Sci. Part B: Pol. Phys.*, 47, 740–749(2009).
- 7.- Gupta, P., Bajpai, M. and Bajpai, S. K., *J. Macromol. Sci. w., Part A: Pure and Applied Chemistry.* 45, 179–185(2008).
- 8.- Osada, Y. Khokhlov, A. R., **Polymers and Gels and Networks**, New York: Marcel Dekker. (2002).
- 9.- **Materiales Inteligentes: Hidrogeles Biomoleculares. Anales de la Real Sociedad Española de Química. Segunda edición.**, 35-50(2005).
- 10.- Osada, Y. y Kajiwara, K., **Gels handbook. The Fundamentals.**, Vol. 1(2001)
- 11.- Osada, By. Y., y Gong, Jian-Ping., 10(11), 827-837(1998).
- 12.- González-Sáiz. J. M., Pizarro-Millán. C, y Herguido-Huerta. J., *Zubía.*, 11, 55-72(1993).
- 13.- Katime, I. y Rodríguez, E., *Recent Res.Dev. Pol.Sci.*, 5, 139-152(2001).
- 14.- Rodríguez, E., Katime, I., *Macromol. Mater. Eng.*, 288(8), 607-612(2003).
- 15.- Jeria-Orell, M., Pizarro, O. G., Marambio, M., Huerta, M., Geckeler, K. E., *J. Appl. Pol. Sci.*, 100, 1735–1741(2006).
- 16.- Martínez-Ruvalcaba, A., Sánchez-Díaz, J. C., Becerra, F., Cruz-Barba, L. E., y González-Álvarez, A., *Express Polym.Lett.*, 3(1), 25–32(2009).
- 17.- Wen-Fu, L., Yu-Chen, H., *J. Appl. Pol. Sci.*, 106, 1992–1999(2007).

- 18.- Jovanović, Željka. S., Panić, Vladimir. V., Mišković-Stanković, Vesna. B., Krklješ, Aleksandra. N., Kačarević-Popović, Zorica. M., *ECS. Meeting Abstracts.*, 902(13), 1614(2009).
- 19.- Kačarević-Popović, Z., Tomic, S., Krklješ, A., Micic, M., Suljovrujić, E., *Radiat. Phys. Chem.*, 76, 1333–1336 (2007).
- 20.- Tomic, S. L., Dimitrijević, S. I., Marinković, A. D., Najman. S, M. Filipović, J. M., *Polym. Bull.*, 63(6), 837-851(2009)
- 21.- Varsha, T., Yallapu, M. M., Sreedhar, B., Bajpai, S. K., *J. Colloid. Interface. Sci.*, 315, 389–395(2007).
- 22.- Rodríguez, E., Katime, I., *J.App.Pol.Sci.*, 90, 530-536(2003).
- 23.- Mehlika Pulat, Haslet Eksi., *J. App. Pol. Sci.*, 102, 5994–5999(2006)
- 24.- Peppas, N. A., Klier, J., *J. Controlled. Release.*, 16 203-214(1991).
- 25.- García, D. M., Escobar, J.L., Bocourt, M., Bada, N. Zaldivar, D., y Katime. I., 4(1), 93-105(2003).
- 26.- Kudaibergenov, S. E., Ibraeva, Z. E., Dolya, N. A., Musabaeva, B. K., Zharmagambetova, A. K., Koetz, J., *Macromol. Symp.*, 274, 11–21(2008).
- 27.- Villarroel, H. J., Rojas, B., González, N., Rodríguez, R., Prin, J. L., García, A., *Sup. Rev. Lat. Metal. y Mat.*, S2(1), 99-100(2009).
- 28.- Carrillo, M., Vivas, M., Jiménez, L., Hernández, L., Ramírez, M., Katime. I., *Rev. Iberoam. Pol.*, 10(4), 188-195(2009).
- 29.- González, F., F. Sabino, M. A., *Sup. Rev. Lat. Metal. y Mat.*, S2(1), 97-98(2009).
- 30.- Rodríguez, R., Rojas, B., Ramírez, M., Prin, J. L., García, A., Villarroell, H., Katime, I., *Sup. Rev. Lat. Metal. y Mat.*, S2(1), 149-150(2009).
- 31.- Escobar, J.L., García, D.M., Valerino, A., Zaldivar, D., Hernáez, E., y Katime I., *Rev. Iberoam. Pol.*, 4(4), 1-13(2003).
- 32.- Varsha, T., Yallapu, M. M., Sreedhar, B., Bajpai, S. K., *J. Appl. Pol. Sci.*, 111, 934–944, (2009).

- 33.- Hosokawa, M., Nogi, K., Naito, M., Yokoyama, T., **Nanoparticle Technology Handbook Elsevier.**, (2007).
- 34.- Furstner, *Active Metals*, 279-297 (1996).
- 35.- Saravanan, P., Raju, M. P., Alam, S., *Mat. Chem. Phys.*, 103, 278–282(2007).
- 36.- Nguyen Thi Phuong Phong, Ngo Hoang Minh, Ngo Vo Ke Thanh and Dang Mau Chien., *J. Phys: Conference Series.*, 187(2009) 012078.
- 37.- Schexnailder, P., Schmidt, G., *Colloid Pol. Sci.*, 287, 1-11(2009).
- 38.- Vegea, A. V., Zimon, A. D., *J. Appl. Chem.*, 79(9), 1403-1406(2006).
- 39.- Martínez, N., Niño, F., Martínez, J. R., Martínez, F., Ruiz, M., *J. Nanopart Res.*, 10, 1343–1348(2008).
- 40.- Song, K., Lee, S., Park, S., *Korean J. Chem. Eng.*, 26(1), 153-155(2009).
- 41.- Roldán, M.V., Frattini, A.L., de Sanctis, O.A., Pellegrini, N.S., *Anales afa.*, 17, 212-217(2005).
- 42.- Falletta, E., Bonini, M., Fratini, E., Lo Nostro, A., Pesavento, G., Becheri, A., Lo Nostro, P., Canton, P., y Baglioni. P., *J. Phys. Chem.*, 112, 11758–11766(2008).
- 43.- Zhang, J., Wang, X., Zhao, B., y Li, Ch., *Chemistry Letters*. 35(1), 40-41(2006).
- 44.- Cabrera, J., López, A., y Santiago, J., *Rev. Soc. Quím. Perú.* 74(4), 323-331(2008).
- 45.- Raffi, M., Hussain, F., Bhatti, T.M., Akhter, J.I., Hameed, A., y Hasan, M. M., *Mater. Sci. Technol.* 24(2), 192-196(2008).
- 46.- Furno, F., Morley, K. S., Wong, B., Sharp, B. L., Arnold, P. L., Howdle, S. M., Bayston, R., Brown, P. D., Winship, P. D., y Reid J. H., *J Antimicrobial Chemotherapy.*, 54, 1019–1024(2004).
- 47.- Gómez, J., Aya Ramírez, O., *Rev. Colombiana de Fís.* 41(2), 385-387(2009).
- 48.- Pastoriza, I., y Liz, L. M., *Langmuir.*, 15(4), 948-951(1999).
- 49.- Raveendran, P. Fua, ab Jie., y Wallen, S. L., *The Royal Soc. Chem. Green Chem.*, 8, 34–38(2006).

- 50.- Raveendran, P. Fua, ab Jie., y Wallen, S. L., *J. Am. Chem. Soc.* 125, 13940-13941(2003).
- 51.- Varsha, T., Namdeo, M., Mohan, Y. M., Bajpai, S. K., Bajpai, M., *J. Macromol. Sci. Part A: P. Appl. Chem.*, 45, 107–119(2008).
- 52.- Uygun, M., Kahveci, M. U., Odaci, D., Timur, S., Yagci, Y., *Macromol. Chem. Phys.*, 210, 1867–1875(2009).
- 53.- Mahltig, B., Haufe, H., y Bo'ttcher, H., *J. Mater. Chem.*, 15, 4385–4398(2005).
- 54.- Ngo Vo Ke Thanh., y Nguyen Thi Phuong Phong., *J. Phys: Conference Series.*, 187(2009) 012072.
- 55.- Roszek, B., de Jong, W.H., y Geertsma, R.E., *RIVM*, reporte 265001001, 74-75(2005).
- 56.- Pollini, M., Russo, M., Licciulli, A., Sannino, A., Maffezzoli, A., *J. Mater Sci: Mater Med.*, 20(11), 2361-2366(2009).
- 57.- Jeong, S. H., y Lee, H. J., *Text. Res. J.*, 75(7), 551-556(2005).
- 58.- Pulat, M., Isakoca, C., *J. Appl. Pol. Sci.*, 100, 2343–2347(2006).
- 59.- Tarimala, S., Kothari, N., Abidi, N., Hequet, E., Fralick, J., Dai, L. L., *J. Appl. Pol. Sci.*, 101, 2938–2943(2006).
- 60.- Espinoza González J. C., *Diseño de Materiales Poliméricos Avanzados.* 6, 23127(2007).
- 61.- Mock, J. J., Barbic, M., Smith, D. R., Schultz, D. A., y Schultz, S., *J. Chem. Phys.*, 116(15), 6755(2002).
- 62.- Mastsumure, Y., Yoshikata, K., Kunisaki, S.I., and Tsuchido, T., *Appl. Environ. Microbiol.*, 169, 4278-4281(2003).
- 63.- Pal, S., Tak, Y. K., Song, J. M., *Appl. Environ. Microbiol.*, 1-27(2007).
- 64.- Hergert, W., Wriedt, T., *Mie Theory 1908-2008. Conference Germany 15th–17th September 2008.* Online 79-82(2008).
- 65.- Petit, C., Lixon, P., Pileni, M. P., *J. Phys. Chem.*, 97, 12974-12983(1993).
- 66.- Solomon, S., Bahadory, M., Jeyarajasingam, A., Rutkowsky, S., y Boritz, Ch., *J. Chem. Edu.*, 84(2), 322-325(2007).

- 67.- <http://www.atsdr.cdc.gov/es/ATSDR>. *Reseña Toxicológica de la Plata*, (1999).
- 68.- Drake P. L., y Hazelwood, K. J., *Ann. Occup. Hyg.*, 49(7), 575–585(2005).
- 69.- Wu, J., Hou, S., Ren, D., y T, P., *Biomacromolecules*. 10, 2686–2693, (2009).
- 70.- Lee, H., Park, H., Lee, H., Kim, K., y Park, S. B., *Chem. Commun.*, 2959–2961(2007).
- 71.- Geranio, L., Heuberger, M., y Nowack, B., *Sci. Technol.*, 43, 8113–8118(2009).
- 72.- Elechiguerra, J., Burt, J., Morones, J., Camacho, A., Gao, X., Lara, H., y Yacaman, M., *J. Nanobiotechnology.*, 3(6), (2005).
- 73.- Smetana, A., Klabunde, K., Marchin, G., y Sorensen, C., *Am. Chem. Soc. Langmuir.*, 24(14), 7457-7464(2008).
- 74.- <http://www.consumer.es/seguridad-alimentaria/ciencia-y-tecnologia/2007/12/04/172396.php>
- 75.- Kim, J. et ál., *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine* 3, 95–101(2007).
- 76.- SonDI, I., y Salopek-Sondi, B., *J. Colloid. Interf. Sci.*, 275, 177–182(2004).
- 77.- Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, B., Ramírez, J.T., y Yacaman, M.J., *Nanotechnology.*, 16, 2346-2353(2005).
- 78.- Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Immobilized Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact Conditions Designation ASTM: E 2149–01.
- 79.- Hutter, E., y Fendler, J. H., *Adv. Mater.* 16(19), 1685-1706(2004).
- 80.- Silvert, P., Herrera-Urbina, R., Duvauchelle, N., Vijayakrishnan, V., Elhsissen, K.T., *J. Mater. Chem.*, 6(4), 573-577(1996).
- 81.- Silvert, P. Herrera-Urbina, R., Duvauchelle, N., Vijayakrishnan, V., Elhsissen, K.T., *J. Mater. Chem.*, 7(2), 293–299, (1997).
- 82.- Murali Mohan, Y., Mohana Raju, K., Sambasivudu, K., Singh, S., Sreedhar, B., *J. Appl. Pol. Sci.*, 106, 3375–3381(2007).
- 83.- Patente US 2007/0003603 A1, (2007).

A. Procedimiento para la realización de pruebas antimicrobianas.

Método de difusión de agar

Una suspensión del microorganismo en estudio se inocula sobre la superficie de una placa de un medio específico. Posteriormente se colocan sobre la superficie del agar discos de papel filtro si es muestra líquida o muestras directas si son sólidas o emulsionadas (muestras de diferentes materiales tratadas o impregnadas con cantidades estandarizadas de agentes antimicrobianos). Luego del período de incubación se mide el diámetro de la zona de inhibición alrededor de los discos. El tamaño de la zona de inhibición es inversamente proporcional a la concentración inhibitoria mínima (MIC) de la bacteria. La concentración del antibiótico o agente bactericida, decrece conforme mayor sea la distancia desde el borde de la muestra.

El proceso experimental de prueba de materiales tratados con nanopartículas de plata para las bacterias *Pseudomona Aeruginosa* y *Staphylococcus Aureus*, se realizó como un estudio Cegado, para lograr una mayor validez experimental.

Materiales:

- Agar MacConkey (MCD LAB. L71110A074).
- Agar Sal y Manitol (BIOXON L)
- Sol. Buffer BASO_4 pH 6.86 ± 0.02 (L10021376).
- Cultivos frescos de 18-24 horas en medio sólido de las bacterias a probar (Gram-negativa *Pseudomona Aeruginosa* y Gram-positiva *Staphylococcus Aureus*).
- Placas de agar específico para cada microorganismo, con un espesor de 4 mm (24 mL de medio en placas de petri de 90 mm de diámetro).
- Tubos con solución salina (0.85-.9 % NaCl) estéril.
- Pipetas Pasteur estériles.
- Tubos con estándar de McFarland 0.5.
- Asa bacteriológica.
- Regla milimétrica.
- Muestras de sustratos textiles A y V con y sin tratamiento.

Equipos:

- Campana de flujo laminar VECO (Serial 5443)
- Espectrofotómetro SPECTRONIC GENESYS 336001 (Serial 3V09275006)
- Agitador Vortex (Serial)
- Autoclave JORSAN HGEC6610 (Serial 319PSS)
- Incubadora de Laboratorio (Serial 026010832).

Pruebas cualitativas y cuantitativas

Se realizaron pruebas cualitativas y cuantitativas a todas las muestras entre las cuales se encuentran los blancos A y V y las muestras tratadas AHAgNSI 0.02 y 0.14 M así como las VHAgNSI 0.01, 0.02, 0.06, 0.1, 0.14, 0.2 y 0.1M.

Preparación del inóculo para la determinación cualitativa de inhibición:

A partir de un cultivo fresco de la bacteria *Pseudomona Aeruginosa* (18-24 Horas) en placa, se tomaron con asa cultivo, 5 UFC en un tubo con solución salina estéril 0.9%, se incubaron a 35 °C durante 2 horas. La turbidez se ajustó con BaSO₄ hasta una escala 0.5 de McFarland. La densidad del inóculo se verificó mediante un espectrofotómetro a 625nm a 0.8 – 0.10. De esta forma, se obtuvo una suspensión de 1.5 x 10⁸ UFC/ mL. Se prepararon 12 alícuotas de la muestra (11 muestras para estudio y una muestra comercial como comparativo). Esta suspensión se utilizó en los primeros 15-30 minutos, para la preparación de las placas de cultivo.

Mediante un hisopo de algodón estéril, se tomó la muestra, retirando el exceso de líquido al presionar contra las paredes del tubo.

En una base de agar MacConkey con un pH de 7.1 ± 0.2, preparado de acuerdo al estándar del fabricante, y esterilizado a 121 °C a 15 libras, colocado en cajas petri e incubado durante 24 horas previas a la siembra para control de calidad, se realizó la siembra de la muestra mediante método estriado. Se incubó en una temperatura de 37 °C durante 24 horas, después de las cuales se colocó en cada caja de petri con el microorganismo, cada una de las muestras del blanco o control y de las muestras tratadas.

Se realizaron mediciones del diámetro de inhibición con una regla milimétrica al milímetro más cercano, a las 24 y 48 horas para determinar de manera cualitativa las muestras que presentan inhibición.

Determinación cuantitativa del crecimiento bacteriano

Para la determinación del crecimiento bacteriano por el método de suspensión cuantitativa por dilución y conteo, se utilizaron los tubos que contenían solución de NaCl al 0.9% con el inoculo bacteriano, se agitaron en agitador vortex durante 2 h a 37°C.

La concentración del inoculo se controló al realizar diluciones decimales seriadas 1:10 y sembrar 0.1 mL de las diluciones 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} en una placa de agar MacConkey para cada una de las 11 muestras y la de comparación. Las placas se incubaron a una temperatura constante de 37°C con una humedad relativa de 90% durante 24 h. Todos los inoculos se utilizaron dentro de la primera hora de preparados y se consideraron válidos los conteos entre 20 y 200 UFC/mL.

Se tomó una alícuota de 10 mL de cada tubo, se realizaron diluciones seriadas en solución salina 1/10 (hasta 10^{-6}), y se sembró en placas de agar MacConkey. Después de 24 h de incubación a 37 °C, se contaron las colonias y las unidades formadoras de colonias por mililitro (UFC/mL), a partir del conteo de colonias y la dilución respectiva.

Para la determinación del porcentaje de inhibición de unidades formadoras de colonias (UFC) se utilizó la siguiente ecuación:

$$\% I = ((B-A) / B) \times 100 \quad \text{Ec. 1}$$

% I= Porcentaje de Inhibición.

A= Promedio de Inhibición de UFC viables en muestras tratadas

B= Promedio de Inhibición de UFC viables en muestras control o blancos

En una base de agar Sal y Manitol, pH 6.86 ± 0.02 se realizaron las mismas metodologías en lecturas y cálculos para la bacteria *Staphylococcus Aureus*.