

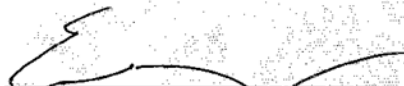
Saltillo, Coahuila a 12 de enero de 2018

Coordinación de Posgrado
Presente

Por este conducto nos permitimos informar a esta coordinación que, el documento de tesis preparado por Priscila Anaís Espinoza Ibarra titulado Estudio del efecto de un líquido iónico sobre la incorporación y dispersión de grafeno/derivados de grafeno en recubrimientos asépticos a base de hidrogeles con nanopartículas de plata el cual fue presentado el día **8 de diciembre de 2017**, ha sido modificado de acuerdo a las observaciones, comentarios y sugerencias, realizadas por el Comité Evaluador asignado. Por tal motivo, avalamos que el documento adjunto corresponde a la versión final del documento de tesis.

Atentamente,

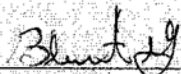
Sinodales



Dr. Eduardo Ramírez Vargas
Presidente



Dr. Ramón Enrique Díaz de León
Secretario

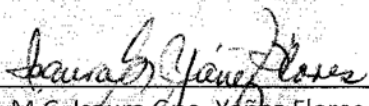


Dra. Rebeca Betancourt Galindo
Vocal

Vo. Bo. De los Asesores



Dr. Saúl Sánchez Valdes



M.C. Isaura Gpe. Yáñez Flores

TESIS CON CARACTER ABIERTO

PROGRAMA: MAESTRÍA EN TECNOLOGÍA DE POLÍMEROS

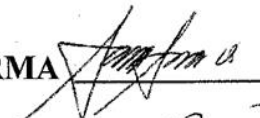
AUTOR: PRISCILA ANAÍS ESPINOZA IBARRA FIRMA



TITULO: Estudio del efecto de un líquido iónico sobre la incorporación y dispersión de grafeno/derivados de grafeno en recubrimientos asépticos a base de hidrogeles con nanopartículas de plata.

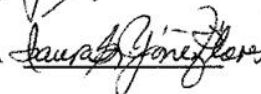
ASESORES: Dr. Saúl Sánchez Valdés

FIRMA



M.C. Isaura Gpe. Yáñez Flores

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 8 de Diciembre de 2017



Dr. Oliverio Santiago Rodríguez Fernández
Director General del CIQA



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

TESIS

"Estudio del efecto de un líquido iónico sobre la incorporación y dispersión de grafeno/derivados de grafeno en recubrimientos asépticos a base de hidrogeles con nanopartículas de plata"

Presentado por:

PRISCILA ANAÍS ESPINOZA IBARRA

Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorado por:

Dr. Saúl Sánchez Valdés

M.C. Isaura Gpe. Yáñez Flores

Saltillo, Coahuila.

Diciembre de 2017

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

TESIS

Estudio del efecto de un líquido iónico sobre la incorporación y dispersión de grafeno/derivados de grafeno en recubrimientos asépticos a base de hidrogeles con nanopartículas de plata

Presentada por:

PRISCILA ANAÍS ESPINOZA IBARRA

Para obtener el grado de:

Maestro en Tecnología de Polímeros

Asesorada por:

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

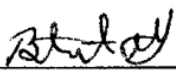
SINODALES



Dr. Eduardo Ramirez Vargas
Presidente



Dr. Ramón Enrique Díaz de León
Secretario




Dra. Rebeca Betancourt Galindo
Vocal

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 8 de Diciembre de 2017



PRISCILA ANAÍS ESPINOZA IBARRA

Nombre y Firma

Dedicatoria

“Todo lo puedo en Cristo que me fortalece” Filipenses 4:13

Este trabajo de tesis lo dedico primeramente a DIOS, por llenarme de salud, fe y fortaleza, y haberme permitido cumplir una meta más en mi vida.

A mis padres, Noemí Ibarra y Víctor Espinoza, gracias por todo su apoyo, por todo su amor, su comprensión, su ejemplo, su vida, sin ustedes no habría llegado hasta aquí.

A mis hermanas, Daniela y Ximena, por siempre estar para mí.

A mi novio y mi mejor amigo, Pedro, gracias por todo tu amor, tu comprensión y apoyo, por ser incondicional para mí siempre, por cuidarme y nunca dejarme caer.

Y a mi abuelo, Anatolio Espinoza, quien se fue demasiado pronto... “A veces desearía haber aprovechado mejor el tiempo. Haberte escuchado más. Haber hecho más duraderos esos abrazos. Haberte pedido más consejos. O simplemente haberme detenido más tiempo a mirarte. Me habría gustado tener más tiempo, porque creo que te fuiste demasiado pronto de este mundo. Mucho más pronto de lo que yo quería, o esperaba”. Sé que estarías muy orgulloso de mí.

A todos ustedes gracias por acompañarme en este camino...

Priscila Anaís Espinoza Ibarra

Agradecimientos

El presente trabajo ha sido realizado con el apoyo de muchos, por lo cual extiendo mi más sincero agradecimiento.

Agradezco a las instituciones que hicieron posible el desarrollo de este proyecto, al CIQA por las facilidades que se me otorgaron para realizar mi Maestría y este trabajo, al CONACyT por el apoyo económico otorgado y a la Facultad de Medicina de la UAdeC, por el soporte técnico en algunas de las pruebas realizadas.

Al personal de la planta piloto del Departamento de Procesos de Transformación del CIQA, al Laboratorio Nacional de Materiales Grafénicos, al Laboratorio de Caracterización Química y al Laboratorio Central de Instrumentación Analítica, muy en especial a la Q.F.B Myriam Lozano Estrada.

A mis asesores la M.C. Isaura Yáñez Flores y el Dr. Saúl Sánchez Valdés por su gran apoyo durante la realización de mi tesis, en lo profesional y personal.

A la Dra. Adriana Espinoza Martínez y al Dr. Luis Francisco Ramos de Valle por su ayuda y soporte incondicional desde el momento en el que llegué al CIQA.

A mis amigos y compañeros, Pedro Antonio Espinoza Martínez, José Luis González Zapata, Edgar Ulises Méndez Campos, Joel Bersayn Galván Torres, María Amalia Pacheco Zúñiga, Juan Luis Zapata Nava, Antonio Ortiz García, María Fernanda Berlanga Malacara, gracias por compartir conmigo su tiempo y amistad.

Finalmente, mi eterno agradecimiento a mis padres y hermanas, por ser mi guía y mi principal motivación para seguir superándome. Gracias infinitas.

Priscila Anaís Espinoza Ibarra

ÍNDICE

1. RESUMEN.....	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. ANTECEDENTES.....	5
3.1 Hidrogeles	5
3.1.1 Clasificación general	5
3.1.2 Metodología de obtención	6
3.2 Líquidos iónicos	9
3.3 Nanotecnología.....	10
3.3.1 Nanomateriales	11
3.4 Nanopartículas de Plata.....	12
3.4.1 Métodos de obtención de Nanopartículas de Plata.....	13
3.5 Nanoestructuras de carbono	16
3.5.1 Grafeno	16
3.5.2 Óxido de grafeno	17
3.5.3 Propiedades y aplicaciones generales.....	18
3.5.4 Actividad antimicrobiana del grafeno y del óxido de grafeno	19
3.6 Curación Húmeda.....	20
3.7 Actividad microbiana en sustratos textiles para uso médico.....	21
3.8 Nanopartículas de plata y grafeno u óxido de grafeno como alternativa para combatir microorganismos	22
3.9 Metodologías de dispersión de grafeno u óxido de grafeno con líquido iónico.....	24
4. HIPÓTESIS	26
5. OBJETIVOS	27
5.1 General	27
5.2 Específicos	27
6. PARTE EXPERIMENTAL.....	28
6.1 Materias Primas.....	28
6.1.1 Reactivos	28
6.1.2 Materiales	29
6.2 Preparación del sustrato antimicrobiano	29
6.2.1 Parte I: Preparación del sustrato con hidrogel	29

6.2.2	Parte II: Preparación del sustrato con hidrogel/AgNPs	30
6.2.3	Parte III: Preparación del sustrato con hidrogel/AgNPs/G u GO; con y sin líquido iónico.....	31
6.3	Serie de Experimentos.....	33
6.4	Caracterización de los sustratos impregnados con hidrogel/AgNPs o hidrogel/AgNPs/G u GO; con y sin líquido iónico	34
7.	RESULTADOS Y DISCUSIONES	36
7.1	Síntesis del hidrogel e impregnación de sustrato	36
7.2	Síntesis de nanopartículas de plata.....	37
7.3	Incorporación del grafeno u óxido de grafeno con y sin líquido iónico al sustrato textil .	38
7.4	Caracterización.....	41
7.4.1	Caracterización del sustrato textil con hidrogel	41
7.4.2	Caracterización del sustrato textil con hidrogel y AgNPs	42
7.4.3	Caracterización del sustrato textil con hidrogel, AgNPs y G u GO con y sin líquido iónico.....	45
7.5	Pruebas antimicrobianas.....	53
7.5.1	Sustrato textil con hidrogel y AgNPs	53
7.5.2	Sustrato con hidrogel, AgNPs y G u GO con y sin líquido iónico.	56
8.	CONCLUSIONES	63
	TRABAJO FUTURO.....	65
	APÉNDICE #1	66
	APÉNDICE #2.....	67
	REFERENCIAS.....	69

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ejemplos de hidrogeles físicos “entrecruzados” [12].....	7
Tabla 2. Polímeros hidrofílicos disponibles para sintetizar hidrogeles [8].	8
Tabla 3. Métodos químicos y físicos de síntesis de AgNPs [36].	15
Tabla 4. Relaciones utilizadas de AgNPs vs r-GO por Xiangkang Zeng et al.	23
Tabla 5. Relaciones utilizadas de AgNPs vs grafeno por Fan et al.	23
Tabla 6. Reactivos	28
Tabla 7. Concentraciones para preparar AgNPs “ <i>in situ</i> ” en el sustrato textil	31
Tabla 8. Contenidos utilizados de AgNPs y de grafeno u óxido de grafeno.....	33
Tabla 9. Temperaturas y tiempos de reacción	36
Tabla 11. Impregnación de las nanoestructuras de carbono a diferentes tiempos, en venda “virgen” (V) y venda con hidrogel (V _H), con y sin líquido iónico (LI).	40
Tabla 11. Contenido de AgNPs por medio de espectroscopia de ICP. Metodología 1	44
Tabla 12. Contenido de AgNPs por medio de espectroscopia de ICP. Metodología 2	44
Tabla 13. Resultados estandarizados de las pruebas antimicrobianas utilizando grafeno y óxido de grafeno.....	57
Tabla 14. Resultados estandarizados de las pruebas antimicrobianas utilizando grafeno con y sin líquido iónico.	59
Tabla 15. Resultados estandarizados de las pruebas antimicrobianas utilizando óxido de grafeno con líquido iónico.	61
Tabla 16. Estandarización para los datos de las pruebas antimicrobianas	67
Tabla 17. Promedios de los resultados de la estandarización de los datos de las pruebas antimicrobianas	68

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Métodos para preparar un hidrogel químico [12].	6
Figura 2. Líquido Iónico HMIMPF ₆ .	10
Figura 3. Comparación de 1 picómetro y 1 metro	11
Figura 4. Mecanismo de formación de AgNPs a partir de AgNO ₃	14
Figura 5. Lámina de grafeno [47].	17
Figura 6. Estructura del óxido de grafeno [49].	17
Figura 7. Síntesis del óxido de grafeno.	18
Figura 8. a) Dispersión de CTN en líquido iónico. b) Metodologías para la mezcla de CNT y líquido iónico [77].	24
Figura 9. Serie de Experimentos del proyecto	34
Figura 10. Venda con hidrogel y nanopartículas de plata.	38
Figura 11. Espectro infrarrojo de la venda con y sin hidrogel	42
Figura 12. Patrón de difracción de rayos X del sustrato con hidrogel y AgNPs.	43
Figura 13. Patrón de rayos X típico de grafito y óxido de grafeno [96].	45
Figura 14. Patrón de difracción de rayos X del óxido de grafeno utilizado.	46
Figura 15. Micrografías de las fibras de la venda en cada etapa: a) Venda sin hidrogel (V), b) Venda con hidrogel (V _H), c) Venda con Hidrogel y AgNPs (V _H Ag).	48
Figura 16. Micrografía venda con hidrogel, AgNPs y grafeno, sin líquido iónico.	49
Figura 17. Micrografía venda con hidrogel, AgNPs y grafeno, con líquido iónico	49
Figura 18. Fibra de la muestra VHA _g 2-G-CLI a mayor magnificación	51
Figura 19. Histograma de distribución de tamaños de partícula (VHA _g 2-G-CLI)	52
Figura 20. Histograma de distribución de tamaños de partículas (VHA _g 3-G-CLI)	53
Figura 21. Cultivos de <i>S. aureus</i> . Metodología 1	54
Figura 22. Cultivo de <i>S. aureus</i> después de 4 días de incubación.	55
Figura 23. Cultivos de <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> . Metodología 2	55
Figura 24. Cultivos de A) <i>S. aureus</i> B) <i>E. coli</i> después de 24 horas de incubación.	56
Figura 25. Cultivo de láminas de óxido de grafeno en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i>	58
Figura 26. Cultivo de grafeno en <i>E. coli</i> y <i>S. aureus</i> .	58
Figura 27. Cultivo de los sustratos VHA _g -2,3-G-SLI, CLI. a) <i>E. coli</i> b) <i>S. aureus</i> .	60
Figura 28. Cultivo de los sustratos VHA _g -2,3-GO-CLI. a) <i>E. coli</i> b) <i>S. aureus</i> .	62
Figura 29. Estructura de bacterias Gram positivas y Gram negativas.	66

NOMENCLATURA

AgNPs – Nanopartículas de Plata

AOT – Bis(2-etilhexil) sulfosuccinato de sodio

APS – Aminopropiltriétoxissilano

CLI – Con líquido iónico

CTAB – Bromuro de cetil trimetil amonio

G – Grafeno

GO – Óxido de grafeno

HDA – Hexadecilamina

OLA – Oleilamina

PAAm – Poli(acrilamida)

PCL – Poli(caprolactona)

PEG – Poli (etilenglicol)

PHB – Poli(hidroxiacetato)

PLA – Poli (ácido láctico)

PLGA – Poli (láctico-co-ácido glicólico)

PVP – Polivinilpirrolidona

SLI – Sin líquido iónico

V – Venda

V_H – Venda con hidrogel

VHAg(1, 2, 3 ó 4) – Venda con hidrogel y nanopartículas de plata, muestra 1, 2, 3 ó 4

1. RESUMEN

El presente trabajo se muestra dividido en tres etapas la primera que consistió en la preparación de un sustrato con características antimicrobianas. Para lograr esto, primeramente, se inició con la preparación de un hidrogel utilizando como monómeros ácido acrílico y ácido itacónico, un iniciador y un entrecruzante del tipo acrilamida. Se establecieron condiciones adecuadas de tiempo y temperatura para obtener un hidrogel con una consistencia apropiada para impregnar un sustrato textil (venda comercial) que cumpliera con la característica de que al estar seco fuera suave al tacto para poder utilizarse como apósito en heridas o quemaduras.

Como parte de la segunda etapa, se sintetizaron nanopartículas de plata por medio de reducción química utilizando como sal precursora el nitrato de plata y como agente reductor el borohidruro de sodio. Estas nanopartículas fueron sintetizadas “*in situ*” sobre el sustrato textil impregnado con hidrogel.

Finalmente, y como última etapa, se añadió grafeno u óxido de grafeno al sustrato textil ya impregnado con hidrogel y nanopartículas de plata. Con el objetivo de favorecer la dispersión de las nano-estructuras de carbono en el sistema se utilizó el líquido iónico hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metil-imidazolio (HMIMPF₆).

La caracterización de las muestras se llevó a cabo mediante espectroscopia infrarroja por reflectancia total atenuada (IR-ATR), difracción de rayos X (XRD), espectroscopia de emisión de plasma (EICP) y microscopía electrónica de barrido (SEM).

Además, se realizaron pruebas antimicrobianas evaluando cepas de interés clínico, tales como: *Staphylococcus aureus* (Gram positiva) y *Escherichia coli* (Gram negativa).

Por medio de la espectroscopia infrarroja y microscopía electrónica de barrido se logró verificar la presencia del hidrogel sobre la venda, se identificaron las principales bandas características de los grupos funcionales del hidrogel, así como la presencia de este sobre las fibras de la venda en las micrografías.

Mediante microscopía electrónica de barrido se logró identificar la presencia de las nanopartículas depositadas sobre la venda. Además, se determinó el tamaño promedio de éstas, aproximadamente 60 nm y cerca del 95% de las nanopartículas de plata se encontraron por debajo de los 100 nm. También se logró apreciar que las nanopartículas se encontraban bien dispersas y distribuidas. Con la espectroscopia de emisión de plasma se cuantificaron las nanopartículas de plata depositadas sobre el sustrato, y mediante la difracción de rayos X se verificó la presencia de la estructura cristalina característica de la plata.

Por otra parte, durante la tercera parte del proyecto, se pudo observar mediante microscopía electrónica de barrido, las fibras de la venda en donde se encontraron bien dispersas y distribuidas las nanopartículas de plata. Así mismo, se lograron observar las láminas de grafeno; las cuales, en las muestras sin líquido iónico, se aprecian aglomeradas sobre la superficie de la venda, mientras que en las muestras con líquido iónico se encuentran embebidas en el hidrogel que recubre la fibra de la venda y, aparentemente, menos aglomeradas.

Finalmente, las pruebas antimicrobianas mostraron resultados favorables ya que los sustratos lograron inhibir el crecimiento bacteriano en las cepas utilizadas, esto verificado mediante la observación de halos de inhibición en los cultivos realizados. Los mejores resultados, en los sustratos que contienen hidrogel y nanopartículas de plata, para ambas cepas, se observaron en las muestras dos y tres, (3.114 ppm y 3.851 ppm de nanopartículas de plata respectivamente, realizadas bajo la metodología 2)

En cuanto a la actividad antimicrobiana de las muestras que contienen hidrogel, nanopartículas de plata y grafeno u óxido de grafeno, se observaron, mejores resultados en los sustratos donde se utilizó el líquido iónico, y mostró mayor eficiencia el grafeno que el óxido de grafeno. En los sustratos impregnados con grafeno, la mayor actividad antimicrobiana se registró en la concentración tres (3.851 ppm de AgNPs) para *S. aureus* y *E. coli*, siendo superior para *S. aureus*; de igual manera, en los sustratos impregnados con óxido de grafeno la mejor actividad antimicrobiana se observó en la concentración tres (3.851 ppm de AgNPs), siendo superior para *S. aureus*.

2. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es un área de investigación que, en las últimas décadas, ha tenido grandes, asombrosos e imparables logros [1]. Gracias a los avances en microscopía y ciencias como la química o la biología, actualmente, hay oportunidades para diseñar y producir artículos, a escala nanométrica capaces de satisfacer las necesidades de este mundo cada vez más globalizado. Algunas de las áreas donde el uso de la nanotecnología tiene gran relevancia es en la industria energética, electrónica y médica.

El estudio y desarrollo de la nanotecnología es tan importante porque en ella está la clave para resolver muchos de los problemas que enfrenta el mundo, como el hambre, las enfermedades, la falta de agua potable, la necesidad de aprovechar mejor los recursos energéticos, entre otros.

Un área que genera mucho interés y gran cantidad de investigaciones es la medicina, en donde los esfuerzos están dirigidos a mejorar la calidad y la expectativa de vida; hace tiempo, por ejemplo, era imposible pensar en que existirían partículas que podrían atacar directamente a un tumor, en la actualidad esto es una realidad y existen avances en el tratamiento del cáncer, enfermedades autoinmunes o cardiovasculares.

Una alternativa en el área médica es utilizar nanopartículas como agentes terapéuticos; así como los recubrimientos con características antimicrobianas para evitar la transmisión de enfermedades, propagación de infecciones y malos olores ocasionada por microorganismos. Es por ello que las fibras textiles como, por ejemplo, en ropa deportiva, ropa interior o fibras textiles médicas como gasas, vendas o ropa quirúrgica son, el día de hoy, un área para explotar la nanotecnología enfocada al combate de microorganismos.

Una desventaja de combatir a los microorganismos mediante antibióticos o bactericidas es que éstos crean resistencia a ellos, mutando; es por ello que algunos materiales que se usan para evitarlo son las nanopartículas metálicas, entre ellas la plata, la cual ha demostrado tener actividad antimicrobiana [2] [3] o nanopartículas derivadas del carbono como los nanotubos de carbono, el grafeno o el óxido de grafeno [4] [5]. Lo atractivo de utilizar nanopartículas

de plata o de grafeno/óxido de grafeno es que, además de ofrecer actividad antimicrobiana, pueden soportar las temperaturas a las cuáles se procesan los plásticos [6].

El objetivo del presente trabajo es aprovechar la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata y del grafeno/óxido de grafeno para desarrollar recubrimientos asépticos en sustratos textiles, por ejemplo, en una venda comercial con el fin de controlar e inhibir el crecimiento de microorganismos; así como, mejorar la dispersión de las nanoestructuras de carbono utilizando un líquido iónico y, así, potencializar la actividad antimicrobiana.

3. ANTECEDENTES

En los últimos 50 años, los hidrogeles han recibido mucha atención por parte de científicos debido a su amplio intervalo de aplicaciones.

3.1 Hidrogeles

Los hidrogeles son redes poliméricas de estructura tridimensional con capacidad de absorber y retener agua o soluciones acuosas desde cientos a miles de veces su masa en seco sin disolverse [7] [8].

Las investigaciones acerca de los hidrogeles datan aproximadamente de 1960 donde Wichterle y Lim crearon el primer hidrogel sintético entrecruzado de hidroxietil metacrilato [9], fueron de los primeros biomateriales diseñados para su uso en el cuerpo humano [10], debido a sus características y su gran potencial para ser biocompatible. Además, han sido de gran interés para la industria médica, en particular en la administración de fármacos, aplicaciones clínicas, en la ingeniería de tejidos o en medicina regenerativa [7]. Actualmente hay mucha atención por parte de los investigadores en los hidrogeles puesto que representan un área a explotar para nuevas aplicaciones tales como biosensores, nano-reactores, biomateriales, etc. [10].

3.1.1 Clasificación general

Los hidrogeles pueden clasificarse de diferentes maneras en base a su: fuente de obtención, composición polimérica, su configuración, tipo de entrecruzamiento, apariencia física, carga eléctrica [11], a continuación, se muestra de una manera más amplia la clasificación.

- a) Fuente de obtención: Naturales y sintéticos
- b) Composición polimérica: Homopolímeros, copolímeros y multipolímeros
- c) Estructura física: Amorfo, Semicristalino y cristalino
- d) Tipo de entrecruzamiento: Químico y físico
- e) Apariencia física: Matriz, película y microesferas
- f) Carga eléctrica: No-iónico, aniónico y catiónico

3.1.2 Metodología de obtención

Los hidrogeles se dividen en dos grandes grupos: químicos y físicos. Los químicos son aquellos en los que la red se entrecruza por medio de enlaces covalentes durante un proceso químico [8]. En la Figura 1 se muestra el método para preparar hidrogeles químicos. Los hidrogeles físicos son aquellos que consisten en una red tridimensional enlazada mediante uniones no covalentes, por lo tanto, no permanentes; formando redes donde el “entrecruzamiento” es físico; estos se obtienen de distintas maneras tal como se muestra en la Tabla 1.

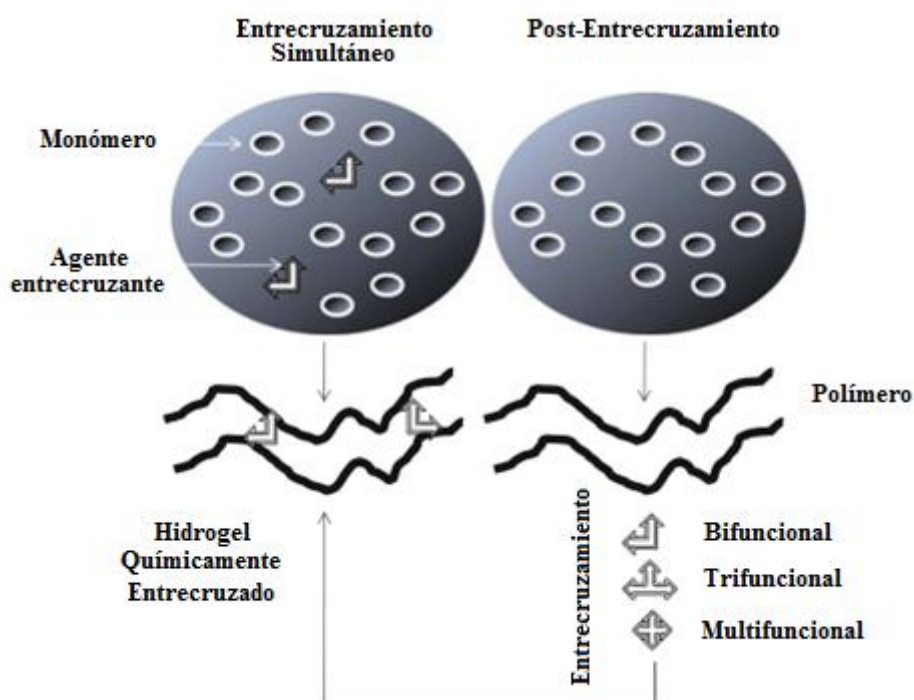
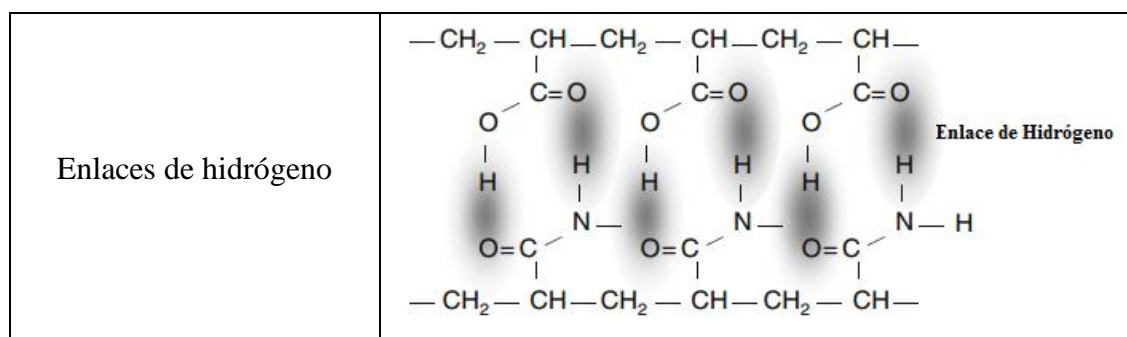


Figura 1. Métodos para preparar un hidrogel químico [12].

Tabla 1. Ejemplos de hidrogeles físicos “entrecruzados” [12]

Formación de complejos ion-polímero	
Formación de complejos polímero-polímero	
Por medio de asociaciones hidrofóbicas	
Agrupación de cadena	



Actualmente hay una amplia variedad de materiales sintéticos y naturales o una mezcla de ellos para sintetizar hidrogeles, algunos de ellos se presentan en la Tabla 2.

Tabla 2. Polímeros hidrofílicos disponibles para sintetizar hidrogeles [8].

Naturales	Sintéticos	Combinaciones de polímeros sintéticos y naturales
Ácido hialurónico	PEG-PLA-PEG	P(PEG-co-péptidos)
Ácido algínico	PEG-PLGA-PEG	P(PLGA-co-serina)
Pectina	PEG-PCL	Colágeno-acrilato
Quitosano	PLA-PEG-PLA	Alginato-acrilato
Colágeno	PHB	
Quitina	PAAm	
Fibrina		

La capacidad de hinchamiento y las propiedades mecánicas de los hidrogeles han hecho posible que se utilicen en una amplia variedad de aplicaciones en el área farmacéutica y médica. Las propiedades necesarias para una aplicación específica se pueden lograr por medio de la cuidadosa selección de materiales iniciadores, el método de entrecruzamiento o modificando las técnicas de procesado.

3.2 Líquidos iónicos

Los líquidos iónicos son una clase de sales que se encuentran en estado líquido alrededor o por debajo de 100°C, estos se conforman completamente de iones, es decir, por un catión orgánico y un anión inorgánico, por ejemplo, el cloruro de sodio fundido es un líquido iónico. Este puede estar líquido a temperaturas tan bajas como a -96°C [13].

La primer “sal fundida” / “líquido iónico” que, a temperatura ambiente, se encontraba líquida fue reportada por Walden en 1914, esta sal es nitrato de etil amonio; más tarde, en los años 90’s, Wilkes y Zaworotko reportaron los primeros líquidos iónicos los cuales eran totalmente estables en presencia de agua y de aire, estos eran derivados del 1-alquil-3-metilimidazolio con tetrafluoroborato o hexafluorofosfato [14] [15].

En los últimos años, los líquidos iónicos representan un área de interés debido a las propiedades únicas con las que cuentan, tales como su: nula inflamabilidad, alta estabilidad térmica, presión de vapor inexistente, volatilidad despreciable y su capacidad de ser lubricante de materiales metálicos y cerámicos, entre otras [16] y sus posibles aplicaciones: como solvente en reacciones, en electroquímica, como medio de extracción, como electrolitos en baterías, como lubricantes, en celdas de combustible, entre otras [14].

Hablando específicamente de la aplicación de los líquidos iónicos como solventes, se encuentra reportado [13] que debido a que son biodegradables y con baja toxicidad son considerados como un solvente “verde” para procesos sustentables. Por ejemplo, en 2002 R. Rogers et al. [17] descubrieron que en algunos casos la celulosa podía incluso disolverse en líquidos iónicos, esto a través de interacciones de los grupos hidroxilos presentes en la celulosa y el anión y catión que conforman el líquido iónico; a raíz de este descubrimiento, se utilizó como una nueva alternativa para desarrollar sistemas solventes de celulosa.

Otra de las aplicaciones de gran interés de los líquidos iónicos y la cual ha sido estudiada en los últimos años, es que se ha demostrado que los líquidos iónicos mejoran la dispersión de las nanoestructuras de carbono, como los nanotubos de carbono en solución acuosa [18] [19], específicamente el 1-hexil-3-metilimidazolium hexa-fluoro-fosfato (HMIMPF₆) el cual se muestra en la Figura 2.

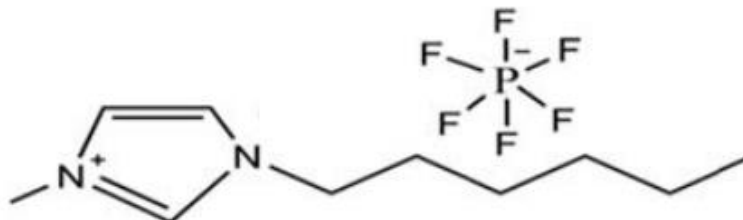


Figura 2. Líquido Iónico HMIMPF6

Se propone en la literatura, que la dispersión sucede de la siguiente manera:

Cuando los nanotubos de carbono son mezclados con líquidos iónicos, el esfuerzo de corte separa los nanotubos entre sí, una vez que los nanotubos se desprenden, se rodean inmediatamente por el líquido iónico. Es así como, la fuerte interacción entre los nanotubos de carbono está restringida por los líquidos iónicos, los cuales impiden que se vuelvan a unir después de haber realizado un mezclado. La alta energía superficial de los nanotubos de carbono se anula ya que estos están envueltos por las moléculas del líquido iónico, esto a través de fuerzas de Van der Waals y al modelo de “blindaje” propuesto por Polo-Luque, donde por medio de interacciones del tipo π - π actúa el grupo imidazolio presente en el líquido iónico con los nanotubos de carbono [20].

3.3 Nanotecnología

En 1959 Richard Feynman fue el primero en proponer que, en algún momento, los materiales podrían ser manufacturados con tamaños atómicos “*Los principios de la física, por lo que yo puedo ver, no están en contra de la posibilidad de maniobrar las cosas átomo por átomo*” – Richard Feynman [1].

La nanotecnología es el resultado de la manipulación individual de moléculas o de átomos con el objetivo de crear nuevos materiales con mejores propiedades. Es relativamente un campo nuevo de investigación donde se estudian estructuras con dimensiones de 1 a 100 nanómetros, donde un nanómetro es una billonésima parte de un metro ($1 \text{ nm} = 1 \times 10^{-9} \text{ m}$).

En la Figura 3. se muestra un esquema comparativo entre 1 picómetro (1×10^{-12} m) y 1 metro [20].

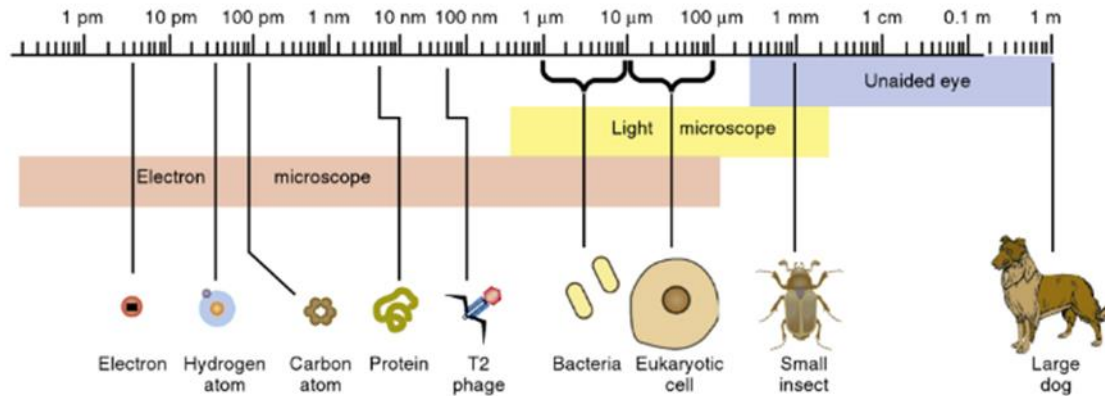


Figura 3. Comparación de 1 picómetro y 1 metro

El estudio de la nanotecnología ha sido posible gracias a los avances en la microscopía, bioquímica, fisicoquímica, entre otras ciencias, donde con la ayuda de éstas hoy es posible entender, diseñar, manipular, caracterizar y producir estructuras nanométricas.

Uno de los mayores avances de la nanotecnología es la producción y aplicación de nanopartículas en las ciencias biológicas, un ejemplo es su uso en la lucha contra células tumorales [23], agentes patógenos, entre otros. Algunos nanomateriales tienen la característica de ser antibacteriales, por ejemplo, la plata, el selenio, el cobre o el carbono han mostrado actividad antimicrobiana [24].

3.3.1 Nanomateriales

Existen diferentes tipos de nanomateriales y se clasifican de acuerdo al tipo de material que lo conforman en: metálicos, semiconductores y polímeros [22]. Algunas nanopartículas están en forma de puntos, tubos, nano láminas, nanotubos, nano discos, esferas, barras, entre otras [25].

Las nanopartículas son, actualmente, de gran interés científico debido a sus amplias aplicaciones; son un nuevo tipo de materiales, ya sea a base de cerámicos, metales, polímeros o materiales compuestos (por ejemplo: polímero-metal, polímero-cerámico), donde al menos

una de las dimensiones de las nanopartículas está en el intervalo de 1 a 100 nm [26]. Las nanopartículas conservan una razón superficie/volumen grande, esto les permite su uso en aplicaciones para materiales catalíticos, fármacos o para almacenar energía [27].

Entre las nanopartículas metálicas más comunes se encuentran las de oro, platino, paladio y plata, éstas pueden ser sintetizadas mediante algunos métodos donde se busca, en cada uno de ellos, controlar la morfología de las nanopartículas obtenidas. Existen técnicas físicas y químicas y, entre ellas, destaca la reducción química de sales metálicas en presencia de algún agente estabilizante [28].

3.4 Nanopartículas de Plata

Entre las nanopartículas metálicas destaca la plata; que se ha usado ampliamente desde la antigüedad, en tratamientos para quemaduras, heridas, para potabilizar el agua, para combatir infecciones y controlar el deterioro a nivel celular; por ello, los efectos antivirales y antibacteriales de la plata, los iones de plata y los compuestos de plata han sido estudiados ampliamente por la ciencia [2] [3] [29], esto ha hecho posible que la plata tenga aplicaciones potenciales como agente antimicrobiano [30].

Entre los campos de aplicación de la plata como agente antimicrobiano está el área dental [31] y el área médica, por ejemplo, para recubrimientos de dispositivos médicos [32].

La plata metálica es relativamente inerte, pero al momento de interactuar con la humedad de la piel o con los fluidos de una herida se ioniza, llevándola a tener efectos antimicrobianos; la plata ionizada es altamente reactiva, ésta se une a las proteínas del tejido causando cambios estructurales en la pared celular y en la membrana nuclear de la bacteria, también interactúa con los grupos azufrados de la bacteria, el resultado de este ataque es la distorsión y eventual muerte celular. La plata también es capaz de inhibir la reproducción bacteriana ya que se une a las proteínas y a los ácidos nucleicos de la bacteria produciendo su desnaturalización y, eventualmente, dando lugar a la pérdida de su estructura, su funcionamiento y de sus propiedades [29].

3.4.1 Métodos de obtención de Nanopartículas de Plata

Existe en la actualidad una gran variedad de métodos para obtener nanopartículas de plata, éstos se clasifican en químicos y físicos.

- **Métodos químicos**

Los métodos químicos son de las técnicas más utilizadas para sintetizar nanopartículas de plata, esto debido a su facilidad para ser escalados. Entre ellos, destacan la reducción radiolítica, fotoquímica y química de sales metálicas en solución, donde esta última destaca como la más empleada [28].

La reducción química de una sal metálica en solución es el método más utilizado; entre sus ventajas se encuentra que se puede controlar la distribución del tamaño, el tamaño promedio y la forma de las nanopartículas, estas características afectan las propiedades químicas y físicas finales de las nanopartículas. La manera de tener control sobre ello es modificando los parámetros de operación tales como: temperatura de reacción, protocolo de adición de componentes y la relación entre el agente reductor y el metal [33].

Esta técnica se lleva a cabo mediante el empleo de un precursor metálico, un agente reductor y algunas veces un agente estabilizante y consta de dos etapas, nucleación y crecimiento [34].

Entre los agentes reductores más utilizados en la reducción química están el borohidruro de sodio (NaBH_4), la hidrazina (N_2H_4), el citrato de sodio, la dimetilformamida: DMF ($\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}$) y la glucosa, por mencionar algunos [35].

El método de Lee-Meisel propuesto en 1982 se lleva a cabo utilizando como precursor metálico el nitrato de plata (AgNO_3) y como agente reductor el citrato de sodio.

El método de reducción química más utilizado es el Creighton propuesto en 1979, utilizando nitrato de plata y borohidruro de sodio como agente reductor.

En la Figura 4 se puede apreciar el mecanismo de la síntesis de las nanopartículas de plata (AgNPs) por medio de reducción química [36].

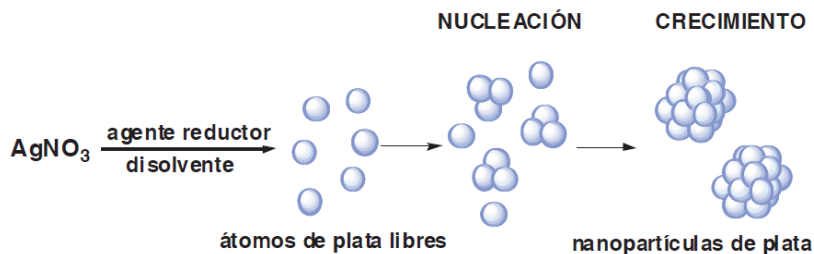


Figura 4. Mecanismo de formación de AgNPs a partir de AgNO_3

- **Métodos físicos**

Entre los métodos físicos destacan los electroquímicos, irradiación con microondas, mecano-síntesis y ablación láser.

Estos métodos han perdido relevancia a lo largo de los años por la gran inversión que representa la compra de los materiales necesarios, los costos de operación y los tiempos de ciclo necesarios para lograr los tamaños deseados. Esto está confirmado por diversos autores que describen sus metodologías, algunas se describen a continuación.

El método de mecano-síntesis consiste en pulverizar el precursor metálico con un molino de bolas hasta llegar al tamaño deseado, para lograrlo es necesaria mucha energía, los autores reportan tiempos de ciclo promedio 12 horas [37].

Otro método es la ablación láser, está basado en dirigir un láser de gran potencia a una muestra metálica con forma de disco, el cual está ubicado dentro de un líquido donde también están los precursores, el láser logra que la muestra metálica se caliente y reaccione con el precursor generando las nanopartículas, el tamaño de éstas depende principalmente de la potencia del láser [38]. El costo de esta técnica se eleva por la inversión del láser.

La técnica de irradiación con microondas es una alternativa que ofrece ciertas ventajas ya que es un método rápido y eficiente, el cual produce partículas con una distribución uniforme y estables, esto es posible porque el calentamiento homogéneo que se logra en esta técnica favorece la nucleación y el crecimiento de las nanopartículas, por lo tanto, se ve reducido el

tiempo de reacción total. Algunas nanopartículas por ejemplo de platino, plata y paladio se han preparado con esta técnica en soluciones de etilenglicol [39].

En la Tabla 3 se presentan algunos precursores, reductores y estabilizantes para sintetizar nanopartículas de plata mediante métodos químicos y físicos.

Tabla 3. Métodos químicos y físicos de síntesis de AgNPs [36].

Precursor	Reductor	Estabilizante
AgNO ₃	Citrato	
AgNO ₃	NaBH ₄	
AgNO ₃	Ácido ascórbico	
AgNO ₃	Poliol	PVP
AgNO ₃	B-D-glucosa	Almidón
[Ag(NH ₃) ₂] ⁺	Azúcares	
AgNO ₃	DMF	APS
AgNO ₃	DMF	PVP
Ag(COOR)	Termólisis	
Ag(COOCH ₃)	Acetaldehído	HDA
Ag(COOCH ₃)	OLA	OLA
[Ag(Mes)] ₄	Termólisis	HDA
AgNO ₃	Ácido ascórbico	CTAB
AgNO ₃	N ₂ H ₄ •H ₂ O	AOT
AgNO ₃	Radiación UV	PVP
AgNO ₃	Radiación UV	PEG
[Ag(C ₆ F ₅)]		HDA

3.5 Nanoestructuras de carbono

Hoy en día existen muchos y grandes avances en la ciencia, específicamente hablando de la nanotecnología, en donde el principal reto es escalar la producción desde el laboratorio hasta la industria. Las nanoestructuras de carbono, que al estar constituidas por un elemento esencial para la vida tienen grandes posibilidades de ser compatibles con infinidad de sistemas.

Desde épocas remotas el carbono es un elemento muy interesante, se puede encontrar en la naturaleza en diferentes formas alotrópicas esto es posible gracias a las condiciones de formación, algunas formas son carbono amorfo o cristalino, grafito y diamante, entre otras.

Una de la forma descubierta hace relativamente poco tiempo por Curl, Kroto y Smalley en 1985 son los fullerenos estos a diferencia del diamante y del grafito, pueden sintetizarse en solución [40].

En 1991 Sumio Iijima, un destacado físico japonés observó que al utilizar el método de vaporización de grafito por medio de descarga de arco eléctrico con el fin de producir fullerenos, se formaba una especie de agujas en los electrodos, por medio de TEM se observó que estaban formadas por estructuras en forma de tubos concéntricos y tenían hasta 50 láminas de grafito, este fue el descubrimiento de otra forma del carbono: los nanotubos de carbono, los cuales existen de pared múltiple (MWNTs) [41] [42] y con la adición de metales como fierro o cobalto a uno de los electrodos se obtenían nanotubos de pared sencilla (SWNTs) [43]. Entre sus principales propiedades han demostrado que tienen excelentes respuestas mecánicas y eléctricas.

3.5.1 Grafeno

Uno de los materiales derivados del carbono más recientes es el grafeno, el cual fue descubierto en 2004 por Kostya Novoselov y Andrei Geim, ambos científicos de la Universidad de Manchester. Esto fue posible exfoliando el grafito por medio de métodos mecánicos: con cinta adhesiva [44] y así obtener una lámina bidimensional de carbono en donde los átomos de carbono están compactados de una manera similar a un panal de abejas. Actualmente existen métodos químicos [45] y mecánicos [46] para obtener láminas de grafeno las cuales tienen el grosor de un átomo de carbono. Entre las atractivas propiedades

que exhibe el grafeno se encuentran las mecánicas, térmicas y eléctricas. En la Figura 5. se puede apreciar como luce una lámina de grafeno.

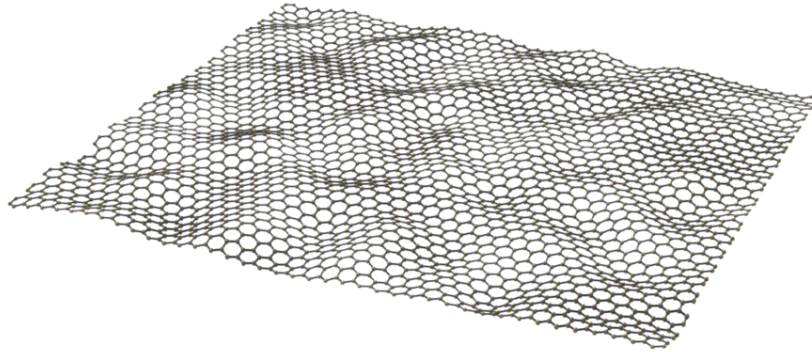


Figura 5. Lámina de grafeno [47].

3.5.2 Óxido de grafeno

Químicamente el óxido de grafeno (GO) es muy similar al óxido de grafito, pero estructuralmente son muy diferentes. El óxido de grafeno es una lámina de grafeno que está funcionalizada con distintos grupos oxigenados, tales como: hidroxilos y epóxidos que se encuentran en sus planos, y grupos carbonilo y carboxilo que están en los bordes de las láminas. Entre sus principales características se encuentra que es hidrofílico, aislante e higroscópico [48]. En la Figura 6 se muestra la estructura de una lámina de GO.

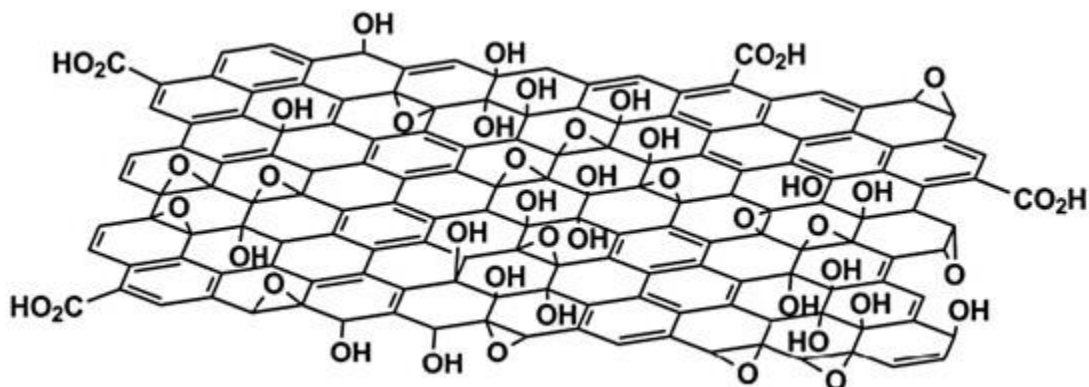


Figura 6. Estructura del óxido de grafeno [49].

La síntesis se lleva a cabo a partir de grafito, éste será sometido a una oxidación en medio ácido para llegar al óxido de grafito, el cual posteriormente se exfoliará con un tratamiento de ultrasonido en agua o agitación mecánica, para dar lugar a láminas de óxido de grafeno de aproximadamente 1 nm de espesor. En la Figura 7 se encuentra un esquema de la síntesis del GO.

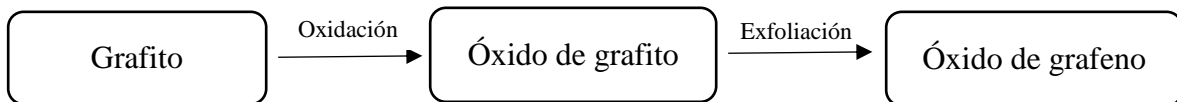


Figura 7. Síntesis del óxido de grafeno

3.5.3 Propiedades y aplicaciones generales

El grafeno es un material que ha despertado la atención de muchos científicos a partir de su descubrimiento en 2004, debido a sus excelentes propiedades electrónicas, ópticas, mecánicas y térmicas, es por ello que el grafeno es un material sumamente atractivo para aplicaciones como: transistores, sensores, películas conductoras, electrodos, celdas solares y como antimicrobiano [50].

El óxido de grafeno tiene muchas propiedades y aplicaciones interesantes, por ejemplo, los grupos oxigenados que contiene hacen que sea un material hidrofílico, por ello, las moléculas de agua que pudiera absorber darán lugar a la formación de puentes de hidrógeno, esto repercutirá de manera directa en sus propiedades mecánicas y eléctricas; también tiene características de un material semiconductor o inclusive un semimetal como el grafeno [51].

Entre sus aplicaciones destaca la electrónica flexible y los sensores químicos; por su actividad antibacteriana [52], puede utilizarse en la industria médica o alimenticia y, además, se ha demostrado que puede ser utilizado como membrana, debido a que es impermeable a gases y líquidos, excepto agua [53].

3.5.4 Actividad antimicrobiana del grafeno y del óxido de grafeno

El grafeno por sí mismo tiene aplicaciones muy interesantes, como en transistores, celdas solares o sensores. Con el fin de encontrar más aplicaciones potenciales para este material, algunas investigaciones se han enfocado en realizar estudios biológicos encaminados a conocer las interacciones entre los derivados del grafeno, como el óxido de grafeno, con microorganismos [54].

Actualmente un conjunto amplio de materiales promete impedir la adhesión y la proliferación de microorganismos en las superficies de los materiales, tales como: antibióticos, iones metálicos [55]; los problemas que estos materiales enfrentan, entre otros, son que los microorganismos crean resistencia a ellos, la contaminación ambiental que implican, así como su difícil procesamiento y costos altos [56].

Recientemente se han estudiado las propiedades antibacteriales de algunos nanomateriales para encontrar respuestas a esta dificultad, entre estos materiales se incluyen las nanopartículas de plata, de óxido de titanio y los nanotubos de carbono [57].

En el año 2010 Shen et al. reportaron la síntesis de un nanocompuesto de grafeno con plata, los cuales mostraban una actividad antibacteriana contra el *Colibacillus*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, se observó que pudieron destruir por completo los cultivos [4].

El óxido de grafeno por su parte puede usarse en aplicaciones tales como purificador de agua, almacén de energía o como un agente antimicrobiano. También existen reportes de que el óxido de grafeno tiene una fuerte actividad antimicrobiana contra una amplia variedad de microorganismos incluyendo hongos y bacterias Gram positivas y Gram negativas, ya que son capaces de penetrar la membrana celular de un microorganismo produciendo estrés oxidativo e inhibiendo su reproducción [58].

En 2010, Omid Akhavan y Elham Ghaderi estudiaron la toxicidad del grafeno y óxido de grafeno frente a *E. coli* y *S. aureus*, donde demostraron con base en pruebas antimicrobianas que las láminas de grafeno inhibieron mejor el crecimiento bacteriano que el óxido de grafeno [5].

Por otra parte, en 2012 Karthikeyan Krishnamoorthy et al. evaluaron bacterias Gram positivas como *S. aureus* y Gram negativas como *E. coli*, utilizando láminas de grafeno como agente antimicrobiano, entre sus resultados muestran que las láminas de grafeno son más tóxicas para las bacterias Gram negativas que para las Gram positivas [59].

Es por ello que resulta atractivo e innovador el uso de las láminas de grafeno u óxido de grafeno hacia aplicaciones biomédicas como agente antibacteriano.

En el apéndice #1 se presenta más a detalle las diferencias entre las bacterias Gram positivas y Gram negativas.

3.6 Curación Húmeda

Las heridas crónicas como las úlceras y las heridas agudas tales como las postquirúrgicas siempre han estado presentes en la práctica clínica; el cuidado de éstas se encuentra enfocado en que tengan un cierre rápido, libre de bacterias y con una adecuada cicatrización.

Este es uno de los grandes retos de este siglo, en donde se han comenzado a desarrollar distintas técnicas para generar apósitos o vendajes que logren la curación de heridas de una manera rápida y lo menos invasiva posible para el paciente. Una alternativa que ha tenido grandes avances es la curación en ambiente húmedo; se ha reportado incluso que ésta es menos costosa y más rápida que la curación tradicional [60].

El primer reporte que se ha encontrado en la literatura, acerca de la curación húmeda, data del año 1962 en donde George Winter demostró que las heridas de cerdos que se mantenían en un ambiente húmedo, epitelizaban (regeneración del tejido de la epidermis) mejor y dos veces más rápido que las que estaban expuestas al medio ambiente [61]. Este trabajo dio pie para que comenzara la evolución de los apósitos tradicionales para la cura de heridas y, así promover la curación de heridas en ambiente húmedo.

En los últimos 20 años, algunos autores [62] [63] [64] han señalado que manteniendo una herida húmeda se promueve el proceso de curación en un 50% bajo los siguientes fundamentos:

- Bajo el ambiente húmedo se previene la deshidratación del tejido y, por ende, la muerte celular.
- Aumenta la epitelización; las heridas que forman costra disminuyen el suministro de sangre y de nutrientes lo cual actúa como barrera para que exista la migración celular y, por lo tanto, ocurre una lenta epitelización.
- El dolor disminuye cuando las heridas son cubiertas por un vendaje oclusivo ya que el medio húmedo protege las terminaciones nerviosas.

Es por ello que la generación de nuevos materiales que promuevan la curación húmeda es uno de los grandes avances científicos que existen hoy en día con el único fin de mejorar la calidad de vida de un paciente.

3.7 Actividad microbiana en sustratos textiles para uso médico

Actualmente, en la lucha para prolongar la vida de una manera digna, la ciencia ha destinado gran parte de sus esfuerzos a facilitar, por ejemplo, el combate de una enfermedad o la curación de una herida; en este contexto la industria textil ha encontrado que es posible el desarrollo o la modificación de telas para que ofrezcan diferentes usos, tales como, proteger el cuerpo contra enfermedades, virus, bacterias, contra las radiaciones a las que diariamente se está expuesto o, incluso, telas que disipen o conserven el calor corporal para utilizarse en condiciones ambientales extremas.

Los tejidos textiles representan una manera directa de actuar sobre algunas afecciones, la tela o fibras actuarían como sustrato para que, con algún tipo de nanopartícula, sean parte de la solución de algunos problemas; tales como, la correcta cicatrización de heridas, evitar infecciones cutáneas después de alguna cirugía o para impedir la propagación de bacterias a través de ropa clínica o quirúrgica; todo esto es posible usándose además en materiales de curación, como lo son las gasas y vendas o, para campos estériles.

El Instituto Tecnológico de Massachusetts es uno de los centros más importantes de investigación en el área textil, recientemente han trabajado en el desarrollo de telas propias para diabéticos, las cuales tienen la capacidad de medir niveles de glucosa; así como,

investigaciones acerca del uso de fibras con algún tipo de fármaco incorporado como antibióticos o vitaminas [65].

Por otra parte, en la Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) la Dra. Keiko Shirai Matsumoto [66] ha logrado desarrollar un proceso para la fabricación de piezas textiles con nueva tecnología, esto se logró incluyendo micro cápsulas en ellas, las cuales tienen aceites, perfumes, bactericidas o repelentes. La pieza textil tendría características atractivas, por ejemplo, que la liberación controlada de las micro cápsulas emita algún olor agradable que se prolongue por mucho tiempo, o que al usar quitosano se incluya a la pieza textil actividad antimicrobiana. La investigadora asegura que la creciente demanda de textiles que tengan otra función, además de la principal que es de protección, hace posible que surjan proyectos de este tipo, menciona incluso que aplicaciones potenciales se encuentran en el área médica, como apósitos o ropa clínica.

En el año 2008 Maneerung y Tokura estudiaron la celulosa bacteriana que es un polímero que se obtiene por medio de la fermentación de ciertos organismos, presenta la misma estructura química que la celulosa natural y es biocompatible, tiene aplicaciones posibles en la industria alimenticia o en la medicina. En el mercado ya se encuentran productos comerciales de celulosa bacteriana como el Biofill® que se utiliza para cubrir heridas, o algunos otros como sustituto temporal de piel para tratar quemaduras o úlceras [67]. Dichos autores encontraron que, a pesar de que la celulosa bacteriana es un material muy interesante para utilizarse como apósito para heridas, no ofrecía actividad antimicrobiana para prevenir infecciones en las heridas; para lo cual le añadieron nanopartículas de plata. En sus resultados reportan que la celulosa bacteriana impregnada con las nanopartículas exhibió una fuerte actividad antimicrobiana frente a bacterias Gram positivas como *S. aureus* y Gram negativas como *E. coli*, las cuales son bacterias típicas de una herida contaminada [68].

3.8 Nanopartículas de plata y grafeno u óxido de grafeno como alternativa para combatir microorganismos

En la literatura existen algunos reportes donde sugieren el uso combinado de nanopartículas de plata y grafeno u óxido de grafeno en una matriz de hidrogel con el objetivo de combatir microorganismos. En 2015, Xiangkang Zeng et. al. desarrollaron un material a base de

hidrogel, óxido de grafeno reducido (r-GO) y nanopartículas de plata como alternativa para desinfectar agua, evaluando su comportamiento frente a la bacteria *E. coli*. Las concentraciones que los autores evaluaron [69], se presentan en la Tabla 4.

Tabla 4. Relaciones utilizadas de AgNPs vs r-GO por Xiangkang Zeng et al.

Muestra	Partes de AgNPs	Partes de r-GO
1	0.5	1
2	0.17	1
Control	0	1

Por otro lado, en 2014 Zengjie Fan et. al. realizaron un trabajo similar en donde, además de evaluar la bacteria *E. coli* incluyeron *S. aureus*. Ellos prepararon un hidrogel en el que incorporaban diferentes relaciones de nanopartículas de plata y grafeno, en la Tabla 5 se presentan las distintas relaciones que se utilizaron [70].

Tabla 5. Relaciones utilizadas de AgNPs vs grafeno por Fan et al.

Muestra	Partes de AgNPs	Partes de Grafeno
1	0	1
2	1	1
3	5	1
Control	0	0

Es importante mencionar que la aplicación final reportada por Fan et. al. es de un apósito para heridas; realizaron pruebas *in vitro* e *in vivo* teniendo como resultados excelente actividad antimicrobiana contra ambas bacterias evaluadas: *E. coli* y *S. aureus*, además de acelerar el proceso de curación de la herida.

3.9 Metodologías de dispersión de grafeno u óxido de grafeno con líquido iónico

En la literatura se encuentran publicadas, básicamente, dos tipos de metodologías para hacer la dispersión de G u GO, en presencia de un líquido iónico, éstas consisten en:

- Realizar un mezclado en un mortero directamente entre el líquido iónico y el grafeno [71] [72] [73].
- Utilizar una solución estable del líquido iónico como dispersante [74] [75] [76].

Polo-Luque et. al., en 2013 [73] [77] sugieren dos metodologías para la incorporación de nanotubos de carbono (CNT), una de ellas es hacer un mezclado manual de CNT con líquido iónico hasta lograr una mezcla homogénea y, por otra parte, además de realizar la mezcla de CNT y el líquido iónico, posteriormente, se llevan a ultrasonido, siendo reportada ésta última como la menos favorable. Ellos proponen un mecanismo de cómo es que los CNT se dispersan en presencia de un líquido iónico después del mezclado; en la Figura 8 se encuentra el esquema sugerido.

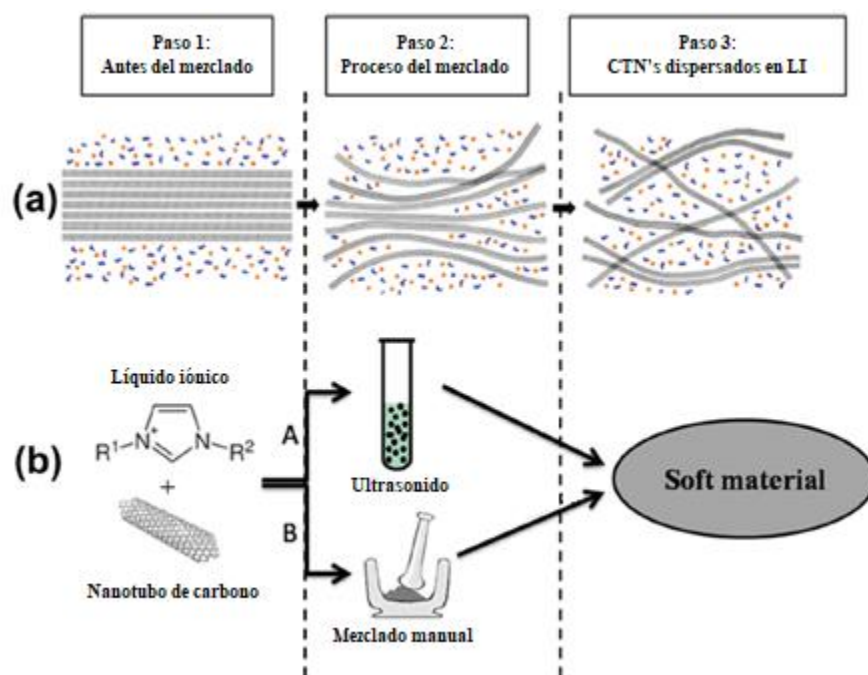


Figura 8. a) Dispersión de CNT en líquido iónico. b) Metodologías para la mezcla de CNT y líquido iónico [77].

Además de proponer las metodologías de dispersión Polo-Luque también sugieren extraer el líquido iónico mediante un lavado con metanol y finalmente se dejan secar los CNT, ya dispersos, a temperatura ambiente.

Por otra parte, Zhang et al. en 2010 [76] dispersaron nanotubos de carbono de pared múltiple (MWCNTs) en solución, ellos mezclaron los MWCNTs con el líquido iónico en presencia de dimetilformamida (DMF) con ayuda de agitación y ultrasonido, posteriormente, evaporaron el solvente a temperatura ambiente; entre sus resultados reportan que bajo esta metodología obtuvieron una buena dispersión de MWCNTs.

4. HIPÓTESIS

El uso de un líquido iónico permitirá obtener un mejor desempeño antimicrobiano de sustratos textiles impregnados con hidrogel-nanopartículas de plata y grafeno o sus derivados, al favorecer la incorporación y, por lo tanto, promover una mejor interacción entre el sistema hidrogel-nanopartículas de plata y la nanoestructura de carbono utilizada.

5. OBJETIVOS

5.1 General

Estudiar el efecto de un líquido iónico (HMIMPF₆) sobre la incorporación de grafeno u óxido de grafeno en un hidrogel con nanopartículas de plata, impregnados en un sustrato textil, para la obtención de apósitos y analizar las propiedades antimicrobianas del material obtenido.

5.2 Específicos

- Obtención y caracterización de recubrimientos asépticos de uso médico a base de sustratos textiles, como venda comercial, impregnada con hidrogel y nanopartículas de plata.
- Potencializar la actividad antimicrobiana en los sustratos con nanopartículas de plata incorporando el grafeno u óxido de grafeno al sistema.
- Estudiar el efecto del líquido iónico sobre la incorporación del grafeno/óxido de grafeno y la actividad antimicrobiana de los apósitos obtenidos.
- Tratar de elucidar las posibles interacciones entre el líquido iónico y las nanoestructuras de carbono utilizadas.

6. PARTE EXPERIMENTAL

6.1 Materias Primas

A continuación, se presentan los reactivos y los materiales que se han utilizado en la parte experimental del proyecto.

6.1.1 Reactivos

En la Tabla 6 se muestran los reactivos utilizados para la síntesis del hidrogel y de las nanopartículas de plata.

Tabla 6. Reactivos

Reactivos	Fórmula	Peso molecular g/mol	Aspecto	Solubilidad en Agua	Proveedor
Preparación del Hidrogel					
Ácido acrílico <i>Monómero</i>	C ₃ H ₄ O ₂	72.06	Líquido incolore	Totalmente miscible	Sigma- Aldrich
Ácido itacónico <i>Co-monómero</i>	C ₅ H ₆ O ₄	130.1	Cristales color crema	-	Sigma- Aldrich
2-2'-Azobis(2-metilpropionamida) dicloridrato <i>Iniciador</i>	C ₈ H ₁₈ N ₆ · 2HCl	271.19	Granulado Amarillo claro	Ligeramente soluble	Sigma- Aldrich
N, N'-Metilenebis(acrilamida) <i>Agente entrecruzante</i>	C ₇ H ₁₀ N ₂ O ₂	154.17	Sólido	20g/L a 20°C	Sigma- Aldrich
Preparación de las nanopartículas					
Nitrato de plata	AgNO ₃	169.87	Sólido blanco	-	CTR
Borohidruro de sodio	NaBH ₄	37.83	Polvo blanco	55g/L a 25°C	Sigma- Aldrich
Incorporación de G u GO con IL					
Hexafluorofosfato de 1-hexil-3-metil- imidazolio <i>Líquido iónico</i>	C ₁₀ H ₁₉ F ₆ N ₂ P	312.24	Líquido amarillo	-	Sigma-Aldrich
Grafeno	C	12.01	Polvo gris	-	Sigma-Aldrich
Óxido de grafeno	C _x O _y H _z	-	Lámina negra	-	LNMG (CIQA)

Nota: Todos los reactivos se utilizaron tal como se recibieron del proveedor.

6.1.2 Materiales

La composición del sustrato textil utilizado para la preparación del recubrimiento aséptico, mediante su impregnación con hidrogel, nanopartículas de plata y grafeno/óxido de grafeno se muestra a continuación:

- Venda comercial: 60% algodón / 40% poliéster

6.2 Preparación del sustrato antimicrobiano

Algunos autores han reportado que, para favorecer la curación de una herida, es necesario mantener el medio húmedo [78] [79], esto es posible utilizando p. ej. hidrogeles como medio para conservar las AgNPs y el grafeno (G) u óxido de grafeno (GO) adheridos a la piel.

Para lograr un sustrato textil con actividad antimicrobiana se preparó un hidrogel mediante la copolimerización radicalica de ácido acrílico con ácido itacónico con el cual se impregnó el sustrato textil para posteriormente sintetizar “*in situ*” AgNPs y, por último, incorporar el G u GO con la finalidad de lograr la mayor actividad antimicrobiana posible en el sustrato.

6.2.1 Parte I: Preparación del sustrato con hidrogel

Para la preparación del hidrogel, se realizaron una serie de pruebas para determinar la temperatura y el tiempo de reacción más adecuado para obtener un hidrogel con la viscosidad adecuada y lograr que el sustrato, conserve una textura suave al tacto estando seco. Por último, obtener un recubrimiento antimicrobiano con las características físicas adecuadas para ser utilizado sobre heridas, laceraciones, quemaduras, etc. Delgado-Rodríguez [80] en 2013 sugirió una ruta para la preparación del hidrogel, la cual se presenta a continuación:

“Se preparó el hidrogel de ácido acrílico/ácido itacónico en una concentración 80/20 % en peso respectivamente, la reacción fue llevada a cabo en un medio acuoso en un volumen de 50 mL en presencia de agua desionizada. Se añadió, como iniciador, 0.4% en peso de 2-2'-Azobis(2-metilpropionamida) dicloridrato y 0.75% en peso de N, N'-Metilenebis(acrilamida) como entrecruzante. La reacción fue llevada a cabo en un vaso de

precipitado sobre una parrilla de calentamiento con agitación magnética a aproximadamente 60°C hasta la formación del hidrogel.”

Se tomó como base de la síntesis, los cálculos y la temperatura reportada por Delgado-Rodríguez [80]; sin embargo, a lo largo de las pruebas preliminares se establecieron nuevas temperaturas y se determinaron los tiempos aproximados de reacción.

Finalmente, y después de determinar los parámetros más adecuados se realizó la síntesis del hidrogel; una vez transcurridos, aproximadamente, 10 minutos de reacción se introdujo el sustrato en el medio con la finalidad de lograr la impregnación máxima de hidrogel en la venda comercial.

6.2.2 Parte II: Preparación del sustrato con hidrogel/AgNPs

Una vez establecidas las condiciones de preparación del hidrogel se procedió a realizar la síntesis de AgNPs mediante reducción química, utilizando como sal precursora el AgNO_3 y como agente reductor el NaBH_4 . Delgado-Rodríguez reporta diferentes procedimientos para la preparación y/o incorporación de AgNPs y, finalmente concluye que la manera más adecuada para la obtención de AgNPs es realizar la síntesis “*in situ*” en el sustrato textil; por otra parte, también indica la relación de $\text{NaBH}_4:\text{AgNO}_3$ (0.75:1) que se utilizó para la síntesis “*in situ*” de las AgNPs, la cual se tomó como base para obtener las distintas concentraciones de AgNPs en las muestras.

Se siguió la ruta de preparación del hidrogel, una vez introducido el sustrato (venda comercial) al medio de reacción, se agregaron los mililitros necesarios extraídos de una solución madre de AgNO_3 con una concentración 2.188 M, para obtener las distintas concentraciones propuestas (0.06 M, 0.1 M, 0.14 M, 0.2 M). Se continuó con la agitación durante 2 minutos más para, posteriormente, dejar secar el sustrato a temperatura ambiente, durante 24 horas.

Una vez transcurridas las 24 horas de secado, el sustrato se introdujo en una solución de NaBH_4 frío ($\pm 3^\circ\text{C}$) a la concentración necesaria (0.045 M, 0.075 M, 0.105 M, 0.15 M)

durante 3 horas, para reducir los iones de Ag^+ a Ag^0 . Posteriormente, se enjuagó 3 veces en agua desionizada y se procedió a secarlo en una estufa a 50°C durante 24 horas.

Se utilizaron dos metodologías para la reducción con NaBH_4 ; incorporar el borohidruro de sodio en solución, para lo cual se preparó una solución madre del reactivo con una concentración 1.5 M, con el objetivo de disminuir el error experimental. Se toman, de esta solución, los mililitros necesarios para obtener la concentración requerida en cada muestra.

Como segunda metodología para la reducción con NaBH_4 en lugar de utilizar la solución madre, se prepararon las soluciones a las concentraciones necesarias en el momento, es decir, se disolvieron los gramos necesarios en agua desionizada momentos antes de introducir el sustrato impregnado con hidrogel y AgNO_3 .

En la Tabla 7 se presentan las concentraciones finales utilizadas para la preparación de cada una de las muestras; manteniendo la relación $\text{NaBH}_4:\text{AgNO}_3$ (0.75:1).

Tabla 7. Concentraciones para preparar AgNPs “*in situ*” en el sustrato textil

Muestra	Concentración Experimental AgNO_3 [M]	Concentración Experimental NaBH_4 [M]
1	0.06	0.045
2	0.1	0.075
3	0.14	0.105
4	0.2	0.15

6.2.3 Parte III: Preparación del sustrato con hidrogel/AgNPs/G u GO; con y sin líquido iónico.

Después de obtener un sustrato textil impregnado con hidrogel y nanopartículas de plata a distintas concentraciones se procedió a realizar la incorporación del G u GO utilizando un líquido iónico para promover su incorporación y adecuada dispersión.

En la literatura se encuentran reportadas algunas metodologías para llevar a cabo la incorporación y dispersión de grafeno/óxido de grafeno utilizando líquido iónico, por ejemplo, Polo-Luque sugiere hacer un mezclado manual entre el líquido iónico y la nanoestructura de carbono, mientras que Zhang propone hacer la dispersión en solución, sin embargo, éste último utiliza como solvente dimetilformamida (DMF). Por otra parte, considerando que este solvente es tóxico y que los líquidos iónicos del tipo $[PF_6]^-$ tienden a hidrolizarse en condiciones de calor y acidez formando iones activos de flúor [81] [82], se propuso incorporar el metanol como solvente del sistema, ya que este ha sido utilizado por Polo-Luque para retirar el líquido iónico después de dispersar la nanoestructura de carbono, en este caso, el grafeno u óxido de grafeno.

Con base en lo reportado por diversos autores [76] [77] respecto al uso del líquido iónico para la dispersión de nanoestructuras de carbono se implementó una metodología, que consiste en realizar primero un mezclado manual del grafeno u óxido de grafeno con el líquido iónico y, posteriormente, incorporar metanol al sistema para lograr una solución de G u GO/líquido iónico en metanol.

Esta metodología mostró muy buenos resultados para la incorporación del grafeno u óxido de grafeno a la venda con hidrogel y nanopartículas de plata. Se realizaron una serie de pruebas preliminares con la única finalidad de conocer el tiempo necesario para que la impregnación del grafeno u óxido de grafeno sea máxima. Se impregnaron dos tipos de sustrato: venda “virgen” (blanco) y venda con hidrogel, ambos con y sin líquido iónico.

A continuación, se describe de manera más detallada la metodología para llevar a cabo la incorporación y dispersión del grafeno u óxido de grafeno:

Se coloca en un vaso de precipitado la cantidad a utilizar de grafeno u óxido de grafeno, posteriormente, se añaden 0.5 mL de líquido iónico, se realizó un mezclado manual por espacio de 10 minutos hasta lograr una consistencia homogénea grafeno-líquido iónico. Finalmente se aforó el vaso de precipitado hasta 25 mL con metanol. Es importante señalar que, para la prueba sin líquido iónico simplemente se colocó el grafeno y se aforó con metanol al volumen indicado.

Sobre una parrilla con agitación magnética se coloca el vaso de precipitado con una barra magnética del tipo oval-lisa y uno de los dos sustratos: venda “virgen” (V) o venda con hidrogel (V_H). Se inicia la agitación y se continúa hasta por 8 horas como tiempo máximo, se hicieron evaluaciones visuales a los siguientes tiempos: 5, 15, 30, 45 minutos; 1, 2, 4 y 8 horas. Posteriormente, se retira la venda del vaso y se deja secar ahora impregnada también con grafeno u óxido de grafeno, a temperatura ambiente, durante 24 horas.

De acuerdo a la metodología descrita previamente y, una vez establecido el tiempo de impregnación requerido, se inició con la incorporación del grafeno u óxido de grafeno a las vendas con hidrogel y nanopartículas de plata. Este procedimiento se realizó, con y sin líquido iónico, para dos concentraciones de AgNPs (3.114 ppm y 3.851 ppm).

En la Tabla 8 se presentan las concentraciones utilizadas de grafeno u óxido de grafeno, éstas se establecieron en función de la concentración de nanopartículas de plata, previamente determinadas mediante espectroscopia (ICP), presentes en cada muestra.

Tabla 8. Contenidos utilizados de AgNPs y de grafeno u óxido de grafeno

Muestra	Concentración AgNPs (ppm)	Concentración G u GO (ppm)	Masa G (g)	Masa GO (g)
2	3.114	31.14	0.0007785	0.0007785
3	3.851	38.51	0.0009628	0.0009628

6.3 Serie de Experimentos

En la Figura 9 se presenta la serie de experimentos final del proyecto, éste se encuentra dividido en cinco etapas con su respectiva identificación en la parte superior. Es importante señalar que, conforme se avanzaba a la siguiente etapa, se fueron descartando algunos sistemas con base en la caracterización de éstos hasta llegar al sistema final y más adecuado de acuerdo a los objetivos del proyecto.

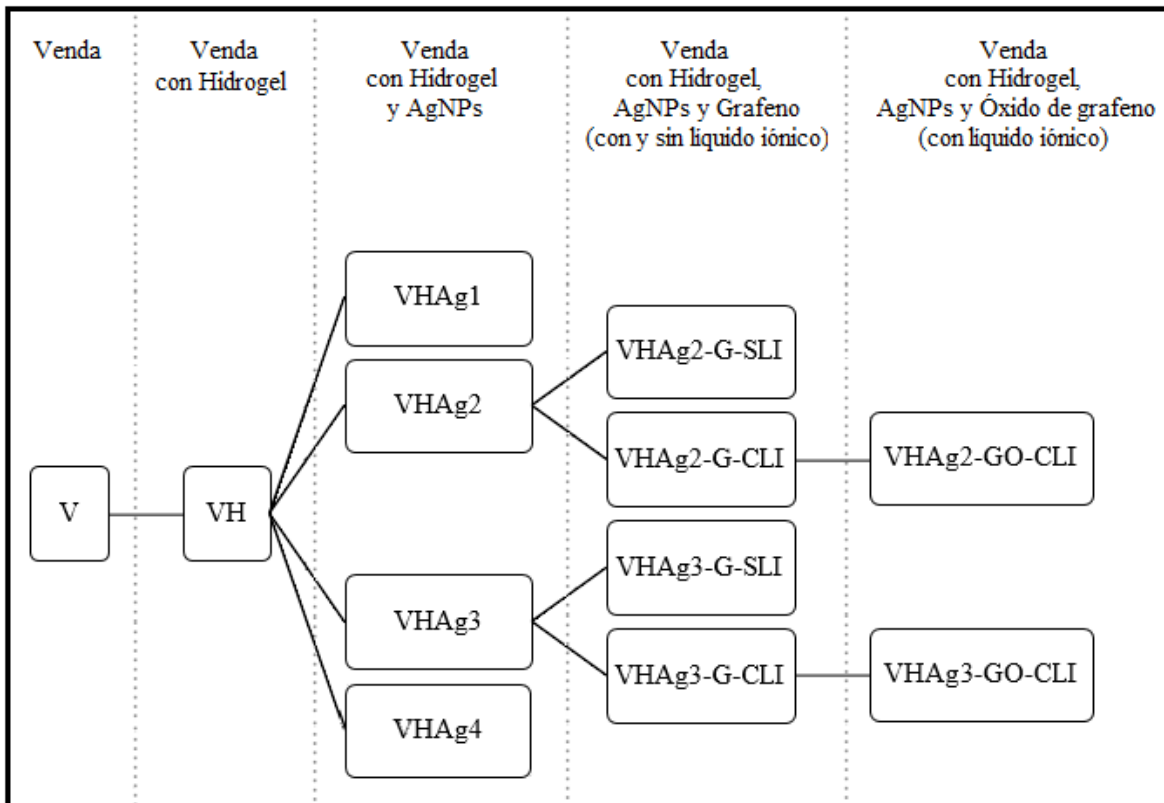


Figura 9. Serie de Experimentos del proyecto

6.4 Caracterización de los sustratos impregnados con hidrogel/AgNPs o hidrogel/AgNPs/G u GO; con y sin líquido iónico

Se utilizaron distintas técnicas para evaluar las muestras, las cuales se presentan a continuación.

- Difracción de rayos X de ángulo amplio (WAXD)

Se realizaron estudios mediante WAXD en un difractómetro de rayos X marca Siemens D-5000, en un intervalo 2θ de $4-80^\circ$, con un paso angular de 0.06° y un tiempo de paso de 2 segundos, con una intensidad de 25 mA y un voltaje de 35kV con el fin de comprobar, por medio de la identificación de las bandas, la presencia de los planos característicos de la plata.

- Espectroscopia de emisión de plasma

Se realizó el análisis cuantitativo por ICP con el objetivo de determinar el contenido de plata presente en cada una de las muestras. La preparación de las muestras consistió en sumergir el sustrato en 5 mililitros de agua regia (HCl:HNO₃) en la relación 3:1, durante 1 hora a 90°C, para posteriormente aforarlas a un volumen de 50 mililitros y proceder a la caracterización.

- Espectroscopia infrarroja

Con el objetivo de recabar información sobre los grupos funcionales que están presentes en las diferentes muestras se utilizó un espectrofotómetro infrarrojo por reflectancia total atenuada (IR-ATR), modelo Magna-IR 550, de la marca Nicolet, el intervalo espectral fue de 400 a 4000 cm⁻¹ con aproximadamente 100 barridos por muestra.

- Pruebas antimicrobianas

Se realizaron las pruebas en colaboración con la Facultad de Medicina de la UAdeC. Las bacterias a evaluar fueron *S. aureus* y *E. coli*. Las pruebas se realizaron en agar-sangre humana al 5%, la metodología consistió en la siembra de la bacteria en cada caja Petri por el método de difusión de placa, seguido de esto, se colocó la venda sobre el agar, para finalmente hidratarla con solución fisiológica; los agares se cultivaron a una temperatura controlada de 37°C durante 24 horas.

- Microscopía electrónica de barrido

Para poder realizar un análisis de la morfología, tamaño y dispersión de las nanopartículas de plata, de la presencia del hidrogel y de la influencia del líquido iónico sobre la dispersión del grafeno, se recurrió a la técnica de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo, en un equipo marca JEOL modelo JSM-7401F con una potencia de 10 y 15 kV. La preparación de la muestra consistió en su recubrimiento con oro-paladio y depositarla en un portamuestras de bronce, el cual se introduce al equipo para, posteriormente, generar vacío.

7. RESULTADOS Y DISCUSIONES

7.1 Síntesis del hidrogel e impregnación de sustrato

En la primera etapa del proyecto, se realizó la síntesis del hidrogel tomando como base la metodología propuesta por Delgado-Rodríguez en 2013.

En la Tabla 9 se muestran algunos de los tiempos y las temperaturas de reacción, más representativas, evaluadas para llegar a obtener el hidrogel con el grado de entrecruzamiento adecuado y, por tanto, el sustrato textil con la consistencia requerida (agradable al tacto) para su aplicación, p.ej. sobre heridas o laceraciones en forma de apósito.

Tabla 9. Temperaturas y tiempos de reacción

Temperatura (°C)	Tiempo (min)	Observaciones	Consistencia final del sustrato
63	40	No se formó el hidrogel	-
65	40	No se formó el hidrogel	-
67	30	No se formó el hidrogel	-
68	15-17	No se formó el hidrogel	-
70	15-17	Sustrato con hidrogel	Suave
71	15-17	Sustrato con hidrogel	Suave
73	15-17	Sustrato con hidrogel	Suave
75	15-17	Sustrato con hidrogel	Rígido
76	15-17	Sustrato con hidrogel	Muy rígido
78	15-17	Sustrato con hidrogel	Muy rígido

Los parámetros establecidos, después de realizar las pruebas preliminares, para las pruebas subsecuentes fueron los siguientes:

- Proporción 80/20 % en peso de ácido acrílico/ácido itacónico
- 0.4% en peso 2-2'-Azobis(2-metilpropionamida) di-clorhidrato como iniciador y 0.75% en peso de N, N'-Metilenebis (acrilamida) como entrecruzante
- Temperatura de reacción: entre 70 y 73°C
- Tiempo de reacción: 15-17 min

7.2 Síntesis de nanopartículas de plata

Después de haber establecido las condiciones más adecuadas para preparar el hidrogel, se procedió a hacer la síntesis de AgNPs “*in situ*” directamente en el sustrato textil, después de haber sido impregnado con hidrogel. Se realizó la síntesis a través de la reducción química de nitrato de plata con borohidruro de sodio, para reducir los iones Ag^+ a Ag^0 .

Una vez sintetizado el hidrogel e impregnado el sustrato textil (venda) con éste y con nitrato de plata se dejó secar a temperatura ambiente. Transcurridas 24 horas, el sustrato se encontraba de un color muy similar al color natural de la venda.

Posteriormente, se introdujo la venda ya seca en una solución de borohidruro de sodio, al contacto con ésta, la venda adquirió un color café oscuro, lo cual se menciona en la literatura como indicio de la formación de las nanopartículas de plata [83] [84] [85].

Se puede apreciar en la Figura 10, las fotografías de cada una de las muestras obtenidas, se observa en cada muestra una coloración café oscuro que conforme aumentaba la concentración utilizada, de nitrato de plata y de borohidruro de sodio, esta coloración adquiría un tono más oscuro.





<p>Venda con hidrogel y nanopartículas de plata. Muestra #1₂ VHA_g1</p>	<p>Venda con hidrogel y nanopartículas de plata. Muestra #2₂ VHA_g2</p>
	
<p>Venda con hidrogel y nanopartículas de plata. Muestra #3₂ VHA_g3</p>	<p>Venda con hidrogel y nanopartículas de plata. Muestra #4₂ VHA_g4</p>
	

Figura 10. Venda con hidrogel y nanopartículas de plata

7.3 Incorporación del grafeno u óxido de grafeno con y sin líquido iónico al sustrato textil

Para finalizar, en la última etapa del proyecto, se incorporó al sustrato textil ya con nanopartículas de plata, el grafeno u óxido de grafeno con la finalidad de tratar de

potencializar la actividad antimicrobiana; esto se llevó a cabo con y sin líquido iónico para favorecer la dispersión de la nanoestructura de carbono utilizada.

Se realizaron una serie de pruebas preliminares con el objetivo de conocer el tiempo necesario para lograr la máxima impregnación posible. En la Tabla 10 se muestran algunas imágenes de cómo fue ocurriendo el proceso de impregnación. Se realizó un seguimiento visual a diferentes tiempos: 5, 7, 9, 11, 14 y 30 minutos.

En las muestras sin líquido iónico (SLI) se observó a distintos tiempos, hasta un máximo de 8 horas, que el G u GO no logró adherirse por completo a la venda “virgen” (V) y a la venda con hidrogel (V_H), aún después de haber transcurrido tiempos largos.

































Por otra parte, se pudo apreciar, en las muestras con líquido iónico (CLI) que el grafeno u óxido de grafeno fueron adhiriéndose poco a poco tanto a la venda virgen (V) como a la venda con hidrogel (V_H); observándose que a los 30 minutos se habían adherido por completo a la venda.

Ha sido reportado, por diversos autores [71] [72] [74] [75], que la presencia de líquido iónico promueve la dispersión adecuada de nanopartículas derivadas del carbono en diferentes medios; lo observado en estas pruebas corroboran que la presencia del líquido iónico en estos sistemas permitió una dispersión adecuada en el sustrato textil.

Este fenómeno, probablemente, puede ser atribuido a que sucedió alguna interacción del tipo π - π entre el grafeno y el líquido iónico; ya que se encuentra reportado que, al realizar un mezclado manual entre nanotubos de carbono y un líquido iónico del tipo imidazolio, el esfuerzo de corte realizado separa a los nanotubos entre sí, una vez separados, el líquido iónico rodea sus bordes impidiendo que estos vuelvan a unirse [86].

Por lo tanto, se sugiere que después de llevar a cabo el mezclado manual entre el grafeno y el líquido iónico, las láminas de grafeno se separaron lo suficiente, lo cual permitió una adhesión más fácil tanto a las fibras de la venda “virgen” y a la venda con hidrogel.

Tabla 10. Impregnación de las nanoestructuras de carbono a diferentes tiempos, en venda “virgen” (V) y venda con hidrogel (V_H), con y sin líquido iónico (LI).

Tiempos	Venda sin LI	Venda con LI	VH sin LI	VH con LI
Inicio				
3 min				
5 min				
7 min				
9 min				
11 min				
14 min				
30 min				

Después de las pruebas preliminares para determinar el tiempo más adecuado para la impregnación, se estandarizó para las siguientes pruebas un tiempo fijo de 30 minutos; ya que como ha sido mencionado, a este tiempo, ya había sido totalmente incorporado el G o GO a la venda; posteriormente, se extrae el sustrato y se deja secar a temperatura ambiente durante 24 horas para obtener un sustrato con nanopartículas de plata, grafeno u óxido de grafeno, con y sin líquido iónico.

7.4 Caracterización

Para evaluar los sustratos obtenidos en cada una de las etapas del proyecto, previamente descritas se utilizaron distintas técnicas de caracterización.

A continuación, se presentan la serie de resultados obtenidos para cada uno de los sustratos: venda con hidrogel, venda con hidrogel/AgNPs y venda con hidrogel/AgNPs/G u GO; con y sin líquido iónico.

7.4.1 Caracterización del sustrato textil con hidrogel

7.4.1.1 Espectroscopia infrarroja - ATR

En la Figura 11 se muestra el espectro infrarrojo obtenido de la venda “virgen” (V) y de la venda impregnada con hidrogel (VH), se puede apreciar que la banda localizada en la longitud de onda de 1700 cm^{-1} corresponde al grupo C=O del éster [87] que está presente tanto en la venda como en los monómeros, dicha banda es más intensa en la muestra que contiene hidrogel; por otra parte, analizando la banda ubicada en la longitud de onda entre $2850\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ se puede ver como se ensancha un poco en la muestra con hidrogel, esto sucede por el aumento de enlaces de carbono e hidrógeno tales como $-\text{CH}_2$ y $-\text{CH}_3$, por lo tanto, los cambios de dichas bandas en las muestras analizadas es un indicio de la presencia del hidrogel en la venda.

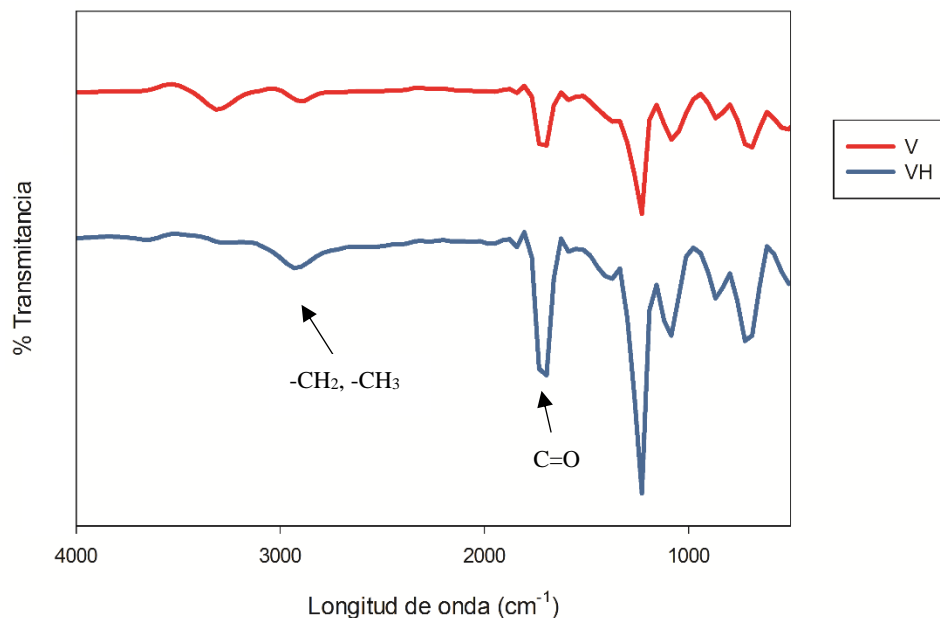


Figura 11. Espectro infrarrojo de la venda con y sin hidrogel

7.4.2 Caracterización del sustrato textil con hidrogel y AgNPs

7.4.2.1 Difracción de rayos X

La Figura 12 muestra el patrón de difracción de rayos X del sustrato impregnado con hidrogel y AgNPs, además de un difractograma como referencia de plata [88], el difractograma del sustrato muestra algunos hombros bien definidos tanto del algodón presente en la venda como de la estructura cristalina de la plata; el algodón está presente en los 17° y 23° con los planos (101) y (002) respectivamente [89] [90], por otra parte en los 38.5°, 45°, 64.5° y ligeramente en los 78° se puede apreciar la plata presente en la muestra con los planos (111), (200), (220), (311) respectivamente [91] [92]. Las señales presentes confirman la presencia de nanopartículas de plata en la muestra.

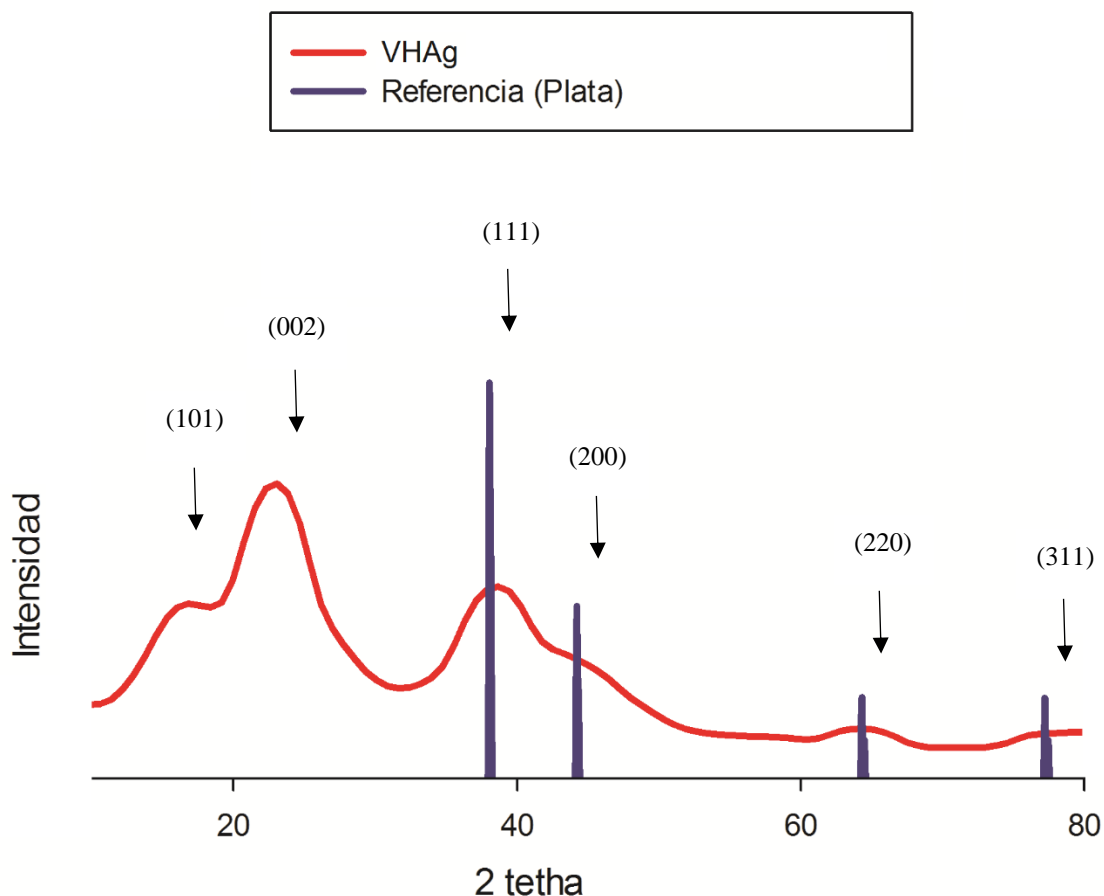


Figura 12. Patrón de difracción de rayos X del sustrato con hidrogel y AgNPs.

7.4.2.2 Espectroscopia de emisión de plasma (ICP)

En la Tabla 11 se presenta el contenido de AgNPs presentes en cada muestra preparada mediante la Metodología 1 (reducción con solución madre de NaBH_4), los valores obtenidos indican que la concentración en cada una de las muestras es muy pequeña; sin embargo, de acuerdo a lo reportado en la literatura [93] se encuentra que el valor mínimo para inhibir el crecimiento de una bacteria Gram positiva y preferiblemente Gram negativa es de 0.006 ppm, por lo tanto, la concentración de las muestras sobrepasa el mínimo necesario para inhibir el crecimiento.

Tabla 11. Contenido de AgNPs por medio de espectroscopia de ICP. Metodología 1

Muestra	Concentración en solución (ppm)
1 ₁	0.01
2 ₁	0.013
3 ₁	0.013
4 ₁	0.013

Estos resultados obtenidos nos muestran que, bajo las condiciones utilizadas en la Metodología 1, no se aprecian diferencias en la cantidad de AgNPs depositadas. Con base en la literatura [94], se asume que no se formaron la cantidad de AgNPs esperadas utilizando la Metodología 1 con la solución madre preparada previamente; ya que se reporta [95] que el NaBH₄ tiende a hidrolizarse formando NaBO₂ e H₂ (metaborato de sodio e hidrógeno) y, por lo tanto, pierde su eficiencia como agente reductor, lo que dio como resultado la formación de muy pocas AgNPs.

En la Tabla 12 se presenta el contenido de AgNPs presentes en cada muestra preparada mediante la Metodología 2 (reducción con una solución recién preparada de NaBH₄), los resultados obtenidos muestran que existe mayor cantidad de AgNPs depositadas en el sustrato y ésta cambia en función de las concentraciones de AgNO₃ y de NaBH₄ utilizadas; por lo tanto, se puede decir que la Metodología 2 es la más adecuada para obtener un sustrato impregnado con mayor concentración de AgNPs, necesarias para inhibir el crecimiento bacteriano, mientras que la Metodología 1 no permite obtener una cantidad suficiente de AgNPs, por las razones expuestas anteriormente.

Tabla 12. Contenido de AgNPs por medio de espectroscopia de ICP. Metodología 2

Muestra	Concentración en solución (ppm)
1 ₂	2.302
2 ₂	3.114
3 ₂	3.851
4 ₂	4.842

7.4.3 Caracterización del sustrato textil con hidrogel, AgNPs y G u GO con y sin líquido iónico

7.4.3.1 Difracción de Rayos X: Grafeno y Óxido de grafeno

El patrón de difracción de rayos X típico de grafito y óxido de grafeno se presenta en la Figura 13. El pico característico del grafito según la literatura [96] [97] [98] se encuentra alrededor de los 26.56° , sin embargo, después de la oxidación el pico localizado a los 26.56° desaparece y un nuevo pico aparece a los 10.63° , aproximadamente, esto debido a la oxidación que sufrió el grafito.

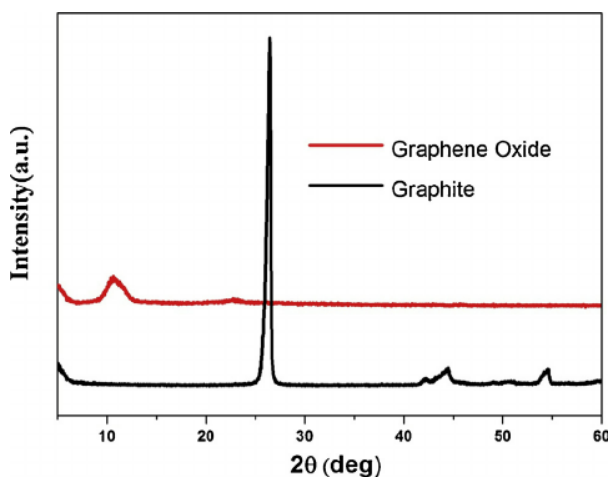


Figura 13. Patrón de rayos X típico de grafito y óxido de grafeno [96].

Por otra parte, en la Figura 14 se observa que en la muestra de óxido de grafeno a utilizar no aparece el pico a los 26.56° , en cambio si se logra apreciar el pico a los 10.75° aproximadamente y correspondiente al plano (001) [99]; de esta manera se comprueba la correcta oxidación y exfoliación del grafito, para dar lugar al óxido de grafeno.

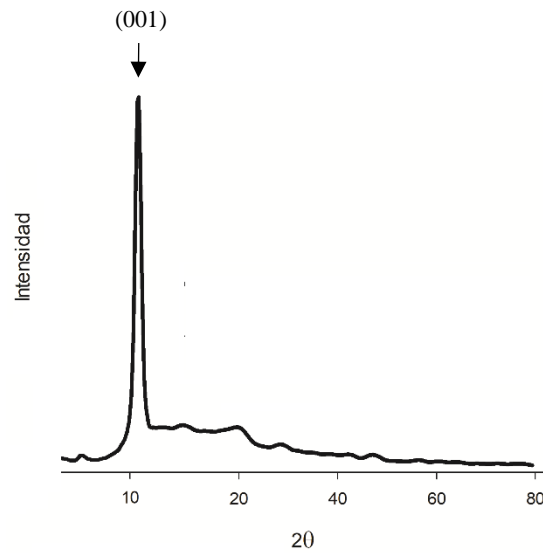
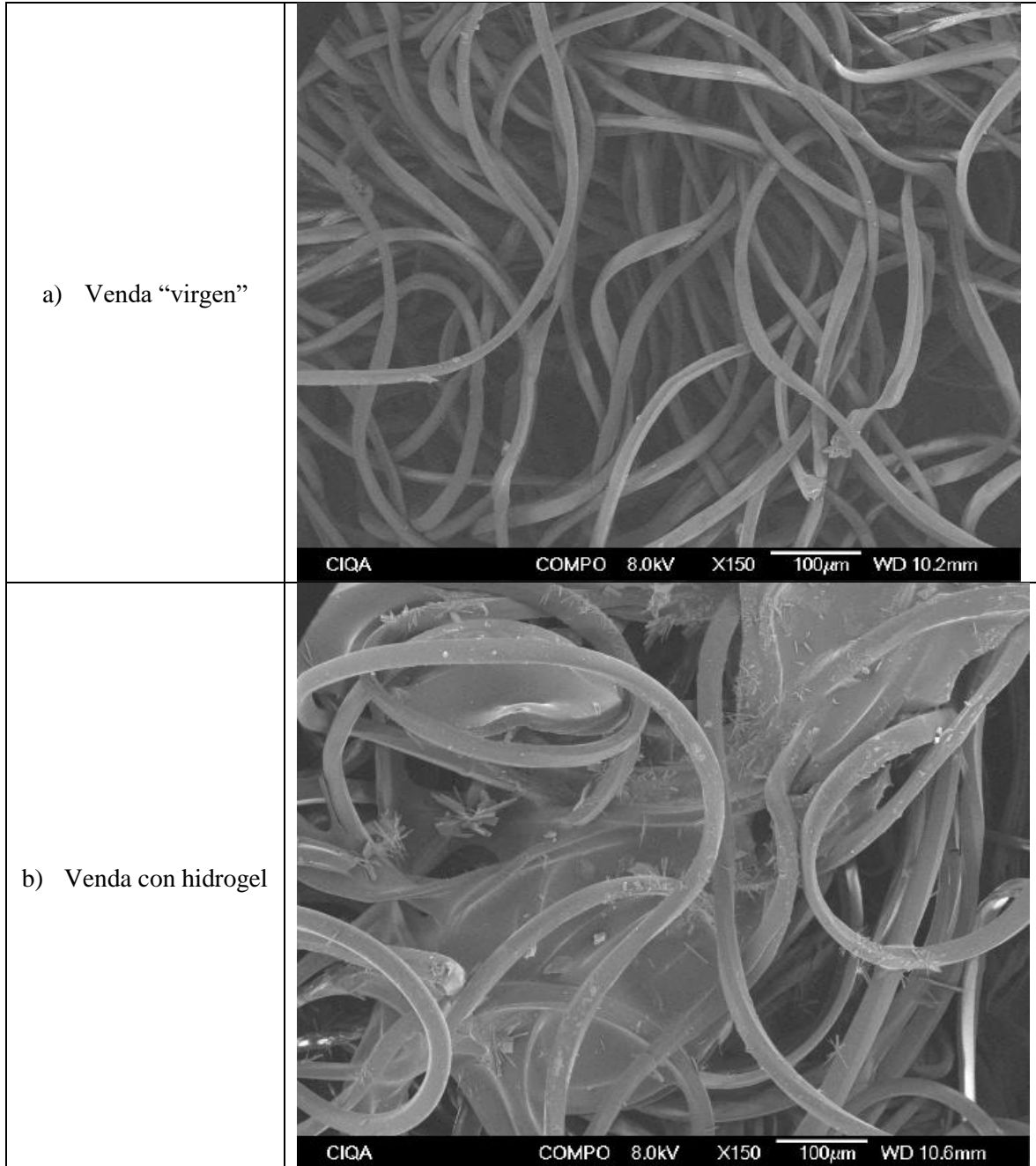


Figura 14. Patrón de difracción de rayos X del óxido de grafeno utilizado.

7.4.3.2 Microscopía Electrónica de Barrido

Con la finalidad de observar los cambios físicos que se presentaron en las fibras de la venda en cada una de las tres etapas desarrolladas en el proyecto, se realizaron estudios de microscopía; en la Figura 15 se encuentran las micrografías de SEM correspondientes a cada etapa. La primera micrografía (15a) corresponde a la venda “virgen” la cual funge como blanco para comparar con las siguientes, el espesor de las fibras mide en promedio 14 micrómetros. En la micrografía correspondiente a la venda con hidrogel (15b), se logra apreciar y verificar fácilmente la presencia del hidrogel sobre las fibras de la venda, ya que se observa mayor espesor en las fibras (24. 1567 micrómetros) y donde el hidrogel pareciera unir fibra con fibra. Posteriormente en la muestra con hidrogel y nanopartículas de plata (15c), se logran apreciar las nanopartículas depositadas sobre el hidrogel y la fibra, las cuales se encuentran bien distribuidas.



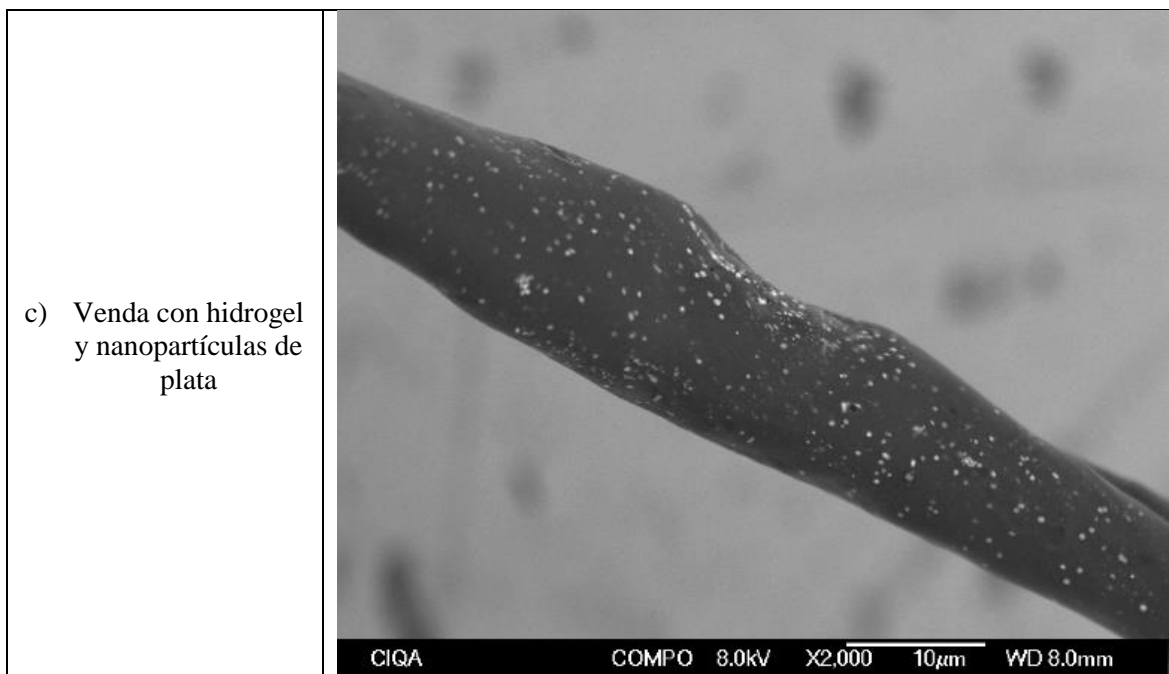


Figura 15. Micrografías de las fibras de la venda en cada etapa: a) Venda sin hidrogel (V), b) Venda con hidrogel (V_H), c) Venda con Hidrogel y AgNPs (V_HAg)

Por otra parte, se presentan las micrografías que corresponden a la venda impregnada con hidrogel, nanopartículas de plata y grafeno correspondientes a la muestra dos (3.114 ppm de AgNPs); es posible apreciar en la Figura 16 y en la Figura 17 la presencia del grafeno sobre las fibras, en el caso donde no se utilizó líquido iónico, Figura 16, las láminas se encuentran apiladas y parecieran estar depositadas, solo superficialmente, sobre las fibras; sin embargo, en el caso en el que se utilizó líquido iónico, Figura 17, las láminas de grafeno no logran apreciarse totalmente definidas, incluso pareciera que se encuentran embebidas sobre la fibra y recubiertas por hidrogel.

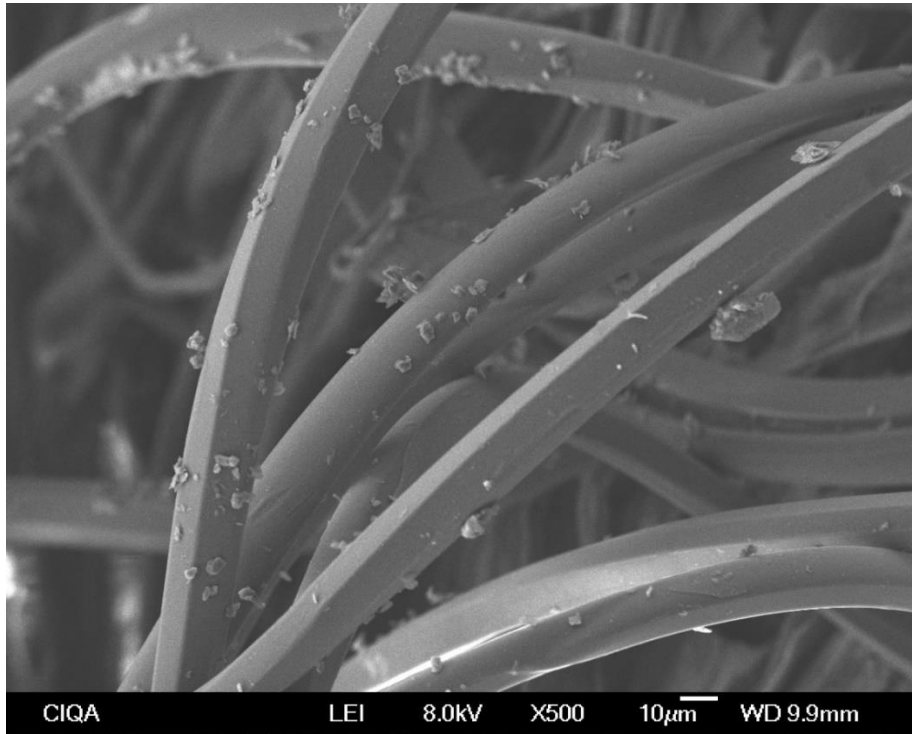


Figura 16. Micrografía venda con hidrogel, AgNPs y grafeno, sin líquido iónico.



Figura 17. Micrografía venda con hidrogel, AgNPs y grafeno, con líquido iónico

Analizando más detalladamente el fenómeno apreciado anteriormente en la muestra donde se utilizó líquido iónico, en la Figura 18 se presenta una micrografía a mayor resolución de una de las fibras, en la imagen se logran observar las nanopartículas de plata presentes, además de las láminas de grafeno las cuales parecieran estar embebidas/adsorbidas sobre la fibra de la venda y cubiertas de hidrogel, incluso se puede apreciar alrededor de la lámina de grafeno una especie de plegamientos sobre ellas mostrando que aparentemente, por efecto del líquido iónico, las láminas de grafeno lograron adsorberse en el hidrogel sobre la fibra.

Lo anterior, probablemente debido a que la estructura del líquido iónico se ha reportado [17] [100] que puede interactuar fácilmente con los grupos hidroxilos presentes en el hidrogel y en la venda. Por otra parte, se encuentra reportado, que los hidrogeles tienden a hincharse en presencia de humedad [101] [102], así que al estar en contacto la venda impregnada con hidrogel y nanopartículas de plata con el metanol, que fue el medio para impregnar el sustrato con grafeno u óxido de grafeno, el hidrogel se hinchó, lo cual hizo posible que al interactuar el líquido iónico con los grupos hidroxilos tanto del hidrogel como de la venda, diera lugar al alojamiento de las láminas de grafeno en el hidrogel y las fibras de la venda; de esta manera lograron “encapsularse” éstas entre la fibra de la venda y el hidrogel, tal como se aprecia en la Figura 18.

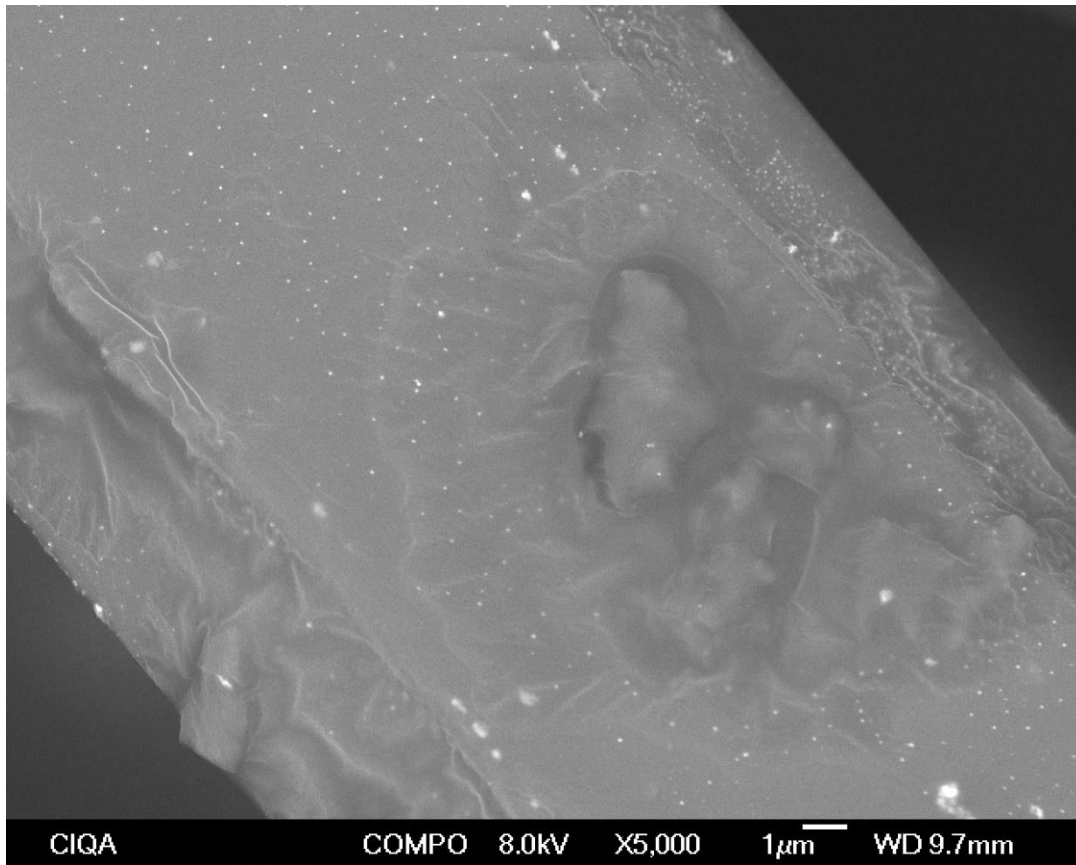


Figura 18. Fibra de la muestra VHAg2-G-CLI a mayor magnificación

Por otra parte, se realizó un conteo de nanopartículas de plata con la finalidad de analizar el tamaño de partícula.

Se midieron los tamaños con el Software “Image J” tomando como referencia el tamaño de la escala de la micrografía utilizada y midiendo así, el diámetro de cada una de las nanopartículas.

Se presenta en la Figura 19 el histograma correspondiente al conteo de 483 nanopartículas de plata para dos muestras que contienen hidrogel, nanopartículas de plata en la concentración dos (3.114 ppm) y grafeno utilizando líquido iónico (VHAg2-G-CLI), éstas se encuentran en un tamaño promedio de 62 nm; el 93.78% de las nanopartículas se encuentran

por debajo de los 100 nm, mientras que el 6.21% restante se encuentran por encima de los 100 nm.

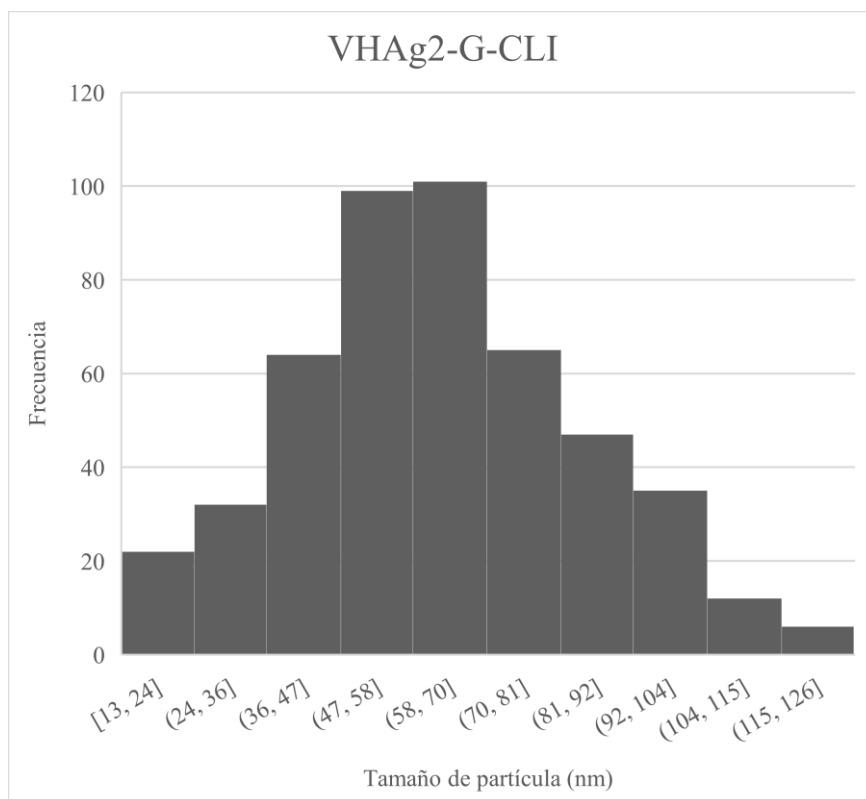


Figura 19. Histograma de distribución de tamaños de partícula (VHAg2-G-CLI)

Por otra parte, en la Figura 20 se muestra el histograma que corresponde al conteo de 444 nanopartículas de plata para dos muestras que contienen hidrogel, nanopartículas de plata en la concentración tres (3.851 ppm) y grafeno utilizando líquido iónico (VHAg3-G-CLI), éstas se encuentran en un tamaño promedio de 65 nm; el 93.46% de las nanopartículas se encuentran por debajo de los 100 nm, mientras que el 6.53% restante se encuentran por encima de los 100 nm.

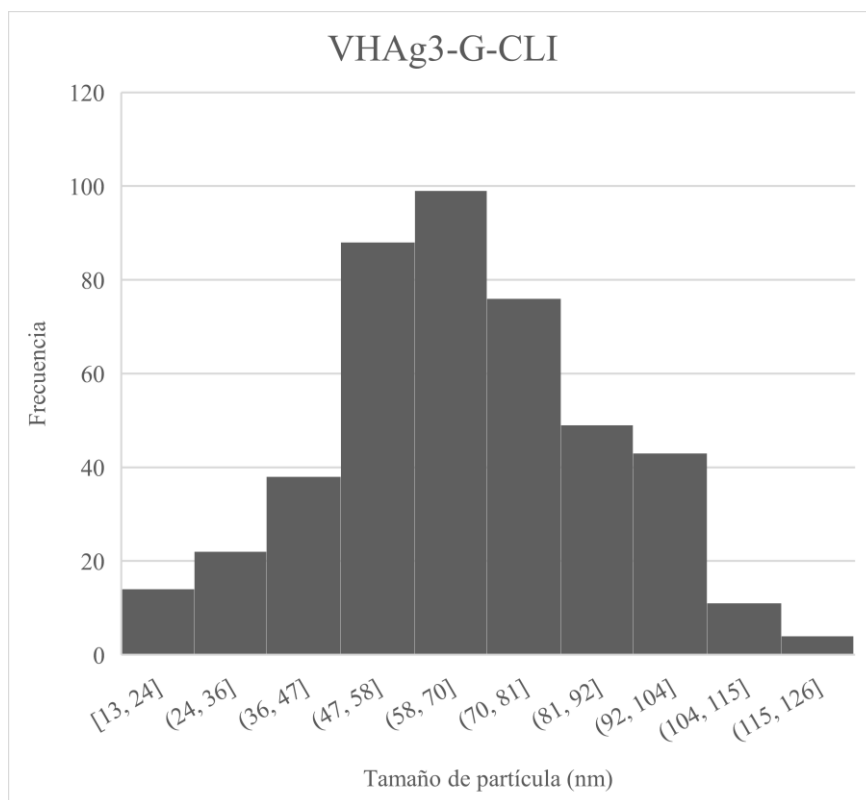


Figura 20. Histograma de distribución de tamaños de partículas (VHAg3-G-CLI)

7.5 Pruebas antimicrobianas

Se realizaron pruebas antimicrobianas con el fin de evaluar, por medio de los halos de inhibición, si existe actividad antimicrobiana ante las bacterias utilizadas.

7.5.1 Sustrato textil con hidrogel y AgNPs

Las pruebas antimicrobianas se realizaron en los sustratos preparados con las dos diferentes metodologías de reducción, es decir, en los sustratos reducidos con la solución madre de NaBH_4 y en los sustratos reducidos con la solución de NaBH_4 preparada en el momento.

En la Figura 21 se muestra el cultivo de la bacteria *S. aureus* con las diferentes muestras a evaluar, recién sembrada la bacteria en agar-sangre humana al 5%. Estas fueron reducidas con la solución madre de NaBH_4 (Metodología 1).

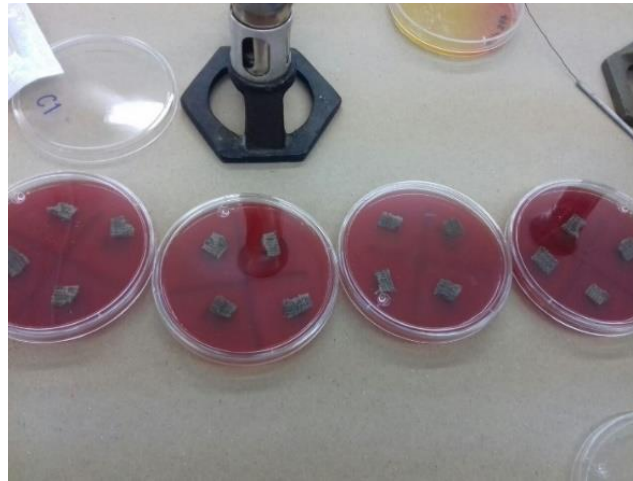


Figura 21. Cultivos de *S. aureus*. Metodología 1

Después de 24 horas de incubación no se registró ningún tipo de inhibición, en la Figura 22 se puede observar que no se aprecia la presencia de halos de inhibición; es decir, ninguna de las muestras preparadas mediante la Metodología 1, en ninguno de los cultivos logró inhibir el crecimiento de la bacteria; aun cuando las concentraciones obtenidas se encuentran por arriba de lo que se reporta como concentración mínima requerida, 0.006 ppm.

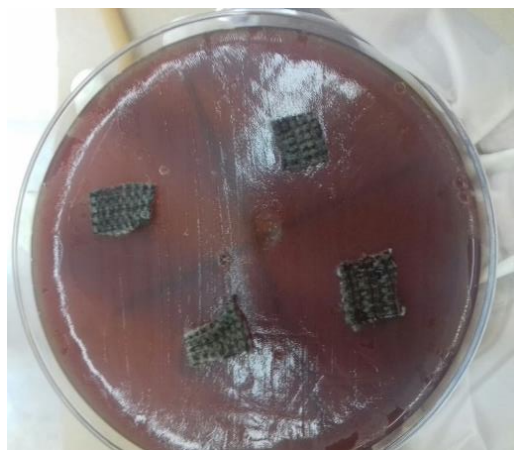


Figura 22. Cultivo de *S. aureus* después de 4 días de incubación

En la Figura 23 se muestran los cultivos recién sembrados de las bacterias *S. aureus* y *E. coli* en los sustratos reducidos con solución preparada en el momento (Metodología 2), en agar-sangre humana al 5%.



Figura 23. Cultivos de *S. aureus* y *E. coli*. Metodología 2

Se incubó el cultivo durante 24 horas y se registraron halos de inhibición en las dos bacterias, para *S. aureus* y *E. coli* la mayor actividad antimicrobiana se observó en las concentraciones dos y tres (3.114 ppm y 3.851 ppm de AgNPs respectivamente). Estos resultados confirman que bajo la Metodología 2, la cantidad de AgNPs depositadas en el sustrato y cuantificadas

mediante espectroscopia de ICP fueron suficientes para formar el halo de inhibición bacteriana; es decir, presentaron actividad antimicrobiana.

En la Figura 24 se pueden observar algunos de los cultivos realizados mediante la Metodología 2 en los cuáles se aprecian los halos de inhibición.

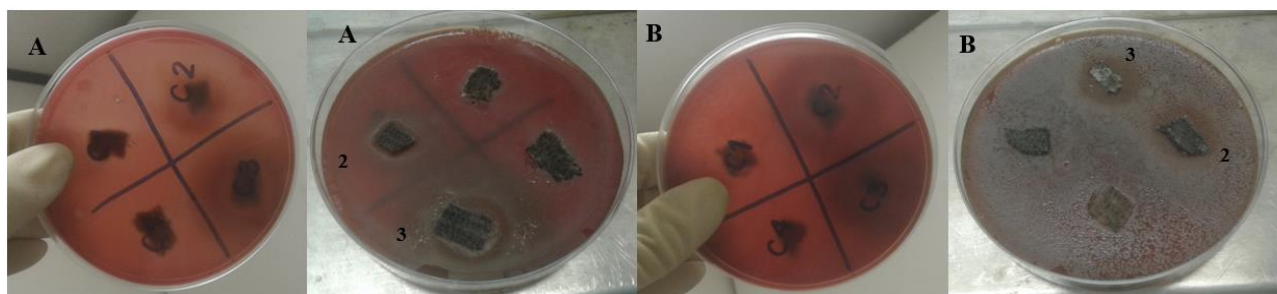


Figura 24. Cultivos de A) *S. aureus* B) *E. coli* después de 24 horas de incubación

7.5.2 Sustrato con hidrogel, AgNPs y G u GO con y sin líquido iónico.

Para poder realizar un análisis comparativo entre las muestras, se estandarizaron los tamaños de los halos de inhibición con respecto al tamaño de venda depositada sobre el agar. Se midieron los halos de inhibición con el Software “Image J” y se realizaron cálculos comparando el área del trozo de venda y el área del halo de inhibición, de esta manera obtener porcentajes respecto a ambas áreas, los cuales ya son comparativos para todas las muestras.

En el apéndice #2 se encuentra descrita más detalladamente la metodología de estandarización de resultados.

7.5.2.1 Grafeno y óxido de grafeno puro

Se realizaron las pruebas utilizando como elemento antimicrobiano el óxido de grafeno y el grafeno puro, es decir, sin hidrogel y sin nanopartículas de plata, con el objetivo de ver su comportamiento en solitario.

Al encontrarse el grafeno en polvo, éste se depositó sobre un trozo de venda, mientras que el óxido de grafeno al encontrarse en láminas simplemente se colocó sobre el cultivo.

Los resultados después de analizar los halos de inhibición en ambos cultivos, se presentan en la Tabla 13, entre más grande sea el valor, mayores fueron los halos de inhibición y, por lo tanto, esto nos indica mayor actividad antimicrobiana, los siguientes resultados muestran una sobresaliente actividad antimicrobiana del grafeno frente al óxido de grafeno.

Tabla 13. Resultados estandarizados de las pruebas antimicrobianas utilizando grafeno y óxido de grafeno

	<i>E. coli</i> % de inhibición	<i>S. aureus</i> % de inhibición
Óxido de grafeno	33.5	77
Grafeno	607.5	596.5

La mejor eficiencia del grafeno sobre el óxido de grafeno, se encuentra reportado en la literatura [5] y se debe al contacto directo que tiene una lámina de grafeno con la bacteria, esto sucede ya que la bacteria tiene una ligera carga negativa en la parte externa y, por otra parte, el grafeno es un excelente aceptor de electrones, es por ello que, al ocurrir una transferencia de cargas durante la interacción bacteria-grafeno, se ocasiona un mayor daño propiciando la muerte de la bacteria.

En la Figura 25 se muestra el cultivo con trozos de óxido de grafeno, en la parte derecha se encuentra la bacteria *E. coli*, mientras que en la izquierda *S. aureus*, es posible apreciar pequeños halos de inhibición alrededor del óxido de grafeno.



Figura 25. Cultivo de láminas de óxido de grafeno en *E. coli* y *S. aureus*

Por otra parte, en la Figura 26 se muestra el cultivo de vendas impregnadas con grafeno. Se pueden observar los halos de inhibición, en la parte superior se encuentra la bacteria *E. coli*, mientras que en la parte inferior la *S. aureus*.

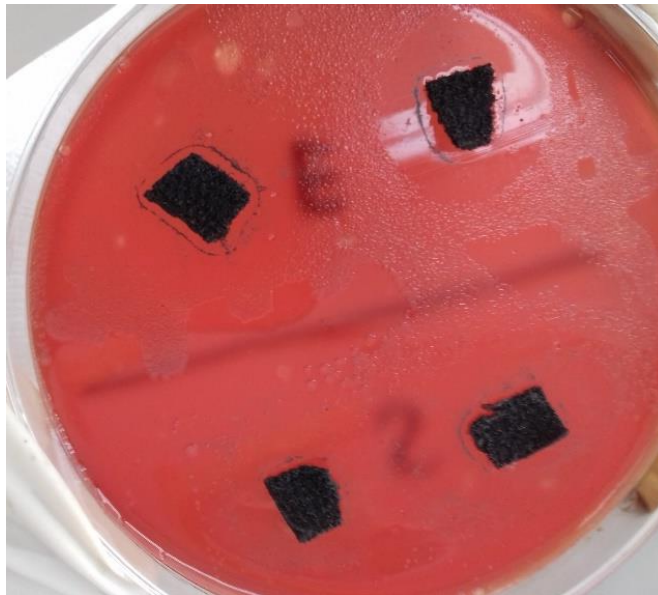


Figura 26. Cultivo de grafeno en *E. coli* y *S. aureus*.

7.5.2.2 Sustratos utilizando grafeno con y sin líquido iónico

Se realizaron las pruebas antimicrobianas de los distintos sustratos, las pruebas realizadas previamente a las vendas con hidrogel y nanopartículas de plata reportaron que las mejores inhibiciones se presentaron en las concentraciones dos y tres (3.114 ppm y 3.851 ppm de AgNPs respectivamente), es por ello que, los siguientes sustratos se prepararon en las concentraciones dos y tres de nanopartículas de plata.

Los resultados después de haber medido los halos de inhibición de los cultivos, se presentan en la Tabla 14, donde se exponen las muestras que contienen hidrogel, nanopartículas de plata y grafeno con y sin líquido iónico.

Tabla 14. Resultados estandarizados de las pruebas antimicrobianas utilizando grafeno con y sin líquido iónico.

	<i>E. coli</i> % de inhibición	<i>S. aureus</i> % de inhibición
VHAg3-G-SLI	80.25	178.333
VHAg2-G-SLI	70.5	152
VHAg3-G-CLI	185.25	270.333
VHAg2-G-CLI	126.5	270

En la Tabla 14 se puede observar que los sustratos mostraron mejor actividad antimicrobiana para la bacteria *S. aureus* que para la *E. coli*, mismo resultado que obtuvieron Omid Akhavan y Elham Ghaderi en 2010 [5]. Lo anterior se atribuye a que ambos tipos de bacteria, Gram positiva (*S. aureus*) y Gram negativa (*E. coli*) cuentan con una pared de peptidoglicano y sobre esta pared, la *E. coli* cuenta con una capa extra conocida como membrana externa, sin embargo, la *S. aureus* no cuenta con membrana externa, por lo tanto, en este caso y con este

sistema, resultó más sencillo inhibir el crecimiento de una bacteria Gram positiva como lo es la *S. aureus*.

También se puede observar en la Tabla 14 que se obtuvieron mejores resultados en las muestras que se prepararon utilizando líquido iónico, esto probablemente por el fenómeno que se presentó y pudo ser observado mediante el SEM, donde se aprecian las láminas de grafeno embebidas/adsorbidas e incluso recubiertas por el hidrogel, lo cual propició una mejor dispersión y, por ende, a que se tuviera una mejor actividad antimicrobiana.

Se presentan en la Figura 27 algunos de los cultivos realizados con los sustratos impregnados con hidrogel, nanopartículas de plata y grafeno, con y sin líquido iónico. Como identificadores se encuentran los números dos y tres, los cuales corresponden a la concentración utilizada de nanopartículas de plata (3.114 ppm y 3.851 ppm de AgNPs respectivamente), acompañados de una S o C la cual corresponde a “Sin líquido iónico” y “Con líquido iónico” respectivamente.

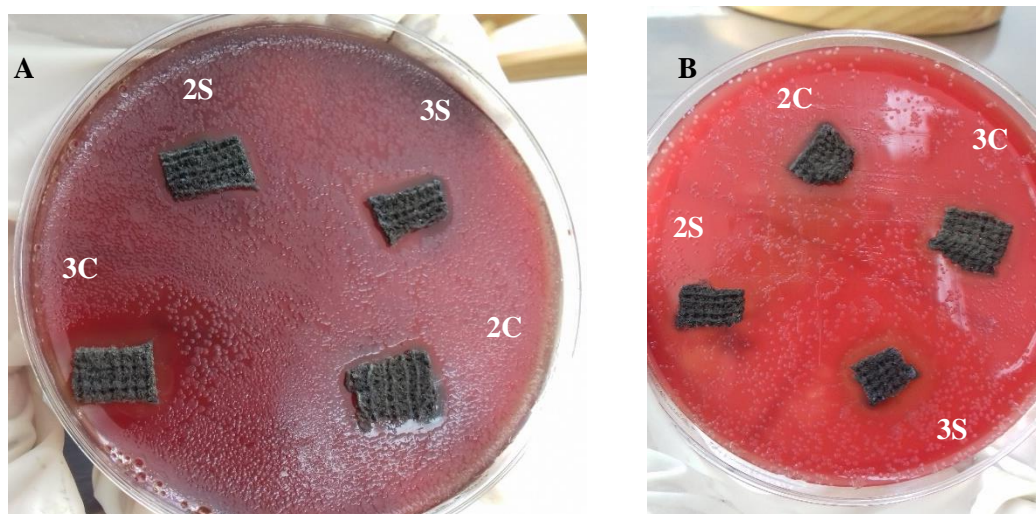


Figura 27. Cultivo de los sustratos VHA_g-2,3-G-SLI, CLI. a) *E. coli* b) *S. aureus*

7.5.2.3 Sustratos utilizando óxido de grafeno con líquido iónico

Después de analizar los resultados de los sustratos con hidrogel, nanopartículas de plata y grafeno con y sin líquido iónico, y ante la gran diferencia que se obtuvo al utilizar líquido

iónico, se eliminó del diseño de los experimentos el sistema sin líquido iónico al elaborar las muestras con óxido de grafeno.

A continuación, en la Tabla 15 se presentan los resultados de los cultivos después de analizar el tamaño de los halos de inhibición.

Tabla 15. Resultados estandarizados de las pruebas antimicrobianas utilizando óxido de grafeno con líquido iónico.

	<i>E. coli</i> % de inhibición	<i>S. aureus</i> % de inhibición
VHAg3-GO-CLI	138.75	177.666
VHAg2-GO-CLI	100	133.65

Como se puede observar en la Tabla 15 nuevamente se presenta una mejor actividad antimicrobiana para la bacteria *S. aureus*, verificando una vez más los resultados presentados por Omid Akhavan y Elham Ghaderi en 2010 [5].

Por otra parte, después de analizar en conjunto la Tabla 14 y la Tabla 15, las cuales presentan los resultados de los cultivos utilizando los sustratos con hidrogel, nanopartículas de plata y grafeno u óxido de grafeno, se puede observar que en los cultivos donde se utilizó grafeno fueron mejores que en los que se utilizó óxido de grafeno, este resultado también se observó al realizar cultivos en solitario de grafeno y óxido de grafeno los cuales previamente se exhibieron en la Tabla 13.

En la Figura 28 se muestran los cultivos realizados con sustratos impregnados con hidrogel, nanopartículas de plata y óxido de grafeno con líquido iónico, de igual manera cuentan con identificadores para señalar la concentración de nanopartículas de plata.

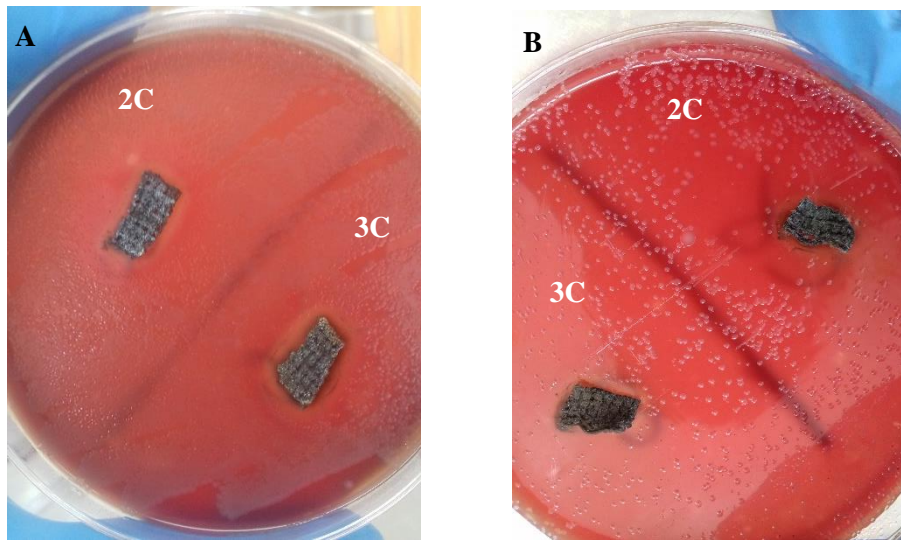


Figura 28. Cultivo de los sustratos VHA_g-2,3-GO-CLI. a) *E. coli* b) *S. aureus*

8. CONCLUSIONES

- Se obtuvo un hidrogel de ácido acrílico – ácido itacónico con las características físicas adecuadas para impregnar el sustrato.
- El método de impregnación del sustrato con el hidrogel fue el adecuado, esto se confirmó con la prueba de IR-ATR.
- La reducción del AgNO_3 con la solución madre previamente preparada de NaBH_4 (Metodología 1) no formó la cantidad necesaria de AgNPs para inhibir el crecimiento bacteriano, esto con base en las pruebas de espectroscopia de ICP y antimicrobianas.
- Se lograron formar las AgNPs suficientes para inhibir el crecimiento de las bacterias, *S. aureus* y *E. coli*, con la reducción del AgNO_3 utilizando la solución recién preparada de NaBH_4 , (Metodología 2) lo anterior comprobado con las pruebas de espectroscopia de ICP y antimicrobianas.
- Las pruebas antimicrobianas realizadas al grafeno y al óxido de grafeno en solitario demostraron que el grafeno fue superior que el óxido de grafeno para inhibir el crecimiento bacteriano.
- El sistema hidrogel/AgNPs/grafeno con y sin líquido iónico presentó mejor actividad antimicrobiana ante la bacteria *S. aureus* la cual es Gram positiva.
- El uso del líquido iónico favoreció la incorporación del grafeno en el sistema y por lo tanto incrementó la actividad antimicrobiana en los sustratos que contenían hidrogel, nanopartículas de plata y grafeno.
- El sistema hidrogel/AgNPs/óxido de grafeno con líquido iónico presentó mejor actividad antimicrobiana ante la bacteria *S. aureus* la cual es Gram positiva.
- En general el sistema que logró funcionar mejor para *S. aureus* y *E. coli* fue la venda impregnada con hidrogel, nanopartículas de plata en la concentración tres (3.851 ppm) y grafeno utilizando líquido iónico, identificado como VHA_{g3}-G-CLI

Finalmente, se concluye que bajo las metodologías reportadas en el presente trabajo es posible elaborar un sustrato antimicrobiano con hidrogel, nanopartículas de plata y grafeno utilizando líquido iónico, el cual presente buenas propiedades antimicrobianas. Este sistema en un futuro podría tener un alto impacto en la industria médica, la cual, entre otros objetivos, busca combatir infecciones y evitar su propagación, incluyendo este sistema en ropa quirúrgica, batas, campos estériles, apósitos... etc.

TRABAJO FUTURO

- Realizar estudios de citotoxicidad de los sustratos antimicrobianos.
- Realizar evaluaciones en otros tipos de bacterias, virus y hongos.
- Realizar pruebas antimicrobianas *in vivo* para obtener resultados más precisos.
- Evaluar otro tipo de nanoestructura de carbono y de líquido iónico.
- Utilizar otro tipo de medio para albergar el hidrogel, las nanopartículas de plata y el grafeno u óxido de grafeno.
- Realizar estudios de tiempo de vida media de los sustratos antimicrobianos.
- Estudiar el mecanismo de reacción y el grado de entrecruzamiento del hidrogel.

APÉNDICE #1

Bacterias Gram positivas y Gram negativas

En microbiología, las bacterias pueden clasificarse en dos grandes grupos: Gram positivas y Gram negativas, dependiendo de la estructura de su pared celular, esto propicia distintas reacciones a la “Tinción de Gram”.

Las diferencias residen en su pared celular, las bacterias Gram negativas tienen una capa de peptidoglicano delgada la cual está rodeada por una membrana de lípidos y finalmente por una membrana externa, mientras que las bacterias Gram positivas tienen una capa gruesa de peptidoglicano, sin embargo, no cuentan con membrana externa. En la Figura 29 se muestra la estructura de una bacteria Gram positiva y una Gram negativa.

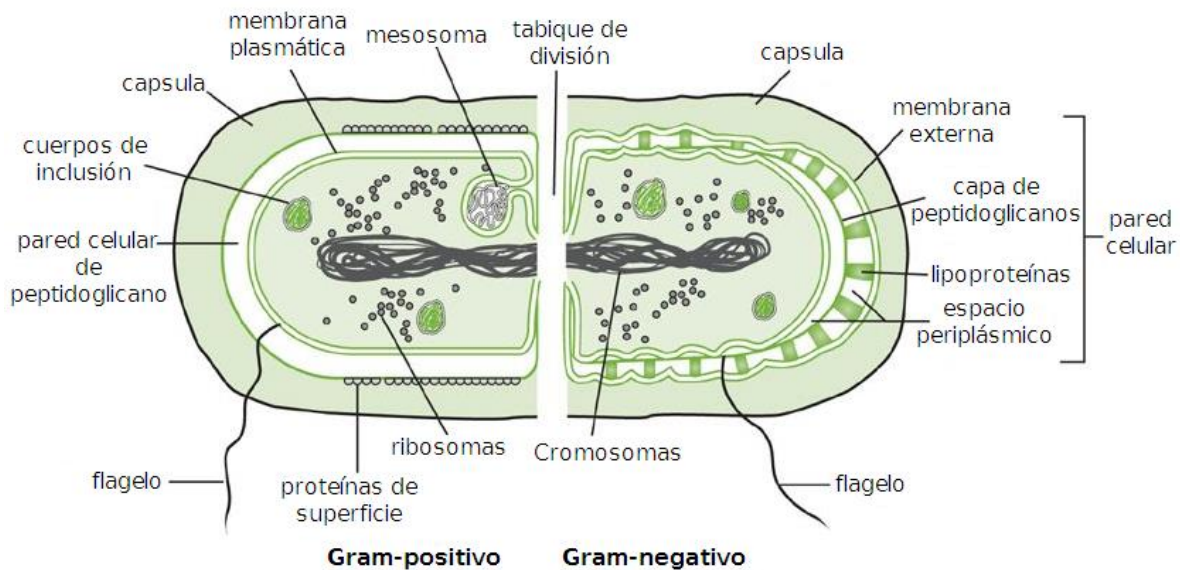


Figura 29. Estructura de bacterias Gram positivas y Gram negativas

APÉNDICE #2

Estandarización de halos de inhibición en pruebas antimicrobianas.

Con el objetivo de realizar un análisis comparativo de las pruebas antimicrobianas entre las muestras realizadas para la parte III del proyecto: “Preparación del sustrato con hidrogel/AgNPs/G u GO; con y sin líquido iónico” se realizó la siguiente metodología:

Con el Software “Image J” se midió el área de los halos de inhibición registrados, además del área de cada trozo de venda, posteriormente se hicieron los cálculos respectivos para obtener el porcentaje de cada halo de inhibición comparado con el área de la venda. En la Tabla 16 se presenta un ejemplo los cálculos realizados.

Tabla 16. Estandarización para los datos de las pruebas antimicrobianas

Experimento #1 Nombre del cultivo: Ag2CIL, Ag2SIL, Ag3CIL, Ag3SIL- <i>E. coli</i>					
Muestra	Área inhibida por zona	Área de la venda	$100 \times \text{Área inhibida por zona} \div \text{Área de la venda}$	% de inhibición respecto al tamaño de la venda	Mejores resultados (*)
2S	2.547	1.427	178.486335	78	
3S	2.528	1.533	164.9054142	65	
2C	2.285	1.202	190.0998336	90	*
3C	3.427	1.393	246.0157933	146	*

El procedimiento anterior se realizó para cada una de las pruebas antimicrobianas, posteriormente se obtuvo un promedio de todos los resultados, para finalmente con este resultado comparar todas las pruebas realizadas. En la Tabla 17 se muestra una de las tablas donde se recopilaron los resultados de la estandarización de los datos de las pruebas antimicrobianas y se obtuvieron los promedios.

Tabla 17. Promedios de los resultados de la estandarización de los datos de las pruebas antimicrobianas

VHAg-2,3-G-SLI, CLI <i>E. coli</i>				
# de Experimento	3S % de inhibición	2S % de inhibición	3C % de inhibición	2C % de inhibición
1	65	78	146	90
2	122	107	228	213
3	70	51	173	77
4	64	46	194	126
Promedio	80.25	70.5	185.25	126.5

Finalmente, después de obtener todos los promedios de todas las muestras, se logró analizar y comparar entre todos los sustratos y así, concluir cuales muestras presentaron mejores resultados.

REFERENCIAS

- [1] Innovation, «Dr. Feynman's Small Idea,» *Technology Commercialization*, vol. 5, nº 5, 2007.
- [2] S. Pal, K. Yu y J. Myong Song, «Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*,» *Applied and environmental microbiology*, vol. 73, nº 6, p. 1712, 2007.
- [3] J. P. Hegggers, J. W. Richard y Spencer, «Acticoat versus Silverlon: The Truth: 150.,» *Journal of Burn Care & Research*, vol. 23, p. 115, 2002.
- [4] J. Shen, M. Shi y N. Li, «Facile Synthesis and Application of Ag-Chemically Converted Graphene Nanocomposite,» *Nano Research*, vol. 3, p. 340, 2010.
- [5] O. Akhavan y E. Ghaderi, «Toxicity of Graphene and Graphene Oxide Nanowalls Against,» *American Chemical Society*, vol. 4, nº 10, p. 5731, 2012.
- [6] J. R. Morones, J. L. Elechiguerra y A. Camacho, «The bactericidal effect of silver nanoparticles,» *Nanotechnology*, vol. 16, p. 2346, 2005.
- [7] E. Ahmeda, F. Aggora y A. Awada, «An innovative method for preparation of nanometal hydroxide superabsorbent hydrogel,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 91, p. 693, 2013.
- [8] A. S. Hoffman, «Hydrogels for biomedical applications,» *Advanced Drug Delivery Reviews*, vol. 54, p. 4, 2002.
- [9] D. L. O. Wichterle, «Hydrophilic gels in biologic use,» *Nature*, p. 117, 1960.
- [10] B. Zavan, R. Cortivo y G. Abatangelo, «Hydrogels and Tissue Engineering,» de *Hydrogels: Biological Properties and Applications*, Milán, Italia, Springer, 2009, pp. 1-3.
- [11] W. Zhao, X. Jin, Y. Cong, Y. Liud y J. Fu, «Degradable natural polymer hydrogels for articular cartilage tissue engineering,» *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, vol. 88, nº 3, pp. 327-328, 2012.
- [12] H. Omidian y K. Park, «Hydrogels,» de *Fundamentals and Applications of controlled Release Drug Delivery*, New York, Springer, 2012, pp. 75-81.
- [13] R. D. Rogers y K. Seddon, «Ionic Liquids - Solvents of the Future?,» *Science*, vol. 302, nº 5646, pp. 792-793, 2003.
- [14] J. S. Wilkes, P. Wasserscheid y T. Welton, «Introduction,» de *Ionic Liquids in Synthesis*, Alemania, Wiley-VCH, 2008, pp. 1-2.

- [15] T. E. Rodríguez y M. D. Bermúdez Olivares, «Estudio de interacciones superficiales y recubrimientos de líquidos iónicos sobre metales,» *Jornadas de Introducción a la Investigación de la UPCT*, n° 5, p. 57, 2012.
- [16] C. Ye, W. Liu, Y. Chen y L. Yu, «Room-temperature ionic liquids: a novel versatile lubricant,» *ChemComm Communication*, p. 2244, 2001.
- [17] R. Swatloski, S. Spear, J. Holbrey y R. Rogers, «Dissolution of cellulose with ionic liquids,» *Journal of the American Chemical Society*, vol. 124, n° 8, p. 4974, 2002.
- [18] W. Guo, N. Sun y X. Qin, «A novel electrochemical aptasensor for ultrasensitive detection of kanamycin based on MWCNTs–HMIMPF₆ and nanoporous PtTi alloy,» *Biosensors and Bioelectronics*, vol. 74, p. 691, 2015.
- [19] T. Fukushima, A. Kosaka y Y. Ishimura, «Molecular Ordering of Organic Molten Salts Triggered by Single-Walled Carbon Nanotubes,» *Science*, vol. 300, p. 2072, 2003.
- [20] D. P. Clark y N. J. Pazdernik, «Nanobiotechnology,» de *Biotechnology*, Illinois, Elsevier, 2016, pp. 220-221.
- [21] «The Understanding Nanotechnology,» 2016. [En línea]. Available: <http://www.understandingnano.com/nanotech-applications.html>.
- [22] W.-T. Liu, «Nanoparticles and Their Biological and Environmental Applications,» *Jornal of bioscience and bioengineering*, vol. 102, n° 1, p. 1, 2006.
- [23] M. Ferrari, «Cancer nanotechnology: opportunities and challenges,» *Nature Reviews*, vol. 5, p. 161, 2005.
- [24] D. P. Clark y N. J. Pazdernik, «Biological Warfare: Infectious Disease and Bioterrorism,» de *Biotechnology*, Illinois, Elsevier, 2016, p. 693.
- [25] I. Das y S. Ansari, «Nanomaterials in science and technology,» *Journal of Scientific & Industrial Research*, vol. 68, p. 658, 2009.
- [26] C. Gutierrez Wing, «Las nanopartículas: pequeñas estructuras con gran potencial,» *El ININ*, pp. 24-26.
- [27] F. Ruiz, «Nanopartículas metálicas,» *Ciencia y Desarrollo: El conocimiento a tu alcance. CONACYT*, Mayo 2006.
- [28] Á. B. Sifontes, L. Melo, C. Maza y J. J. Mendez, «Preparación de nanopartículas de plata en ausencia de polímeros estabilizantes,» *Química Nova*, vol. 33, n° 6, p. 1266, 2009.
- [29] J. J. Castellano, S. M. Shafii, F. Ko y G. Donate, «Comparative evaluation of silver-containing antimicrobial dressings and drugs,» *International Wound Journal*, vol. 4, n° 2, p. 114, 2007.

- [30] I. Sondi y B. Salopek-Sondi, «Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria,» *Journal of Colloid and Interface Science*, vol. 275, pp. 177-178, 2004.
- [31] M. Herrera, P. Carrión, P. Baca, J. Liébana y A. Castillo, «In vitro antibacterial activity of glass-ionomer cements.,» *Microbios*, vol. 104, nº 409, p. 141, 2001.
- [32] M. Bosetti, A. Massè, E. Tobin y M. Cannas, «Silver coated materials for external fixation devices: in vitro biocompatibility and genotoxicity,» *Biomaterials*, vol. 23, nº 3, p. 887, 2002.
- [33] A. Slistan-Grijalva, R. Herrera-Urbina y J. Rivas-Silva, «Synthesis of silver nanoparticles in a polyvinylpyrrolidone (PVP) paste, and their optical properties in a film and in ethylene glycol,» *Materials Research Bulletin*, vol. 43, pp. 90-91, 2008.
- [34] E. Ramírez-Meneses, K. Philippot y B. Chaudret, «Influence of the Reaction Media on the Stabilization of Rhodium Nanostructures,» *Ingeniería Investigación y Tecnología*, vol. 16, nº 2, p. 226, 2015.
- [35] P. Raveendran, F. Jie y S. L. Wallen, «A simple and “green” method for the synthesis of Au, Ag, and Au–Ag alloy nanoparticles,» *Green Chemistry*, vol. 8, p. 34, 2005.
- [36] M. Monge, «Nanopartículas de plata: Métodos de síntesis en disolución y propiedades bactericidas,» *An. Química*, vol. 105, nº 1, p. 34, 2009.
- [37] K. L. Da Silva, D. Menzel y A. Feldhof, «Mechanosynthesized BiFeO₃ Nanoparticles with Highly Reactive Surface and Enhanced Magnetization,» *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 115, p. 7210, 2011.
- [38] T. Tsuji, T. Kakita y M. Tsuji, «Preparation of nano-size particles of silver with femtosecond laser ablation in water,» *Applied Surface Science*, vol. 206, p. 314, 2003.
- [39] R. Zanella, «Metodologías para la síntesis de nanopartículas,» *Mundo Nano*, vol. 5, nº 1, p. 74, 2012.
- [40] H. W. Kroto, J. R. Heath, S. C. O'Brien y R. F. Curl, «C₆₀: Buckminsterfullerene,» *Nature*, p. 162, 1985.
- [41] W. Krätschmer, L. D. Lamb y K. Fostiropoulos, «Solid C₆₀: a new form of carbon,» *Nature*, vol. 347, p. 354, 1990.
- [42] S. Iijima, «Helical microtubules of graphitic carbon,» *Nature*, vol. 354, p. 56, 1991.
- [43] S. Iijima y T. Ichihashi, «Single-shell carbon nanotubes of 1-nm diameter,» *Nature*, vol. 363, p. 603, 1993.
- [44] M. I. Katsnelson, «Graphene: carbon in two dimensions,» *Materials Today*, vol. 10, nº 1-2, pp. 20-21, 2007.

- [45] J. Wu, W. Pisula y K. Mullen, «Graphenes as Potential Material for Electronics,» *Chem Rev*, vol. 107, pp. 718-719, 2007.
- [46] S. Niyogi, E. Bekyarova y E. Mikhail, «Solution Properties of Graphite and Graphene,» *JACS Communications*, vol. 128, p. 7720, 2006.
- [47] J. Hedberg, «Free Science Images,» 2015. [En línea]. Available: <http://www.jameshedberg.com/scienceGraphics.php?sort=graphene&id=graphene-sheet-wavey>.
- [48] D. Chen, H. Feng y J. Li, «Graphene Oxide: Preparation, Functionalization, and Electrochemical Applications,» *Chemical Reviews*, vol. 112, p. 6027, 2012.
- [49] D. R. Dreyer, S. Park y C. W. Bielawski, «The chemistry of graphene oxide,» *Chemical Society Reviews*, vol. 39, p. 233, 2009.
- [50] Y. Zhu, S. Murali, W. Cai y X. Li, «Graphene and Graphene Oxide: Synthesis, Properties and Applications,» *Advanced Materials*, vol. 22, pp. 3906-3924, 2010.
- [51] A. Lerf, A. Buchsteiner y J. Pieper, «Hydration behavior and dynamics of water molecules in graphite oxide,» *Journal of Physics and Chemistry Of Solids*, vol. 67, p. 1106, 2006.
- [52] W. Hu, C. Peng y W. Luo, «Graphene-Based Antibacterial Paper,» *ACS NANO*, vol. 4, n° 7, p. 4317, 2010.
- [53] D. A. Dikin, S. Stankovich y E. J. Zimney, «Preparation and characterization of graphene oxide paper,» *Nature PublishingGroup*, vol. 448, p. 459, 2007.
- [54] X. Sun, Z. Liu y K. Welsher, «Nano-Graphene Oxide for Cellular Imaging and Drug Delivery,» *Nano Research*, vol. 1, n° 3, p. 204, 2008.
- [55] M. Aviv, I. Berdicevsky y M. Zilberman, «Gentamicin-Loaded Bioresorbable Films for Prevention of Bacterial Infections Associated with Orthopedic Implants,» *InterScience*, p. 10, 2006.
- [56] S. P. S. y W. Costerton, «Antibiotic Resistance of Bacteria in Biofilms,» *Lancet*, vol. 358, p. 136, 2001.
- [57] C. Wei, W.-Y. Lin y Z. Zania, «Bactericidal Activity of TiO₂ Photocatalyst in Aqueous Media: Toward a Solar-Assisted Water Disinfection System,» *Environmental Science Technology*, vol. 28, p. 934, 2002.
- [58] J. Chen, H. Peng y X. Wang, «Graphene oxide exhibits broad-spectrum antimicrobial activity against bacterial phytopathogens and fungal conidia by intertwining and membrane perturbation,» *Nanoscale*, vol. 6, pp. 1879-1889, 2014.

- [59] K. Krishnamoorthy y M. Veerapandian, «Antibacterial Efficiency of Graphene Nanosheets against Pathogenic Bacteria via Lipid Peroxidation,» *The Journal of Physical Chemistry*, vol. 116, p. 17280–17287, 2012.
- [60] J. Soldevilla Agreda, J.-E. Torra i Bou y J. Posnett, «Una aproximación al impacto del coste económico del tratamiento de las úlceras por presión,» *GEROKOMOS*, vol. 18, nº 4, pp. 201-210, 2007.
- [61] G. D. Winter, «Formation of the Scab and the Rate of Epithelization of Superficial Wounds in the Skin of the Young Domestic Pig,» *Nature*, vol. 193, pp. 293-294, 1962.
- [62] C. K. Field y M. D. Kerstein, «Overview of wound healing in a moist environment,» *The American Journal of Surgery*, vol. 167, nº 1, pp. 2-6, 1994.
- [63] B. J., «Moist wound healing: a concept that changed our practice,» *J Wound Care*, vol. 13, nº 6, pp. 227-228, 2004.
- [64] S. Rimmer, «Requirements of an ideal wound care system,» de *Biomedical Hydrogels: Biochemistry, Manufacture and Medical Applications*, Cambridge, UK, Woodhead Publishing, 2011, p. 186.
- [65] D. L. Chandler, «New Institute Will Accelerate Innovations in Fibers and Fabrics,» *MIT News Office*, 1 Abril 2016.
- [66] A. Villafán, «Desarrollan en UAM textiles funcionales,» *CONACYT: Agencia Informativa. Radio con Ciencia*, 21 Noviembre 2015.
- [67] L. D. Carreño Pineda y L. A. Caicedo Mesa, «Técnicas de fermentación y aplicaciones de la celulosa bacteriana,» *Revista de Ingeniería y Ciencia*, vol. 8, nº 16, p. 307, 2012.
- [68] T. Maneerung y S. Tokura, «Impregnation of silver nanoparticles into bacterial cellulose for antimicrobial wound dressing,» *Carbohydrate Polymers*, vol. 72, pp. 49-50, 2008.
- [69] X. Zeng, D. T. McCarthy, A. Deletic y X. Zhang, «Silver/Reduced Graphene Oxide Hydrogel as Novel Bactericidal Filter for Point-of-Use Water Disinfection,» *Advanced Functional Materials*, vol. 25, p. 4344–4351, 2015.
- [70] Z. Fan, B. Liu y J. Wang, «A Novel Wound Dressing Based on Ag/Graphene Polymer Hydrogel: Effectively Kill Bacteria and Accelerate Wound Healing,» *Advanced Functional Material*, vol. 24, pp. 3933-3943, 2014.
- [71] P. Yu, H. Zhou y N. Zhu, «A facile approach to construction of a stable water-miscible ionic liquid/electrolyte interface with interactions between imidazolium moiety and carbon nanotubes,» *Electrochemistry Communications*, vol. 11, p. 1393, 2009.

- [72] T. Fukushima, A. Kosaka y Y. Yamamoto, «Dramatic Effect of Dispersed Carbon Nanotubes on the Mechanical and Electroconductive Properties of Polymers Derived from Ionic Liquids,» *Small Journal*, vol. 2, n° 4, p. 554, 2006.
- [73] M. L. Polo-Luque, B. M. Simonet y M. Valcárcel, «Solid phase extraction-capillary electrophoresis determination of sulphonamide residues in milk samples by use of C18-carbon nanotubes as hybrid sorbent materials,» *The Royal Society of chemistry*, vol. 138, p. 3787, 2013.
- [74] M. Zhao, Y. Gao y L. Zheng, «Lyotropic liquid crystalline phases formed in binary mixture of 1-tetradecyl-3-methylimidazolium chloride/ethylammonium nitrate and its application in the dispersion of multi-walled carbon nanotubes,» *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, vol. 369, p. 95, 2010.
- [75] F. Lu, S. Zhang y L. Zheng, «Dispersion of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) by ionic liquid-based phosphonium surfactants in aqueous solution,» *Journal of Molecular Liquids*, vol. 173, p. 42, 2012.
- [76] Y. Zhang, G. Guo y F. Zhao, «A Novel Glucose Biosensor Based on Glucose Oxidase Immobilized on AuPt Nanoparticle – Carbon Nanotube – Ionic Liquid Hybrid Coated Electrode,» *Electroanalysis*, vol. 22, n° 2, p. 223, 2010.
- [77] M. L. Polo-Luque, B. M. Simonet y M. Valcárcel, «Functionalization and dispersion of carbon nanotubes in ionic liquids,» *Trends in Analytical Chemistry*, vol. 47, p. 101, 2013.
- [78] D. J. Leaper, «Silver dressings: their role in wound management,» *International Wound Journal*, vol. 3, n° 4, p. 282, 2006.
- [79] H. Yu, X. Xu y X. Chen, «Preparation and Antibacterial Effects of PVA-PVP Hydrogels Containing Silver Nanoparticles,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 103, p. 125, 2006.
- [80] G. Rodríguez-Delgado, I. Yáñez-Flores, S. Sánchez-Valdes y O. Rodríguez-Fernández, «Preparation and Characterization of Acrylic Acid/Itaconic Acid Hydrogel Coatings Containing Silver Nanoparticles,» *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 130, n° 4, p. 2714, 2013.
- [81] M. G. Freire, C. M. Neves y I. M. Marrucho, «Hydrolysis of Tetrafluoroborate and Hexafluorophosphate Counter Ions in Imidazolium-Based Ionic Liquids,» *The Journal of Physical Chemistry A*, vol. 114, p. 3744, 2010.
- [82] S. Jegatheeswaran, S. Selvam, S. Ramkumar y M. Sundrarajan, «Novel strategy for f-HAp/PVP/Ag nanocomposite synthesis from fluoro based ionic liquid assistance: Systematic investigations on its antibacterial and cytotoxicity behaviors,» *Materials Science and Engineering*, vol. 67, p. 10, 2016.

- [83] S. M. Lee, K. C. Song y B. S. Lee, «Antibacterial activity of silver nanoparticles prepared by a chemical reduction method,» *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 27, n° 2, p. 690, 2010.
- [84] J. S. Kim, E. Kuk y K. N. Yu, «Antimicrobial effects of silver nanoparticles,» *Nanomedicine*, vol. 3, p. 96, 2007.
- [85] K. C. Song, S. M. Lee, T. S. Park y B. S. Lee, «Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method,» *Korean Journal of Chemical Engineering*, vol. 26, n° 1, p. 154, 2009.
- [86] J. Wang, H. Chu y Y. Li, «Why Single-Walled Carbon Nanotubes Can Be Dispersed in Imidazolium-Based Ionic Liquids,» *American Chemical Society*, vol. 2, n° 12, p. 2543, 2008.
- [87] R. Wang, J. Ma, X. Zhou, Z. Wang y H. Kang, «Design and Preparation of a Novel Cross-Linkable, High Molecular Weight, and Bio-Based Elastomer by Emulsion Polymerization,» *Macromolecules*, vol. 45, pp. 6834-6835, 2012.
- [88] RRUFF, «Search RRUFF Sample Data,» [En línea]. Available: <http://rruff.info/Silver/R070463>.
- [89] O. M. Samir, S. Madhu y R. Somashekar, «X-ray Diffraction Analysis of Yemeni Cotton Fibers,» *Fibers and Polymers*, vol. 11, n° 3, p. 417, 2012.
- [90] E. N. Johnson Ford y S. K. Mendon, «X-ray Diffraction of Cotton Treated with Neutralized Vegetable Oil-based Macromolecular Crosslinkers,» *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, vol. 5, n° 1, p. 13, 2010.
- [91] N. Agasti y N. K. Kaushik, «One Pot Synthesis of Crystalline Silver Nanoparticles,» *American Journal of Nanomaterials*, vol. 2, n° 1, p. 6, 2014.
- [92] M. Govarthanan, T. Selvankumar y K. Manoharan, «Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles using panchakavya,» *International Journal of Nanomedicine*, vol. 9, p. 1596, 2014.
- [93] B. Mahltig, H. Haufe y H. Böttcher, «Functionalisation of textiles by inorganic sol-gel coatings,» *Journal of Materials Chemistry*, vol. 15, p. 4395, 2005.
- [94] U. B. Demirci, A. Ouardia y J. Andrieux, «Sodium borohydride hydrolysis as hydrogen generator: issues, state of the art and applicability upstream from a fuel cell,» *Fuel Cells*, vol. 10, n° 3, p. 2, 2010.
- [95] U. B. Mieleabc, Demirci y Philippe, «Sodium borohydride versus ammonia borane, in hydrogen storage and direct fuel cell applications,» *Energy & Environmental Science*, vol. 2, p. 629, 2009.

- [96] I. Karteri, S. Karata, A. Ahmed y Al-Ghamdi, «The electrical characteristics of thin film transistors with graphene oxide and organic insulators,» *Synthetic Metals*, vol. 199, pp. 242,243, 2015.
- [97] G. Sui, Y. Zhao, Q. Zhang y Q. Fu, «Enhanced mechanical properties of olefin block copolymer by adding a quaternary ammonium salt functionalized graphene oxide,» *The Royal Society of Chemistry*, vol. 6, p. 54788, 2016.
- [98] D. Zhong, Q. Yang y L. Guo, «Fusion of nacre, mussel, and lotus leaf: bio-inspired graphene composite paper with multifunctional integration,» *Nanoscale*, vol. 5, pp. 5760-5762, 2013.
- [99] R. K. Gupta, Z. A. Alahmed y Y. F., «Grapheneoxidebasedlowcostbattery,» *Materials Letters*, vol. 112, p. 76, 2013.
- [100] L. Feng y Z.-l. Chen, «Research progress on dissolution and functional modification of cellulose in ionic liquids,» *Journal of Molecular Liquids*, vol. 142, p. 2, 2008.
- [101] J. Chen, H. Park y K. Park, «Synthesis of superporous hydrogels: Hydrogels with fast swelling and superabsorbent properties,» *Journal of Biomedical Materials Research*, p. 55, 1999.
- [102] R. J. LaPorte, «Common Hydrophilic Polymers,» de *Hydrophilic Polymer Coatings for Medical Devices*, Florida, CRC PRESS, 1997, p. 57.