CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

TÉCNICAS DE ANÁLISIS PARA EVALUACIÓN DE MATERIALES NANOESTRUCTURADOS Y SU APLICACIÓN EN NANOMEDICINA

CASO DE ESTUDIO

PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

OPCIÓN: ANÁLISIS Y EVALUACIÓN DE POLÍMEROS

PRESENTA:

SANDRA YASMÍN RODRÍGUEZ GONZÁLEZ

CENTRO DE INFORMACIÓN

11 OCT 2011

RECIBIDO

SALTILLO, COAHUILA **AGOSTO 2011**

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

TÉCNICAS DE ANÁLISIS PARA EVALUACIÓN DE MATERIALES NANOESTRUCTURADOS Y SU APLICACIÓN EN NANOMEDICINA

CASO DE ESTUDIO

PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

OPCIÓN: ANÁLISIS Y EVALUACIÓN DE POLÍMEROS

PRESENTA:

SANDRA YASMÍN RODRÍGUEZ GONZÁLEZ

ASESOR:

M.C. Ma. Luisa López Quintanilla

SALTILLO, COAHUILA **AGOSTO 2011**

CENTRO DE INVESTIGACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

TÉCNICAS DE ANÁLISIS PARA EVALUACIÓN DE MATERIALES NANOESTRUCTURADOS Y SU APLICACIÓN EN NANOMEDICINA

CASO DE ESTUDIO

PRESENTADO COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

ESPECIALIZACIÓN EN QUÍMICA APLICADA

OPCIÓN: ANÁLISIS Y EVALUACIÓN DE POLÍMEROS

PRESENTA:

SANDRA YASMÍN RODRÍGUEZ GONZÁLEZ

EVALUADORES:

Dra. Esmeralda Saucedo | **M.C Rosario Rangel**

SALTILLO, COAHUILA | **AGOSTO 2011**

INDICE

Introducción.....1

I. Revisión bibliográfica.....2

1.1 Nanotecnología y nanomateriales.....2

1.2 Las nanopartículas en la salud y el medio ambiente.....3

1.3 Riesgos y regulación de la nanotecnología.....4

II. Técnicas de evaluación y análisis.....6

2.1 Generalidades de caracterización estructural de nanopartículas.....6

2.2 Espectroscopia infrarroja (FTIR).....9

2.3 Difracción de rayos X (XRD).....11

2.4 Antecedentes de microscopía.....13

2.4.1 Microscopia y análisis de nanoestructuras.....13

2.4.1.1 Microscopía electrónica de Barrido (SEM).....17

2.4.1.2 Microscopía electrónica de barrido y transmisión (STEM).....19

2.4.1.3 Microscopía electrónica de transmisión (TEM).....20

2.5 Calorimetría diferencial de barrido (DSC).....21

2.6 Análisis termogravimétrico (TGA).....23

III. Estado actual del conocimiento.....25

3.1 Nanopartículas de plata y aplicaciones en nanomedicina.....25

3.1.1 Síntesis de nanopartículas de plata.....26

3.1.2 Los métodos tradicionales de la síntesis de nanopartículas de plata.....27

3.1.3 La síntesis biológica de las nanopartículas de plata.....28

3.1.4 Síntesis enzimática de nanopartículas de plata.....29

3.1.5 Sintetizadores de nanopartículas de plata.....31

3.1.6 Impacto de nanopartículas de plata en biomedicina.....31

3.1.7 Nanopartículas de plata como agente bactericida potente.....31

3.1.8 Nanopartículas de plata en la terapia antifúngica.....33

3.1.9 Nanopartículas de plata anti-virales y su interacción con el VIH.....34

3.1.10 Las nanopartículas de plata y su efecto anti-inflamatorio.....36
3.1.11 Nanopartículas de plata en la terapia del cáncer.....37

3.2 Redes de hidrogel como nanoreactores: Un nuevo enfoque de las nanopartículas de plata para aplicaciones antibacteriales.....41

3.3 Síntesis de nanopartículas de plata coloidales en microemulsión de agua / aceite.....51

3.4 El crecimiento controlado de las nanopartículas de plata en un proceso hidrotérmico.....61

3.5 Caracterización de Poli-{*trans*-[$RuCl_2$ $(vpy)_4$]-estireno-4-vinilpiridina} impregnado con nanopartículas de plata en un medio no acuoso.....67

3.6 Síntesis y caracterización de fosfolípidos funcionalizados con nanopartículas de plata 72

3.7 Síntesis y efecto de las nanopartículas de plata en la actividad antibacteriana de diferentes antibióticos frente a Staphylococcus aureus y Escherichia coli.....77

3.8 Nanotecnología y nanopartículas magnéticas: La física actual en lucha contra la enfermedad.....80

IV. Aplicaciones biomédicas.....82

V. Conclusión.....88

VI. Perspectiva de futuro.....89

VII. Referencias.....91

Índice de Figuras

Figura 1.
Imágenes obtenidas mediante microscopia electrónica de transmisión de dos tipos de nanopartículas de Au: a) nanopartículas de Au dispersadas mediante un surfactante; b) nanopartículas de Au estabilizadas mediante dodecanotioles. Se muestra también un esquema de las nanopartículas y las cadenas estabilizadoras.....7

Figura 2. Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución de una nanopartícula de Au de 1,8 nm.....7

Figura 3. Nanopartículas de Paladio. (a) Imágenes obtenidas mediante microscopia electrónica de transmisión de nanopartículas de Pd dispersadas mediante un surfactante; (b) Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución de una nanopartícula de Pd de 2 nm; (c) y (d) transformada de Fourier (filtrada) de imágenes de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución de nanopartículas de 2nm (c) y (d) 4nm. Las fechas indican las maclas o faltas de apilamiento.....8

Figura 4. (a) Imagen de nanopartículas de Pt embebidas en una matriz de carbono; (b) imagen con mayores aumentos mostrando la presencia de puntos negros en la matriz de carbono; (c) Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución.....9

Figura 5. Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución de una nanopartícula de Pt y su correspondiente transformada de Fourier de un nanocristal de Pt a lo largo del eje de zona [101], mostrando la estructura fcc de la nanopartícula; (b) microscopía electrónica de transmisión de alta resolución de una nanopartícula de Pt maclada a lo largo de eje de zona [101]; (c) transformada de Fourier de la imagen de la nanopartícula mostrada (b); (d) la macla se observa más claramente después de eliminar el ruido.....9

Figura 6. Diagrama de FTIR.....10

Figura 7. Resultados de FT.....10

Figura 8. Diagrama de XRD.....12

Figura 9.Mapeo químico por STEM –EDS.....16

Figura 10. Imagen a baja amplificación por HAADF.....16

Figura 11. Alta resolución obtenida por HAADF.....17

Figura 12. Catalizador soportado pt/grafito.....17

Figura 13. Sistema del microscopio electrónico de barrido (SEM).....19

Figura 14. Energía dispersiva de espectroscopia de rayos X (EDS-SEM).....19

Figura 15. Sistema del microscopio electrónico de transmisión.....21

Figura 16. Partes de DSC.....22

Figura 17. Partes de TGA.....23

Figura 18. Micrografías TEM.....29

Figura 19. Micrografía SEM de las nanopartículas de plata formadas después de la reacción del sobrenadante con $AgNO_3$ (1×10^{-3} M) durante 24 h (partículas de más alta resolución muestra la barra de escala a 50nm).....30

Figura 20. Imagen mediante TEM de nanopartículas de plata de superficie libre liberadas de la matriz de carbono mediante la dispersión del polvo.....35

Figura 21. Posible mecanismo para la entrega selectiva de nanopartículas de plata en la terapia del cáncer.....39

Figura 22. Representación esquemática de la formación de nanopartículas de Ag en la red del hidrogel.....46

Figura 23. a) Fotografías de la formación de nanopartículas de Ag en hidrogeles, b) propiedad de hinchamiento del hidrogel.....46

Figura 24. (b) Patrones de difracción de rayos X del hidrogel y de hidrogel-Ag nanohíbrido, y (c) termogramas DSC de hidrogeles reticulados con diferentes cantidades de MBA.....48

Figura 25. TEM e histogramas de 2.11 ±4.60, 6.63±2.37, 4.36±1.18 y 2.67±0.97nm de nanopartículas de plata en 4.50, 6.00, 8.50 y 13.00 nm de gel reticulado MBA, respectivamente.....49

Figura 26. (a) SEM del hidrogel puro y (b, c) Ag crecido en 4,50 nm en MBA reticulado.....49

Figura 27. Resultados antibacterianos con el híbrido de hidrogel-Ag.....51

Figura 28. Imagen de TEM de nanopartículas de Ag formadas en microemulsión AOT- agua.....55

Figura 29. Micrografía y distribución de tamaño de las nanopartículas de plata que muestra el efecto de diferentes concentraciones de $AgNO_3$: (A) [AgNO3] = 0,1 M, (C) [AgNO3] = 0,2 M., mediante TEM.....56

Figura 30. Micrografía y distribución de tamaño del las nanopartículas de plata que muestra el efecto del diferentes relaciones molares de agua a la AOT, mediante TEM.....58

Figura 31. Modelo de las micelas para la fabricación nanopartículas de plata esféricas.....59

Figura 32. Imagen TEM, morfología de la muestra S1-160 antes del tratamiento hidrotérmico.....63

Figura 33. Imágenes de TEM de nanopartículas de plata preparadas a temperaturas de (a) 100 ◦C, (b) 160 ◦C, (c) 180 ◦C y (d) 240 ◦C.....64

Figura 34. Patrón de difracción de rayos X del las nanopartículas de plata S1-160.....65

Figura 35. Imágenes de TEM (a) S6-160, (b) S1-160 y (c) S5-160 con [Ag +] de 6 mm, 8 mm y 60 mm respectivamente.....66

Figura 36. Micrografía TEM de una sección ultra-delgada del terpolímero impregnado con nanopartículas de plata.....69

Figura 37. Curvas TG y DSC obtenidas en 10 ° C min^{-1} y bajo atmósfera de N_2 dinámico para el terpolímero poli-trans {[$RuCl_2$ (vpy) 4]-sty -4-vpy} impregnado con nanopartículas de plata (línea discontinua) y sin plata (líneas continuas).....70

Figura 38. La actividad antimicrobiana del poli-terpolímero {trans- [$RuCl_2$ (vpy) 4]-sty-4-vpy} (A) con y (B) sin nanopartículas de plata.....71

Figura 39. Preparación de fosfolípidos funcionalizados con nanopartículas de plata.....74

Figura. 40 Imágenes mediante TEM de nanopartículas de plata y fosfolípidos funcionalizados.....75

Figura 41. Los espectros IR de fosfolípidos y nanopartículas de plata.....76

Figura 42. Matraces cónicos con nitrato de plata antes (izquierda) y después (derecha) a la exposición del sobrenadante de cultivo de Klebsiella pneumoniae (enterobacterias).....79

Figura 43. Micrografía TEM de nanopartículas de plata formadas por la reducción de iones Ag^+ con los sobrenadantes de cultivo de enterobacterias. La imagen de la derecha muestra el histograma de tamaño de partículas de plata. Escala de barras corresponden a 50 nm.....79

NOMENCLATURA

NPs: Nanopartículas

XRD: Difracción de Rayos X

SAXS: Difracción de Rayos X de ángulo bajo

Å: Angstrom (medición de longitud de onda)

FTIR: Espectroscopia infrarroja por transformadas de fourier

ME: Microscopía electrónica

SAED: Difracción de electrones de área selecta

CBED: Difracción de electrones de haz convergente

EBSD: Retrodispersión de electrones

HVEM: Microscopía de alto voltaje

HRTEM: Microscopía de alta resolución

LVSEM: Microscopía de bajo vacio

AEM: Microscopía analítica

FIB: Haz de iones focalizados

TEM: Microscopía electrónica de transmisión

LaB6: Hexaboruro de lantano

FEG: Cañón de emisión de campo

SEM: Microscopía electrónica de barrido

STEM: Microscopía electrónica de barrido y transmisión

HAADF: Campo oscuro anular de gran ángulo

DSC: Calorimetría diferencial de barrido

Cp: Capacidad calorífica.

Tg: Temperatura de transición vítrea

Ea: Energía de activación

TGA: Análisis termogravimétrico

UV-Vis: Ultravioleta-visible

nm: Nanómetro

XPS: Espectroscopia de fotoelectrones de rayos X

AGNPS: Nanopartículas de plata

CTAB: Bromuro de cetiltrimetlamonio

LCST: Temperatura critica de la solución

MBA: N, N0-metilenbisacrilamida

APS: Persulfato amónico

TEMED: N, N, N0, N0-cloroetilico

PNIPAM: Poli (N-ispropilacrilamida)

AOT: Sodio bis (2-etilhexil) sulfoccinato

PVP: Poli (N-vinil-2-pirrlidona)

LP: Fosfolípido

ATR: Espectroscopia de reflectancia total atenuada

PN –Me: Nanopartículas metálicas

INTRODUCCIÓN

En los últimos años los materiales a escala nanoscópica han sido objeto de un notable interés, tanto desde el punto de vista de la investigación básica como de la investigación aplicada. Las investigaciones actuales en nanotecnología se centran en objetivos básicos, como la síntesis y caracterización de nanoestructuras, sus propiedades mecánicas, eléctricas, su estabilidad química y su respuesta frente a diversos estímulos.

Se debe destacar, en el caso de sistemas nanoestructurados, que el comportamiento de partículas de dimensiones nanoscópicas, depende drásticamente de las dimensiones, forma, distancia entre partícula así como de la naturaleza (conductora o aislante) de la matriz en la cual las nanopartículas se encuentran dispersas y se transmiten las interacciones entre partículas aisladas.

Actualmente se desarrollan técnicas que permitan almacenar mil veces más información en un disco duro de una computadora mucho más pequeña que una tradicional. La nanotecnología está reemplazando a la electrónica porque aumenta la confiabilidad de la información que guarda la capacidad de almacenar y disminuye el tamaño de cualquier componente o equipo tecnológico.

La incorporación de nanopartículas metálicas en matrices poliméricas es un área de gran interés en la actualidad, debido a las potenciales aplicaciones de estos materiales compuestos en diversos campos tales como biomedicina, electrocatálisis, electrónica, óptica, almacenaje de información, etc. En este sentido los polímeros conductores son especialmente empleados para su uso como matriz, para recibir las nanopartículas metálicas debido a sus aplicaciones en catálisis, sensores químicos, etc., ya que estos proveen un medio para el flujo de cargas eléctricas a través de la matriz.

Por otra parte, la investigación en el campo de los polímeros conductores se ha desarrollado en las últimas décadas, iniciando con los trabajos realizados por H. Shirkawa con el poliacetileno. Desde entonces se ha venido desarrollando un gran esfuerzo en investigación que ha conducido por una parte, al conocimiento de los mecanismos de transporte de carga en materiales orgánicos y por otro lado, a la mejora de sus propiedades. Estos esfuerzos han tenido como resultado la obtención de una serie de nuevos materiales orgánicos conductores y semiconductores.

Algunos de los polímeros conductores más estudiados son el polipirrol, polianilina y politiofeno, sin embargo, estos polímeros conductores extrínsecos no son estables en el aire, tampoco son fácilmente procesables. Por otro lado se han obtenido buenos

resultados mezclando estos polímeros extrínsecos con polímeros tradicionales, para formar materiales compuestos poliméricos electroconductores con mejores propiedades mecánicas.

Sin embargo, en la actualidad se sigue investigando aun más en el área de la nanomedicina ya que se requieren mayores esfuerzos para lograr atacar graves problemas en la salud.

En el presente trabajo se investigaron nanopartículas metálicas específicamente de plata, las cuales se sintetizaron utilizando diferentes sistemas como medio de reacción para el control del tamaño de las nanopartículas. Las nanopartículas metálicas han sido incorporadas a varias matrices poliméricas aportando propiedades especiales para el área de la nanomedicina, específicamente se utilizaron **técnicas instrumentales para el análisis y evaluación de aplicaciones en el cáncer y como agente bactericida, antifúngico, etc.** [1].

Objetivo

Realizar una búsqueda bibliográfica de las técnicas instrumentales más utilizadas para la caracterización y análisis de materiales nanoestructurados a base de polímeros con nanopartículas de plata y sus aplicaciones en la nanomedicina.

I. REVISÓN BIBLIOGRÁFICA

1.1 Nanotecnología y nanomateriales

El término 'nanotecnología' describe los materiales, sistemas y procesos que existen o que operan a una escala extremadamente pequeña: unos cientos de nanómetros (nm). Para entender un nanómetro en contexto: una cadena de ADN tiene 2,5 nm de ancho, un eritrocito tiene 7,0 nm de diámetro y un cabello humano tiene 80,0 nm de diámetro. Las nanopartículas son productos de nanotecnología de primera generación, partículas extremadamente pequeñas utilizadas por sus novísimas propiedades. Las nanopartículas fabricadas ya forman parte de centenares de productos, entre ellos bloqueadores solares, cosméticos, alimentos, envases de alimentos, prendas de vestir, agroquímicos, catalizadores industriales, etc.

Existe una enorme incertidumbre en lo que respecta al impacto de las nanopartículas en la salud. Hay una variedad de factores que influyen en la toxicidad de las nanopartículas, incluyendo forma y tamaño, composición química y también propiedades de la superficie, como carga, área, reactividad y cualquier recubrimiento [2]. Diferentes formas de nanopartículas de la misma composición química pueden tener toxicidades muy diferentes. Hay incertidumbre debido a que muchas veces la industria no comparte la información existente, sin un etiquetado y un registro obligatorio de los nanoproductos, nadie, ni siquiera los gobiernos, sabe cuáles productos contienen nanopartículas. Las encuestas muestran que muchas empresas no realizan evaluación de riesgos [3]. También hay una gran incertidumbre acerca de los aspectos sociales, económicos y legales, entre ellos, la responsabilidad, la propiedad intelectual, el derecho de los países a rechazar aplicaciones nanotecnológicas, la capacidad de controlar los riesgos de la nanotecnología, etc.

1.2 Las nanopartículas en la salud y el medio ambiente

Los estudios in vitro (en tubos de ensayo) con animales han mostrado que las nanopartículas fabricadas, actualmente tienen un amplio uso comercial, incluyendo el zinc, el óxido de zinc, la plata y el dióxido de titanio, plantean nuevos riesgos de toxicidad [4].

Las nanopartículas podrían causar además patologías de largo plazo. Dos estudios separados que se publicaron en 2008 encontraron que ciertos nanotubos de carbón causan una patogenicidad similar a la del asbesto y la aparición de mesotelioma en las ratas de laboratorio. Un pequeño número de estudios clínicos sugiere que las nanopartículas y las micropartículas pequeñas que no son metabolizadas, con el tiempo pueden ocasionar granulomas, lesiones, cáncer o coágulos sanguíneos [5]. Algunos sectores del público enfrentan riesgos mayores que otros, entre ellos, los trabajadores que puedan estar sometidos a exposición ocupacional rutinaria a nanopartículas. También hay evidencia de que algunas nanopartículas pueden atravesar la placenta, lo que constituye un riesgo importante especialmente para los embriones en desarrollo. Algunas nanopartículas han mostrado tener potencial de biomagnificación y bioacumulación en el medio ambiente.

Alto nivel de riesgo.- La Real Sociedad del Reino Unido, la más antigua sociedad científica del mundo, recomendó que, dadas las evidencias que empiezan a surgir en torno a los graves riesgos de nanotoxicidad, las nanopartículas deben ser objeto de nuevas evaluaciones antes de ser incluidas en productos de consumo, las fábricas y los laboratorios de investigación deben tratar las nanopartículas con precaución ya que son peligrosas, y la liberación de nanopartículas en el medio ambiente debe evitarse tanto como sea posible[6]. Swiss Re, una de las empresas de reaseguramiento más grandes del mundo, advirtió que "cualesquiera que sean las dificultades, debe aplicarse el principio de precaución". El año pasado, el Foro Internacional de Seguridad Química (FISQ), en una resolución adoptada por 71 gobiernos, 12 organizaciones internacionales y 39 ONG– hizo un llamado a que se aplique el principio de precaución en la gestión de las nanotecnologías [7].

1.3 Riesgos y regulación de la nanotecnología

La inmensa mayoría de los nanoproductos está llegando a los mercados sin ser sometida a una evaluación de seguridad específica para las nanopartículas, o con una evaluación de su seguridad realizada con protocolos de prueba inadecuados o incorrectos. A la inmensa mayoría de los trabajadores que manipulan nanopartículas no se les ha informado de este hecho. No se exige etiquetado para ningún producto que contenga nanopartículas.

A medida que sigan ampliándose los usos, inevitablemente la exposición social y ambiental a los nanomateriales también seguirá creciendo, en forma deliberada e intencional.

Los esfuerzos internacionales coordinados, tales como el programa de la Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico (OECD) sobre el patrocinio de nanomateriales se encuentran en circulación, por tal motivo su evaluación no contribuye a riegos.

La nanotecnología puede agudizar la inequidad social y económica.- Los avances tecnológicos de la década de 1990 no lograron corregir la inequidad socioeconómica mundial; de hecho, la inequidad aumentó en ese período. La nanotecnología no hará nada para corregir las causas sistémicas de la pobreza, el hambre o la contaminación.

Los impulsores de la nanotecnología pronostican que traerá avances importantes en materia de industria manufacturera, defensa, medicina, energía, agricultura y comunicaciones, y que será la base de la 'próxima revolución industrial'. Sin embargo, parece poco probable que tales avances beneficien a los pobres. Es posible que los países en desarrollo tengan que enfrentar riesgos nanotecnológicos desproporcionados al aceptar en su territorio la industria manufacturera rechazada por los países ricos o al transformarse en vertederos de desechos.

Un reciente descubrimiento podría acelerar el entendimiento de un amplio rango de enfermedades, desde cáncer hasta osteoporosis, gracias a investigaciones de Utah que están informando sobre el desarrollo de una nueva técnica microscópica que usa espejos de "nanopartículas de plata" para revelar detalles ocultos dentro de los huesos, células cancerosas, y tras estructuras biológicas.

John Lupton y colegas investigadores señalan que una de las herramientas más poderosas y ampliamente usadas para imaginar estructuras biológicas es la microscopia fluorescente, que requiere que el espécimen sea tratado con tintas fluorescentes. Sin embargo las tintas usadas para visualizar estas estructuras, pueden eliminar células vivas en el proceso, limitando de esta manera la efectividad de esta técnica.

Los científicos mejoraron dicha técnica al usar un laser infrarrojo excitando un conjunto de nanopartículas de plata, cada una de ellas es de 1/5000 el ancho de un pelo humano. Se enfocan intensos rayos de luz en las partículas de las muestras para revelar información acerca de la composición de la estructura de éstas. En un estudio de laboratorio se usó esta nueva técnica para ver la escala verde iridiscente llamado "escarabajo fotónico", la cual podrá otorgar ideas para diseñar nuevos y más poderosos chips de computadoras y células solares.

II.- TÉCNICAS DE EVALUACIÓN Y ANÁLISIS

2.1 Generalidades de caracterización estructural de nanopartículas

La investigación de propiedades físicas de las NPs requiere: métodos que posibiliten su fabricación y métodos experimentales de caracterización estructural. Los métodos de fabricación pueden clasificarse como físicos o químicos. La molienda mecánica de partículas micrométricas, la nanolitografía o la pulverización catódica constituyen ejemplos característicos de los métodos físicos. Sin embargo, recientemente los métodos químicos se vienen utilizando con mayor frecuencia.

Un método muy utilizado es el conocido en la literatura como método de Brust es el que ha permitido la obtención de las partículas de oro que al estar recubiertas con átomos de azufre presentan las propiedades ferromagnéticas. Por citar un ejemplo de método de fabricación para obtener NPs de Paladio por reacción redox, utilizando $R_4N^+X^-$ como surfactante en tetrahidrofureno. Como precursor del Pd se usa Pd $(NO_3)_2$ en un exceso de acetato tetrabutiamonio (n-C_4H_9) N^+ ($CH_3CO_2^-$). El nitrato es desplazado por un ligando de acetato, lo que es seguido por la reducción del Pd_2^+ que mediante transferencia de electrones genera clusters estabilizados de Pd^0. Las reacciones químicas deben llevarse a cabo en atmósfera inerte para evitar contaminación de oxígeno.

Una vez obtenidas las NPs deben caracterizarse mediante diversas técnicas. La que más comúnmente se requiere para cualquier estudio, es la microscopía electrónica y la de transmisión de alta resolución. Estas técnicas permiten a) el estudio del tamaño de las NPs y de su dispersión y b) la estructura de los átomos que se aglomeran formado la NPs. La Figura 1 muestra la imagen directa, obtenida por microscopía electrónica de transmisión de nanopartículas de oro recubiertas con surfactante y con enlaces tiol, así como su distribución de tamaños.

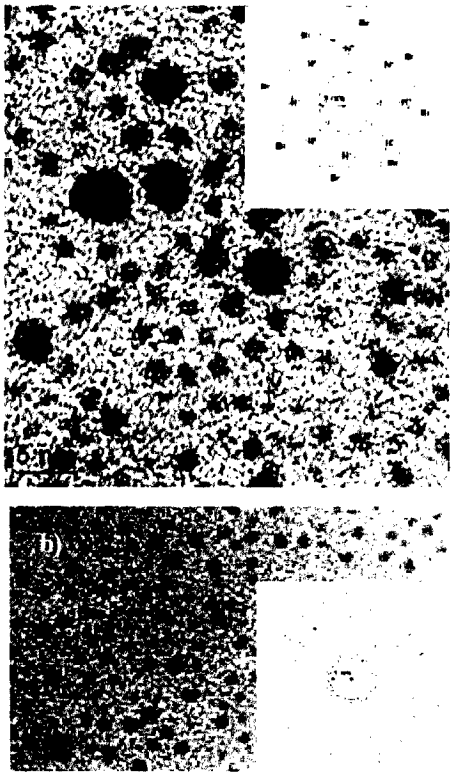


Figura 1. Imágenes TEM de dos tipos de nanopartículas de Au: a) nanopartículas de Au dispersadas mediante un surfactante; b) nanopartículas de Au estabilizadas mediante dodecanotioles. Se muestra también un esquema de las nanopartículas y las cadenas estabilizadoras.

Las figuras muestran sistemas de distintas NPs tal como se observan con las técnicas experimentales descritas. La figura 2 corresponde a una imagen de microscopía transmisión de alta resolución obtenida en una NPs de oro aislada de 1.8 nm de tamaño. En la imagen se aprecian los planos atómicos <111> de la NPs y puede observarse que solo existen ocho de estos planos.

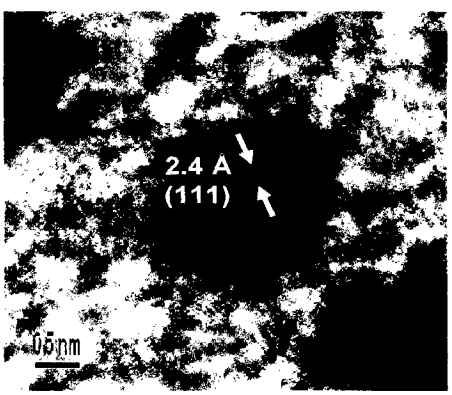


Figura 2. Imagen TEM de alta resolución de una nanopartícula de Au de 1,8 nm.

La figura 3 describe la estructura atómica de NPs de paladio de 2.4 nm de tamaño medio como se aprecia en la distribución. A partir de la imagen de microscopía de transmisión se obtiene su transformada de Fourier lo que permite apreciar nítidamente las maclas o fallas de apilamiento en la ordenación de los átomos de la NP.

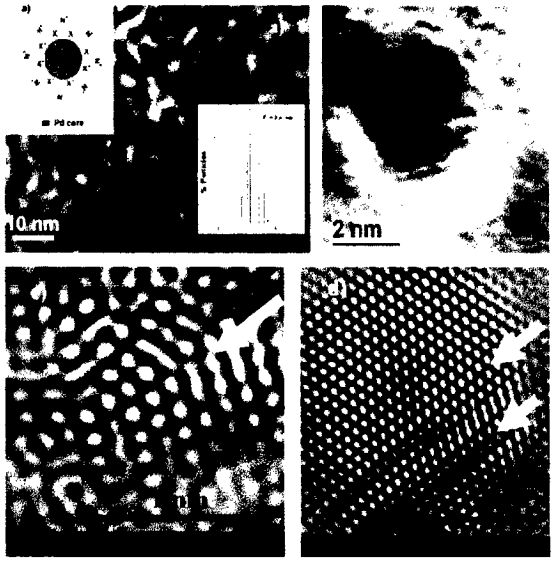


Figura 3. Nanopartículas de Paladio. (a) Imágenes obtenidas mediante microscopia electrónica de transmisión de nanopartículas de Pd dispersadas mediante un surfactante; (b) Imagen TEM de alta resolución de una nanopartícula de Pd de 2 nm; (c) y (d) imágenes TEM de alta resolución por transformada de Fourier (filtrada) de de nanopartículas de 2nm (c) y (d) 4nm. Las flechas indican las maclas o faltas de apilamiento.

Las figuras 4 y 5 presentan la estructura atómica de NPs de platino en la que también se observan maclas. Estas maclas aparecen por la importancia porcentual en átomos de las superficies. En estas NPs con tamaños del orden de uno ó dos nm el porcentaje de átomos de superficie es superior al 50%. La energía libre de la NPs se minimiza generalmente con estructuras distintas en la superficie que en el volumen. Por esta razón la tensión entre dos tendencias, por ejemplo, estructuras bcc y fcc, se resuelve con la formación de maclas. Las maclas tienen relevancia en las propiedades magnéticas ya que modifican localmente la estructura electrónica introduciendo cambios en la densidad de estados al nivel de Fermi, que como es sabido, condiciona el comportamiento magnético de las NPs [8].

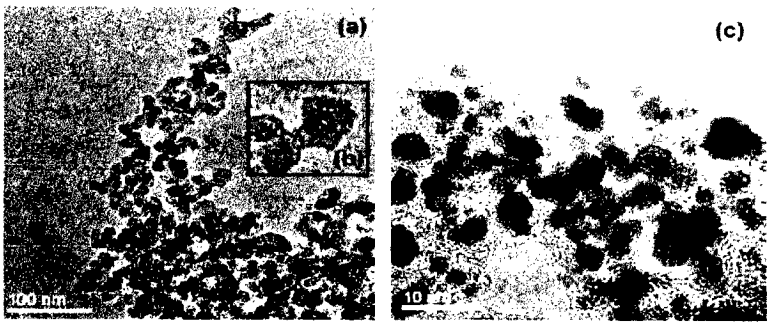


Figura 4. (a) Imagen de nanopartículas de Pt embebidas en una matriz de carbono; (b) imagen a mayores aumentos mostrando la presencia de puntos negros en la matriz de carbono; (c) Imagen obtenida mediante microscopía electrónica de transmisión de alta resolución.

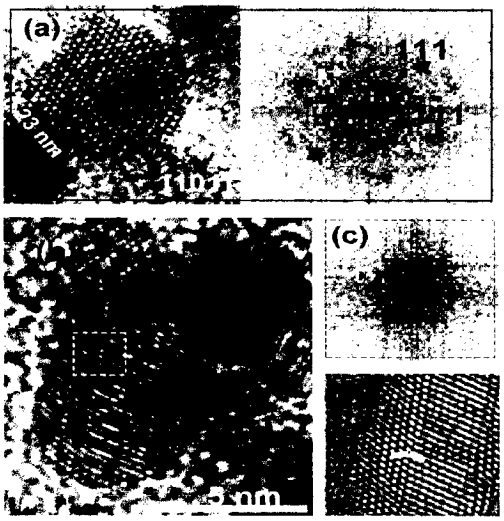


Figura 5. Imagen TEM por HRTEM de una nanopartícula de Pt y su correspondiente transformada de Fourier de un nanocristal de Pt a lo largo del eje de zona [101], mostrando la estructura fcc de la nanopartícula; (b) microscopía electrónica de transmisión de alta resolución de una nanopartícula de Pt maclada a lo largo de eje de zona [101]; (c) transformada de Fourier de la imagen de la nanopartícula mostrada (b); (d) la macla se observa más claramente después de eliminar el ruido.

2.2 Espectroscopia Infrarroja

Herramienta importante para la determinación de los enlaces químicos en compuestos orgánicos e inorgánicos. La radiación infrarroja corresponde a la parte del espectro electromagnético situada entre las regiones del visible y de microondas.

Una estructura atómica no es totalmente rígida ya que sus átomos, a cualquier temperatura, oscilan o vibran constantemente alrededor de sus posiciones de equilibrio. La amplitud de estas oscilaciones es muy pequeña, entre 0,01 y 0,1 Å y su frecuencia de vibración es relativamente elevada, de 1012 a 1014 Hz. Esta frecuencia es del mismo

orden que la radiación infrarroja, de manera que habrá interacción de la radiación con las vibraciones atómicas del material llamadas modos normales de vibración [9].

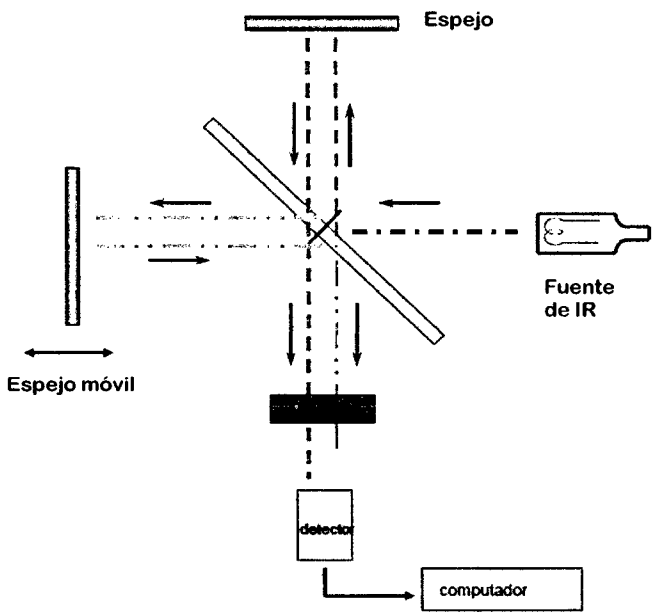
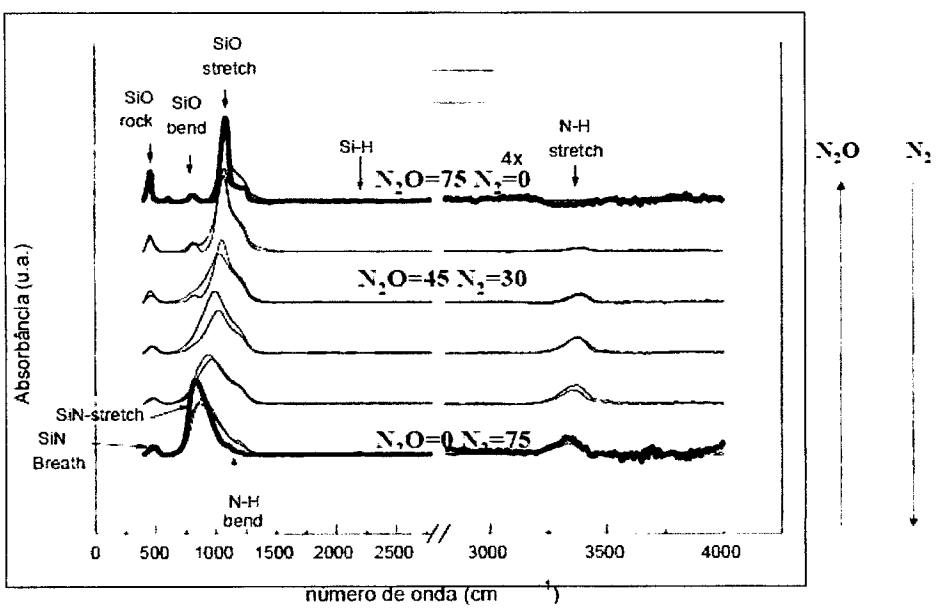


Figura 6. Diagrama de FTIR

Basado en un interferómetro de Michelson que consiste en un divisor de haz (*beamsplitter*), un espejo fijo y un espejo móvil, manteniendo tanto la frecuencia como la intensidad del haz.

Figura 7. Resultados de FT



2.3 Difracción de Rayos X (XRD)

Difracción de Rayos X (WAXD)

La difracción de rayos X (WAXD) es una técnica que permite estudiar la disposición de los átomos o moléculas en el espacio, en el caso de cristales corresponde a arreglos tridimensionales periódicos. Lo anterior se hace posible gracias a la interacción que se produce entre el material y la radiación electromagnética y a los efectos de interferencias que resultan cuando las estructuras son comparables en tamaño a la longitud de onda de la radiación. Si las estructuras se disponen en un conjunto ordenado, las interferencias son nítidas y la radiación es difractada bajo condiciones experimentales específicas, proporcionando información referente a las estructuras dispersantes.

Los materiales cristalinos producen señales de difracción bien definidas a determinados ángulos, mientras que los materiales amorfos producen señales anchas y de baja intensidad. Entonces los materiales semicristalinos como algunos termoplásticos darán lugar a patrones con señales bien definidas y señales difusas. Esta técnica se utiliza para la caracterización estructural y determinación de la orientación y el arreglo de las cadenas alquílicas.

Aplicaciones de la difracción de rayos X:

Identificación de fases, pureza de muestras, análisis cuantitativo y determinación de estructuras cristalinas.

Dispersión de Rayos X (SAXS)

Esta técnica nos permite estudiar la morfología a nivel laminar de los polímeros semicristalinos. Se basa fundamentalmente en la diferencia de densidad electrónica presente entre las diferentes fases (amorfa y cristalina) lo que permitirá observar la dispersión de los Rayos X siempre y cuando existan en la muestra heterogeneidad de densidad electrónica del tamaño coloidal.

Cualquier proceso de dispersión se caracteriza por una ley de la reciprocidad la cual implica una relación inversa entre el tamaño de partícula y el ángulo de dispersión. Una estructura laminar está formada por fases cristalinas y amorfas, donde la distancia de

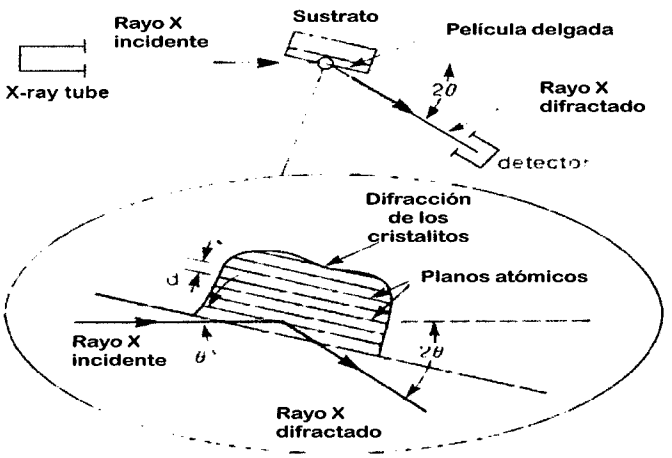
una región cristalina a la más próxima del mismo tipo, presentando el tamaño de una sola estructura amorfo-cristalino. También otra característica importante es el espesor de la interfase amorfo-cristalino [10].

Características generales:

•Técnica utilizada para identificar la estructura cristalina de sólidos, incluyendo constante de red y geometría, identificación de materiales desconocidos, orientación en cristales, orientación preferencial en policristales, defectos, etc.
•Longitud de onda típica: 0.7- 2Å
•Onda incide en una muestra y es difractada por las fases cristalinas en la muestra de acuerdo con la Ley de Bragg:

Donde: d es el espacio entre los planos atómicos de la fase cristalina
λ es la longitud de onda del rayo-X y es el ángulo de difracción.

•La intensidad es medida en función del ángulo 2θ y de la orientación de la muestra.
•Tamaño de muestra: ~ 0.3 mm (cristalina) o algunas decenas de micrones (difracción policristalina o polvos) [9].



Polvos: 0.1 μm (ancho del pico) <tamaño de la partícula < 40μm (poca difracción)

Figura 8. Diagrama de XRD

2.4 Antecedentes de microscopía

2.4.1 Microscopía y análisis de nanoestructuras

La **microscopía electrónica** (ME), es una de las técnicas más versátiles en la caracterización de **nanoestructuras**. En sus dos versiones, **transmisión (TEM) y barrido (SEM)**, ha habido grandes avances en los últimos años. En cuanto a resolución, la de transmisión ha logrado alcanzar la escala de los sub-angstroms (0.8 Å actualmente, 0.5 Å el reto de los próximos años), en la de microscopía barrido es del orden de unos cuantos nanómetros (2-3 nm). En versatilidad, una y otra han logrado acoplar una gran variedad de técnicas complementarias, que podemos agrupar en dos tipos: las de difracción en el análisis estructural extendido o cristalinidad y las espectroscópicas en el análisis de composición atómica. Entre las primeras podemos citar la difracción de electrones de área selecta (SAED) y en haz convergente (CBED) para la modalidad de TEM y retrodispersión de electrones (EBSD) para SEM. Existen además microscopios especializados como el de alto voltaje (HVEM), el de alta resolución (HRTEM), el de transmisión con sistema de barrido (STEM), el analítico (AEM), todos ellos para transmisión y para barrido, el ambiental (ESEM), el de bajo vacío (LVSEM), el orientacional (OIM), el de iones (FIB). Teniendo pues morfología, hábitat, estructura y composición, pudiéramos decir que la caracterización está completa, lo que restaría es correlacionar las distintas informaciones, es decir, interpretación.

Interacción de los electrones con la materia.- Los parámetros que entran en juego en esta interacción son: energía de los electrones, ángulo de incidencia del haz de electrones con la superficie de la muestra, número atómico de los elementos que componen la muestra y la densidad de ésta. Todo ello tiene como resultado, una penetración máxima (alcance o rango), un cierto volumen de interacción (expansión lateral) y la transferencia de energía en colisiones inelásticas, que se traducen en la generación de rayos X o simplemente en el calentamiento de la muestra. En el caso de TEM, debido a la gran energía de los electrones (100-300 keV) y a que las muestras suelen ser sumamente delgadas (100-200 nm) la expansión lateral del haz es despreciable. Prácticamente se puede considerar que el volumen de interacción es el diámetro del haz de electrones por el grosor de la muestra. En cambio para SEM, las muestras suelen ser gruesas y la expansión lateral del haz dentro de ellas si es

significativa; de tal modo que debe tenerse en cuenta para estimar el volumen de interacción, al igual que el alcance, que dependerá a su vez de la energía de los electrones, número atómico de los elementos de la muestra y su densidad. Bajo esta observación, de ninguna manera podemos confiar que el análisis proviene de la región iluminada por el haz sobre la superficie de la muestra.

Análisis de nanopartículas en TEM y SEM.- El análisis composicional depende en gran medida del tipo de muestra y su preparación, del tamaño de partícula y su hábitat y del diámetro, energía e intensidad del haz de electrones. La colimación del haz conlleva una pérdida de intensidad, de modo que en los TEM con filamento de tungsteno W, aunque lográsemos colimar el haz al orden nanométrico, la intensidad remanente no sería suficiente para trabajar. Quedando solo los ME con filamentos de LaB6 y FEG, los cuales logran diámetros de haz del orden de entre 20-30 nm y 2-3 nm respectivamente. El caso más sencillo de preparación quizás es el de polvos, por ejemplo los catalizadores, preparados ya sea sobre rejillas especiales para su observación por TEM o simplemente sobre cinta de grafito para SEM. En ambos casos se buscarán partículas que queden aisladas o en las orillas de los aglomerados, para evitar la interferencia con otras características de la muestra. Recordemos que no solo analizamos la parte iluminada por el haz, sino su alrededor (expansión lateral) y su penetración en la muestra, aspectos críticos en el caso de SEM. En el caso de muestras masivas preparadas por adelgazamiento para ser observadas por TEM, se buscarán partículas en el borde de la preparación. Aún así, deberá realizarse la corrección de "*in hole spectrum*", esto es, se restará al espectro de la partícula, aquél obtenido en el agujero mismo de preparación. En los TEM con filamento de LaB6 esta corrección es imprescindible, en algunos FEG, la colimación del haz en el modo "*nanoprobe*" es tan buena que la corrección resulta innecesaria. Con partículas rodeadas de material, por ejemplo en fronteras de grano preparadas para TEM, o en todas aquellas preparadas para SEM, el análisis quedará restringido a algo cualitativo de detección de variaciones significativas y sistemáticas de la concentración de ciertos elementos con respecto a la matriz.

El análisis estructural extendido requiere por igual la condensación del haz a diámetros del orden nanométrico. En TEM hay dos maneras de realizar dicha condensación, una en haz paralelo y la otra en haz convergente (nanoCBED). La segunda ofrece la ventaja de la difracción dinámica en el contraste de los discos de difracción o en la aparición de

las líneas de Kossel que ofrecen información volumétrica de la partícula, incluyendo grosores, potenciales y simetrías cristalinas. La intensidad del haz concentrado en la partícula cuando se realiza nano-CBED, es mucho mayor que en el haz paralelo y esto ofrece también ventajas de detección, pero puede causar daños; una manera de evitarlos es emplear portamuestras con enfriamiento a temperatura de nitrógeno líquido. En SEM en la modalidad de EBSD se pueden realizar patrones de Kikuchi de nanopartículas del orden de 100-200 nm. Si bien el haz se puede condensar al orden de nanómetros utilizando FEG, la inclinación necesaria en este tipo de análisis, del haz respecto a la superficie de la muestra es de 70°, de modo que la región de análisis se alarga. Por otro lado, esta configuración ofrece la ventaja de que la penetración del haz disminuye al orden nanométrico.

Análisis de segregación alrededor de fronteras de grano en TEM.- Este análisis es prácticamente imposible para SEM por lo que ya se ha comentado. En el caso de TEM es necesario orientar la frontera de grano paralela al haz de electrones y realizar con un haz lo más fino posible, una secuencia de análisis puntuales perpendiculares y a ambos lados de dicha frontera de grano, para después graficar los perfiles de concentración. Si se requiere una cuantificación confiable de los cambios de composición, no se recomienda hacer este análisis en el modo "*line scan*" pues la estadística es pobre; solo como visión pictórica cualitativa [11].

Caracterización de materiales nanoestructurados por microscopia electrónica de transmisión.

La microscopia electrónica de transmisión es una de las técnicas qué más ha contribuido en la nanociencia y la nanotecnología en los últimos años. El desarrollo de materiales nanoestructurados ha tenido gran auge, por lo que el uso de esta técnica avanzada de análisis es cada vez mayor. La microscopia electrónica de transmisión y barrido (STEM), el campo oscuro anular de gran ángulo (HAADF), la espectrometría de energía dispersiva de rayos X (EDS), la espectrometría por pérdida de energía de los electrones (EELS) y la microscopia electrónica de alta resolución (HRTEM) son algunas de las técnicas ampliamente usadas en estudios ambientales, desarrollo de nanomateriales, catalizadores, estudios biológicos, polímeros, semiconductores, cerámicos, metalurgia, recursos naturales, etc. El desarrollo de nuevos dispositivos electrónicos ha permitido

que la microscopía electrónica se haya convertido en una de las herramientas más utilizadas en la actualidad para realizar sondeo a nivel atómico.

Adicionalmente, se puede obtener mediante diferencia de contraste en la imagen, la composición química a resolución atómica identificando átomo por átomo en un arreglo cristalino. La técnica STEM-EDS permite realizar mapeos químicos de nanopartículas, un ejemplo de ello es ilustrado en la Figura 9, donde se muestra la distribución química de cada elemento. Para lograr este tipo de análisis se usa la técnica STEM, la cual converge el haz hasta un tamaño de 0.1 nm permitiendo analizar la muestra punto por punto sobre el área seleccionada. La convergencia de haz sobre la muestra genera una dispersión electrónica de ángulo muy grande con respecto al haz central. Estos electrones dispersados a gran ángulo, conocidos como dispersión de Rutherford, son colectados con el detector de HAADF de campo oscuro. Así los elementos más pesados dispersan fuertemente (mayor contraste) comparado con los elementos ligeros (menor contraste). La Figura 10 ilustra un caso típico de una imagen obtenida con este detector. Otra bondad de la metodología HAADF se ilustra en la Figura 11 con una imagen de alta resolución de Si cristalino [12].

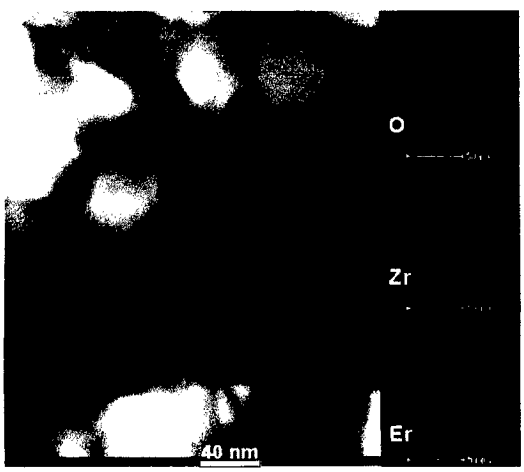


Figura 9.Mapeo químico por STEM - EDS

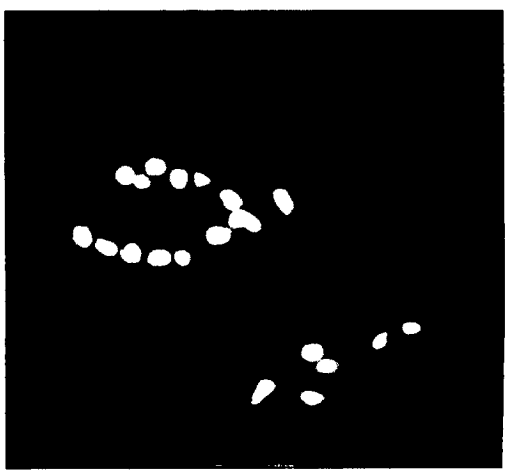
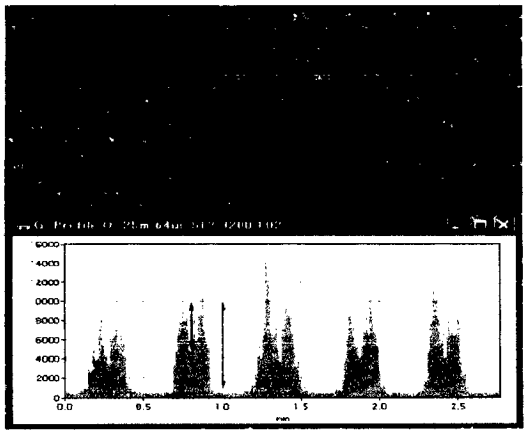


Figura 10. Imagen a baja amplificación por HAADF



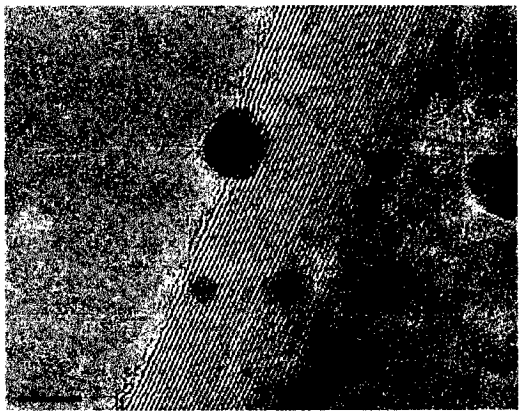


Figura 11. Alta resolución obtenida por HAADF **Figura 12.** Catalizador soportado pt/grafito

2.5 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

El microscopio electrónico de barrido (SEM) es similar al microscopio electrónico de transmisión. Ambos tienen ciertas características comunes tales como un cañón de electrones donde se genera el haz de electrones, lentes condensadoras y objetivo, sistema de vacío. La diferencia principal entre ellos es la manera en que forman y magnifican la imagen. Esto hace que la información que se obtenga de cada uno sea distinta. Mientras el TEM permite el estudio de la ultraestructura de muestras delgadas, el SEM posibilita conocer la morfología superficial.

En el microscopio electrónico de barrido, el haz electrónico, atraviesa la columna y llega a la muestra. Un generador de barrido es el responsable de producir el movimiento del haz, de manera que hace el barrido de la muestra punto a punto. De la interacción entre los electrones incidentes con los átomos que componen la muestra se generan señales, las cuales pueden ser captadas con detectores adecuados para cada una de ellas. El detector capta una señal y las convierte en una señal electrónica que es proyectada en un tubo de rayos catódicos (CRT).

El barrido del haz está sincronizado con el barrido del CRT y produce una relación uno a uno entre puntos de la muestra y puntos en el CRT. Las principales utilidades del SEM son la alta resolución (~100 Å), la gran profundidad de campo que le da apariencia tridimensional a las imágenes y la sencilla preparación de las muestras.

•Las imágenes pueden ser tomadas en diferentes modos: Electrones secundarios, electrones retrodispersados (backscattering) y mapeo de elementos por rayos-X.

•Electrones retrodispersados: producidos cuando el electrón incidente interactúa con el núcleo de un átomo de la muestra y entonces es retrodispersado. La producción de electrones retrodispersados varía directamente con el número atómico de la muestra. Los elementos de mayor número atómico aparecen más brillantes que los elementos de menor número atómico, permitiendo así diferenciar partes de la muestra con diferentes números atómicos promedios.

•Electrones secundarios: Producidos cuando un electrón incidente tiene energía suficiente para arrancar un electrón de las capas internas del átomo de la muestra y un electrón de una capa superior decae emitiendo un electrón secundario. Un mismo electrón incidente puede producir varios electrones secundarios. La producción de los electrones secundarios está relacionada con la topografía de la muestra debido su baja energía, 5 eV, siendo que solamente los electrones secundarios próximos a la superficie (< 10 nm) pueden salir de la muestra y ser colectados.

Mediante el SEM se estudian:

- Morfología superficial de minerales, catalizadores, etc.
- Electrodepósitos
- Adherencia fibra-matriz en polímeros.
- Cambios morfológicos de materiales sometidos a tratamientos químicos.
- Formas de cristalización de minerales.
- Control de calidad de catalizadores industriales.
- Morfología superficial interna de partículas poliméricas.

Microscopio electrónico de barrido

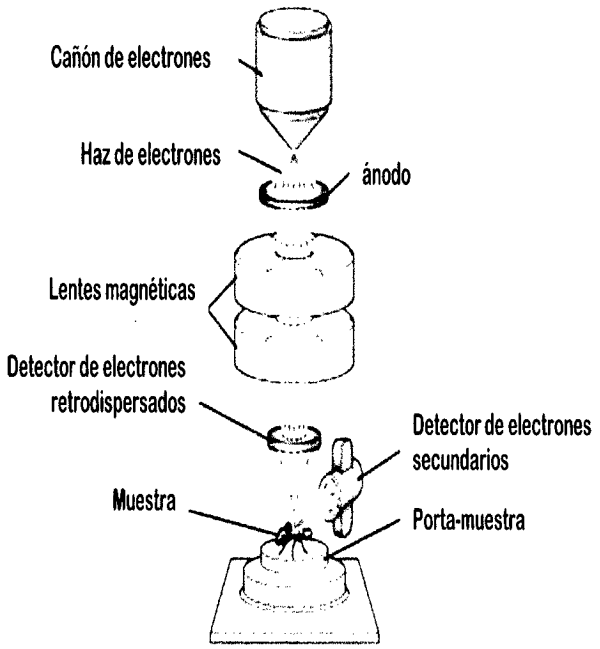


Figura 13. Sistema del microscopio electrónico de barrido (SEM)

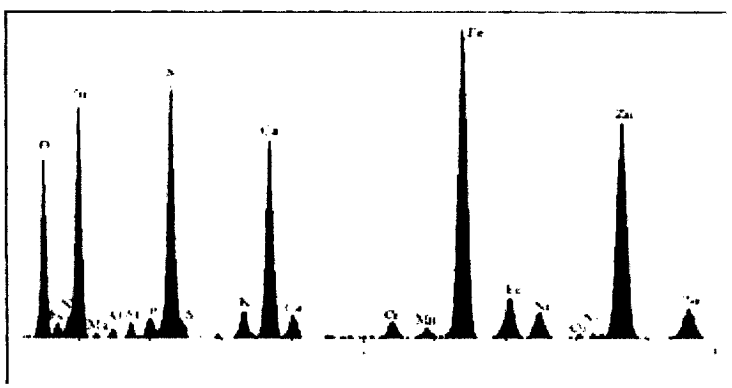


Figura 14. Energía dispersiva de espectroscopia de rayos X (EDS-SEM)

2.6 Microscopía electrónica de transmisión y barrido (STEM)

•Resolución de pocos nanómetros, puede operar con magnificaciones desde 10 a 1.000.000 de veces.

•Produce información con respecto a la topografía y composición química.

•Utiliza fuente de electrones, con un spot size de ~ 5 nm, con energía de pocas centenas de eV hasta 30 keV.

•Tipos de fuente de electrones: emisión de campo o filamento de LaB6 o tungsteno

•Los electrones penetran en la superficie de la muestra e interactúan con la muestra, que resulta de la emisión de electrones y fotones de la muestra y la imagen de SEM es producida por la colección de los electrones secundarios emitidos.
•El haz de electrones forma una línea que barre la muestra con alta velocidad, con diámetro de 5-10 nm (cañón termoiónico) o 0,5-2 nm (emisión de campo).

2.7 Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

•La energía del electrón está en un rango de energía entre 60-300 keV (generalmente 100-200 KeV) o 300 keV-3 MeV en el caso de microscopios de alto voltaje (HRTEM).

• Una fuente de electrones produce un flujo monocromático de electrones. Tipos de fuentes: emisión termoiónica con cátodo de filamento de tungsteno o cristal de LaB6 o de emisión de campo con filamento de tungsteno.

•El haz de electrones es focalizado por medio de dos lentes condensadoras que controlan el tamaño y el brillo del área de la muestra irradiada por el haz. Parte del haz de electrones es transmitido y focalizado por la lente objetiva. La distribución de intensidad de los electrones transmitidos pasa por tres o cuatro sistemas de lentes llegando a una pantalla fluorescente, que permite observar la imagen [9].

•Resolución: 1-3 Å.

Mediante el microscopio electrónico de transmisión podemos estudiar la ultraestructura de un material orgánico o inorgánico. Para esto, existen diferentes formas de operación que posibilitan el estudio de una característica en particular. Entre las aplicaciones del TEM podemos nombrar:

1. Determinación de estructura cristalina en minerales, metales, etc.
2. Estudio de catalizadores.
3. Determinación de impurezas, precipitados, etc.
4. Identificación de bordes de grano e interfaces en metales.
5. Estudio de fases y zonas cristalinas en polímeros.
6. Determinación de tamaño de partícula en catalizadores, minerales, etc.

7. Identificación de planos cristalinos
8. Cambios estructurales de materiales sometidos a diferentes tratamientos térmicos

Microscopio electrónico de transmisión (TEM)

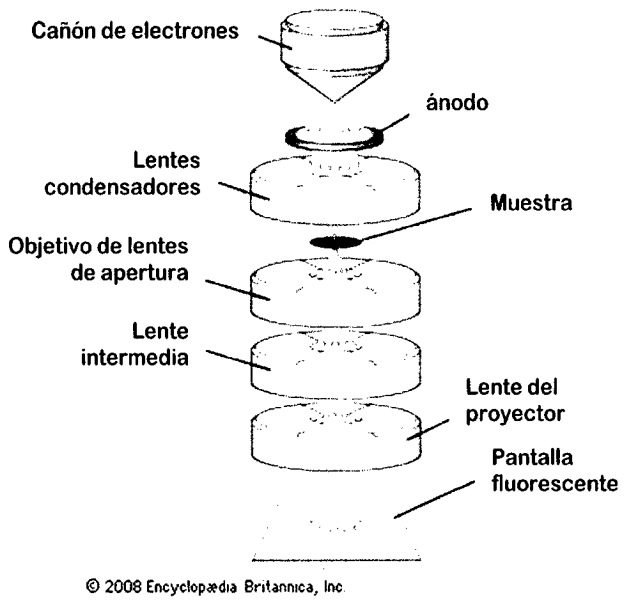


Figura 15. Sistema del microscopio electrónico de transmisión.

2.8 Calorimetría diferencial de barrido (DSC)

Registra la diferencia en el flujo de calor entre la muestra y la referencia en función de la temperatura. Esta técnica mide la cantidad de energía que necesita una muestra para estar equilibrada térmicamente con la referencia, mientras están sujetas a un programa de temperatura controlada. Esta técnica se fundamenta en que se debe mantener el sistema en equilibrio, por lo que, cualquier absorción o eliminación de calor por parte de la muestra deberá ser suministrado en la referencia, y esto es lo que se registra gráficamente. Así, cualquier absorción o eliminación de calor originado por la muestra para llevar a cabo sus cambios físicos o químicos (Tg, Tm, Tc, Tox), quedará registrado de esta forma.

La característica de la técnica DSC se basa en que, prácticamente todos los materiales sólidos o líquidos, presentan procesos térmicos que involucran cambios en su entalpía o calor específico.

El número, forma y posición de las señales, con respecto a la temperatura, se utilizan para el análisis cualitativo y el área bajo la curva se utiliza para el análisis cuantitativo o semicuantitativo.

Aplicaciones importantes del DSC en materiales nanoestrucuturados

a) Diferenciación entre mezclas de polímeros y copolímero (Ej. Copolímeros miscibles y de bloque)

b) Determinación del Grado de Cristalinidad (área bajo la curva proporcional a la cristalinidad)

c) Identificación de Polímeros por su Temperatura de Fusión y/ó Temperatura de Transición Vítrea (Tm para Polímeros cristalinos, Tg para Polímeros amorfos)

d) Evaluación de antioxidantes (Tiempos de inducción a la oxidación)

e) Determinación de la capacidad calorífica (Cp)

f) Obtención de Energías de Activación (Ea)

La técnica de análisis térmico DSC es muy útil para identificación de poliolefinas tanto en mezclas como en copolímeros, ya que es posible obtener señales y entalpías de fusión características.

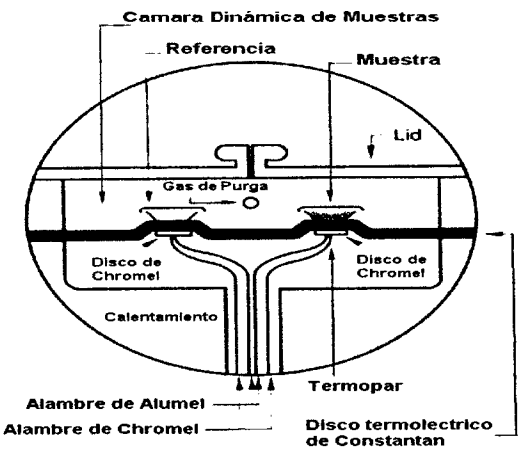


Figura 16. Partes de DSC

2.9 Análisis termogravimétrico (TGA)

Mide la velocidad de cambio de la masa en función de la temperatura (requiere que la muestra desprenda un producto volátil). Determina temperaturas de volatilización, estabilidad térmica y porcentajes de pérdida en peso, Tmax (Temperatura de la primera derivada, a la cual la velocidad de pérdida en peso es mayor).

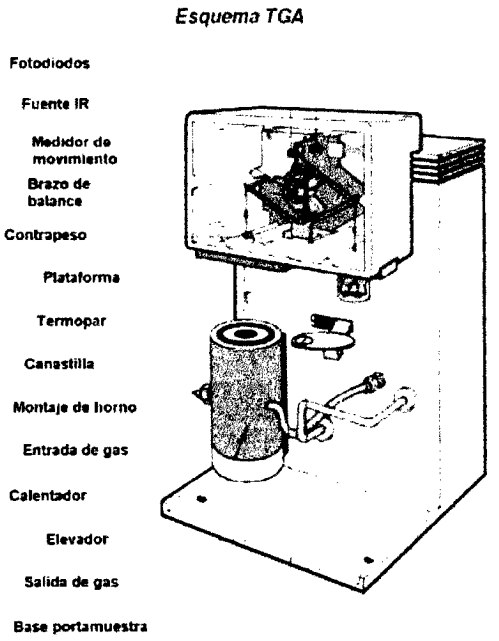


Figura 17. Partes de TGA

Es posible también hacer determinaciones a temperatura constante (isotérmica) en función del tiempo.

Utiliza una balanza de alta sensibilidad para detectar pequeñas pérdidas en peso (mg.) con atmósfera de N_2, O_2 ó Aire.

Algunos polímeros presentan temperaturas de pérdida de peso característico y pueden ser utilizados para su identificación (1 ó 2 etapas).

polímeros formulados presentan caídas de pérdida de peso y pueden relacionarse con los diferentes componentes como: plastificantes o aceites, polímeros, refuerzos (negro de humo), cargas ($CaCO_3$) y con residuo o material inorgánico (CaO, TiO_2, SiO_2,

Al_2O_3, etc.). Temperatura de la derivada (Tmax) es la temperatura a la cual la velocidad de pérdida en peso es mayor [10].

Aplicaciones importantes del TGA en materiales nanoestructurados

a) Determinación de humedad

b) Evaluación de aditivos antiflama

c) Cinéticas de degradación, energías de activación

d) Estabilidad térmica de polímeros (temperatura de volatilización)

e) Determinación de tiempos de inducción

f) Cuantificación de componentes principales en materiales formulados

III. ESTADO ACTUAL DEL CONOCIMIENTO

3.1 Nanopartículas de plata y sus aplicaciones en nanomedicina.

Las nanopartículas de plata se han desarrollado como un agente potente: anti-bacteriano, agente antifúngico, anti virales y anti-inflamatorios. El avance reciente en el campo incluye el método enzimático de la síntesis lo que sugiere que las enzimas son responsables de la formación de nanopartículas. En la biomedicina las aplicaciones de nanopartículas de plata pueden ser eficaces por ser sintetizadas biológicamente ya que reducen al mínimo factores tales como la toxicidad y el costo, además se encuentran excepcionalmente estables. Las nanopartículas de plata han demostrado ser eficaces contra las células cancerígenas, sin embargo ni el mecanismo exacto de acción ni los modos de activación de las moléculas de señalización han sido revelados aún. La revisión también examina los antecedentes históricos de las nanopartículas, el papel de las nanopartículas de plata en diferentes aplicaciones biomédicas y también se centra en mejorar los métodos de la síntesis de nanopartículas.

Introducción

La plata es conocida por ser un metal que se empezó a usar incluso antes de la Revolución Neolítica, los griegos la utilizaban para cocinar y mantener agua potable. El primer uso medicinal de la plata fue registrado durante el siglo octavo. La plata fue conocida sólo como un metal sin embargo cuando entró la era nano la gente empezó a creer que la plata, incluso se podría producir a nanoescala. La intriga de la nanotecnología proviene de la capacidad de control de las propiedades de los materiales mediante el ensamblaje de estos materiales a nanoescala.

Todo comenzó en 1974 cuando Norio Taniguchi, investigador de la Universidad de Tokio, Japón acuñó el término "nanotecnología" mientras surgió la ingeniería de los materiales con precisión en la escala nanométrica. La principal fuerza motriz para la miniaturización de ese momento venía de la industria electrónica, que tiene por objetivo desarrollar herramientas para crear pequeños dispositivos electrónicos en los chips de silicio de 40 a 70 nm. El uso de este término, "nanotecnología" ha ido creciendo en el sentido de toda una gama tecnológica tan pequeña, como las ciencias de materiales, en el diseño de nuevos materiales para aplicaciones de gran alcance como son: la electrónica, refiriéndose a los ordenadores, los componentes y los semiconductores,

también en la biotecnología, donde el diagnostico y los nuevos sistemas de entrega de fármacos son de importancia.

"La nanotecnología es la aplicación de la ciencia para controlar la materia a nivel molecular. Se ha sabido que las células vivas son los mejores ejemplos de máquinas que operan a nivel nano y llevan a cabo una serie de trabajos que van desde la generación de energía para la extracción de materiales destinados a la alta eficacia. Las histonas ribosoma, y cromatina, el aparato de Golgi, la estructura interior de la mitocondria, el centro de reacción fotosintética, y la fabulosa ATPasa son nanoestructuras que funcionan eficientemente. La intriga en la investigación de nanomateriales para la medicina regenerativa es fácil de ver y es amplia su propagación. Los beneficios potenciales de los nanomateriales en aplicaciones biomédicas e industriales para la salud humana y el medio ambiente son aceptados en la literatura. En el contexto biológico, los informes recientes se centran en el efecto del tamaño, forma, biodisponibilidad, absorción y distribución subcelular de tales nanomateriales.

Nanotecnología es el campo más prometedor para la generación de nuevas aplicaciones en medicina sin embargo, sólo unos pocos nanoproductos son utilizados con fines médicos. Las nanopartículas de plata (AgNPS) han ganado interés a lo largo de los años debido a sus propiedades distintivas, como buena conductividad, estabilidad química, la actividad catalítica y antibacterianas. La revisión actual menciona sobre las nanopartículas de plata, que se aplica en la medicina antibacteriana, antifúngica, antiviral, terapia antiinflamatoria y también extiende un panorama general de métodos biocompatibles de síntesis que mejoran el uso de estas terapias en el sistema humano. La revisión examina el papel de las nanopartículas de plata en la terapia del cáncer y también cubre ciertas formulaciones de fármacos.

3.1.1 Síntesis de nanopartículas de plata

La biosíntesis de las nanopartículas, ha recibido cada vez más atención debido a la creciente necesidad de desarrollar en el medio ambiente tecnologías benignas en la síntesis de material. Las nanopartículas de plata se pueden sintetizar a través de una serie de métodos como: la chispa de descarga, la reducción electroquímica, la irradiación de solución y síntesis crio química.

3.1.2 Los métodos tradicionales de la síntesis de nanopartículas de plata

La reducción química es el método más utilizado para la preparación de nanopartículas de plata (AGNPS) en forma de dispersiones coloidales en agua o solventes orgánicos. Reducción de los iones de plata (Ag +) en solución acuosa en los rendimientos de partículas de plata coloidal con un diámetro de varios nanómetros. Inicialmente, la reducción de complejos Ag con diversos iones conducirá la formación de átomos de plata (AG0), que es seguido por aglomeración en grupos oligoméricos. Estos grupos pueden dar lugar a la formación de partículas coloidales de Ag. El control de síntesis de AGNPS se basa en un proceso de reducción de dos pasos. En esta técnica un agente reductor fuerte, se utiliza para producir pequeñas partículas de Ag, que se amplía en un segundo paso de reducción con un agente reductor más débil. Diferentes estudios informan de la ampliación de las partículas en el segundo paso de 20-43nm a 120-170nm. Por otra parte, la solución inicial no era reproducible y se necesitaban equipos especializados. La síntesis de nanopartículas por métodos químicos de reducción, se realiza a menudo en presencia de los estabilizadores para prevenir aglomeración no deseada de los coloidales. El método biológico de la síntesis de nanopartículas ha demostrado ser un método mejor que los métodos químicos, debido a la gran cantidad de capital involucrado en la producción y se trata de un uso intensivo de proceso de energía. Por otra parte los nanocristales coloidales de plata son producidos por las rutas químicas que comprometen el factor de tamaño durante el almacenamiento. La "síntesis biológica" de nanopartículas es la síntesis favorable al medio ambiente. La lenta cinética ofrece una mejor manipulación y control sobre el crecimiento de cristales y su estabilización.

La síntesis "verde" de AGNPS involucra tres pasos principales, que deben ser evaluados en base a las perspectivas de la química verde, incluidas (1) la selección de medio solvente, (2) la selección de agente reductor en medio ambiente benignos, y (3) la selección de sustancias no tóxicas para la estabilidad AGNPS. Estas rutas sintéticas, tienen la biomineralización que es una técnica atractiva. El mejor método de síntesis de nanopartículas es la biomineralización. Es uno de los grandes enfoques hacia la biocinética. La generación de nanocristales de plata, la reducción de iones de plata ha sido utilizada en bacterias y organismos unicelulares. La reducción es por medio de una enzima y la presencia de esa enzima en el organismo se ha encontrado que es la responsable de la síntesis. Nuestro interés está puesto en las nanopartículas

biológicamente sintetizadas por otros métodos, se han encontrado algunas anormales en el tamaño y forma también presentan ciertas dificultades cuando se usa en la terapia.

3.1.3 La síntesis biológica de las nanopartículas de plata

La síntesis biológica de las nanopartículas germina de los experimentos de biosorción de metales con bacterias Gram negativas y positivas. La absorción de los metales utiliza Isoterma de adsorción de Freundlich. Industrialmente los metales importantes como plata, cadmio, cobre, etc, fueron probados para determinar si la síntesis biológica de estos metales era posible o no. La plata fue precipitada como agregados coloidales en la superficie celular y en ocasiones en el citoplasma. Los resultados de microscopia electrónica indican a éstos como agregados de nanopartículas. Se deduce que las células bacterianas han tenido la capacidad de obligar a absorber grandes cantidades de metal. Los organismos que se utilizaron en las pruebas de absorción de metales incluyen Bacillus subtilis y B. licheniformis (bacterias gram positivas) y Escherichia coli (gram bacterias negativas). Las paredes celulares de las bacterias gram positivas se observaron en cantidades más grandes, se unen varios metales sobre las células de las bacterias Gram negativas. El propósito antimicrobial en el medio ambiente es un componente importante de la dinámica del metal. La biosíntesis de los cristales a base de plata llegó 10 años después cuando estos cristales fueron identificados como las nanopartículas que exhibieron ciertas propiedades únicas. La biosíntesis de las nanopartículas fue llevado a cabo en AG259 Pseudomonas stutzeri, en una cepa bacteriana que fue aislada originalmente de una mina de plata.

Los resultados de microscopia electrónica de transmisión (TEM) de la cepa bacteriana resistente a la plata P. stutzeriAG259 cultivadas en grandes cantidades de sales de plata (50nm $AgNO_3$) mostraron que las células pueden acumular plata en grandes cantidades. La medida y el aspecto de la deposición de Ag en el periplasma de las bacterias se ilustra en la figura.18 A y B, que presenta una visión general representativa de secciones finas de un cultivo celular preparado por la eliminación de las células activas crecido en una placa de agar.

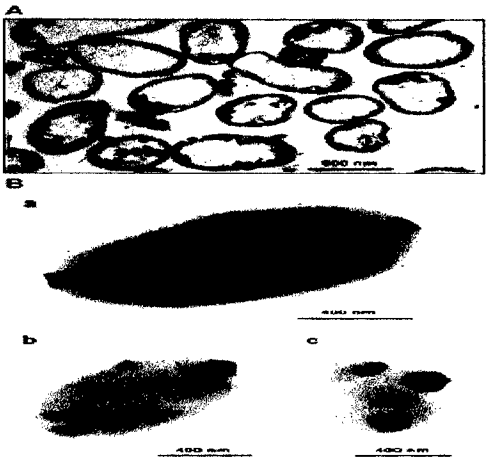


Figura 18. Micrografías TEM

Las secciones demostraron que la mayoría de las células presentan grandes concentraciones de nanopartículas de plata. Lin y col. reportaron que mediante el análisis realizado por TEM es importante para el estudio de las nanopartículas de plata, así como también difracción de rayos X el cual fue utilizado para el estudio de la estructura cristalina de las mismas. Mediante difracción de rayos X se forman estructuras cristalinas, con valores de 39,01 °, 46,48 °, 64,69 y ° 77.62, que corresponde a los planos <111>,< 200>, <220>, y <311>, respectivamente, para la plata. La síntesis de materiales con dimensiones en la escala nanométrica se convirtió en un desafío permanente en la ciencia de materiales y en microelectrónica. Esto abre nuevas campos para la preparación de materiales nanoestructurados que incorporan como base a las partículas de plata con estructura definida, composición, y propiedades morfológicas. Otras técnicas que se disponían para preparar este tipo de material fueron condensación de los gases y la radiación ultravioleta o la radiación gamma, que se asociaban a la baja producción, velocidad y alto costo. La producción a gran escala de plata que contienen materiales de deposición química o reducción de la solución producida por partículas de más de unos pocos micrómetros

3.1.4 Síntesis enzimática de nanopartículas de plata

Las nanopartículas de plata son consideradas moléculas importantes debido a su aplicación en el campo de los medicamentos. Se demostró que la síntesis de nanopartículas de plata, utiliza nitrato reductasa α-dependiente de NADPH y fitoquelatina in vitro. En el trabajo realizado se utilizó un organismo (Fusarium

oxysporum) que fue incubado durante una noche y el sobrenadante se utilizó para purificar la proteína nitrato reductasa utilizando una columna de DEAE y CM. En la síntesis participan: el uso de nitrato de plata (1mM), fitoquelatina (100 mg) α-NADPH (1mM) y la enzima purificada (100 mg). El análisis mediante TEM confirmó la síntesis de nanopartículas. La síntesis se detectó por medio de la enzima nitrato reductasa que se encontró presente en el sobrenadante. El mecanismo exacto de la reducción de iones metálicos en bacterias aún no se ha aclarado. Parece ser que la reductasa, péptidos y proteínas pueden ser responsables de la reducción de los iones Ag +. Entre las bacterias esta B. licheniformis que se ha utilizado para la síntesis intra y extracelular de las nanopartículas de plata. En B. licheniformis, la enzima se encuentra en la membrana, y es llamada enzima respiratoria así como la enzima nitrato reductasa puede dar lugar a la formación de nanopartículas de plata sobre la membrana celular (fig. 19).

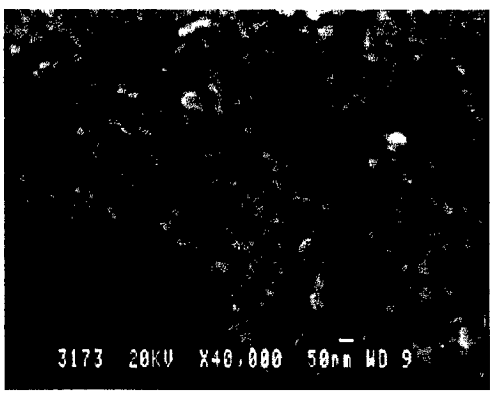


Figura 19. Micrografía SEM de las nanopartículas de plata formadas después de la reacción del sobrenadante con $AgNO_3$ (1 × 10-3 M) durante 24 h (muestra de partículas de alta resolución a una escala de escala a 50nm).

En todos los organismos que sintetizan las nanopartículas de plata con nitrato. La síntesis extracelular de las nanopartículas podría ser muy ventajosa desde el punto de vista de la síntesis. Las nanopartículas de plata que parecía ser una protección del mecanismo de defensa de comportamiento altamente reactivo de los iones de plata (Ag +) a las células. Los iones de plata en la solución acuosa en las células se convierten en estado reducido (AG0). La síntesis de nanopartículas en la presente reacción en las células se atribuye a la presencia de nitrato de enzima llamada reductasa. La enzima se encuentra en ambos, aerobios y anaerobios. Esta enzima de F. oxysporum se ha explotado, por la síntesis in vitro de nanopartículas de plata.

3.1.5 Sintetizadores de nanopartículas de plata

La bionanociencia se centra en los fenómenos biológicos a nanoescala. La investigación científica es fundamental para avanzar en la nanociencia y la nanotecnología así como la biología y la medicina. Una gran ventaja de tener procariotas como las nanopartículas sintetizadoras es que pueden ser fácilmente modificadas mediante ingeniería genética técnicas de expresión de enzimas específicas, además de la facilidad de manipulación.

Sin embargo, el uso de los eucariotas, especialmente hongos, es potencialmente interesante ya que secretan grandes cantidades de proteínas, aumentando así la productividad, y son fáciles de tratar en el laboratorio. Además, el proceso puede ser fácilmente ampliado, económicamente viable con la posibilidad de cubrir fácilmente grandes superficies por el crecimiento adecuado de micelio. Por otra parte, en los procesos posteriores sería mucho más simple utilizar microorganismos fúngicos para sintetizar nanopartículas de plata en ambos sistemas intracelulares y extracelulares.

3.1.6 Impacto de nanopartículas de plata en biomedicina

La reciente aparición de la nanotecnología ha dado una nueva modalidad terapéutica en las nanopartículas de plata para su uso en la medicina. Hipócrates, padre de la medicina creía que la plata en polvo tenía beneficios y propiedades de curación contra enfermedades y aparece como un tratamiento para las úlceras. Pero fueron compuestos principalmente de plata que entraron para aplicación médica. Los compuestos de plata fueron las armas principales contra la infección de la herida en la primera guerra mundial hasta el advenimiento de los antibióticos. Plata metálica se somete a nuevas tecnologías de ingeniería resultantes en morfología característica extraordinariamente novedosa. La plata metálica se ha diseñado en partículas ultrafinas cuyo tamaño se mide en nanómetros (nm). Al llegar a nanoescala, las nanopartículas de plata presentan propiedades físico-químicas inusuales y actividades biológicas. Estas propiedades distintivas extienden su aplicación en las actividades antibacterianas, terapia antifúngica, antiviral y anti-inflamatorios.

3.1.7 Nanopartículas de plata como agente bactericida

Los microorganismos (bacterias, levaduras y hongos) juegan un papel importante en la remediación de metales tóxicos a través de la reducción de los iones metálicos. Se ha sabido que las nanopartículas de plata inhiben y tienen efectos bactericidas por lo tanto se extiende su aplicación como agente antibacteriano. El efecto combinado de

nanopartículas de plata con antibióticos ha demostrado ser fructífero. Tales efectos se observaron por primera vez en E. Coli, Staphylococcus aureus con método de difusión en disco. La actividad antibacteriana de la penicilina G, amoxicilina, eritromicina, clindamicina, vancomicina aumentó en la presencia de AGNPS contra las dos cepas de prueba. No se observa el mismo efecto en el caso de los antibióticos probados. Los efectos de AGNPS en la actividad antibacteriana de los antibióticos de E. coli fueron inferiores a los S. aureus. Por el contrario, la actividad más sinérgica se observó con eritromicina frente a S. aureus. El cemento óseo sobre la base de polimetilmetacrilato (PMMA) es un estándar de oro para el anclaje de las articulaciones artificiales. Como todos los biomateriales PMMA tiene un elevado riesgo de infección cuando se implanta en el cuerpo humano en comparación con tejido autógeno vital. Por lo tanto, la carga de PMMA con antibióticos para reducir la tasa infección ha demostrado ser una buena estrategia. Buchholz y Engelbrecht (1970) fueron los primeros en cargar cemento óseo con antibióticos para reducir las tasas de infección en la artroplastía. La primera reducción significativa de la tasa de infección por el uso de cemento óseo, en comparación con gentamicina carga normal de cemento PMMA reportados por Thierse (1978), Wannske y Tscherne (1979) confirmó diferencias significativas en la actividad antimicrobiana entre el cemento PMMA cargado con antibióticos y sin formato en un prospectivo estudio. El efecto del uso de nanopartículas de plata junto con el cemento óseo fue inhibir la proliferación de las células bacterianas. Un aumento en la concentración de la plata intensifica el efecto antibacteriano. Los niveles citotóxicos de las nanopartículas de plata en el cemento óseo fueron mínimos, por lo tanto se recomienda para el tratamiento de la artroplastia.

Los antibióticos de uso más frecuente en el cemento óseo son tobramicina o gentamicina. La plata ha sido conocida por tener propiedades bactericidas eficaces para varios siglos. La actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata se puede extender también a la industria textil. El sintetizado biológico de nanopartículas de plata podría ser de enorme utilidad la industria medica textil por su función eficaz antimicrobiano. Los materiales estériles por ejemplo telas juegan un papel importante en los hospitales, donde a menudo las heridas están contaminadas con microorganismos, en particular, hongos y bacterias, como S. aureus. Por lo tanto, para reducir o prevenir las infecciones, diversas técnicas de desinfección antibacteriana se han desarrollado para todo tipo de textiles, por ejemplo ya hay nanopartículas de plata incorporadas en

telas de algodón y seda. La actividad anti-bacteriana se observa cuando las nanopartículas de plata se incorporaron en tela de algodón.

3.1.8 Nanopartículas de plata en la terapia antifúngica

Las infecciones por hongos se han vuelto más comunes en los últimos años. En particular los hongos son más frecuentes en los pacientes que están inmunocomprometidos debido a la quimioterapia contra el cáncer, o de órganos o infecciones por virus de la inmunodeficiencia. La disponibilidad de los fármacos antifúngicos es limitado debido a la profilaxis con antifúngicos puede dar lugar a la aparición de cepas resistentes. El progreso en el desarrollo de ambos agentes antifúngicos tópicos y sistémicos rezagados, debido en parte a los esfuerzos de investigación intensiva en el área de la terapia antibacteriana que se inició en la década de 1940 después de la producción a gran escala de penicilina y también a la baja incidencia relativamente de graves infecciones por hongos comparado con las infecciones bacterianas.

En 1980, los miembros de las cuatro clases principales de agentes antimicóticos-polienos, los azoles, morfolinas, y alilaminas habían sido identificados, pero el único medicamento nuevo introducido para el tratamiento de infecciones sistémicas por hongos fue ketoconazol oral. El desarrollo de nuevos medicamentos antifúngicos es debido a la creación de nuevas terapias de combinación potencial para combatir la mortalidad. Muchos estudios han demostrado los efectos antimicrobianos de AGNPS, sin embargo los efectos contra hongos patógenos son en su mayoría desconocidos. El efecto antifúngico de las nanopartículas de plata y su modo de acción se investigaron. Efectos antifúngicos en hongos probado con bajos efectos hemolíticos en contra de los eritrocitos humanos se han observado. Aunque la resistencia a los fármacos antifúngicos no parece ser un problema como resistencia a los agentes antibacterianos en bacterias, una preocupación a largo plazo es que el número de tipos fundamentalmente diferentes de los agentes antifúngicos están disponibles para el tratamiento sin embargo sigue siendo muy limitada. Esto es porque los hongos son organismos eucariotas con estructura y metabolismo que son similares. Por lo tanto, hay una necesidad médica inevitable y urgente de los antibióticos con nuevos mecanismos antimicrobianos. Aunque el efecto biocida y el modo de acción de iones de plata es conocido, sin embargo, los efectos antifúngicos y el modo de acción de AGNPS contra los hongos se

han mantenido en su mayoría desconocidos. La anfotericina B, es un agente antimicótico que se utiliza para tratar enfermedades sistémicas graves. Se utilizaron infecciones tratadas con anfotericina B como control para ser comparadas con la actividad de las AGNPS. Las AGNPS mostraron actividad antifúngica significativa frente a T. mentagrophytes y especies de Candida. El micelio inducido por suero se inhibió de modo que se prorroga y se forma en presencia de AGNPS, sin embargo el micelio se forma normal en la ausencia de AGNPS. Estos resultados dieron a conocer que las nanopartículas de plata pueden ser un potente agente antifúngico. La capacidad de AGNPS de perturbar la estructura sobre hongos se documentarán mediante microscopio electrónico de transmisión. El tratado de las células de los hongos mostró daños significativos, que se caracterizó por la formación de un "pozo" en sus paredes celulares y poros en la membrana plasmática.

3.1.9 Nanopartículas de plata anti-virales y su interacción con el VIH

Nanomateriales con excelentes propiedades han sido ampliamente investigados en un amplio rango de aplicaciones biomédicas, en particular, medicina regenerativa. Las nanopartículas de plata se han usado para exhibir la eficacia antimicrobiana contra las partículas virales. El virus de la viruela de los monos (MPV), un ortopoxvirus similares al virus de la viruela, es el agente causal de la viruela del simio en muchas especies de primates no humanos. Las nanopartículas de plata han demostrado que presentan prometedoras actividades citoprotector frente al VIH-infectados por las células T, sin embargo, el efecto de estas nanopartículas hacia otros tipos de virus, no ha sido investigado. El virus de la viruela del simio es un patógeno humano, con una presentación clínica similar a la de la viruela. MPV es considerado como una gran investigación de amenazas a la vida humana y por lo tanto se está llevando a cabo para desarrollar drogas y agentes terapéuticos contra este virus. Las características versátiles de nanopartículas de plata han llevado a su utilización para dar resistencia en contra de los virus. Las nanopartículas de plata también podrían inhibir la producción in vitro de la hepatitis B ARN y virones extracelulares. Se ha propuesto que la directa interacción entre estas nanopartículas y el VHB de doble cadena de ADN o partículas virales es responsable de su mecanismo anti-viral. Muchos otros estudios han participado para estudiar la interacción entre el virus y las nanopartículas. En un estudio se incorporan nanopartículas de carbono en una matriz espumada y esto impide la coalescencia durante su síntesis. Análisis por TEM muestran que las nanopartículas tienden a

aglomerarse en el interior de la matriz de carbón en espuma, aunque una fracción significativa de la población se libera de esta matriz por la energía procedente de un baño por ultrasonido. Estas nanopartículas son liberadas principalmente a superficie libre nanopartículas, y sólo las nanopartículas de la matriz de carbón espumado interactúan con el VIH-1 en las células (Fig. 20 B y C). Los resultados de TEM indicaron que estas partículas eran de menor tamaño (alrededor de 16 nm). También reveló que la muestra se compone de nanopartículas de diferentes morfologías. Infrarrojos (IR) y espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS), han revelado que los dos átomos de oxígeno y nitrógeno del anillo de la pirrolidona puede promover la adsorción de las cadenas de PVP en la superficie de la plata (Fig. 23 D). La distribución de tamaños de la muestra se obtuvo en imágenes de campo oscuro de ángulo amplio (HAADF), (ver figura 20 E y F).

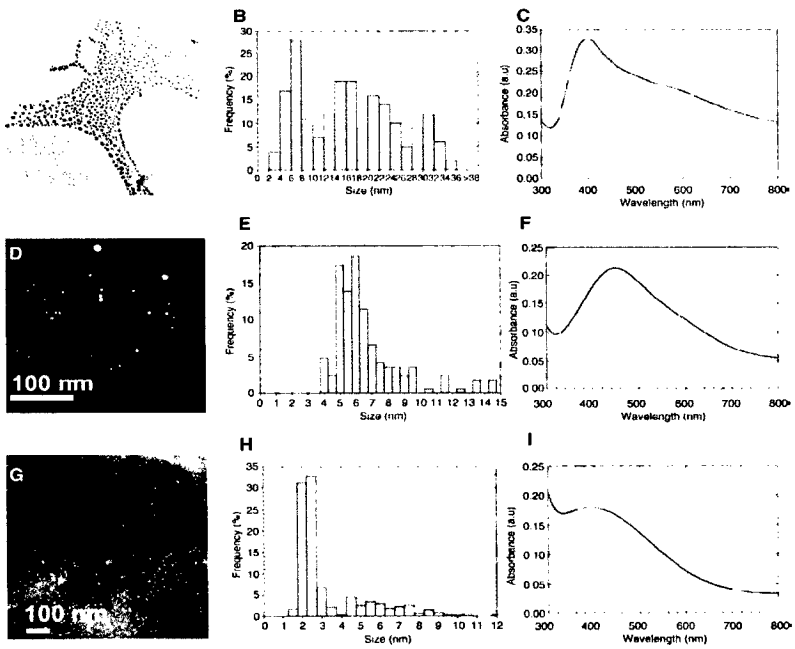


Figura 20. Imagen TEM de nanopartículas de plata de superficie libre liberadas de la matriz de carbono mediante dispersión del polvo.

Como una buena aproximación, los elementos más ligeros aparecen opacos y los elementos pesados aparecen brillantes. Debido a la gran diferencia en número atómico, las nanopartículas de plata se distinguen fácilmente de la materia orgánica y del virus. La presencia de plata se confirma de forma independiente por espectroscopia de energía dispersiva de rayos X (EDS).

Los tamaños de las nanopartículas obligan a que los virus estén exclusivamente dentro del rango de 1-10 nm. Tanto la disposición espacial de las nanopartículas y el tamaño de la dependencia de la interacción puede ser explicado en términos de la pandemia del VIH-1 del virus y pueden proporcionar información sobre el modo de interacción entre el virus y las nanopartículas. El exterior del virus VIH-1 está compuesto de una membrana lipídica entremezclada con las perillas de la glicoproteína que sobresale, y está formado por trímeros que consiste en dos subunidades: la superficie gp120 subunidad glicoproteína está expuesta al exterior, y la gp41 glicoproteína transmembrana abarca subunidad de la membrana viral y conecta el exterior glicoproteína gp120 con la matriz P17 interior proteína. La función principal de estos salientes de glicoproteína gp120 es enlazar con los receptores CD4 en el origen de las células. Numerosas proteínas celulares también están integradas sobre paredes virales. Sin embargo, el que sobresale la gp120 glicoproteína perillas están más expuestas al exterior, y debe ser más accesible para las interacciones potenciales de nanopartículas. Estos se correlacionan con el modelo estructural para el VIH-1 propuesto por Arthur et al. (1992). El contraste oscuro observado en estos sitios podría indicar los lugares de la glicoproteína .Suponiendo que los sitios más atractivos para interacción son los residuos de azufre de la glicoproteína.

3.1.10 Las nanopartículas de plata y su efecto anti-inflamatorio

A pesar de los miles de millones de dólares que se han gastado en la investigación inmunológica, han surgido pocos medicamentos antiinflamatorios eficaces. Una necesidad urgente de nuevos fármacos existe, ya que muchas enfermedades inflamatorias no son suficientemente sensibles a los medicamentos actuales. Por otra parte, en los países desarrollados, la incidencia de algunas enfermedades inflamatorias, como el asma, se ha incrementado notablemente en las últimas décadas. La incidencia de algunas enfermedades autoinmunes, como diabetes tipo 1, también ha aumentado, de los vínculos más sugerentes entre las enfermedades inflamatorias y los aspectos de la vida moderna. El reto para el desarrollo de nuevos fármacos anti-inflamatorios ha sido encontrar objetivos adecuados que son esenciales en el proceso inflamatorio, sin embargo son en su mayoría prescindibles para la defensa del huésped contra los patógenos. El desarrollo de nuevos medicamentos está destinado a revolucionar el tratamiento de enfermedades inflamatorias. La terapéutica que altera selectivamente la migración de células que representa una clase especialmente prometedora de las nuevas

drogas anti-inflamatorias. La industria farmacéutica ha dirigido varios tipos de moléculas para someter a las enfermedades inflamatorias. Las drogas que alteran la migración de células, parecen ser especialmente prometedoras en ensayos clínicos y en modelos animales de muchas de las enfermedades inflamatorias. Apósitos de nanocristales de plata se introdujeron comercialmente como apósitos antimicrobianos en 1998 y estos han mejorado la curación, que pueden resultar de potentes actividades antiinflamatorias. Esta actividad inusual de nanocristales se dice que ocurre debido a su pequeño tamaño. Los nanocristales de plata tienen comportamiento de disolución único, la liberación de AG0 en la solución. Esta especie (AG0) se dice que presentan actividad anti-inflamatoria y esto se puso de manifiesto cuando se utilizaron modelos de animales. Nanopartículas Au0 suprimen la actividad de la interleucina-6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral α (TNF-α) mientras dan el alivio de los síntomas de la artritis reumatoide, lo que indica que puede haber un efecto anti-inflamatorio. La estructura del cristal (cubica centrada en las caras) y los radios Pauling covalentes de plata y de oro son iguales. Por lo tanto, la plata y el oro pueden sustituirse unos por otros en cristal de celosías, lo que sugiere que las agrupaciones Au0 y Ag0 deben ser idénticas físicamente, y por lo tanto pueden tener actividad biológica similar. En el tratamiento de quemaduras en un ratón se utilizaron nanopartículas de plata y se encontró un aumento de la tasa de curación y una disminución en la cicatrización, esto en comparación con sulfadiazina de plata. Esto fue acompañado por el incremento en la expresión de IL-10, factor de crecimiento vascular endotelial, e interferón-γ, con la IL-6. En una herida porcina infectada, los tratamientos de nanopartículas de plata mejoraron la regeneración de los tejidos mientras que disminuye el eritema y edema. El efecto anti-inflamatorio de las nanopartículas de plata se comprobó en la piel de cerdo, ya que es un excelente modelo de la piel humana. Se observó que la cicatrización de la herida fue mucho más significativa.

3.1.11 Nanopartículas de plata en la terapia del cáncer

La integración de la nanotecnología con la biotecnología y la medicina, significa la capacidad de descubrir la estructura y función de los biosistemas, que intrínsecamente tienen un nivel de organización a escala nanométrica. La nanotecnología tal vez traducida a la nanomedicina, en lo que se refiere al tratamiento y curación de las enfermedades en escala molecular. De hecho, el uso de nanopartículas (100 nm o menos) para la entrega y la selección de agentes terapéuticos y de diagnóstico, está a la

vanguardia de proyectos en la medicina para el cáncer. La selección y la acumulación de medicamentos en lugares específicos donde se libera el agente, proporciona un medio para alcanzar altas concentraciones del fármaco en un área designada con menos efectos sistémicos secundarios. El cáncer sigue siendo una de las enfermedades más devastadoras del mundo y los tratamientos actuales incluyen el cáncer de la intervención quirúrgica, la radiación, y fármacos quimioterapéuticos, que a menudo también matan a las células sanas y causan toxicidad para el paciente. Tanto el campo del diseño de drogas y la proyección de imagen del cáncer vamos a ganar un desarrollo que se considera generalmente como un avance fundamental en la medicina, esto es, la introducción de la nanotecnología en la medicina. La progresión de los tumores ha sido atribuida a la acumulación de múltiples alteraciones a lo largo del genoma, que se manifiesta por la inestabilidad genómica. El ataque a las células dentro de un tumor no siempre es factible debido a que algunos medicamentos no se pueden difundir de manera eficiente y la naturaleza aleatoria del enfoque hace que sea difícil controlar el proceso. Esta falta de control puede inducir resistencia a múltiples fármacos (MDR), una situación en la que fallan los tratamientos de quimioterapia en los pacientes debido a la resistencia de las células cancerosas hacia una o más drogas. MDR se debe a que las proteínas transportadoras pueden expulsar a partir de las células, las drogas que están sobre-expresados en la superficie de las células cancerosas. La nueva tendencia de la utilización de nanopartículas como transportadores de fármacos ha explotado el potencial de las nanopartículas para revolucionar el tratamiento del cáncer. La plata no se reconoce como molécula terapéutica de desarrollo y seguramente se extenderá su uso como un portador de drogas. Las nanopartículas de plata se pueden utilizar para focalización de drogas activas y pasivas.

Se han hecho muchos intentos en utilizar nanopartículas de plata como un agente anti-cáncer y todos ellos han aparecido positivos. El próximo logro es el descubrimiento del mecanismo de acción. El posible mecanismo se ilustra en la figura. 21.

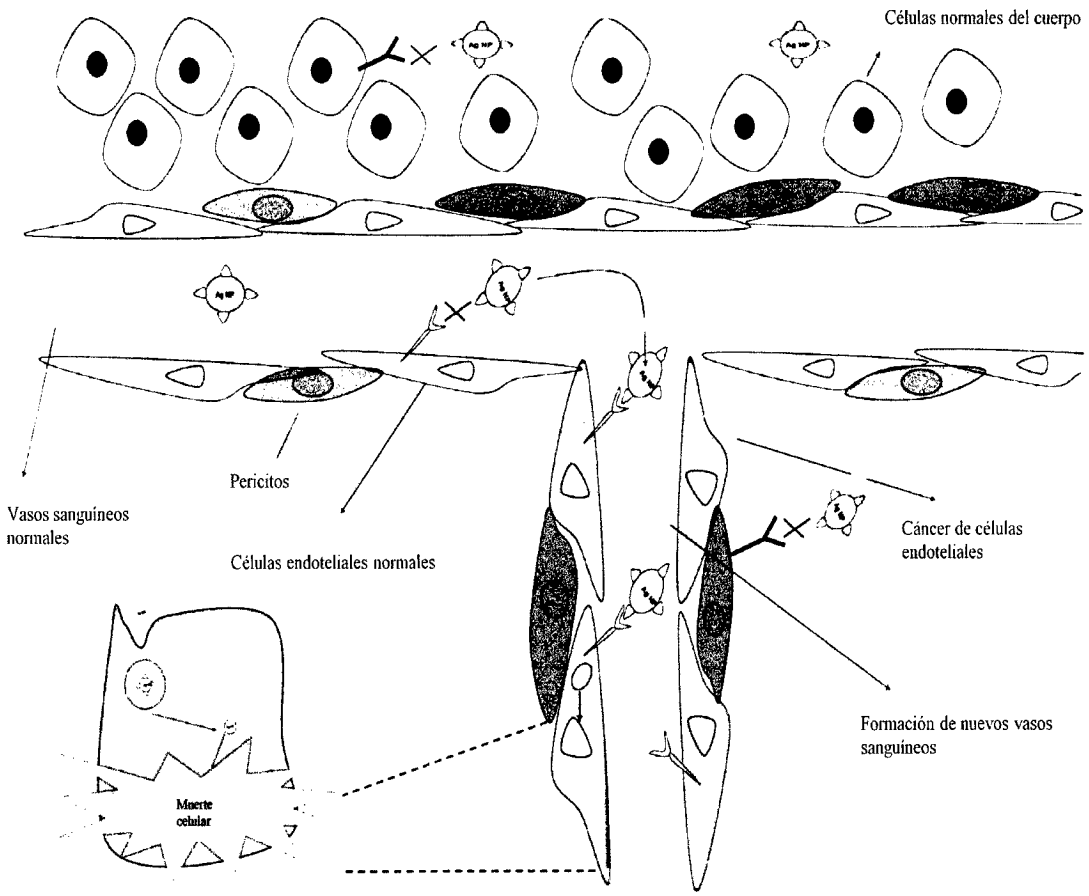


Fig. 21. Posible mecanismo para la entrega selectiva de nanopartículas de plata en la terapia del cáncer

La focalización de las nanopartículas de plata hacia las células cancerosas implica ciertas limitaciones. La primera pregunta que surge es acerca de la toxicidad de las nanopartículas de plata hacia las células del cuerpo. Las nanopartículas de mayor tamaño han demostrado que son tóxicas para las células. Una forma de superar esta limitación es el uso de partículas de menor tamaño (5-20 nm). Este tamaño de partícula ha demostrado ser menos tóxico para las células y también presentan mayor afinidad hacia los receptores. Resultados similares se han obtenido cuando las partículas se revisaron para interacción con VIH.

Una de las razones podría ser la diferencia en la curvatura de la nanopartículas de diferentes formas. Por ejemplo, las nanopartículas en forma de bastón pueden tener mayor área de contacto con los receptores de la membrana celular que las nanopartículas esféricas cuando el eje longitudinal de las barras interactúa con los

receptores. Esto, podría reducir el número de sitios disponibles para la unión del receptor. Una segunda razón podría ser la cantidad de moléculas de surfactante CTAB adsorbido sobre las nanopartículas en forma de bastón durante la síntesis. Si el CTAB todavía estaba en la superficie, el suero no puede ser capaz de unirse a la superficie de las nanopartículas de plata de manera eficiente. Además, el recubrimiento de proteína en la superficie de la plata en forma de vara de las nanopartículas puede no ser homogéneo. En tal caso, los ligandos en la superficie de las nanopartículas de plata en forma de vara no podrán unirse a los receptores en la superficie celular con tanta fuerza (debido a la falta de unión multivalente). Este podría afectar la absorción de las nanopartículas. La otra pregunta que se plantearía es la unión específica de las nanopartículas de plata hacia células del cáncer, pero no a las células del cuerpo. Una posible razón podría deberse a diferencias morfológicas entre las células cancerosas y las células del cuerpo.

Las células cancerosas son diferentes en el tamaño de los poros, en comparación con las otras células por lo que un tamaño controlado de focalización de las nanopartículas de plata se puede probar eficazmente en el caso del tratamiento del cáncer. Los mecanismos que regulan el tamaño y la captación intracelular de forma dependiente de las nanopartículas pueden ser especulados. Es evidente que la adsorción no específica de las proteínas séricas media la absorción de las nanopartículas. La presencia de estas proteínas en la superficie de las nanopartículas determina la absorción de vida media. El papel de las nanopartículas de plata puede ser explotado para explorar las vías de señalización desencadenada por las nanopartículas de plata dentro de las células cancerosas. El crecimiento y la maduración de una red vascular funcional son procesos complejos y todavía no entendidos completamente, la participación orquestó la activación de células progenitoras vasculares en las primeras etapas del desarrollo embrionario seguida de la vasculogénesis y la angiogénesis. Estos procesos requieren una activación fuertemente regulada de crecimiento de varios factores y sus receptores. Las proteínas y los lípidos de transporte a lo largo de la secreción de vía en eucariotas incluyen el embalaje y la entrega selectiva de carga de un compartimento a otro. Esto se logra por la compañía de vesículas y estructuras tubulovesiculares que brotan de un mismo donante y se fusionan con un compartimiento de destino específico.

La biogénesis de las vesículas portadoras es un aspecto importante de transporte de membrana a lo largo de la vía secretora. Una identifica su objetivo correcto y se

someten de acoplamiento y fusión, y requiere un mecanismo de la membrana el conocimiento de las proteínas asociadas a membranas.

El papel de las nanopartículas de plata como un agente contra el cáncer debe abrir nuevas puertas en el campo de la medicina. El diseño inteligente de múltiples funciones de nanosistemas para imágenes intracelulares y específicas aplicaciones terapéuticas requiere un conocimiento profundo de los mecanismos de nanopartículas que entran y salen de las células. Para aplicaciones biológicas y clínicas, la capacidad de controlar y manipular la acumulación de nanopartículas durante un largo período de tiempo dentro de una célula puede dar lugar a mejoras en la sensibilidad diagnóstica y eficacia terapéutica.

La idea fue eliminar el uso de medicamentos de alto costo para el tratamiento del cáncer. En general, las nanopartículas de plata deben servir como una de las mejores maneras de tratar enfermedades que involucran la proliferación celular y la muerte celular [13].

3.2 Redes de hidrogel como nanoreactores: Un nuevo enfoque de las nanopartículas de plata para aplicaciones antibacteriales.

Redes de hidrogel basadas en N-isopropilacrilamida (NIPAM) y acrilato de sodio (SA) fueron preparadas por polimerización redox en presencia de N, N0-metilenebisacrilamida (MBA). Se prepararon nanopartículas de plata muy estables y uniformemente distribuidas utilizando estas redes de hidrogel como un portador a través de la reducción in situ de nitrato de plata en presencia de borohidruro de sodio como un agente reductor. Se demostró que el híbrido de hidrogel con diferentes tamaños de nanopartículas de plata puede emplearse eficazmente como **material antibacterial**.

Las nanopartículas (NPs) son materiales nanoestructurados y se consideran como una clase importante de materiales que han encontrado interés en **biomedicina**, óptica y electrónica. Se han propuesto una serie de métodos y desarrollos para la síntesis de nanopartículas sin aglomerados. Estos incluyen polímeros, macromoléculas biológicas, partículas de látex, materiales inorgánicos, dendrímeros, microgeles o hidrogeles, sistemas coloidales y otros. La mayoría de los sistemas antes mencionados proporcionan una buena estabilidad de nanopartículas, sin embargo los sistemas de

microgel o hidrogel pueden actuar de forma similar. Además, estos hacen más conveniente la producción de nanopartículas de tamaño más pequeños.

Los esfuerzos recientes en la investigación se dirigen para explotar la síntesis in situ de nanopartículas de metales dentro de la síntesis y de la red polimérica de productos, utilizando estos enfoques están conduciendo a nuevo híbrido o sistemas compuestos en química y ciencia de ingeniería. La red tridimensional de hidrogeles son plantillas adecuadas para producir nanopartículas sobre sistemas convencionales no acuosos y poliméricos para aplicaciones biomédicas, por su excepcional compatibilidad con moléculas biológicas, las células y tejidos. De esta manera se aprecia el sistema de transporte en las células, por ejemplo: dendrímeros o microgeles actúan como 'nanoreactores' inmovilizando las partículas y proporcionando un fácil manejo.

Los hidrogeles ofrecen gran espacio libre entre las redes cruzadas en la etapa de inflamación que puede actuar como un nanoreactor. La nucleación y crecimiento de las nanopartículas. Un controlador de Deposición de nanopartículas Ag en el poli [(N-isopropilacrilamida)-microgel co-(ácido acrílico) - co-(acrilato de 2-hydroxylethyl)] ya fue alcanzada. Xu et al, desarrolló un híbrido de microgel con cristales fotónicos y estudió sus características. PICH et al, describe la síntesis y caracterización de microgeles híbridos de poli- [(vinilcaprolactam-co-acetoacetoxi metacrilato)] y nanopartículas de Ag. Un método habitual para la estabilización de nanopartículas de Au en las redes de hidrogel a través de un tiolester fue desarrollado empleando el reticulante N, N0-cistaminebisacrilamida.

El interés actual en aplicaciones biomédicas es que un sistema versátil debe mostrar actividad antibacteriana hacia gérmenes en contacto. Las nanopartículas de plata (AgNPs) son consideradas no tóxicas. Sin embargo, tienen afinidad de enlaces pobres con la superficie. Por lo tanto, los avances más recientes apuntan a descubrir caminos prometedores para obtener nanopartículas de Ag en redes de geles. De esta manera, los sistemas de polímeros con nanopartículas de plata abrieron una nueva ventana para un rango diferente de aplicaciones en el campo biomédico y estos enfoques son más efectivos y seguros. NP Ag/Poli(N-Vinyl-2-pyrrolidone) es un compuesto que funcionó como un bactericida, éste se aplica en casos complicados de quemaduras infectadas y heridas purulentas.

Un recubrimiento antimicrobiano prometedor de poli (2-hidroxietil con redes de acrilato), poli (etilenamina) (PHEAePEI) y nanopartículas de Ag modificados con PEG se utiliza para aplicaciones biomédicas en la vida diaria. La combinación de nanopartículas de metal por ejemplo plata con formas poliméricas parece ser una vía prometedora para el diseño de nuevos materiales. Así, se exploró la posibilidad de producir nanopartículas de plata en redes de hidrogel y poder demostrar su excelente actividad antibacteriana.

Materiales

N-Isopropilacrilamida (NIPAM), acrilato de sodio (SA), Persulfato amónico (APS), N, N0-metilenebisacrilamida (MBA), N, N, N0, N0-cloroetílico (TEMED), borohidruro de sodio (NaBH4) se obtuvieron de Aldrich (USA). Nitrato de plata ($AgNO_3$) fue comprado a Junsei Chemical Co. Ltd. (Japón). Todos los productos químicos se utilizan como tal sin ninguna depuración extra. Se utilizó agua destilada para preparar las soluciones y polimerizaciones.

Preparación

NIPAM (800 mg), SA (200 mg) y MBA (14nm) son añadidos en 8ml de agua destilada. A esta solución de monómero homogénea, por cada 1ml de APS (1 g/100ml de agua) y TEMED (1 g/100ml de agua) se agregaron secuencialmente en agitación continua. La polimerización de unión radicálica en un tubo de ensayo continuó durante 24 horas a temperatura ambiente para ver la formación de la red completa. Después de romper el tubo, la varilla de gel fue cortada en varios discos. Los discos hidrogel fueron lavados con agua destilada por tres días y después se filtraron. Del mismo modo, variando la concentración de MBA (4.5, 6.00 y 8,5nm) se obtuvo Hidrogel con diferentes estructuras de red.

La preparación de las nanopartículas de Ag en redes de hidrogel se ha realizado en varios pasos. El gel seco puesto en 30ml de agua, permitió hincharse (w50 mg) completamente. A continuación, el hidrogel hinchado fue transferido a otro vaso que contiene 30ml de solución de nitrato de plata para obtener el ion cargado de plata. Después de un día, los geles cargados con plata se colocaron en 25ml de borohidruro de sodio en solución 10nm. El gel que contenía la sal de plata se colocó en contacto con solución $NABH_4$, el color del gel cambió a color café. Los geles nanohibridos de Ag

obtenidos se caracterizaron después de la trituración mediante el uso de un molino. Las nanopartículas de plata También se prepararon a través de la técnica común reducción de $AgNO_3$ con $NaBH_4$ en ausencia de redes de hidrogel. Escherichia coli fue utilizada para probar el potencial biológico de las nanopartículas de Ag en redes de hidrogel. La actividad antibacteriana de las nanopartículas de Ag fue determinada por métodos estándar. Se colocaron nanopartículas de Ag en redes de hidrogel con una gota de solución (las soluciones de los ensayos se prepararon con agua destilada) en cajas petri. Luego se aplicaron las células de la bacteria E. Coli por aerosol y fue cultivada en agar de crecimiento a 35± 2 °C durante 24 horas. La bacteria fue cultivada en medio Muller Hinton (MHB) usados como inóculos para el estudio. Las células de E. Coli (ATCC 25922, 10^7 células/ml de agua destilada) se pulverizan sobre el sustrato utilizando un pulverizador, posteriormente fueron secadas durante 2 minutos y luego colocadas en agar de crecimiento Muller, al cual se agregó agar Hinton (MHA), (0,7% en medio de cultivo). Como era de esperarse, el número de colonias cultivadas en las nanopartículas de Ag en redes de hidrogel resultó ser casi nulo en comparación con las partes sin recubrimiento que rodean el sustrato.

Caracterización

Se realizaron análisis XRD con un difractómetro (radiación Cu, 1 0.1546 ¼ nm) con 40kV y 40mA. Las imágenes fueron tomadas mediante microscopia electrónica de barrido (SEM) modelo Hitachi S-4700 operado con un voltaje de aceleración de 15kV. La temperatura de transición vítrea (Tg) para los hidrogeles se realizó mediante DSC modelo Mettler Toledo Instrument. Estos experimentos se realizaron para muestras secas (5 mg) de 25 a 300°C a una velocidad de calentamiento de 5°C bajo un flujo de nitrógeno de 40ml/min. Las muestras para SEM se prepararon colocando de 2 a 3 gotas de gel nanohibrido de plata en solución en una placa de silicio. Mediante microscopia electrónica de transmisión (TEM) y se realizó el análisis con un microscopio JEOL JEM-2000 a 200 kV. La muestra fue preparada por dispersión de 2 a 3 gotas de solución de gel con plata en la rejilla de 3mm de cobre, eliminando el exceso de solución utilizando un papel filtro.

Resultados y discusión

El desarrollo de geles híbridos de nanopartículas es de gran interés en varios campos incluyendo aplicaciones biomédicas, debido a un proceso fácil para preparar el hidrogel híbrido con Ag. El concepto del método actual para redes de hidrogel es esquemática presentado en la figura 22. Este enfoque es útil precisamente para producir nanopartículas de Ag. Otra de las ventajas de esta metodología es que proporciona nanopartículas de Ag uniformemente distribuidas dentro de las redes, y las redes constituidas de hidrogel con Ag pueden utilizarse eficazmente para aplicaciones antibacteriales. Las redes de hidrogel incluyen cadenas PNIPAM y PSA, estas redes se utilizaron directamente como portadores de producción de nanopartículas de plata. Las principales razones para seleccionar el poli (N - isopropilacrilamida- Hidrogel de acrilato de co-sodio) como un nanogenerador son las siguientes: (a) el hidrogel poli (N-isopropilacrilamida) (PNIPAM) es un excelente material biocompatible y exhibe un cambio repentino con el medio ambiente, pero tiene aplicaciones limitadas debido a una LCST (temperatura critica de la solución) fija. Por lo tanto, muchos investigadores intentaron superar esta limitación agregando ácido acrílico o unidades hidrófilas en el polímero NIPAM, que podría cambiar el LCST a temperaturas más altas. Puede ser acrilato de Poli (acrilato de sodio) o sodio (b) efectivamente empleado como un agente reductor o estabilizador de nanopartículas, los discos de hidrogel previamente cargado con la sal de Ag se hincharon completamente y fue reducido con $NaBH_4$ para la obtención de los geles nanohibridos de Ag y finalmente el producto fue purificado por ultra filtración con agua destilada. Las redes actuales de hidrogel pueden facilitar la reducción de la dispersión de nanopartículas de plata. Curiosamente, elaboraron nanopartículas de plata con diámetros de 2,67 nm mediante el método actual. Los resultados obtenidos fueron superiores a los resultados anteriores. Hasta ahora, no hay ninguna metodología simple y fácil que se ha adoptado para hacer las nanopartículas concisas mediante redes de hidrogel. En el sistema, el acrilato de sodio no sólo modifica las propiedades del Hidrogel sino también permite lograr una estabilización de las nanopartículas, el acrilato de sodio o cadenas de poli (acrilato de sodio) actúan eficientemente como agentes estabilizadores de la NPs Ag. Vale la pena señalar que la preparación de nanopartículas Ag en redes de hidrogel fue muy estable y no mostró signos de agregación, incluso después de seis meses.

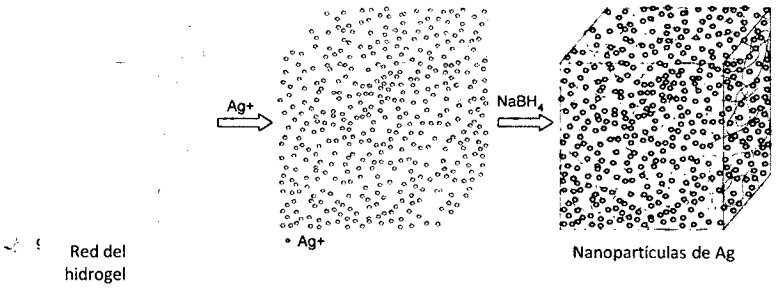


Figura 22. Representación esquemática de la formación de nanopartículas de Ag en la red del hidrogel

La formación de nanopartículas de plata dentro de las redes de hidrogel puede verse desde el disco de gel, que se convirtió en color marrón. Después de la reacción de reducción (Fig. 23 a). La hipótesis de que las nanopartículas de plata se inmovilizan a lo largo del hidrogel debido a una fuerte localización de los iones de Ag dentro de las redes, es causada por el complejo de iones Ag con átomos de nitrógeno de PNIPAM y átomos de oxígeno (COO) de PSA. Esto es confirmado por la Figura 2b, como una gran contracción del hidrogel después de la adición de $AgNO_3$.

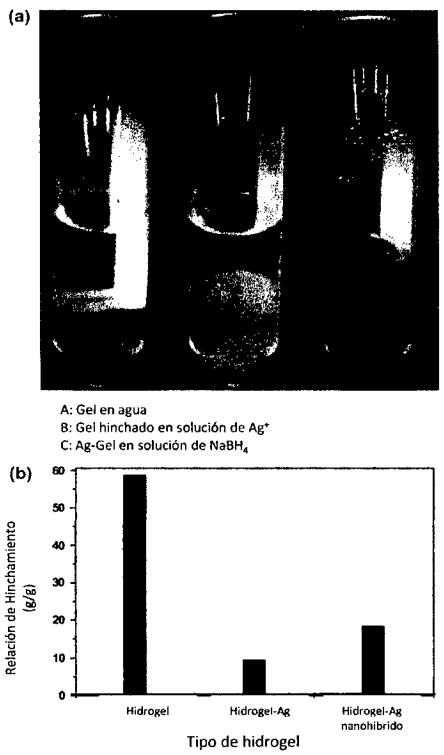


Figura 23. a) Fotografías de la formación de nanopartículas de Ag en hidrogeles, b) propiedad de hinchamiento del hidrogel.

Sin embargo, al mismo tiempo, el sistema de red mostró un mejor patrón de hinchamiento después de la formación de nanopartículas de plata debido a la carga superficial de las nanopartículas (diferentes tamaños de las NPs de Ag) que perturban y causan una expansión en las redes del gel. Por lo tanto, el orden de la capacidad de inflamación del gel es en el orden siguiente: hidrogel puro > hidrogel híbrido con Ag > sal híbrido de hidrogel Ag.

La figura 24 b muestra el patrón XRD del hidrogel y las NPs de Ag en las redes de hidrogel. Las señales de difracción del nanohibrido hidrogel en el valor de 2θ de 38.1°C, 44.26°C, 64.50°C y 77.42°C se atribuyen debido a los planos de fcc <111>, <200>, <220> y <311>, de la plata respectivamente. El hidrogel puro no mostró ninguna señal en el patrón XRD, lo que indica que no hay ningún comportamiento cristalino. Pueden controlar el tamaño y la morfología de las nanopartículas variando la unión, densidad, funcionalización, y la modificación de las redes de los hidrogeles. Para controlar el tamaño de las nanopartículas en la red del hidrogel preparado por diferente unión de redes empleando varias cantidades de MBA reticulante, es decir, 4.50-13.00mM. La unión de la variación de densidad fue confirmada a través de mediciones de temperatura de transición vítrea de los hidrogeles. Las curvas de DSC de estos hidrogeles se presentan en Fig. 27 c. El hidrogel mostró dos temperaturas de transición vítrea alrededor de 150 y 185°C. La primera Tg es mayor debido a la poli(N-isopropilacrilamida) y el segundo es debido a poli (acrilato de sodio). Se comprobó que la temperatura de transición vítrea para configuraciones diferentes de cadena de poli (N-isopropilacrilamida) fue entre 136 y 142°C. En este estudio, se observó que hubo incremento en la temperatura de transición vítrea del NIPAM (primera Tg), esto podría ser debido al entrecruzamiento de cadenas poliméricas. Además, la segunda temperatura de transición vítrea desapareció completamente para el hidrogel preparado con concentraciones mayores de reticulante.

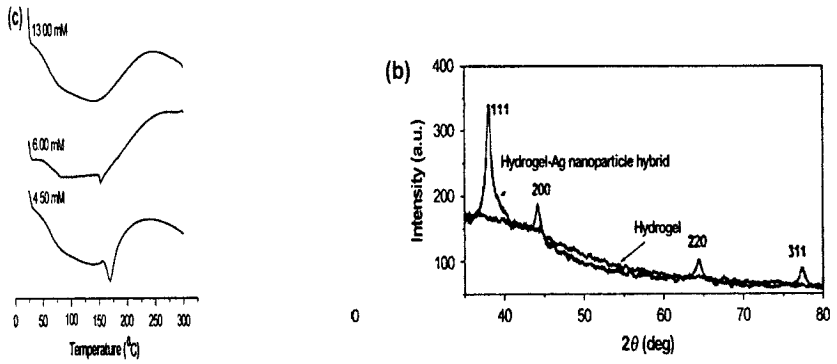


Figura 24. (b) Patrones de difracción de rayos X del hidrogel y de hidrogel-Ag nanohíbrido, y (c) termogramas DSC de hidrogeles reticulados con diferentes cantidades de MBA.

Esto es evidente porque presenta como resultado un aumento en la concentración del reticulante, por lo tanto mayores redes y más densas, esto conduce a valores más altos de Tg. Es importante tomar nota de que las nanopartículas de plata se obtienen en las distintas redes entrecruzadas utilizando la metodología actual, sin embargo se mostraron nanopartículas esféricas muy dispersas. Figura 25 explica que la Concentración de MBA en la preparación de las redes de hidrogel que determina el tamaño de las nanopartículas de plata. Esto indica estrictamente que las redes muy densas de hidrogel (con una alta concentración de MBA) son responsables para la obtención de nanopartículas de plata de menor tamaño (2,67 ±0,97 nm), ya que favorecen más atracciones moleculares internas entre las redes de gel debido a un menor espacio en las redes de hidrogel (Fig. 25 d). Las redes más densas ayudarían a estabilizar el tamaño de las nanopartículas. Por otro lado menores cantidades de MBA entrecruzado en redes de gel proporcionan suficiente espacio libre para crecer partículas de tamaño mayor. La disminución de la concentración del reticulante de 13.00 a 4,50 nm, incrementando de 2,63 a 21.11 nm el tamaño de las nanopartículas producido en las redes.

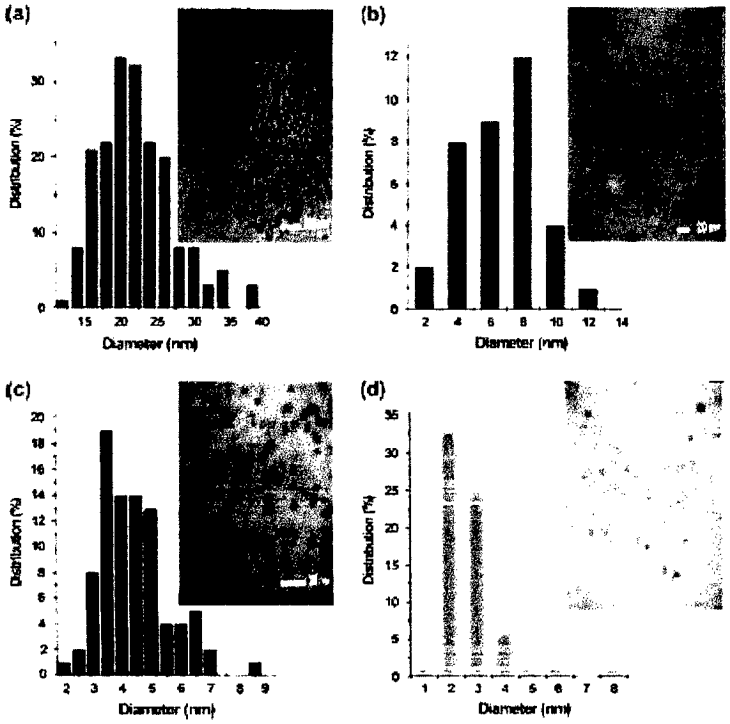


Figura 25. Imágenes TEM e histogramas de 2.11 ±4.60, 6.63±2.37, 4.36±1.18 y 2.67±0.97nm de nanopartículas de plata en 4.50, 6.00, 8.50 y 13.00 nm de gel reticulado MBA, respectivamente.

Además, el comportamiento de las redes de hidrogel puede verse en la figura 26.

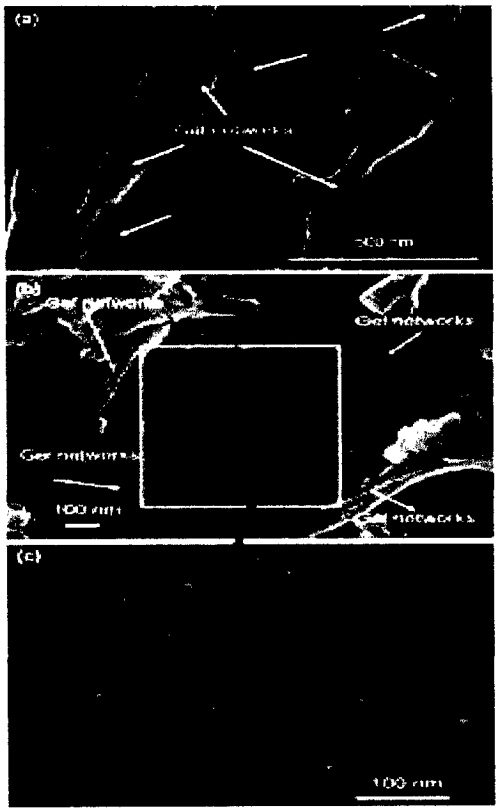


Figura 26. (a) SEM del hidrogel puro y (b, c) Ag crecido en 4,50 nm en MBA reticulado

Finalmente se muestra que el crecimiento de las nanopartículas entre las redes del hidrogel se distribuye uniformemente entre las cadenas, mientras que el blanco (hidrogel sin nanopartículas) mostró redes claras a lo largo de la estructura de gel. Además, esta metodología es un modelo general para hacer nanopartículas dentro de las redes. En el caso de nanopartículas de plata incrustadas en las redes, son totalmente accesibles sólo por debajo de la LCST. La incorporación de unidades de acrilato de sodio en las redes de hidrogel PNIPAM (Poli (N-ispropilacrilamida)), definitivamente mejora favorablemente a las redes para hacer nanopartículas en gel y LCST híbridos incluso a temperaturas más altas y así se extiende sus aplicaciones no sólo en biomedicina, sino también en la catálisis.

Mediante el empleo de hidrogel con nanopartículas de plata en sistemas híbridos actuales, estudiamos la prueba de actividad antibacteriana hacia la E. Coli. La influencia de los híbridos de gel que contienen nanopartículas de plata de diferente tamaño, es decir, 2,67 ±0,97 nm, 6.63 ±2,37 nm y 21.11± 4,60 nm, se examinaron y en comparación con nanopartículas de plata (~220 nm) no tienen ninguna estabilización. Los resultados sugieren que las nanopartículas de plata de ~2.67 nm están protegidas por cadenas del polímero de hidrogel (Fig. 27 d), mostró una excelente actividad antibacteriana en comparación con nanopartículas de plata de mayor tamaño en las redes de híbrido (Figura 27 b y c). La razón podría ser debido a que las nanopartículas de tamaño inferior en las redes de polímero podrían salir fácilmente y pueden interactuar con la E. Coli, Considerando que las nanopartículas de plata de mayor tamaño podrían tener una menor difusión. También observaron, que aunque las AgNPs pueden salir de la red de hidrogel, no muestran una alta actividad antibacterial, si el tamaño de las nanopartículas de plata es grande. Este fenómeno es confirmado con nanopartículas la plata de 220 nm (método de reducción en ausencia de la redes) en la figura 6a. De estos resultados, se concluye que las nanopartículas de plata estabilizadas con hidrogel (2,67 nm) podrían ser la mejor opción para su actividad antibacteriana.

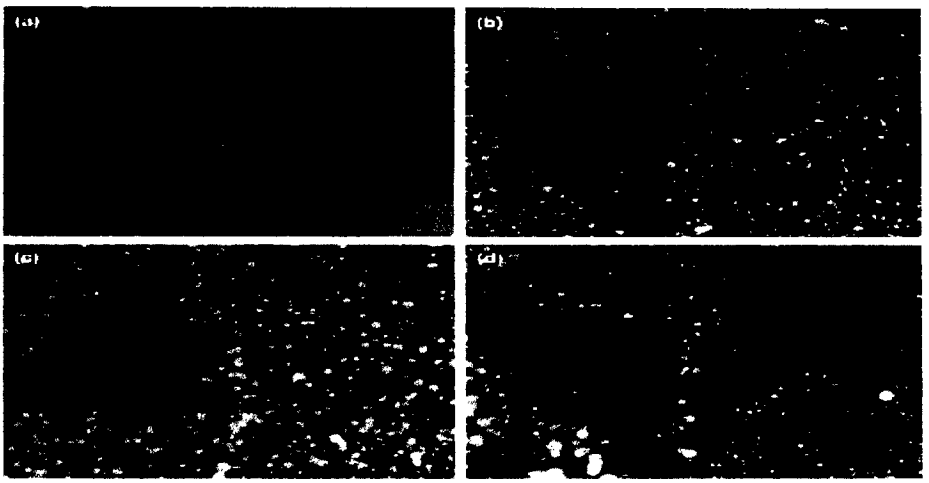


Figura 27. Resultados antibacterianos con el híbrido de hidrogel-Ag.

Conclusiones

En resumen, demostraron una estrategia simple para producir nanopartículas de plata bien definidas y precisas (~3 nm) dentro de las redes de hidrogel y exploró su aplicación como un material antibacterial. Esta metodología podría aplicarse para producir nanopartículas de otros metales [14].

3.3 Síntesis de nanopartículas de plata coloidales en microemulsión de agua / aceite

Las nanopartículas de plata coloidales se han sintetizado utilizando nitrato de plata solubilizado en el núcleo de una microemulsión de agua como fuente de iones de plata, e hidrato de hidracina solubilizado en el núcleo de otra microemulsión como agente reductor, dodecano como la fase de aceite y sodio bis (2-etilhexil) sulfosuccinato (AOT) como surfactante. El efecto de la concentración de $AgNO_3$ y las relaciones molares de agua y AOT (W) en microemulsión del tamaño de partícula, la distribución del tamaño y la estabilización han sido investigados. Mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), los resultados muestran que las nanopartículas de plata son esféricas y tienen una estrecha distribución de tamaño, así como una buena estabilidad. Cuanto mayor sea la concentración de $AgNO_3$, más rápida será la tasa de crecimiento de las partículas de plata. El mayor valor W se ha encontrado para dar mayor tamaño de partícula y una distribución más amplia de tamaño. Las nanopartículas de plata

coloidales resultantes tienen baja toxicidad y alta estabilización. Como resultado, las nanopartículas coloidales no tienen que ser separadas de la solución y las partículas de plata pueden ser utilizadas directamente en los campos antibacterianos.

Los nanocristales exhiben propiedades del nuevo material que difieren mucho de los materiales a granel, debido a estos tamaños pequeños, incluido el efecto cuántico de tamaño en la fotoquímica, óptica no lineal propiedades de los semiconductores o en la aparición de propiedades metálicas con el tamaño de las partículas. Estas nanopartículas tienen una amplia gama de aplicaciones, la síntesis de nanopartículas es de un campo de gran interés durante los últimos años, como materiales antibacterianos, materiales antiestáticos, criogénicos superconductores, biosensores y así sucesivamente. Las fibras de nanocompuestos de plata se prepararon para la realización de la actividad antibacteriana permanente agregando nanopolvos de plata en textiles sintéticos comunes. La actividad antibacteriana de las fibras de hilado es excelente cuando las nanopartículas de plata se utilizan como una envoltura. En los materiales catalíticos, la actividad catalítica de nanopartículas de plata depende de su tamaño, así como su estructura, forma, distribución del tamaño y el medio ambiente físico-químico. Por lo tanto, el control y la distribución del tamaño es una tarea importante. Otro reto es en: la preparación de la plata coloidal es la posibilidad de intercambio de disolvente, lo que permite dispersiones de las partículas, tanto en disolventes polares como en no polares y evita la agregación de las partículas durante el proceso. Las ventajas de la formación de partículas que se dispersan fácilmente en los medios orgánicos son reconocidas por los científicos en muchos campos. Por ejemplo, las nanopartículas coloidales en medios no acuosos preparados para las tintas conductoras están bien dispersos en una baja presión de vapor de solvente orgánico, que fácilmente se originan en la superficie del sustrato polimérico sin ningún tipo de agregación. Entre las ventajas se pueden encontrar las aplicaciones de las partículas de nanometales como catalizadores para reacciones orgánicas, que tienen lugar en solventes no polares. Es muy importante la transferencia de las nanopartículas de diferentes entornos químicos en las aplicaciones prácticas.

Sin embargo, las nanopartículas preparadas en las soluciones no polares son poco frecuentes y difíciles. Como técnica, el método de microemulsión ha recibido una atención considerable en los últimos años. Este método permite la preparación de nanopartículas de tamaño uniforme y controlable y por lo tanto ha sido usado por

muchos investigadores para formar nanopartículas de plata. Sin embargo, el método de microemulsión descrito anteriormente produce dispersiones de plata estables sólo a una concentración relativamente baja y empleo alto de disolventes orgánicos nocivos. La gran cantidad de surfactante y solvente orgánico que se añade al sistema, debe ser separado y retirado del producto final. Como resultado, es costoso fabricar nanopartículas de plata por este método. Estos problemas son conocidos por ser críticos y no han sido resueltos efectivamente. En este trabajo se ha preparado una solución de plata no tóxica. Como resultado, las nanopartículas de plata resultantes no tienen que ser separadas de la solución de la reacción ya que la solución de plata puede ser utilizada directamente en los campos antibacterianos. Por otra parte, debido a la adsorción de las moléculas de surfactante en las partículas, es fácil transferir las partículas en solventes no polares. A la fecha, hay pocos informes sobre la preparación de nanopartículas de plata con un alcano con baja toxicidad, y alta viscosidad como el aceite de disolvente en microemulsión.

Preparación

Bis sodio (2-etilhexil) sulfosuccinato (AOT, 96,0%) de Alfa Aesar. $AgNO_3$ (99,9%) fue proporcionada por Hubei Xinyin Noble Metal Co. Ltd. $N_2H_4 \cdot H_2O$ y dodecano. Fue utilizada agua destilada en la preparación de todas las muestras. Todos los productos químicos fueron utilizados sin más purificación, excepto AOT, que fue purificado por los métodos que se había publicado en el estudio de la influencia de las impurezas contenidas en AOT en la formación de microemulsión de $AgNO_3$.

Las microemulsiones se prepararon mezclando el mismo volumen de 0,2 M y 0,6 M de $AgNO_3$ $N_2H_4 \cdot H_2O$ a 0,2 M AOT y solución de dodecano. La microemulsión contiene $N_2H_4 \cdot H_2O$ y se añadió en la microemulsión el $AgNO_3$ por gota. Después de la microemulsión se mantuvo agitación magnética vigorosa durante 2 h. Las concentraciones globales de solución de $AgNO_3$ y $N_2H_4 \cdot H_2O$ era de 4×10^{-4} y 1.2 x 10^{3}M, respectivamente. La relación molar de H_2O N_2H_4 de $AgNO_3$ se llevó a cabo para todos los experimentos por un valor de constante de 3. En AOT y la relación molar, W, se mantuvo en todos los casos y fue igual a 5, excepto las secciones que fueron marcados por un valor especial W.

La morfología de las partículas en la síntesis de la plata coloidal se caracterizó por microscopía electrónica transmisión (TEM) (Tecnai G2 20), utilizando un voltaje de aceleración de 200 kV. Antes de la medición, 0,20 ml de la solución coloidal fue diluida a 5.20 ml con ciclohexano. Las muestras fueron preparadas mediante la colocación de algunas gotas de la solución en las rejillas de cobre, que fueron cubiertas por películas de carbón, ya que permite que el disolvente se evapore lentamente a bajo vacío durante 30 min. La distribución de tamaños y diámetros medios de partículas de plata se obtuvieron utilizando la imagen del sistema pro plus de análisis de imagen.

Resultados y discusión

Preparación de nitrato de plata por microemulsión.

La microemulsión fue preparada a partir de dodecano, AOT y soluciones acuosas de nitrato de plata. Una vez preparada la mezcla de los reactivos, la microemulsión instantáneamente tomó un color amarillo y la intensidad del color no cambiaría nada en varias semanas. El cambio de color de la solución de incolora a amarillo claro implica que algunas partículas de plata se forman a partir de la microemulsión que contiene la solución acuosa de nitrato de plata. Para la formación de nanopartículas de plata en microemulsión con AOT, los resultados son diversos. Por ejemplo, Andersson et al, pensaba que los iones de plata no se redujeron en un sistema de reacción surfactante AOT. Petit et al. No había informado si existe formación de nanopartículas de plata en microemulsión con AOT. Sin embargo, Monnoyer et al. encontró que había partículas de plata formadas en microemulsión con AOT cuando se utilizaba AOT en microemulsión para la fabricación de nanopartículas de bromuro de plata. Barnickel et al. reportaron que la reducción de la plata se produjo en microemulsión sobre la base de tensoactivos catiónicos y no iónicos, sin añadir reductores específicos. Se propuso que los grupos oxo del poliéter pueden formar hidroperóxidos para reducir los iones de plata a átomos de plata. Liz-Marzan y Lado Touri-~ no había sintetizado incluso soluciones de plata por reducción con AOT y $AgNO_3$ en solución de etanol, a pesar de que en este caso se obtuvo un rendimiento muy bajo. Por lo tanto, surfactantes, que actúan como agente reductor estabilizador de las partículas, juegan un papel importante en la estabilización de las nanopartículas de plata.

Además, la microscopía electrónica de transmisión también ha sido aplicada para validar la existencia de pequeñas nanopartículas. Fig. 28 confirma que hay unas pocas nanopartículas esféricas muy bien presentadas. El diámetro máximo de los grupos resultantes es inferior a 5 nm, similar a las partículas de plata formadas en el proceso de síntesis con bromuro de plata.

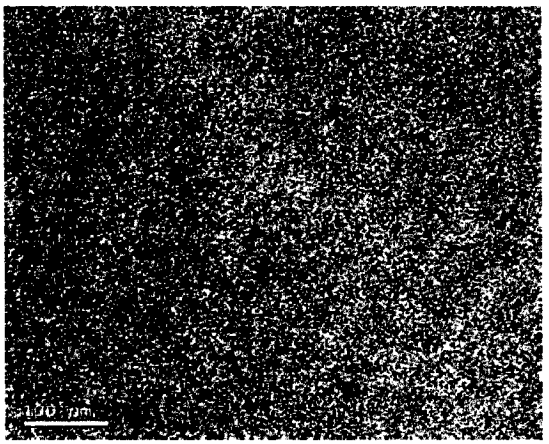


Figura 28. Imagen de TEM de nanopartículas de Ag formadas en microemulsión AOT- agua.

AOT, como surfactante comercial, puede contener algunas impurezas. Wilcoxon et al. encontraron que incluso el AOT alto grado se sabe que contienen ácidos y se requiere reducir impurezas que puedan interferir con las reacciones químicas. Sager reportó que las propiedades determinadas de la microemulsión claramente dependen de la pureza del AOT, el cual fue hidrolizado fácilmente para dar 2-etilhexanol en la microemulsión w/O a 25°C, de este modo, las impurezas no interfieren en la formación de las partículas. Para comprobar la reducción de iones de plata de las impurezas contenidas en AOT, se aplicaron algunos métodos de purificación. La purificación sólo podía eliminar el agua absorbida por el tensoactivo, y esto tuvo poca influencia en la formación de partículas de plata en la microemulsión con AOT. Se obtuvieron resultados similares por Liz-Marzán y Lado-Touriño. Esto significa que el AOT tiene cierta capacidad para reducir los iones de plata. Sin embargo, la reducción por AOT a los iones de plata debe ser confirmada en más resultados experimentales.

Efecto de la concentración $AgNO_3$

En la fig. 29 Se muestra una imagen de microscopia electrónica de transmisión (TEM) y el tamaño correspondiente distribución de las nanopartículas de plata obtenida de la reducción de nitrato de plata en 0,1 y 0,2 M de hidrato de hidracina. Se encontró que el diámetro de partícula disminuye significativamente con el aumento de la concentración de nitrato de plata la concentración es menor o igual a 0,2 M. Sin embargo, aumenta cuando la concentración de nitrato de plata es superior a 0,2 M, es decir, con la creciente concentración de $AgNO_3$ la tasa de crecimiento de partículas plata es más rápido, y reduce el tamaño de partícula hasta una cantidad óptima. Después de la cantidad óptima, el tamaño de las partículas aumenta de nuevo.

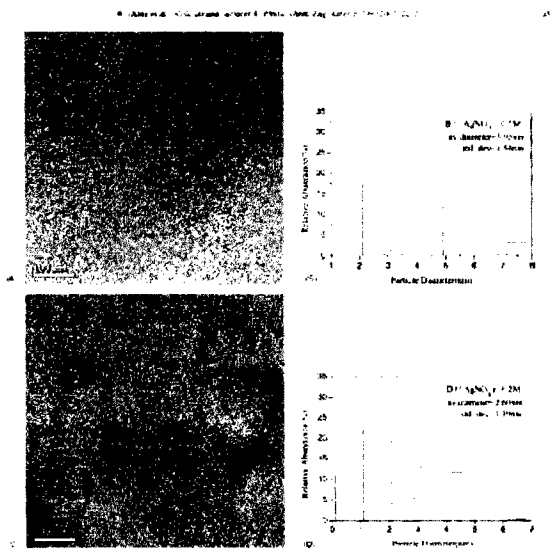


Figura 29. Micrografía y distribución de tamaño de las nanopartículas de plata que muestra el efecto de diferentes concentraciones de $AgNO_3$: (A) [AgNO3] = 0,1 M, (C) [AgNO3] = 0,2 M., mediante TEM.

Además, la frecuencia de colisión de las partículas formadas aumenta significativamente con la concentración de nitrato de plata, y luego la protección obtenida por la absorción de las moléculas de AOT en la superficie de las partículas se debilita. Por lo tanto, las diminutas partículas se agregan en partículas más grandes en la concentración alta de nitrato de plata.

Cuando la concentración de nitrato de plata es mayor o igual a 0,4 M, la plata coloidal es inestable y fácil de flocular y por lo tanto no se aprecia por microscopia TEM. Fig.29 A y C indican que hay menos cantidad de nanopartículas de plata, sin embargo las más

grandes son generadas en la microemulsión con nitrato plata 0,1 M. Por el contrario, hay más nanopartículas pequeñas, preparadas por microemulsión con nitrato de plata 0,2 M, lo que significa que cuanto mayor sea la concentración de nitrato de plata, más rápida es la tasa de crecimiento de estas partículas.

La síntesis de nanopartículas en la microemulsión juega un papel muy importante. Un intercambio rápido entre los materiales de alto (K_{ex}) formará un mayor número de micelas que contienen átomos de plata comparado con la nucleación crítica, resultando partículas más pequeñas debido a los átomos de plata relativamente de bajo crecimiento. Por lo tanto, formará un gran número de partículas con un diámetro pequeño. Sin embargo, el cambio de materiales dará lugar a la formación de un número relativamente menor de los núcleos de plata.

Luego, una mayor cantidad de átomos de plata, utilizando un agente de reducción en el proceso de intercambio, estará disponible para el crecimiento de las partículas nucleadas para formar menos nanopartículas más grandes. Cuando las nanopartículas de plata se sintetizan en alta concentración de $AgNO_3$ hay un intercambio rápido entre las gotas de agua y la microemulsión esto se lleva a cabo para formar un mayor número de núcleos. En otras palabras, la velocidad de formación de núcleos es más alta que la tasa de crecimiento de nanocristales de plata. Como resultado, hay pequeñas cantidades de nanopartículas con superficie grande, formadas en poco tiempo. Por el contrario, el tipo de cambio entre gotitas de agua en microemulsión es lento cuando las nanopartículas se sintetizan en baja concentración de $AgNO_3$. Por lo tanto, hay una gran cantidad de átomos de plata disponibles para el crecimiento de las partículas nucleadas para formar más nanopartículas.

Efecto del agua para la relación molar tensoactivo.

En la figura 30. micrografía TEM y el histograma de distribución de tamaño de partículas de plata coloidal obtenidas en varios valores de W. Se puede observar en las gráficas, que las partículas son de forma esférica y no es más estrecha la distribución de tamaño con menor contenido de agua, que la obtenida con valores normales de W. Por lo tanto, una disminución en el tamaño micelar, es decir, una disminución de la relación molar de agua a AOT, induce la formación de partículas de plata pequeñas y monodispersas. Ya que disminuye el contenido de agua solubilizada en el núcleo polar, y es obligado por las moléculas de surfactante, lo que incrementa la fuerza del límite y disminuye la tasa intermicelar. Por lo tanto, una disminución en el contenido de agua

induce la formación de partículas de plata monodispersas con un tamaño más pequeño de diámetro. Las partículas resultantes pueden ser estabilizadas por fuertes interacciones electrostáticas con el grupo polar y carga negativa del surfactante.

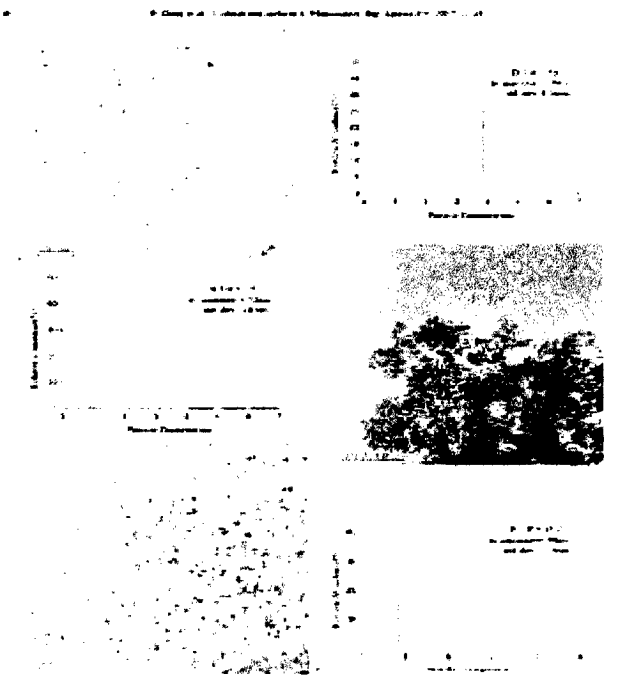


Figura 30. Distribución de tamaño de nanopartículas de plata que presenta el efecto de diferentes relaciones molares de agua/AOT. (TEM)

Por lo tanto, los reactivos se pueden transferir rápidamente desde el núcleo de agua. Como resultado de ello, la tasa de nucleación y el crecimiento de las partículas comienzan a ser controlados por la colisión, fusión y escisión de las gotitas. Debido a la naturaleza del agua, el tamaño de partícula resultante es relativamente grande y la distribución de tamaño es comúnmente más amplia. Además, el tamaño de las gotas de agua "de la microemulsión aumenta con el contenido de agua (que también favorece la formación de nanopartículas de plata con mayor diámetros.

Mecanismo de formación de nanopartículas esféricas de plata en microemulsión.

Después de la mezcla de dos microemulsiones, el intercambio de reactivos tiene lugar durante las colisiones de las gotas de agua. Para la formación de nanopartículas de plata, un modelo puede ilustrar el papel de la plantilla de micelas inversas en la

microemulsiones AOT para fabricar nanopartículas esféricas de plata (Fig. 31). Al comienzo de la reacción, las fuerzas atractivas de Vander Waals y las fuerzas de repulsión osmótico y elástico entre las micelas inversas, dan lugar a la colisión de las micelas y el resultado a cambio de los compuestos ($AgNO_3$ y N_2H_4) solubilizados dentro de los núcleos de agua en dos diferentes micelas inversas. En consecuencia, los núcleos iniciales de monómero de plata se forman y crecen más.

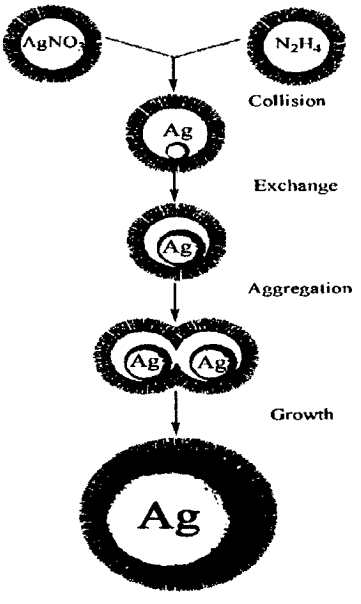


Figura 31. Modelo de las micelas para la fabricación nanopartículas de plata esféricas.

Debido al intercambio rápido entre los núcleos de agua, al principio se formaron núcleos de plata que crecieron hasta alcanzar un cierto tamaño, que corresponde a la especie que mejor se estabiliza termodinámicamente en presencia de microemulsión. Así, el tamaño final de partículas de plata es generalmente más grande que la de los núcleos de agua que comienzan a formarse. Como se ha mencionado anteriormente, el proceso de intercambio de solubilizados y la reacción posterior se puede considerar como un conjunto de las siguientes cinco etapas principales: (1) La difusión browniana de micelas inversas que conduce a colisiones, (2) la apertura de la capa de surfactante a través de colisiones efectivas y sucediendo una coalescencia de las micelas, (3) la difusión de las moléculas resultantes de solubilizado de materiales entre las micelas, (4) la reacción entre solubilizado de moléculas resultantes de la formación de núcleos metálicos, (5) los agregados de la división para volver como micelas inversas. Además, la adsorción de las moléculas de AOT de las nanopartículas de forma que las interacciones entre surfactante, partículas y disolvente será responsable de la estabilización de las nanopartículas de plata dentro de la microemulsión. Sin embargo,

la protección del AOT de la partícula no es lo suficientemente fuerte y el surfactante se puede abrir en capas de moléculas en una alta frecuencia de colisión entre las partículas. Como resultado, la agregación entre las partículas formadas se lleva a cabo originando las nanopartículas relativamente grandes

.

En conclusión, la reacción de la nucleación y el crecimiento de partículas tienen lugar dentro de las micelas, y las moléculas de surfactante se unen en la superficie de las partículas para estabilizar y proteger contra un mayor crecimiento cuando las partículas crecen hasta alcanzar el tamaño de los pozos de agua. Así, el tamaño y la morfología de nanopartículas como de síntesis dependerá del tamaño y la forma de las microgotas de agua de la microemulsión.

Conclusión

Las nanopartículas de plata coloidal fueron sintetizadas en microemulsion con AOT. Al variar los valores de W y la concentración del precursor, el tamaño de las partículas puede ser cambiado. La disminución del tamaño de la partícula se obtiene al aumentar la concentración de $AgNO_3$ hasta una cantidad óptima. Mediciones en el TEM confirma que hay muchos grupos de nitrato de plata formados en la microemulsión, lo que podría ser causado por las impurezas contenidas en el surfactante AOT o el poder reductor del AOT. Un bajo valor W favorece la síntesis de grupos de plata metálica con una distribución de tamaño limitado. El aumento de la distribución y tamaño de partícula se observa como el aumento de los valores de W 2.5-15. Estos resultados confirman la conclusión de que gotas más grandes en microemulsión tienen una tendencia a obtener mayores tamaños de partículas.

Las interacciones entre los grupos de cabeza AOT y nanopartículas son esenciales para estabilizar y detener el proceso de agregación. La fase continua de aceite utilizada, dodecano, tiene una baja toxicidad, alta viscosidad y un bajo intercambio constante. Como resultado, las partículas son esféricas con un diámetro promedio en el rango de 2-5 nm y tienen una distribución de tamaño limitado y una buena solubilidad en diferentes solventes. Así, las nanopartículas de plata coloidal preparadas por este método tienen una perspectiva de aplicación amplia. Pueden ser conservadas durante un largo tiempo sin precipitaciones [15].

3.4 El crecimiento controlado de las nanopartículas de plata en un proceso hidrotérmico.

Para controlar la forma de las nanopartículas de plata, en primer lugar, algunas nanopartículas de plata esféricas, con un tamaño ~ 10 nm, se elaboran a través de la reducción de iones Ag^+ en disolución acuosa de Ag $(NH_3)_2NO_3$ con poli (N-vinil-2-pirrolidona) (PVP). Luego, en un tratamiento hidrotérmico posterior, los iones de Ag^+ restantes se redujeron en PVP en nanopartículas poliédricas, o en nanopartículas esféricas más grandes formadas a partir de las nanopartículas de plata esféricas del primer paso. La morfología y el tamaño de las partículas resultantes dependen de la temperatura del proceso hidrotérmico, la relación molar de PVP/Ag y la concentración de iones Ag^+. El mecanismo del posible crecimiento de las nanopartículas de plata se discutió mediante el uso de microscopía electrónica de transmisión (TEM) y difracción de rayos X (XRD).

Las nanopartículas metálicas han sido objeto de una intensa investigación en las últimas décadas debido a sus posibles aplicaciones en la fabricación de dispositivos que pueden dar mejores resultados por ejemplo los dispositivos electrónicos, ópticos, optoelectrónicos y magnéticos. Las propiedades de las nanopartículas metálicas dependerán tanto de su preparación como de las propiedades del medio circundante, que afectan el tamaño, la forma y el estado de agregación. El control de la forma ha demostrado ser eficaz en el tamaño obtenido y en las funciones de las nanopartículas metálicas. Varios métodos pueden ser aplicados para sintetizar nanopartículas de plata con formas bien definidas. Entre estos métodos esta el método de fase de la solución, este tiene el potencial para obtener nanoestructuras metálicas con morfologías bien definidas y con altos rendimientos, en comparación con el enfoque de fase gaseosa. Por ejemplo, nanodiscos de plata altamente anisotrópica se obtuvieron a través del método de crecimiento de las partículas mediadas en presencia de bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB), y fueron sintetizados nanoprismas poligonales (principalmente triangulares) de plata por ebullición de $AgNO_3$ en N, N-dimetilformamida, en presencia de poli (vinilpirrolidona). En la mayoría de los métodos de fase de solución para transformar nanoesferas pequeñas de plata en nanoprismas, está

el proceso de inducción de calor. En general, la ebullición y reflujo se utiliza como calor en el proceso inducido para la evolución de nanopartículas de plata, pero el método hidrotérmico rara vez se ha aplicado como un proceso inducido por calor, aunque este método puede proporcionar una ruta fácil y eficiente de energía para preparar nanopartículas metálicas de óxido bien cristalizadas, así como nanopartículas metálicas de sulfuro y nanotubos de carbono. Así que, en este trabajo se utilizó por primera vez el método hidrotérmico para fabricar nanopartículas de plata con diferentes morfologías. Por otra parte, los efectos de diversos parámetros sobre el tamaño y la forma de las nanopartículas de plata fueron investigadas, entre ellos las temperaturas hidrotérmicas, la relación PVP / Ag y la concentración de iones Ag^+, esto con el fin de determinar las condiciones óptimas para sintetizar nanoplacas de plata. Por otra parte, la evolución del mecanismo de las nanopartículas de plata también fue discutida.

Preparación de las nanopartículas de plata

Nitrato de plata ($AgNO_3$, AR), solución acuosa de amoniaco (al 28%, AR) y PVP (MW = 1, 300,000) fueron utilizados sin purificación en este experimento. El material cristalizado fue tratado con solución de cromato, seguida de varias lavadas con agua destilada antes del secado en un horno.

Preparación de la muestra

En un procedimiento típico, medido por cantidades de $AgNO_3$ y PVP que se disolvieron por separado en 30 ml de agua para preparar dos soluciones acuosas.

El amoníaco se añadió gota a gota a la solución acuosa de $AgNO_3$ agitando hasta conseguir una solución clara e incolora, a continuación la solución anterior se mezcló con la solución acuosa de PVP.

Después de agitar durante 1 h, la mezcla se transfirió a un autoclave de teflón, la reacción hidrotérmica se llevó a cabo a temperaturas diferentes durante 36 h. Las muestras resultantes fueron secadas a vacío a temperatura ambiente.

Caracterización

La morfología de las partículas se observó en un microscopio electrónico de transmisión (TEM) H-600-2 (Hitachi) con un voltaje de aceleración de 70kV, y la difracción de rayos x (XRD) se tomó de un difractómetro de rayos X Rigaku D / max-rA 2500 con radiación CuK (40kV, 30mA).

Formación de las nanopartículas de plata antes del tratamiento hidrotérmico.

Tan pronto como la nueva solución acuosa de Ag $(NH3)_2NO_3$ fue mezclada con la solución acuosa de PVP, el color de la mezcla cambia de color negro a color vino después de agitar durante media hora. Fig.32 muestra la morfología de la muestra S1-160 antes del tratamiento hidrotérmico.

Esta muestra está compuesta en su mayoría por nanopartículas esféricas con un diámetro medio de ~ 10 nm, junto con algunos agregados grandes de partículas de plata.

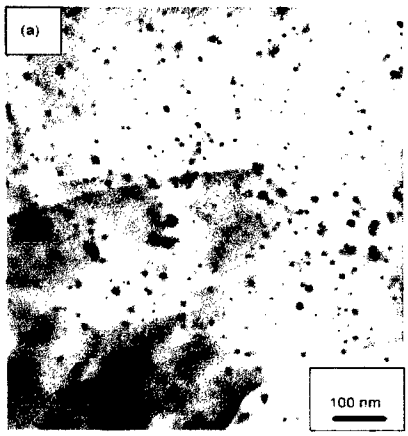


Figura 32.Imagen TEM, morfología de la muestra S1-160 antes del tratamiento hidrotérmico.

Influencia de la temperatura hidrotérmica en el tamaño y la forma de nanopartículas de plata.

Después del tratamiento hidrotérmico, todos los residuos de Iones Ag^+ se redujeron en PVP, y las pequeñas nanopartículas de plata esféricas formadas en la primera etapa se convirtieron en grandes partículas de plata de varias formas. El efecto de las temperaturas fueron investigadas entre 100 y 240°C para las muestras S1-100, S1-160, S1-180 y S1-240. A 100°C (Fig. 36 a), las nanopartículas de plata son principalmente

nanoplacas irregulares con algunos nanotubos, rodeado de puntos aún más pequeños que las partículas esféricas. Con el aumento de la temperatura hidrotérmica, las pequeñas partículas se convierten en grandes nanoplacas (Figs. 33 b y c). Sin embargo, cuando la temperatura llega a 240°C, las nanoplacas más grandes forman agregados (Fig. 33 d).

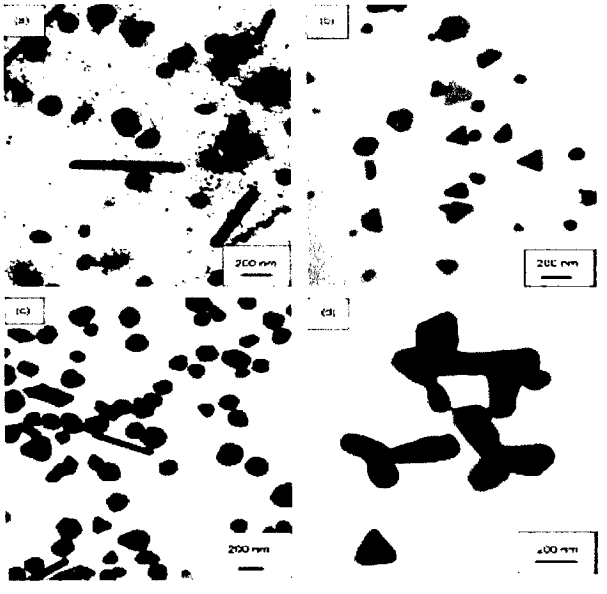


Figura 33. Imágenes de TEM de nanopartículas de plata preparadas a temperaturas de (a) 100 ◦C, (b) 160 ◦C, (c) 180 ◦C y (d) 240 ◦C.

El rango óptimo de la temperatura hidrotérmica investigado, es de 160°C para la producción máxima de nanoplacas. Todas las muestras preparadas a diferentes temperaturas presentan similitudes. Los patrones de difracción de rayos X, que se muestran en la figura 34, las nanopartículas de plata se formaron a 160°C, con señales a 37,8°, 43,8°, 64,2°, 77.2° y 81.8°, correspondiente a las difracciones de la fase cubica centrada en las caras de la plata <1 1 1>, <2 0 0>, <2 2 0>, <3 1 1>, y <2 2 2>.

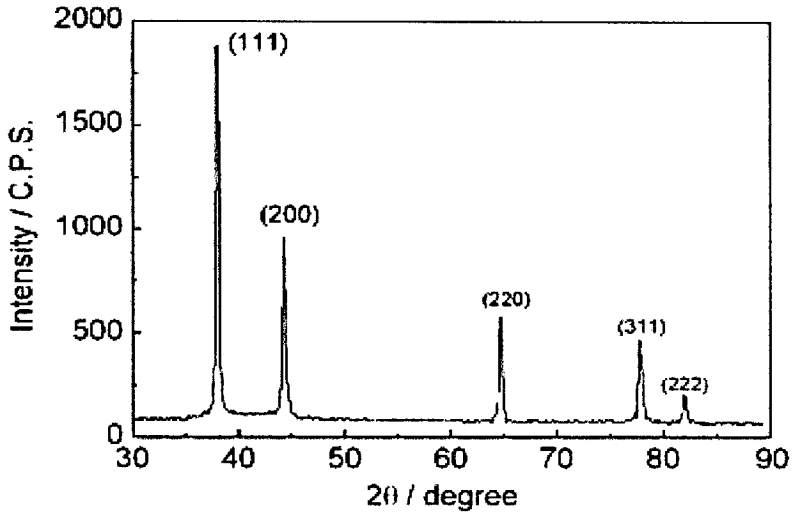


Figura 34. Patrón de difracción de rayos X del las nanopartículas de plata S1-160

Influencia del cociente molar PVP/Plata

En la medida en que el PVP actúa como un reductor, así como agente estabilizante de partículas en la síntesis de nanopartículas metálicas, la relación molar PVP/metal se espera que afecte a la morfología de los productos en el desarrollo de la esfera con forma de poliedro, que tiene un descenso del tamaño. A bajas relaciones molares PVP/plata, las partículas de Ag consisten sobre todo en nanoplacas triangulares o poliédricas (Fig. 35a). Como la relación molar de PVP/plata aumenta 6 a 40, disminuye la cantidad de nanoplacas poliédricas (Fig. 35b), con un cambio gradual de la forma esférica de las partículas (Fig. 35c y d).

Influencia de la concentración de iones Ag^+

Para investigar la influencia de la concentración de iones Ag^+ sobre la morfología de las nanopartículas de plata, la temperatura del hidroterma se fijó a 160°C y la relación molar PVP/Plata en 6:1, mientras que concentraciones diferentes de iones Ag^+ de 6, 8 y 60 mM, fueron estudiados. Las imágenes del TEM de las tres muestras se aprecian en la figura. 39. Las formas de las partículas de S5-160 y S1-160 son casi las mismas, tanto que consiste principalmente en nanoplacas, aunque la concentración de iones Ag^+ se

reduce drásticamente 60 a 8 nm. Sin embargo, cuando la concentración de iones Ag^+ va hacia abajo a 6 nm (S6-160), las nanopartículas resultantes consisten sobre todo en esferas sin ningún rastro de nanoplacas, lo que indica la existencia de una concentración crítica de 8 a 6 nm en efecto de una forma de transición.

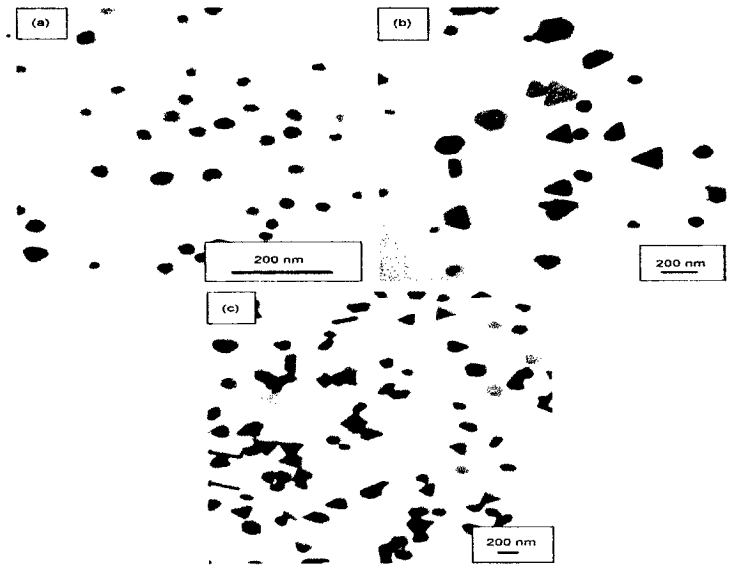


Figura 35. Imágenes de TEM (a) S6-160, (b) S1-160 y (c) S5-160 con [Ag +] de 6 mm, 8 mm y 60 mm respectivamente.

Conclusiones

El proceso hidrotérmico para preparar nanopartículas de plata poliédricas se ha desarrollado utilizando PVP como reductor y agente estabilizador. Este método de preparación es muy simple. La evolución de la forma de las nanopartículas resultantes consiste en dos pasos: en primer lugar las nanopartículas de plata esféricas con un diámetro de ~ 10 nm son obtenidas de la reducción de una parte de los iones Ag^+ por el PVP y, a continuación, los iones residuales de Ag^+ se redujeron aún más en un segundo paso. Se formaron grandes partículas poliédricas a partir de nanopartículas de plata esféricas formadas en el primer paso. Se encontró que 160°C, es una temperatura óptima para preparar nanoplacas de plata. La morfología de las nanopartículas de plata se puede controlar mediante la variación de la composición del reactivo. La forma de los cambios de las nanopartículas de nanoplacas a nanoesferas es con una relación cada vez mayor de PVP/plata o con la disminución de la concentración de iones Ag^+ [16].

3.5 Caracterización de Poli-{*trans*-[$RuCl_2$ $(vpy)_4$]-estireno-4-vinilpiridina} impregnado con nanopartículas de plata en un medio no acuoso.

La síntesis y caracterización de un nuevo material polimérico compuesto por poli-{*trans*- [$RuCl_2$ (vpy)4]-estireno–4 vinilpiridina} impregnado con nanopartículas de plata ha sido descrita en este trabajo. Este material fue obtenido por polimerización en un medio no acuoso usando peróxido de benzoilo como iniciador. Las dimensiones nanométricas de las partículas de plata fueron confirmadas a través de microscopia electrónica de transmisión (TEM). La morfología fue observada por microscopia electrónica de barrido (SEM), y las propiedades térmicas fueron analizadas por calorimetría diferencial de barrido (DSC) y termogravimetría (TGA). La acción antimicrobiana del polímero impregnado con nanopartículas de plata fue evaluada utilizando microorganismos Gram positivos y Gram negativos, Staphylococcus aureus, y Escherichia coli respectivamente. La actividad antimicrobiana del terpolímero con nanopartículas de plata fue confirmada por la presencia de un halo de inhibición de crecimiento bacteriano en medios de cultivo sembrados.

Redes funcionales de polímero han adquirido gran importancia en muchos campos de la investigación científica, así como en aplicaciones industriales. Estas aplicaciones aumentan en gran medida debido a la variedad de posibles modificaciones en las propiedades químicas y físicas de estos materiales. Polímeros basados en estireno, preparados por un proceso bien desarrollado de polimerización en suspensión, conservan muchas cualidades ventajosas para un matriz con microcomposite. Estos incluyen la facilidad de preparación, superficie controlada y estructura porosa, así como buena resistencia térmica y química. Polímeros basados en la aplicación de las fuerzas de la coordinación se han preparado recientemente. La primera síntesis directa de un polímero que contiene un complejo de metal de transición dio lugar a un polímero basado en la coordinación de complejos de rutenio (II)-terpiridina.

La investigación también ha sido intensa en materiales antibacterianos que contienen varias sustancias orgánicas e inorgánicas. Entre ellos, los iones de plata, que desde hace mucho tiempo se sabe que tiene fuertes efectos inhibitorios y bactericidas, así como un amplio espectro de actividad antibiótica, por ello han sido vistos como candidatos para el revestimiento de dispositivos médicos. La impregnación de polímeros con la plata se ha convertido en una alternativa que compromete llevar a los materiales a un aumento

de actividad antimicrobiana. En este trabajo se describe la preparación de un material antimicrobiano basado en el terpolímero poli-trans-{[$RuCl_2$ (vpy) 4]-estireno- 4} vpy impregnados con nanopartículas de plata en un medio no acuoso.

Preparación

Los métodos sintéticos utilizados para producir precursores de la solución de rutenio y trans- [$RuCl_2$ (vpy) 4], se describen a continuación.

Fueron preparadas nanopartículas de plata de alta calidad por descomposición térmica de 50 mg (0,3 mmol) de nitrato de plata en presencia de 2,5 ml (7,5 mmol) de oleilamina, se agregaron a 50 ml de difenileter con agitación. La mezcla se calienta a reflujo y se mantiene a esta temperatura por 3 horas. El color de la dispersión cambia amarillo, luego naranja y finalmente a un color marrón oscuro conforme procedió la reacción. Las partículas se precipitaron con etanol y separadas por centrifugación (6000 rpm/30 min), lo que resulta en un sólido oscuro. Después de repetir el procedimiento de lavado 3 veces, el sólido se seca al vacío y se suspenden en 10 ml de tolueno (solución madre).

El terpolímero poli-{[$RuCl_2$ (vpy) 4] trans- estireno -4-vpy} fue sintetizado en atmósfera de argón de 0,26 mmol (0,1%) de [$RuCl_2$ (vpy) 4], 0.13 mol de estireno y 0.13 mol de 4-vinilpiridina añadido a una dispersión de nanopartículas de plata en tolueno. El peróxido de benzoilo se empleó como iniciador. El sistema se mantuvo a reflujo, con agitación mecánica vigorosa, a una temperatura de 120°C durante 2 horas.

Los estudios microbiológicos se llevaron a cabo para investigar la actividad antimicrobiana de este nuevo material. Las células de Escherichia coli (ATCC 25922) se reactivaron a partir de un cultivo y su pureza fue confirmada por la siembra en agar McConkey. Para Staphylococcus aureus (ATCC25923) esta inspección se realizó en Agar Manitol.

La concentración de las bacterias se controló a 106 UFC / ml y fueron sembradas en cultivos en medio de Muller & Hynton. Las muestras del polímero impregnado con nanopartículas de plata se colocaron en una caja petri, para el cultivo se utilizó Muller & Hynton como medio de siembra para los microorganismos y se incuba a 37°C durante toda la noche. Los estudios microbiológicos se llevaron a cabo para investigar la actividad antimicrobiana de este nuevo material.

Caracterización

Las nanopartículas de plata cubiertas de oleilamina forman dispersiones muy estables de coloración amarilla en tolueno. Las dimensiones nanométricas de las partículas de plata se confirmaron a través de microscopía electrónica de transmisión (TEM). El análisis de las micrografías por TEM confirmó la forma esférica de las nanopartículas de plata y reveló una distribución bimodal de tamaño de partículas con un diámetro promedio de 9 y 15 nm, se calcula midiendo el diámetro de 600 partículas seleccionadas al azar, las imágenes fueron observadas por TEM.

La morfología de la superficie del polímero se caracterizó por microscopía electrónica de barrido (SEM), la cual muestra un material polimérico con una superficie lisa y un incremento en la rugosidad del polímero impregnado con plata. El análisis por TEM de las secciones ultra-delgadas de polímero impregnadas reveló nanopartículas de plata dispersas en la matriz del polímero (Figura 36).

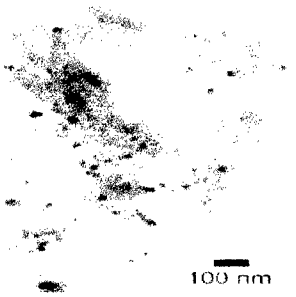


Figura 36. Micrografía TEM de una sección ultra-delgada del terpolímero impregnado con nanopartículas de plata.

Los resultados del análisis termogravimétrico (TGA) y calorimetría diferencial de barrido (DSC) del terpolímero poli-{[$RuCl_2$ (vpy) $_4$] trans-estireno-4-vpy} con y sin nanopartículas de plata se muestran en la Figura 37. Las curvas de TGA de ambos materiales mostraron un comportamiento térmico similar con pérdida de masa total de 99,40% (sin plata) y 99,06% (con plata) en un intervalo de 25 a 700 ° C. Una menor pérdida de masa en el polímero impregnado con plata es consistente con la presencia del metal no volátil componente de la matriz polimérica. La curva de DSC para el terpolímero sin plata reveló un proceso de desviación endotérmica de 25 a 110 ° C

(TpeakDSC = 69 ° C) puede atribuirse a la pérdida de componentes libres (monómeros, oligómeros) o las moléculas del disolvente.

La curva de DSC para el terpolímero impregnado con plata reveló una proceso endotérmico entre 105 y 190 ° C (TpeakDSC = 123 °C) esto no se observa en el terpolímero libre de plata. Este proceso se puede atribuir a la pérdida débil de la oleilamina obligada a la nivelación de ligandos de las superficies de las nanopartículas de plata. El proceso endotérmico principal, que corresponde a la descomposición terpolímero, se produjo entre 295 y 450 ° C para ambos materiales.

Sin embargo, las curvas de DSC indican eventos endotérmicos a 367 ° C para el terpolímero sin plata y en 381 ° C para el terpolímero impregnado con plata. Este comportamiento demuestra la estabilización del terpolímero debido a la presencia de metales de plata en la matriz polimérica. Después de tres ciclos sucesivos de calentamiento en el intervalo de 25 a 200 ° C, fue posible estimar una temperatura de transición vítrea a 156 ° C para el terpolímero y a 84 ° C para el terpolímero impregnado con plata. La presencia de la plata disminuyó la transición vítrea del terpolímero como se esperaba.

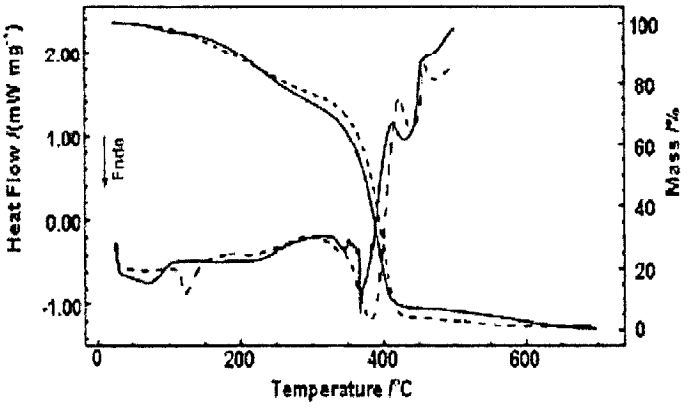


Figura 37. Curvas TG y DSC obtenidas en 10 ° C min^{-1} y bajo atmósfera de N_2 para el terpolímero poli-trans {[$RuCl_2$ (vpy) 4]-sty -4-vpy} impregnado con nanopartículas de plata (línea discontinua) y sin plata (líneas continuas).

Las muestras de polímero impregnado con nanopartículas plata se colocaron en una caja petri con Müller Hynton como medio de cultivo con la bacteria Escherichia coli (ATCC 25922) y Staphylococcus aureus (ATCC 25923). Un halo de inhibición del crecimiento bacteriano fue observado en todo el polímero impregnado con plata que no se observó en el polímero sin plata (Figura 38). El diámetro de halos de inhibición fue de 11 y 12

mm para E. coli y S. aureus, respectivamente. Esta inhibición del crecimiento causado por la presencia de nanopartículas de plata en el polímero revela las propiedades antisépticas del material.

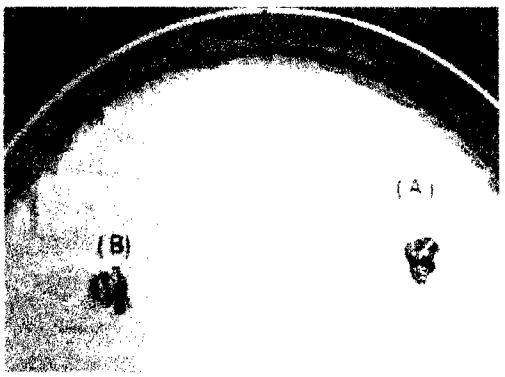


Figura 38. La actividad antimicrobiana del poli-terpolímero {trans- [$RuCl_2$ (vpy) 4]-sty-4-vpy} (A) con y (B) sin nanopartículas de plata.

Conclusiones

El polímero ternario poli-{[$RuCl_2$ (vpy) 4] trans-estireno-4 vpy} fue preparado e impregnado con nanopartículas de plata a través de una reacción química en un solo paso, utilizando peróxido de benzoilo como iniciador y la participación de todos los monómeros y las nanopartículas dispersas en tolueno. Se ha desarrollado un enfoque completamente nuevo, que utiliza la polimerización en un medio no acuoso para distribuciones uniformes de las nanopartículas en toda la matriz polimérica. El análisis microbiológico preliminar, mostró un halo de inhibición del crecimiento bacteriano alrededor del polímero impregnado con nanopartículas de plata en las cajas de microcultivo, lo que confirma la propiedad antiséptica del material. La caracterización completa y los estudios microbiológicos de este nuevo material se han discutido en un nuevo informe [17].

3.6 Síntesis y caracterización de fosfolípidos funcionalizados con nanopartículas de plata

Las funcionalizaciones de fosfolípidos (LP) con nanopartículas de plata (AGNPS) se han manifestado también a través de enlaces covalentes entre AGNPS con LP. Después de la funcionalización, los LP pueden auto-ensamblarse en estructuras con bicapas en las superficies de las AGNPS. Mediante microscopia electrónica de transmisión (TEM) se muestra las imágenes de AGNPS puras y de AGNPS funcionalizadas con cierto espesor del fosfolípido, como resultado de la conexión química existente en conjugaciones. Este método de modificación de AGNPS ofrece una buena oportunidad de funcionalizar las nanopartículas con actividad biológica.

Aunque la plata es uno de los temas más antiguos en la investigación de la ciencia y tecnología, su regeneración actualmente, conduce a un número cada vez mayor de logros en la investigación, especialmente en el contexto de la nanociencia y la nanotecnología con nanopartículas metálicas. El presente estudio se limitará a las nanopartículas de plata (AGNPS), también llamadas coloides de Ag, AGNPS son las nanopartículas de metales más estables, y muestran aspectos atractivos tales como el auto-ensamblaje de numerosos tipos de participación de superficies, propiedades electrónicas, ópticas y magnéticas relacionadas con el tamaño (tamaño del efecto cuántico), y sus aplicaciones en biocatálisis e ingeniería biomédica. El futuro en estos campos promoverá la revolución, el desarrollo de la nanociencia y la nanotecnología, y serán los materiales clave y los elementos básicos en el nuevo siglo. Hay un creciente interés en el empleo de nanopartículas funcionalizadas con biomoléculas, en el diseño racional de materiales nanoestructurados funcionales y su utilización en aplicaciones electrónicas, ópticas, magnéticas y biosensores gracias a sus pequeñas dimensiones. Hay dos requisitos importantes para la adquisición estable de nanopartículas con biomoléculas conjugados. En primer lugar, el tamaño y la síntesis de forma controlada de las nanopartículas metálicas que se dispersan en agua, en definitiva las soluciones acuosas concentradas son de gran ventaja para obtener la conjugación extensa de nanopartículas-biomolécula. Se requiere la transferencia del coloide de un medio acuoso para continuar el montaje de los biconjugantes, después de la síntesis química se introduce un tiol que es utilizado para este fin. El desafío clave es controlar la organización de biomoléculas como enzimas, antígenos, anticuerpos, ADN, y los

receptores en la superficie de las nanopartículas, manteniendo su actividad biológica. Un enfoque de la estabilización perfecta, evidentemente, debe estar fijado en física específica y / o interacciones químicas entre las moléculas biológicas blanco y la medida de funcionalizaciones de la superficie de las nanopartículas.

En los últimos años, las investigaciones se centraron en la preparación y / o funcionalización de AGNPS, que van desde concentraciones de ADN-Ag oligonucleótido, ácido tiosalicílico, o de cadena larga carboxilato insaturados funcionalizaciones y polímero lineal o polímeros armados de estabilización. Si bien todos estos enfoques proporcionan información útil sobre la funcionalización de AGNPS, las nuevas rutas para la modificación de las nanopartículas con actividad biológica aún son necesarias. En este trabajo, tuvieron éxito en la estabilización de dispersiones coloidales utilizando fosfolípidos (LP), uno de las biomoléculas más prometedoras, lo que promueve a nuevas oportunidades para la funcionalización nanopartículas.

Preparación

1,2-PL dipalmitoil-sn-glicero-3-phosphothio-etanol fue adquirido en avanti polar lipids, Inc. El nitrato de plata $AgNO_3$ y $NaBH_4$ borohidruro de sodio fueron proporcionados por Aldrich Chemical Inc.

Síntesis de fosfolípidos funcionalizados con nanopartículas de plata

Para la síntesis de AGNPS estabilizadas por LP (fosfolípidos), se empleó en el proceso: AGNPS que fueron preparadas por la adición de 1,70 mg de $AgNO_3$ a 10 ml de agua destilada (solución 0,001 M) en presencia de 1,2-dipalmitoil-snglicero- 3 fosfotio-etanol (PL). La concentración de PL (0,01 M) fue 10 veces mayor que la del $AgNO_3$. La mezcla se agitó durante 2 h para asegurar la homogeneidad. A continuación, 5 mg de $NaBH_4$ en solución (0.001 M) se añadieron gota a gota, la mezcla se mantiene en agitación a temperatura ambiente durante 48 h, lo que resulta en una solución acuosa de plata. Después la solución resultante se centrifuga durante 1 hora a 13.000 rpm, el sobrenadante fue eliminado y se añadió 10 ml de agua desionizada. Las AGNPS -PL funcionalizadas fueron dispersadas y agitadas durante 24 h, seguido de centrifugación durante 1 hora a 13,000 rpm. Después del retiro de los sobrenadantes, las partículas

resultantes se enjuagaron con agua destilada (10 ml) con breve agitación. Los sobrenadantes se retiraron de nuevo, y las partículas se secaron en vacío durante 24 h.

Caracterización

Las micrografías fueron obtenidas en un microscopio electrónico de transmisión Zeiss EM 109T con un voltaje de aceleración de 50 kV. Las muestras se disolvieron en agua desionizada. En (ATR FT-IR) de reflectancia total atenuada se obtuvieron por transformada de Fourier los espectros infrarrojos utilizando un Bio-Rad FTS-6000 FTIR de una viga equipado con un espectrómetro de reflexión Miracle AG como único accesorio de ATR horizontal (Pike Technologies, Inc.).

Resultados y discusión

Los detalles de nuestro nuevo enfoque se ilustran en la figura. 39. En un esfuerzo por determinar si las AGNPS son recubiertas con PL (fosfolípidos) o no, las mediciones se realizaron por TEM. La Fig. 40A presenta una imagen de TEM de las AGNPS preparadas en el paso 1. Se encontró que el diámetro medio de partículas de plata es de aproximadamente 2 nm. Sin embargo, la imagen de PL-funcionalizado con AGNPS se presenta en la Fig. 40B y muestra claramente que la funcionalización proporciona un aumento en el diámetro de partículas de 8 nm.

El tamaño de partícula indica que, para formar esferas de 8nm de diámetro, el espesor real de la capa de PL depositados debe ser de 3 nm. Teniendo en cuenta el tamaño de las moléculas de PL y el hecho de que estas especies forman liposomas, la presencia de una esfera de 8 nm demuestra que la bicapa PL se une a la superficie de AGNPS y las interacciones PL-Ag se facilitan por la presencia de la funcionalidad de un tiol.

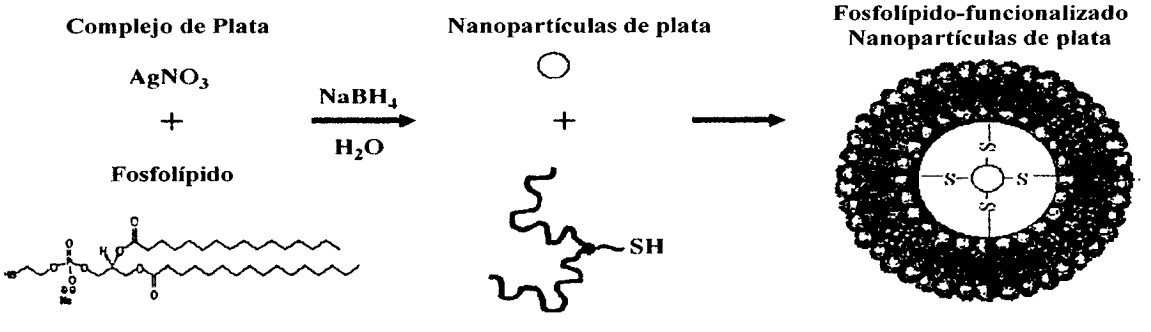


Figura 39. Preparación de fosfolípidos funcionalizados con nanopartículas de plata.

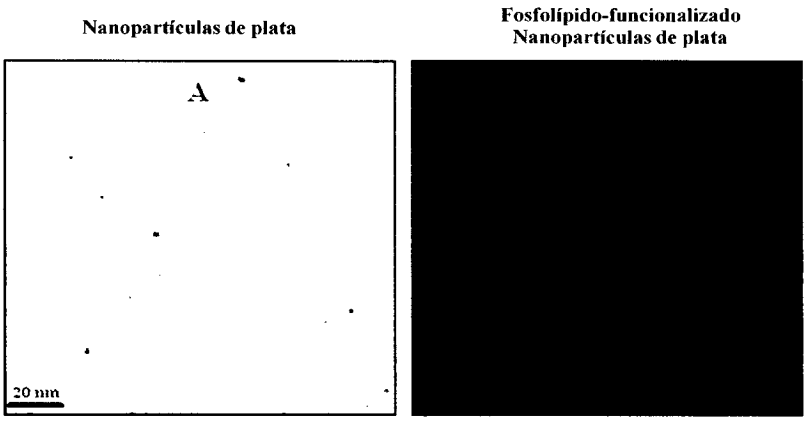


Fig. 40 Imágenes TEM de nanopartículas de plata y fosfolípidos funcionalizados.

Con el fin de identificar los grupos funcionales que se consumen o se han producido durante las reacciones de la figura. 45, se realizó el análisis FT-IR. La Fig. 41 ofrece una serie de espectros FT-IR de PL, AGNPS, y PL-funcionalizado con AGNPS. Como se muestra, las bandas en IR cambian su intensidad después de la deposición de PL en AGNPS. En la región C-H se extiende a una banda de 2957cm^{-1} que proviene de las vibraciones del estiramiento asimétrico de -CH_3 de los grupos finales de PL con largas colas, mientras que las bandas entre 2918 y 2850 cm^{-1} están relacionadas asimétrica y simétrica con -CH_2- en el estiramiento por las vibraciones en las colas hidrofóbicas del PL. Del mismo modo, la banda de 721 cm^{-1} es debido a esqueleto de -CH_2- por vibraciones también detectadas.

La banda de 1468cm^{-1} se atribuye a -CH_2- debido a una deformación, la banda de 1.416 cm^{-1} corresponde a la vibración de "tijera" del -CH_2-CH_3-, y la banda de 1378cm^{-1} corresponde a la simetría del - CH_3 la deformación es de tipo "paraguas". Después de la deposición de PL en AGNPS, las intensidades de todas estas bandas disminuyeron en gran medida. Por otro lado, las bandas 1285 y 1260 cm^{-1} de P=O se deben a las vibraciones en el PO_4^- con una banda de 1245cm^{-1} que corresponde a CH_2-S vibraciones moviendo en la estructura-CH_2-SH, y la banda de 1.170cm^{-1} se debe a la PO-CH_2- por las vibraciones en la estructura del PO-CH_2-. La disminución de la intensidad después de la funcionalización es una prueba más para el PL con injerto en las AGNPS a través de Ag-azufre, ya que las moléculas PL pueden ser más estables después de la modificación. Se debe tomar en cuenta que la forma de la curva de infrarrojos de nanopartículas de plata con PL-modificado tiene forma idéntica a la del

LP puro en la región de alta frecuencia, mientras que es similar a la de las nanopartículas de plata en la región de baja frecuencia.

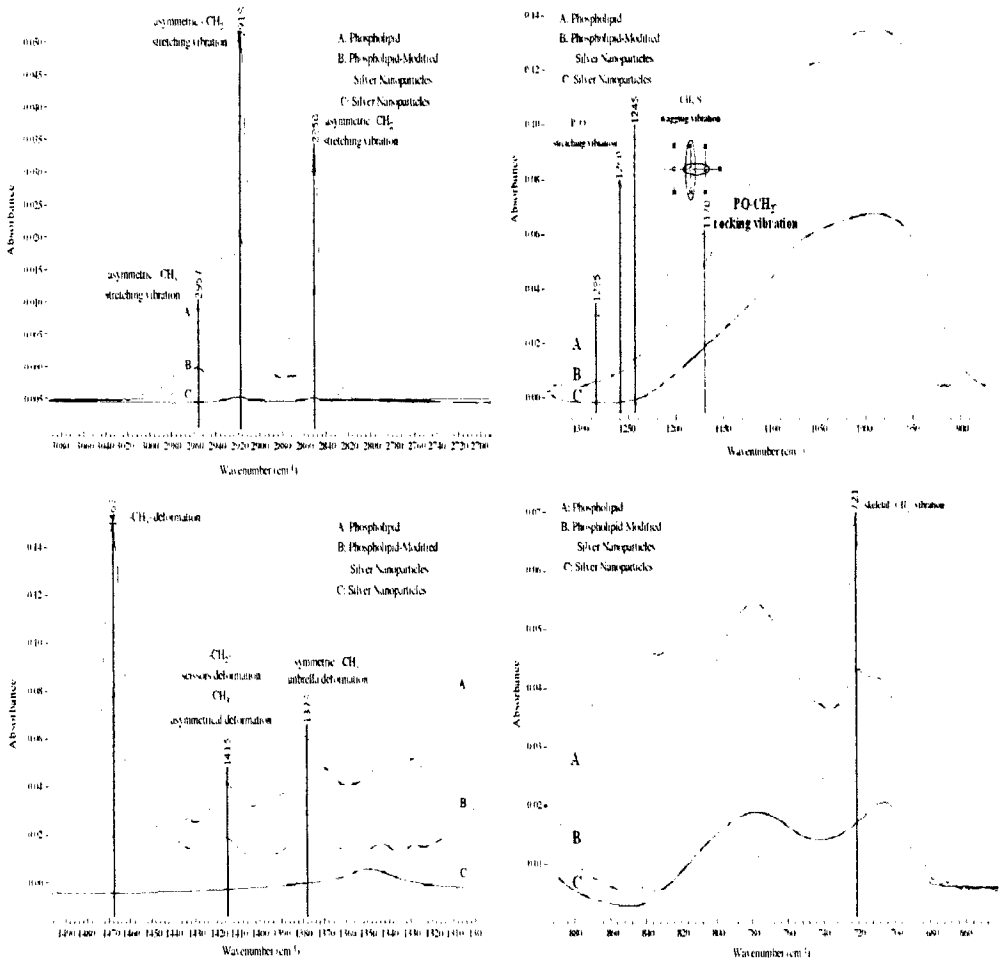


Figura 41. Análisis FTIR de fosfolípidos y nanopartículas de plata.

Conclusión

En resumen, un enfoque sencillo de los dos pasos para funcionalizar las nanopartículas de 2 nm de diámetro de plata (AGNPS) ha sido mediante el uso de una solución acuosa de 1,2-fosfolípido dipalmitoil-sn-glicero-3-phosphothio-etanol (PL). Mediante microscopía electrónica de transmisión se muestra como resultado de reacciones PL con AGNPS, que el diámetro de las esferas AGNPS aumenta a 8 nm, lo que indica que las bicapas de PL se adjuntan a la superficie de AGNPS y las interacciones PL-Ag se ven

facilitadas por la presencia de la funcionalidad del tiol. Las bandas características en el espectro IR cambian su intensidad después de la deposición de PLs en AGNPS, y la identificación de la interacción fuerte entre el azufre y el metal producido durante el reacciones. El cambio de la superficie de las propiedades electrónicas de PL-funcionalizado AGNPS se manifiesta por la desaparición de la absorción de 200 nm, debido a las transiciones 4d-5SP en la plata. Esto se puede atribuir a la presencia de funciones S-H que aumentan la densidad de electrones libres de la nanopartícula. El PL-funcionalizado con AGNPS debería ser aplicable a biosensores y diseños de dispositivos [18].

3.7 Síntesis y efecto de las nanopartículas de plata en la actividad antibacteriana de diferentes antibióticos frente a Staphylococcus aureus y Escherichia coli

Se sabe que las nanopartículas de plata (Ag-PN) tienen efectos inhibitorios y bactericidas. La resistencia a los antimicrobianos por bacterias patógenas se ha convertido en los últimos años en uno de los principales problemas de salud. Los efectos de Ag-PN combinados con la actividad antibacteriana de los antibióticos aun no se han estudiado. En este sentido, se reporta sobre la síntesis de nanopartículas metálicas de plata con la reducción acuosa de iones Ag^+ con los sobrenadantes de cultivo de Klebsiella pneumoniae. También en este artículo estas nanopartículas son evaluados por su participación en el aumento de la actividad antimicrobiana de diversos antibióticos frente a Staphylococcus aureus y Escherichia coli. La actividad antibacteriana de la penicilina, amoxicilina, eritromicina, clindamicina y vancomicina se incrementaron con la presencia de Ag-PN contra las dos cepas de prueba. Los mayores efectos se observaron en la mejora de vancomicina, amoxicilina y penicilina frente a S. aureus.

Los seres humanos son a menudo infectados por microorganismos tales como: bacterias, mohos, levaduras y virus presentes en el medio ambiente.

La investigación de material antibacteriano que contiene diversas sustancias naturales e inorgánicas, ha sido intensiva. Las nanopartículas metálicas (PN -Me), que tienen alta superficie específica y una elevada fracción de los átomos de la superficie, se han estudiado ampliamente debido a sus características físico-químicas únicas, incluidas la actividad catalítica, propiedades ópticas, propiedades electrónicas, actividad

antimicrobiana, y propiedades magnéticas. Dentro de PN-Me, se ha sabido que las nanopartículas de plata (Ag-PN) tienen efectos inhibitorios y bactericidas. Es de esperar que la alta superficie específica y alta proporción de átomos de la superficie de Ag-PN dé lugar a la actividad antimicrobiana alta en comparación con el metal de plata a granel. Los efectos combinados de Ag-PN con la actividad antibacteriana de los antibióticos no han sido estudiados. La capacidad de las bacterias patógenas para resistir a los agentes antimicrobianos se ha convertido en los últimos años en un importante problema de salud. En este estudio, las Ag-PN son evaluadas para su uso en el aumento de la actividad antimicrobiana de diferentes antibióticos frente a S. aureus y E. coli

Preparación

La solución coloidal de Ag-PN fue preparada con el método Muller-Hinton, el medio es esterilizado y se inocula con un crecimiento de la prueba. Los recipientes de cultivo se incubaron a 37°C durante 24 horas. Después del tiempo de la incubación, se centrifuga a 12.000 rpm y el sobrenadante fue utilizado para la síntesis de Ag-PN. El cultivo de K. pneumoniae se añadió por separado a los recipientes de reacción que contienen nitrato de plata en una concentración de 10^{-3} M (1% v / v). La reacción entre los iones Ag^{+} y el sobrenadante se llevó a cabo en condiciones de luz durante 5 minutos. El ensayo de difusión en disco (antibiograma), se utiliza para evaluar efectos combinados. Este es un método que se utilizó para análisis de los distintos antibióticos para evaluar la actividad bactericida contra cepas de prueba en agar Muller-Hinton. Los discos de antibióticos estándar fueron adquiridos de mástil Co. (Liverpool, Reino Unido). Para determinar los efectos combinados, cada disco de papel estándar se impregnó con 10µl de la solución recién preparada de Ag-PN con un contenido final de 10 de µg/disco. Una sola colonia de cada cepa experimental se cultivó durante la noche en medio líquido Muller-Hinton en un agitador rotatorio (200 rpm) a 35°C. Los inóculos se prepararon por dilución de los cultivos con NaCl al 0,9% a un 0,5 de estándar McFarland y se aplicaron a las placas, junto con los discos estándar y preparados que contienen diferentes cantidades de Ag-PN. Se Aislaron S. aureus y E. coli los cultivos se utilizaron como cepas de prueba. Se llevaron a cabo experimentos con Ag-NP solas. Después de la incubación a 35°C durante 18 horas se midieron las zonas de inhibición. Los ensayos se realizaron por triplicado

Resultados y discusión

Las Ag-PN se sintetizan a partir de iones Ag^+ en el tratamiento de la de la K. pneumoniae. La aparición de un de color marrón amarillento en los recipientes de reacción sugiere la formación de Ag-PN.

Figura 42. Matraces con nitrato de plata antes (izquierda) y después (derecha) a la exposición del sobrenadante de cultivo de Klebsiella pneumoniae (enterobacterias).

La figura 43 muestra una imagen representativa del TEM registrado desde la caída de cubierta de la película de Ag-PN que fueron sintetizadas por el tratamiento de la solución de nitrato de plata con sobrenadante de cultivo de K. pneumoniae. Los histogramas de tamaño de partículas de plata (ilustración de la derecha en la Figura 43) muestran que las partículas varían en tamaño de 5 a 32 nm y poseen un tamaño medio de 22,5 nm.

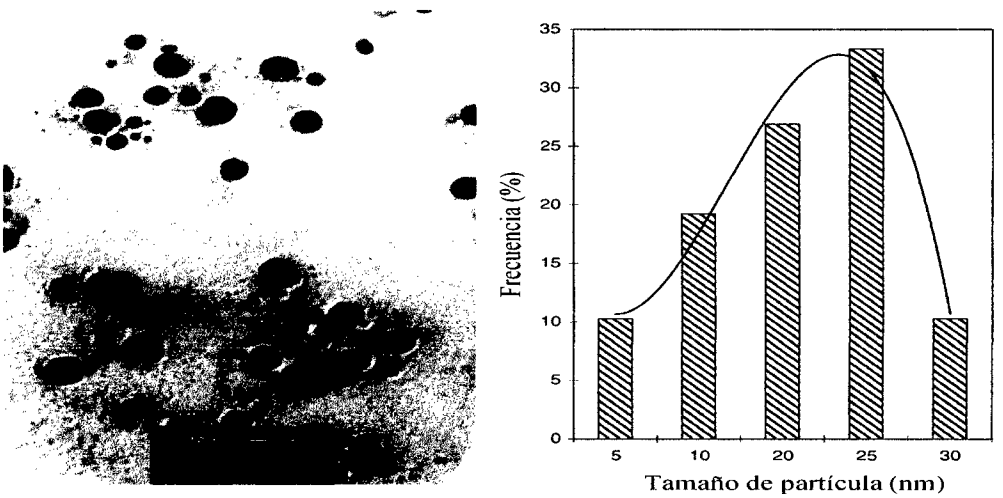


Figura 43. Micrografía TEM de nanopartículas de plata formadas por la reducción de iones Ag^+ con los sobrenadantes de cultivo de enterobacterias. La imagen de la derecha presenta el histograma de tamaño de partículas de plata.

Se investigó el efecto combinado de estas nanopartículas contra diferentes antibióticos S. aureus y E. coli utilizando el método de difusión en disco.

La actividad antibacteriana de la penicilina G, amoxicilina, eritromicina, clindamicina, vancomicina tiene un incremento en presencia de Ag-PN contra las dos cepas de prueba. El efecto sobre la actividad antibacteriana de los antibióticos no mejora frente a S. aureus y E. coli en las concentraciones de otros antibióticos observados en la prueba. Los mayores incrementos se observaron en vancomicina, amoxicilina y penicilina G frente a S. aureus.

Los efectos de Ag-PN en la actividad antibacteriana de los antibióticos antes mencionados para E. coli fueron inferiores a S. aureus. Por el contrario, la actividad más sinérgica fue observada con eritromicina frente a S. aureus [19].

3.8 Nanotecnología y nanopartículas magnéticas: La física actual en lucha contra la enfermedad.

La investigación del comportamiento de la materia en la escala nanométrica abre una prometedora perspectiva de nuevos conocimientos. Cuando las dimensiones de las partículas de un sólido son del orden del nanómetro, o milésima de micra, el número de átomos que las constituyen es del orden de centenas. La mayoría de ellos se encuentran situados en la superficie de las partículas. Las propiedades físicas de estas partículas son muy distintas de las que se observan en un sólido de tamaño normal o macroscópico con la misma composición química. Hoy día comienzan a utilizarse de modo habitual técnicas experimentales que permiten fabricar, caracterizar y manipular partículas de este tamaño minúsculo que llamamos nanopartículas, NPs.

La sorprendente combinación de nuevas propiedades físicas detectadas en diferentes tipos de NPs ha despertado una curiosidad investigadora comparable a la que ejerce el enorme panorama de posibles aplicaciones futuras. De especial relevancia es la coincidencia de escala de tamaño, el nanómetro, con las unidades básicas de la vida encerradas dentro de la membrana celular o de su núcleo, como son los cromosomas. Dicha convergencia de escala ha condicionado el aterrizaje de la Nanotecnología en el núcleo de la biofísica. La utilización de NPs magnéticas puede tener una trascendental incidencia en fenómenos como la hipertermia y el transporte selectivo de fármacos, ambos de prometedor futuro en la terapia del cáncer. Fenómenos, todos ellos, basados

en la endocitosis celular mediante la cual la célula capta e introduce en su interior a las nanopartículas magnéticas.

Las nanopartículas del tamaño de un nanómetro presentan dos características relacionadas con las propiedades magnéticas: a) la enorme fracción de átomos de superficie que presentan una simetría local distinta y, por tanto, una anisotropía magnética de distinto valor que el volumen y b) una estructura del espectro de energía electrónica caracterizada por un mayor espaciado entre niveles. Esta modificación conlleva variaciones de la densidad de estados al nivel de Fermi y consecuentemente de las propiedades magnéticas intrínsecas de los materiales.

La estructura electrónica de las nanopartículas es también regulable mediante el enlace con diferentes tipos de moléculas. El enlace, más o menos fuerte con moléculas es necesario para preservar la precipitación y aglomeración de las NPs y así, cada una de ellas, mantenga su unidad aislada del resto de las NPs. Este enlace es fundamental en un campo de aplicaciones de enorme interés actual como es el de la biomedicina. Se pretende que nanopartículas metálicas transporten moléculas como ácidos nucleicos, aminoácidos, azúcares o ADN enlazadas a los átomos de la superficie y que puedan viajar por el organismo hasta depositarse en células dianas bien definidas (S. G. Ray et al). En su lugar de anclaje liberarían las moléculas trans-portadas dando lugar a una quimioterapia selectiva que reduciría al máximo los efectos colaterales. Recientemente P. Crespo han encontrado que partículas de oro de 1.4 nanómetros de tamaño recubiertas con moléculas orgánicas a través de enlaces oro-azufre presentan magnetismo permanente incluso a temperatura ambiente. Lo sorprendente de este hallazgo no es exclusivamente la presencia de magnetismo en un metal diamagnético como es el oro sino la superación del límite superparamagnético a temperatura ambiente con tamaños tan pequeños de partícula.

Un excelente experimento llevado a cabo con átomos aislados de cobalto sugiere que la nanofísica constituye una física no descrita previamente en el marco de lo macroscópico. Gambardella y colaboradores, observaron mediante dicroismo magnético que a 5ºK un átomo aislado de cobalto depositado en una superficie de Pt <111> presentaba una curva de imanación con marcada anisotropía, siendo el eje de fácil imanación la dirección perpendicular a la película de Pt. Este experimento indica que un

átomo aislado puede constituir un imán, un imán que podríamos denominar atómico. Cuando un átomo aislado posee momento magnético es de esperar que este fluctúe en dirección agitado por la temperatura. Sin embargo en este experimento se muestra que como consecuencia del enlace del átomo a los átomos de Pt se elimina la agitación térmica del momento magnético. Parece obvio que el límite inferior del tamaño de una nanopartícula es un átomo. En este experimento el átomo magnético está aislado aunque, en realidad, solo magnéticamente aislado ya que se encuentra enlazado a los átomos de platino. El hecho de que el momento magnético del átomo de Co no fluctúe térmicamente sugiere que pueden reducirse los tamaños de los bits y que una nueva perspectiva de la física involucrada en el origen de la anisotropía magnética tiene que desarrollarse para esta escala. Los átomos aislados serán imanes en el futuro próximo.

IV. APLICACIONES BIOMÉDICAS

Las nanopartículas magnéticas son de sumo interés en biomedicina por sus diversas e importantes aplicaciones: i) para transporte de drogas terapéuticas o de radioisótopos, ii) como separadores magnéticos de células marcadas, iii) para el catabolismo de tumores vía hipertermia, y iv) como agentes de contraste en aplicaciones de resonancia magnética. El hecho de que puedan fabricarse con un tamaño homogéneo que va desde unos pocos nanómetros hasta decenas, las coloca en una dimensión comparable a una entidad biológica como una célula (10-100 μm), un virus (20- 450 nm), una proteína (5-50 nm) o un gen (2 nm de ancho por 10-100 nm de largo).

Transporte de fármacos.

Hasta el presente, la mayor desventaja de los tratamientos que implican transporte de drogas o radioisótopos, es la inadecuada distribución de los medicamentos en el cuerpo. Las drogas terapéuticas se administran en forma intravenosa y por lo tanto se distribuyen en el torrente sanguíneo, con el consecuente efecto no deseado de que atacan todo tipo de células, incluidas las células sanas. Por ejemplo, los efectos secundarios de la administración de anti-inflamatorios en pacientes con artritis crónica conllevan a la suspensión de su uso; sin embargo, si su aplicación pudiera localizarse sólo en la parte afectada, entonces podría aplicarse una droga potente y efectiva de forma continua.

A fines de la década de los 70´s, científicos dedicados a este tema propusieron usar portadores magnéticos con el fin de atacar sitios específicos dentro del cuerpo humano, como por ejemplo un tumor cancerígeno. El objetivo era lograr una mayor localización de la droga para disminuir a) los efectos colaterales, b) las dosis aplicadas. En una terapia dirigida magnéticamente, una droga citotóxica se enlaza a una nanopartícula magnética y biocompatible que funciona como portador. Este complejo droga-portador se inyecta al sistema sanguíneo del paciente, normalmente en forma de ferrofluido biocompatible. Cuando las partículas han entrado en el torrente sanguíneo se aplica un campo magnético externo para concentrar el ferrofluido en algún sitio específico del cuerpo. Una vez localizada en el objetivo deseado, la droga puede liberarse por medio de alguna actividad enzimática, por cambios en las condiciones fisiológicas o bien por variación de temperatura, y ser absorbida por el órgano o células afectadas.

Desde aquellos primeros ensayos de la década de los 70´s se han desarrollado muchos y diversos tipos de portadores magnéticos, pero aún en la actualidad la optimización de estos portadores sigue siendo un tema de gran interés.

Las nanopartículas están formadas por un núcleo magnético, que normalmente es magnetita Fe_3O_4 o γ-Fe_2O_3, recubierto con un material biocompatible. El revestimiento de la nanopartícula magnética tiene la función de aislarla del medio evitando así que se disuelvan o se oxiden en el medio fluido, pero también puede favorecer la funcionalización de grupos carboxilos, biotin, avidin carbodiimide u otras moléculas.

Los recubrimientos más utilizados son los polímeros, como el polivinil alcohol o el dextran, o los compuestos inorgánicos como la sílica; sin embargo, últimamente, se están estudiando los recubrimientos con metales nobles como el oro. Por otro lado, aunque el níquel y el cobalto son tóxicos y susceptibles de oxidación, se están investigando distintos tipos de recubrimientos para convertirlos en biocompatibles. Por ejemplo, actualmente se trabaja en cobalto recubierto de sílica para su uso oftalmológico en el tratamiento de desprendimiento de retina.

Se usaron portadores magnéticos por primera vez para concentrar dexorubicin en un sarcoma implantado en una rata. Los resultados iniciales fueron muy alentadores, mostrando la remisión total del sarcoma; en cambio, en otro grupo de ratas donde la

dexorubicin fue aplicada en una dosis diez veces mayor pero sin usar el transporte magnético los sarcomas no remitieron. Desde aquél primer estudio se han reportado varias investigaciones exitosas sobre el transporte de droga terapéutica y la remisión de tumores, incluso usando diferentes animales como cerdos, conejos y ratas.

A pesar de que estos resultados fueron tan prometedores, se han encontrado serias dificultades en el transporte de drogas por portadores magnéticos. Estas limitaciones incluyen i) la posibilidad de embolia debido a la acumulación de portadores magnéticos, y ii) la toxicidad de los portadores magnéticos. Sin embargo, resultados preclínicos y experimentales recientes indican que aún es posible vencer estas limitaciones.

Hipertermia

En medicina se aplica el término hipertermia como un procedimiento terapéutico basado la elevación de la temperatura de una región del cuerpo, afectada por un proceso maligno, con el fin de eliminar dicho proceso. Hasta ahora, la hipertermia ha sido aplicada en tumores superficiales, como un tratamiento complementario dentro de la Oncología, sin embargo cada vez existen más comunicaciones y publicaciones, en la bibliografía médica y física, que sitúan a la hipertermia en un papel más importante. Se ha descrito el uso de la hipertermia en el tratamiento de tumores cerebrales, prostáticos, pélvicos, cáncer de mama, carcinomas escamosos de cabeza y cuello, basaliomas dérmicos etc. Asimismo se han descrito nuevos avances técnicos en la separación de partículas magnéticas dispensación de dichas partículas y sus aplicaciones en biomedicina uso de liposomas catiónicos magnéticos así como su papel como coadyuvante con la quimioterapia o con la radioterapia en el tratamiento de los tumores malignos, basado en el aumento de la capacidad para "matar" células a temperaturas superiores a 41-42°C.

Las investigaciones más recientes sobre hipertermia tienen como objetivo estabilizar y homogeneizar la temperatura alrededor de 42-43°C en la masa tumoral, aunque existe una línea alternativa, denominada generalmente termoablación magnética, basada en el empleo de temperaturas hasta 55°C. Los efectos perjudiciales sobre las células sanas a esta temperatura son importantes, aunque se trata de minimizarlos restringiendo la localización de las partículas al interior de la masa tumoral. Para alcanzar la temperatura deseada dentro de la masa tumoral se han utilizado, a lo largo de la última década,

nanopartículas magnéticas de oxido de hierro ($Fe_2 O_3$ ó $Fe_3 O_4$), compuestos metálicos (Fe C, Sm Co) y metales (Fe, Au, etc.), con diámetros entre 10 y 500 nanómetros. Estas nanopartículas pueden ser bien toleradas por el organismo (dextran-magnetita, Fe) o precisar un recubrimiento para ser biocompatibles.

La idea no es nueva: el uso de óxidos de hierro para calentar y destruir tumores ya fue propuesto por Gilchrist en 1957. Sin embargo, al día de hoy, subsisten varios problemas técnicos sin resolver de modo satisfactorio, lo que ha impedido la utilización clínica de una terapia tan prometedora. La razón estriba en que las soluciones sencillas, que pueden mejorar el comportamiento de las nanopartículas en un determinado aspecto, con frecuencia afectan negativamente a otro. Esto da lugar a que materiales que "funcionan" en los ensayos *in vitro* den resultados negativos *en vivo*.

Problemas más inmediatos a investigar y resolver

a) Implantación de las partículas en el área tumoral

Partiendo de la base de la biocompatibilidad del material utilizado o de su recubrimiento, la inyección de las partículas en el torrente sanguíneo y su guiado hasta el área del tumor requiere diseñar estrategias para evitar, en lo posible, su captación y eliminación por el *Sistema Retículo - Endotelial*. Las partículas, una vez inyectadas por vía intravenosa, son inmediatamente recubiertas por las proteínas del plasma, en el proceso denominado opsonización. Este proceso hace a las partículas reconocibles por los fagocitos del SER que las elimina rápidamente. Las últimas investigaciones apuntan al recubrimiento de las nanopartículas con polímeros hidrófilos y a la reducción de su tamaño, ambos factores que pueden detener el proceso descrito, aunque no evitarlo.

b) Confinamiento de las partículas en el área tumoral

Una vez inyectadas las partículas magnéticas, deben permanecer confinadas en el volumen del tumor para que el tratamiento de hipertermia sea eficaz. Desde este punto de vista podría ser interesante el uso de partículas con una distribución de tamaños que permitiera, por una parte la difusión de las partículas menores por el tumor, y por otra la embolización dentro del mismo, lo que contribuiría eficazmente al confinamiento deseado. En cualquier caso es necesario un confinamiento magnético, que se puede

realizar en primer lugar *in vitro*, mediante la construcción de una maqueta del modelo animal y el diseño y construcción de una configuración adecuada de imanes permanentes. Posteriormente se procedería a la utilización del dispositivo en los ensayos *in vivo*.

c) Generación de calor y control de la temperatura

Como es sabido, la generación de calor en las partículas magnéticas puede producirse por dos mecanismos: las corrientes eléctricas inducidas en la partícula por un campo magnético alterno y, en las partículas ferromagnéticas por las pérdidas irreversibles en el proceso de imanación. En primera aproximación, el calor generado por el primer mecanismo aumenta con el cuadrado de la frecuencia y el segundo con la frecuencia del campo magnético aplicado. En ambos casos aumenta con la permeabilidad y con el momento magnético del material, que es el producto de la imanación del material por el volumen del mismo. Teniendo en cuenta estos aspectos creemos que los materiales más adecuados serían los ferromagnéticos, ya que su permeabilidad y su imanación son mucho más altas que en otros materiales, lo que permite, para generar la misma potencia, la utilización de campos magnéticos de menor frecuencia e intensidad. Dentro de este tipo de materiales, los amorfos metálicos y los nanocristalinos son los que presentan una mayor permeabilidad magnética.

Por otra parte, estos materiales ferromagnéticos dejan de serlo a una temperatura crítica, conocida como temperatura de curie (Tc), disminuyendo drásticamente su permeabilidad y su momento magnético y, por consiguiente las corrientes eléctricas inducidas. Esta propiedad proporciona un método ideal para el control de la temperatura del tratamiento, fabricando un material con la temperatura de curie adecuada.

En el Instituto de Magnetismo Aplicado de la Universidad Complutense-(ADIF) desarrollaron recientemente dos nuevos materiales, las aleaciones Fe-Cu y Fe-Cu-Zr, cuya temperatura de curie puede ser ajustada en función de la composición, lo que las convierte en buenos candidatos para estos tratamientos. Otra alternativa a los, podíamos llamar, materiales magnéticos tradicionales la presentan las nanopartículas magnéticas de metales nobles como el Au. Su comportamiento ferromagnético, hasta temperatura ambiente, en nanopartículas de oro funcionalizadas con diámetros medios por debajo de

los 3nm ofrece una vía alternativa para producir un calentamiento local controlado utilizables con fines terapéuticos como los tratamientos de hipertermia. También es potencialmente interesante el comportamiento de nanohilos magnéticos, obtenidos por electrodeposición y de microhilos obtenidos por enfriamiento muy rápido. Los nanohilos magnéticos presentan además la posibilidad de ser fabricados con "tramos" de dos materiales diferentes, uno de los cuales podría ser un metal noble, que permitiría ligarle moléculas orgánicas, con distinta funcionalidad.
El comportamiento de los distintos materiales, la generación de calor y el control de la temperatura debe estudiarse *in vitro*, en cultivos celulares, con células sanas y tumorales, seleccionando los mejores para los ensayos *reales*.

d) Tolerancia del organismo y efectos secundarios

Los animales, objeto de los ensayos *in vivo* deben ser sometidos a un seguimiento prolongado, con el fin de estudiar los efectos producidos sobre su organismo por los tratamientos de hipertermia, o por las posibles complicaciones surgidas de la posterior difusión y eliminación de las partículas por el SER. Desde este punto de vista, los efectos que se han observado, y que se recogen en la literatura, son tanto menores cuanto menor es el tamaño de las partículas. Sin embargo la reducción de tamaño conlleva un aumento del volumen de material inyectado, así como de la intensidad y frecuencia del campo magnético alterno utilizado, para generar la misma potencia calorífica. Asimismo, supone un aumento del gradiente de campo magnético empleado en el confinamiento, para compensar la disminución del momento magnético de las partículas. Por lo tanto, es conveniente determinar el mayor tamaño posible, para que no provoque las complicaciones aludidas anteriormente.

Las técnicas actuales de producción y caracterización de NPs están permitiendo descubrir un nuevo mundo de propiedades físicas que no pueden explicarse con los esquemas clásicos bien establecidos en la teoría de la materia condensada. El tamaño de las NPs y su capacidad para enlazar moléculas orgánicas permite su utilización como transportador de fármacos a células dianas concretas dentro del organismo. Cuando las NPs son ferromagnéticas se abre la posibilidad de ser conducidas a través del torrente circulatorio hasta su objetivo mediante gradientes de campos magnéticos.

V. CONCLUSIONES

De acuerdo con la revisión bibliográfica realizada en este trabajo, se concluye lo siguiente:

Se investigaron y analizaron diferentes artículos sobre materiales nanoestructurados a base de polímeros, y compuestos químicos con diversos tipos de nanopartículas especialmente con nanopartículas de plata, aplicados en la nanomedicina. La nanomedicina es un campo emergente que ha hecho su contribución a todas las esferas de la vida humana, La síntesis biológica de las nanopartículas se ha preparado para mejorar las metodologías y enfoques en el campo de los medicamentos. Por lo tanto el desarrollo de mejores procedimientos experimentales para la síntesis de nanopartículas así como técnicas instrumentales para la evaluación y análisis de diferentes morfologías controladas, son de vital importancia para su avance. Además se puede revisar y comparar resultados con otras técnicas como es el caso de la resonancia magnética nuclear.

Las nanopartículas de plata se han usado ampliamente como un agente terapéutico, así como agentes antifúngico, antibacterianos, antivirales y antiinflamatorias. Hasta ahora, las nanopartículas sintetizadas químicamente se han utilizado para estos enfoques, sin embargo en informes recientes sugieren que las nanopartículas sintetizadas biológicamente tienen numerosas ventajas sobre los obtenidos por síntesis química.

Las técnicas de caracterización FTIR, WAXD, SAX, SEM TEM, DSC y TGA son las más utilizadas para la determinación de las propiedades de los materiales nanoestructurados a base de polímeros-nanopartículas (en este caso nanopartículas de plata), para hacer la determinación de análisis morfológicos, estructurales y comportamiento térmico . Cada técnica nos revela información muy valiosa para entender mejor el comportamiento de estos compuestos y la relación estructura-propiedades, proporcionando así una aplicación correcta a estos materiales nanoestructurados.

Las técnicas de caracterización SEM, STEM y TEM, difracción de Rayos-X son quizá las técnicas más empleadas para el estudio y análisis de resultados de estos sistemas nanoestructurados para el área de la nanomedicina, debido a la gran

información (de morfología, análisis químico cualitativo, análisis de fases, etc.) que nos proporcionan para concluir un trabajo de investigación.

VI. PERSPECTIVAS A FUTURO

Una perspectiva muy prometedora del uso de las nanopartículas en la administración de medicamentos específicos y también por su "multi-objetivo", que es esencial en el caso de varias enfermedades como es el caso del cáncer.

Se han estado realizando grandes avances para la creación de sistemas de nanopartículas para la entrega de fármacos. La entrega de la droga nanoactiva en los tejidos específicos en el cuerpo, y las capacidades que mejorará la penetración del fármaco en las células, así como otros medios para mejorar la actividad de la droga.

El objetivo específico es un aspecto muy prometedor en el caso del cáncer además de otras enfermedades, se están desarrollando nuevos fármacos que interfieren con las vías que son especialmente activas en las células cancerosas.

La entrega de los fármacos antineoplásicos a las células cancerosas o los tejidos asociados con el cáncer como el tumor vascular puede ser selectiva al asociar las drogas con moléculas que se unen a antígenos o receptores en las células de detección con respecto a los tejidos normales [20].

El diseño de nanosistemas inteligentes funcionales para imágenes intracelulares específicas, tienen aplicaciones terapéuticas que requiere un conocimiento profundo de los mecanismos de nanopartículas que entran y salen de las células.

La capacidad de las partículas recubiertas ha abierto nuevas puertas en la búsqueda de una cura para la retinopatía diabética. Un nuevo método ha impulsado para la identificación de un conjunto de secuencias que se dirigen específicamente a estudios con plata y cobalto.

Hay un enorme interés en la explotación de las nanopartículas en diferentes aplicaciones biomédicas, ya que su escala de tamaño es similar a la diversidad biológica molecular

(por ejemplo, las proteínas, el ADN) y las estructuras (por ejemplo, los virus y bacterias). Estos avances son prometedores en el campo que estará en su cumbre en los próximos años.

De acuerdo a lo anterior, sería interesante realizar estudios de técnicas de caracterización en sistemas nanoestructurados, en los cuales se involucren diferentes matrices poliméricas y otros tipos de nanopartículas.

VII. REFERENCIAS

[1] Nanoquímica y nanotecnología: nuevos materiales, polímeros y maquinas moleculares. Tomas Torres Cebada. Catedrático y director del departamento de Química Orgánica. Universidad Autónoma de Madrid.

[2] Nel A, Xia T, Li N (2006). "Toxic potential of materials at the nanolevel". Science Vol 311:622-627; Oberdörster G, Oberdörster E and Oberdörster J (2005); Oberdörster G, Maynard A, Donaldson K, Castranova V, Fitzpatrick J, Ausman K, Carter J, Karn B, Kreyling W, Lai D, Olin S, Monteiro-Riviere N, Warheit D, and Yang H (2005). "Principles for characterising the potential human health effects from exposure to nanomaterials: elements of a screening strategy". Particle and Fibre Toxicology 2:8.

[3] Helland A, Cheringer M, Siegrist M, Kastenholz H, Wiek A, Scholz A. 2008. Risk Assessment of Engineered Nanomaterials: A Survey of Industrial Approaches. Environ. Sci. Technol. 42: 640–646; Helland A, Kastenholz H, Siegrist M. 2008. Precaution in Practice: Perceptions, Procedures, and Performance in the Nanotech Industry. J Ind Ecol 12(3):449-458.

[4] Ashwood P, Thompson R, Powell J. 2007. Fine particles that adsorb lipopolysaccharide via bridging calcium cations may mimic bacterial pathogenicity towards cells. Exp Biol Med 232(1):107-117; Brunner T, Piusmanser P, Spohn P, Grass R, Limbach L, Bruinink A, Stark W. 2006. In Vitro Cytotoxicity of Oxide Nanoparticles: Comparison to Asbestos, Silica, and the Effect of Particle Solubility. Environ Sci Technol 40:4374-4381 ; Heinlaan M, Ivask A, Blinova I, Dubourguier H-C, Kahru A. 2008. Toxicity of nanosized and bulk ZnO, CuO and TiO2 to bacteria Vibrio fischeri and crustaceans Daphnia magna and Thamnocephalus platyurus. Chemosphere. In Press. doi:10.1016/j.chemosphere.2007.11.047 ; Hussain S, Hess K, Gearhart J, Geiss K, Schlager J. 2005. In vitro toxicity of nanoparticles in BRL 3A rat liver cells. Toxicol In Vitro 19:975-983. Limbach L, Wick P, Manser P, Grass R, Bruinink A, Stark W. 2007. Exposure of engineered nanoparticles to human lung epithelial cells: Influence of chemical composition and catalytic activity on oxidative stress. Environ Sci Technol 41:4158-4163; Long T, Saleh N, Tilton R, Lowry G, Veronesi B. 2006.
Titanium dioxide (P25) produces reactive oxygen species in immortalized brain microglia (BV2): Implications for nanoparticle neurotoxicity.

[5] Ballestri M, Baraldi A, Gatti A, Furci L, Bagni A, Loria P, Rapana R, Carulli N, Albertazzi A. 2001. Liver and kidney foreign bodies granulomatosis in a patient with malocclusion, bruxism, and worn dental prostheses. Gastroenterol 121(5):1234–8; Gatti A. 2004. Biocompatibility of micro- and nano-particles in the colon. Part II. Biomaterials 25:385-392; Gatti A, Rivasi F. 2002. Biocompatibility of micro- and nanoparticles. Part I: in liver and kidney. Biomaterials 23:2381–2387.

[6] The Royal Society and The Royal Academy of Engineering, UK (2004). Nanoscience and nanotechnologies. Available at http://www.royalsoc.ac.uk/

[7] Swiss Re. 2004. Nanotechnology: Small matter, many unknowns. Available at: http://www.swissre.com

[8] Antonio Hernando Grande, Nanotecnología y nanopartículas magnéticas: La física actual en la lucha contra la enfermedad, Rev.R.Acad.Cienc.Exact.Fís.Nat. (Esp) Vol. 101, Nº. 2, pp 321-327, 2007 VIII Programa de Promoción de la Cultura Científica y Tecnológica

[9] Denise Criado Pereira de Souza, Técnicas de caracterización y aplicaciones, Universidad de Chile / Facultad de Ciencias Físicas y Matemáticas / Departamento De Ciencia De Los Materiales

[10] Manual de Técnicas Analíticas y Propiedades Físicas y Mecánicas

[11] Arturo García-Bórquez; Microsopá y análisis de nanoestructuras, Depto. de Ciencia de Materiales, ESFM-IPN, Ed. 9-UPALM, 07738 México D.F.

[12] M. Ruiz Figueroa, C. Ángeles Chávez, P. Del Angel; Caracterización de materiales nanoestructurados por microscopia electrónica de transmisión, Instituto Mexicano del Petróleo, Dirección de Investigación y Posgrado, México D.F.

[13] Ramanathan Vaidyanathan, Kalimuthu Kalishwaralal, Shubaash Gopalram, Sangiliyandi Gurunathan, Nanosilver—The burgeoning therapeutic molecule and its green synthesis, Department of Biotechnology, Division of Molecular and Cellular Biology, Kalasalingam University, Anand Nagar, Krishnankoil-626190, Tamilnadu, India, (2009).

[14] Y. Murali Mohan, Kyungjae Lee, Thathan Premkumar, Kurt E. Geckeler, Hydrogel networks as nanoreactors: A novel approach to silver nanoparticles for antibacterial applications, Laboratory of Applied Macromolecular Chemistry, Department of Materials Science and Engineering, Gwangju Institute
of Science and Technology (GIST), South Korea, (2006)

[15] Wanzhong Zhang, Xueliang Qiao, Jianguo Chen, Synthesis of nanosilver colloidal particles in water/oil microemulsion, State Key Laboratory of Material Processing and Die & Mould Technology, Huazhong University of Science and Technology,
Wuhan, Hubei 430074, PR China, (2006).

[16] Juan Zoua,, Yao Xu, Bo Hou, Dong Wu, Yuhan Sun, Controlled growth of silver nanoparticles in a hydrothermal process, (2007)

[17] Karen Segala, Rosilene L. Dutra, Eric N. de Oliveira, Liane M. Rossi, Jivaldo R. Matos, Marcos M. S. Paulac , César V. Franco, Characterization of Poly-{trans-[RuCl2(vpy)4]-styrene-4-vinylpyridine} Impregnated with
Silver Nanoparticles in Non Aqueous Medium, (2006).

[18] Peng He, Xinyuan Zhu, Synthesis and characterization of phospholipid-functionalized
silver nanoparticles, (2007).

[19] Ahmad R. Shahverdi, PhD,Ali Fakhimi, PharmD, Hamid R. Shahverdi, PhD, Sara Minaian, MS, Synthesis and effect of silver nanoparticles
on the antibacterial activity of different antibiotics
against Staphylococcus aureus and Escherichia coli, (2007)

[20] Devika CB, Arezou, Ghazani A,Warren CWC.Determining the size and shape dependence of gold nanoparticle uptake into mammalian cells. Nano Lett 2006; 6:662–8.

[21] Woodleand MC, Lu PY. Nanoparticles deliver RNAi therapy. Nanotoday 2005; 8:34–41