

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

**SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNP's) Y SU
APLICACIÓN COMO BARRERA ANTIMICROBIANA EN DISPOSITIVOS
MÉDICOS DE NATURALEZA POLIMÉRICA**

Presentado ante la Ilustre Universidad Central de
Venezuela para optar al Título de Ingeniero
Metalúrgico por la T.S.U. Ana Teresa Vielma
Mendoza

CIUDAD UNIVERSITARIA DE CARACAS, MAYO 2010

TRABAJO ESPECIAL DE GRADO

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNP's) Y SU
APLICACIÓN COMO BARRERA ANTIMICROBIANA EN DISPOSITIVOS
MÉDICOS DE NATURALEZA POLIMÉRICA

TUTOR: Profesor. Armando Caballero

ACTA

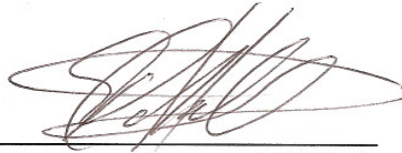
Quienes suscriben, miembros del Jurado designado por el Consejo de Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de los Materiales, para examinar el Trabajo Especial de Grado titulado:

SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNP's) Y SU APLICACIÓN COMO BARRERA ANTIBACTERIANA EN DISPOSITIVOS MÉDICOS DE NATURALEZA POLIMÉRICA

Presentado ante la ilustre Universidad Central de Venezuela por la T.S.U. Ana Teresa Vielma Mendoza, dejan constancia de lo siguiente:

Hemos leído este trabajo y participado en su discusión, encontrando que el mismo es suficiente en contenido, calidad y extensión para cumplir con todos los requisitos establecidos para optar al título de Ingeniero Metalúrgico.

En fe de lo cual se levanta la presente Acta en Caracas a los 20 días del mes de mayo de 2010.



Prof. Ramón Armando Caballero

Tutor



Profa. Anna Di Prinzio

Jurado



Profa. Sonia Camero

Jurado

RESUMEN

Ana T. Vielma M.

“Síntesis de nanopartículas de plata (AgNP's) y su aplicación como barrera antimicrobiana en dispositivos médicos de naturaleza polimérica”

Tutor Académico: Ramón Armando Caballero, U. C. V. Facultad de Ingeniería, Escuela de Ingeniería Metalúrgica y Ciencia de los Materiales. Año 2010, 146 páginas.

Palabras clave: Nanopartículas de plata (AgNP's), morfología, tamaño de partículas, Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), Dispersión Dinámica de Luz (DLS), Espectroscopia de Rayos X (EDX), impregnación, dispositivos médicos intracorporales de naturaleza polimérica y actividad antibacteriana.

En el campo de las investigaciones científicas, la nanotecnología resulta una tendencia novedosa y aplicable a múltiples áreas. En biomedicina, ha llevado a mejorar propiedades de biomateriales y a contrarrestar la acción de microorganismos patógenos. Un ejemplo de ello ha sido el empleo de nanopartículas de plata (AgNP's).

La investigación realizada se basó en la obtención de AgNP's por medio de dos métodos convencionales (métodos del borohidruro con adición de agente dispersante (PVA) y el método del citrato de sodio) y uno no convencional (disolución anódica), para su posterior impregnación en un dispositivo médico de naturaleza polimérica (sonda Foley). Los procedimientos de disolución anódica buscaban evaluar la influencia de la naturaleza de los electrodos, tiempo, distancia entre los electrodos, corriente y onda sobre la síntesis de AgNP's.

Las soluciones de AgNP's obtenidas fueron caracterizadas mediante las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido (MEB), Dispersión

Dinámica de Luz (DLS) y Microanálisis químico por espectroscopia de Rayos X (EDX). Para ello, se absorbieron las partículas en un hidrogel (método propuesto por el profesor A. Caballero) o se soportaron en portaobjetos. La actividad antibacteriana se comprobó por medio de un método convencional de evaluación de Fagos, en un cultivo de *E.coli* CVCM 126.

Se obtuvieron suspensiones de AgNP's de morfología aparentemente esférica. Las nanopartículas obtenidas presentaron diámetros promedios de 96,50nm y 453,00nm para los métodos del borohidruro y citrato de sodio respectivamente. Como agente dispersante el PVA tuvo mayor control sobre el tamaño de partícula que el citrato de sodio.

En los procedimientos de disolución anódica se observó un incremento de la intensidad de corriente, y se obtuvieron partículas de apariencia esférica con un diámetro alrededor de 200nm y tendencia a aglomeración. La naturaleza de los electrodos al igual que la distancia entre ellos sólo afectó la velocidad de reacción. El tiempo de reacción favorecía el crecimiento de partícula, según el mecanismo propuesto por Michael [1]. Los ensayos con onda cuadrada favorecieron la formación de aglomerados (clusters) y los procedimientos realizados con el método comercial (corriente constante), no presentó influencia sobre la morfología de las partículas.

Se realizó la impregnación de los dispositivos por medio de una síntesis In Situ, aplicando el método del citrato de sodio. Se comprobó la presencia de plata en las superficies interna y externa mediante la técnica de MEB y EDX.

La actividad antibacteriana fue mayor para las soluciones obtenidas por los métodos escogidos que para las suspensiones obtenidas por el método comercial. Dando como resultado sustancias alternativas para la inhibición del crecimiento de ciertos microorganismos.

AGRADECIMIENTOS

Fueron tantos quienes me colaboraron en este proceso, que resulta difícil escribir estas líneas.

Agradezco a Dios sobre todo, por colocar en el camino a las personas indicadas. A mi tutor por tener la confianza en mí para el desarrollo del proyecto, a Valentina por colaborar con la investigación sin conocerme y a Franklin Rico, que sin su ayuda no hubiese sido posible la realización del trabajo.

Cómo no mencionar a los queridos vigilantes de la escuela (Márquez, Gómez, Fabio, Wilmer), por hacer más grata mi estadía en los turnos fuera de horarios académicos, acompañarme y darme ánimos dentro y fuera de la escuela.

Al Centro de Microscopía Electrónica. En especial a Samuel y Gelyn que hasta el último momento estuvieron prestándome su colaboración.

A los profesores Luis Torres, Vidal Rodríguez, Juanita Viteli y Chicha Dagger por su valiosa ayuda en la evaluación biológica.

A mis queridas profesoras, Ruth, Anna y Sonia, por su apoyo, comprensión y asesoría.

A Francisco, Flor, Margaret, Lola, Pedro, Miguel y César, quienes más de una vez me dieron ánimos y ayuda incondicional.

A la familia Santiago, por brindarme cobijo y alojamiento. A José, por ser mi apoyo, y consejero en esta etapa.

A mi mami, abuela y hermana, por ser los pilares que me han llevado cumplir esta meta.

A todos ...

Mil gracias!

DEDICATORIA

A todas aquellas personas que buscan alternativas de mejora para enfermedades e infecciones nefrológicas.

Fueron la principal fuente de inspiración.

ÍNDICE

ÍNDICE DE FIGURAS	v
1. INTRODUCCIÓN	9
2. MARCO TEÓRICO	12
2.1. Nanotecnología	12
2.2. RESEÑA HISTÓRICA	16
•La plata y su aplicación en medicina	16
2.3. NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNP's)	19
2.3.1. Propiedades físicas y químicas [16]	21
• Propiedades ópticas ^[17]	22
2.3.2. Propiedad antibacteriana [19]	27
2.3.3. Métodos de obtención. Antecedentes.	30
2.3.3.1. Método de Turkevich (síntesis del citrato)	32
2.3.3.2. Método del borohidruro	34
2.3.3.3. Método electroquímico (disolución anódica)	36
2.3.4. Técnicas de caracterización de nano partículas	38
2.3.4.1. Microscopía electrónica	38
2.3.4.2. Métodos de determinación del tamaño de partícula.	43

2.4. BIOMATERIALES	48
2.4.1. Polímeros y composites	50
2.4.1.1. Policloruro de vinilo [29]	50
2.4.1.2. Siliconas [29]	51
2.4.1.3. Látex	52
2.5. EQUIPOS MÉDICOS [2]	53
• TIPOS DE SONDAS [35]	55
• Clasificación según el material del catéter [36]	57
3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	60
3.1. MATERIALES	60
3.1.1. Síntesis química	60
3.1.2. Síntesis electroquímica	60
3.2. EQUIPOS	60
3.3. SÍNTESIS QUÍMICA	61
3.3.1. Obtención de nanopartículas de Ag. Agente reductor citrato de sodio.	62
3.3.2. Obtención de nanopartículas de Ag. Agente reductor NaBH_4 .	63
3.4. SÍNTESIS ELECTROQUÍMICA	63

3.4.1. Ensayos a corriente continua	63
3.4.2. Montaje de la celda	64
3.4.3. Ensayos con onda cuadrada	65
3.4.4. Ensayo con el equipo comercial	67
• Montaje del sistema	68
3.5. IMPREGNACIÓN DEL POLÍMERO	69
3.6. CARACTERIZACIÓN	69
3.6.1. Microscopía electrónica de barrido	69
3.6.1.1. Preparación de las probetas y análisis de muestras	69
3.6.2. Dispersión de luz láser	70
3.6.3. Caracterización biológica	71
3.6.3.1. Método de evaluación de antibióticos	71
3.6.3.2. Método de evaluación de Fagos	72
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	74
4.1. SÍNTESIS QUÍMICAS	74
4.2. SÍNTESIS ELECTROQUÍMICAS	85
4.2.1. Ensayos a corriente directa	85
4.2.2. Ensayos con onda cuadrada	101
4.2.3. Ensayos con el equipo comercial	107

4.2.4. Impregnación del polímero	108
4.2.5. Ensayos microbiológicos	113
4.2.5.1. Método de evaluación para antibióticos	113
4.2.5.2. Método de evaluación de Fagos	115
5. CONCLUSIONES	118
6. RECOMENDACIONES	121
7. REFERENCIAS	122
8. APÉNDICES	126
APÉNDICE 1: Microanálisis de PVA con partículas de plata en su estructura	126
APÉNDICE 2. Muestra Q ₂ . Síntesis relación AgNO ₃ :NaBH ₄ [2:3]. Corroboración de síntesis in situ.	127
APÉNDICE 3. Síntesis de AgNP's. Procedimiento de Turkevich	128
APÉNDICE 4. Gráficos de intensidad vs tiempo. Registros de programa lobbies.	129
APÉNDICE 5. relación de variables para los métodos electroquímicos	136
APÉNDICE N°6. Microanálisis de los componentes del dispositivo	140

ÍNDICE DE FIGURAS

FIGURA 1. BANDAS DE RESONANCIA CARACTERÍSTICAS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE PLATA.	23
FIGURA 2. INTERACCIÓN DE LA RADIACIÓN ELECTROMAGNÉTICA CON LAS PARTÍCULAS DE METAL.	25
FIGURA 3. PROPUESTA DE MECANISMO DE ACCIÓN DE LAS AGNP'S SOBRE UN MICROORGANISMO. [20].	29
FIGURA 4. CLASIFICACIÓN DE LOS MÉTODOS DE SÍNTESIS PARA OBTENER NANOPARTÍCULAS DE PLATA	31
FIGURA 4. MECANISMOS DE FORMACIÓN DE AGNP'S.	34
FIGURA 5. MECANISMO DE PRODUCCIÓN DE AGNP'S POR EL MÉTODO ELECTROQUÍMICO	38
FIGURA 6. ESQUEMA DE MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO	41
FIGURA 7. EQUIPO DE DIFUSIÓN DINÁMICA DE LUZ [26].	46
FIGURA. 8. CONSTITUCIÓN Y TIPOS DE SONDAS [35]	56
FIGURA 9. ESQUEMA DEL MONTAJE Y PUESTA EN MARCHA DE LA CELDA PARA ENSAYOS A CORRIENTE DIRECTA	64
FIGURA10. DIAGRAMA DE BLOQUE. CIRCUITO PARA ENSAYOS A CORRIENTE CONTINUA.	65
FIGURA 11. CIRCUITO UTILIZADO PARA LOS ENSAYOS DE ONDA CUADRADA.	66
FIGURA 12. DIAGRAMA DE BLOQUE. CIRCUITO PARA ENSAYOS A ONDA CUADRADA	67

FIGURA 13. EQUIPO COMERCIAL “SILVERGEN COLLOID GENERATOR”.	68
FIGURA14. ESQUEMA DEL MONTAJE DEL SISTEMA COMERCIAL DE PRODUCCIÓN DE AGNP'S	68
FIGURA14. MICROSCOPIO ELECTRÓNICO DE BARRIDO UTILIZADO PARA LOS ANÁLISIS.	70
FIGURA15. ESQUEMA EQUIPO DE DLS.	71
FIGURA 16. MÉTODO DEL NABH_4 . MICROGRAFÍA. MAGNIFICACIÓN:4000X	75
FIGURA 17.MÉTODO DEL NABH_4 . MICROGRAFÍA. MAGNIFICACIÓN:10000X.	76
FIGURA 18.MÉTODO DEL NABH_4 . MEDICIÓN DEL TAMAÑO DE PARTÍCULA	78
FIGURA19. MUESTRA Q_1 . CURVA DE DISTRIBUCIÓN DE DIÁMETRO DE PARTÍCULAS (DLS). $DM=96,50\text{NM}$.	78
FIGURA 20. EFECTO RAYLEIGH EN LAS SUSPENSIONES DE AGNP'S.	80
FIGURA 21. EDX. PROCEDIMIENTO DE LEE Y MEISEL.	80
FIGURA 22. CITRATO DE SODIO COMO DISPERSANTE.	82
FIGURA 23. MUESTRA $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{NA}_3$ (1%). DISTRIBUCIÓN DE TAMAÑOS DE PARTÍCULAS. $DM= 453,00\text{NM}$	83
FIGURA 24. EFECTOS ESTÉRICO Y COORDINACIÓN DEL DISPERSANTE.	85
FIGURA 25. DIAGRAMA DEL CIRCUITO Y CELDA AGDEF /AGDEF .	85
FIGURA 26. REGISTRO DE CORRIENTE CELDA E_{23} ($AG_{\text{REC}}/AG_{\text{DEF}} D_3$).	87
FIGURA 26. MEDICIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULA A $T=60$ MIN.	93
FIGURA 27. MEDICIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULAS EN FUNCIÓN DEL TIEMPO CELDA AGREC/AGDEF (E23) $T=90\text{MIN}$.	94

FIGURA 28. MEDICIÓN DE TAMAÑO DE PARTÍCULAS EN FUNCIÓN DEL TIEMPO CELDA AGREC/AGDEF (E23) T=120MIN.	95
FIGURA 30. REGISTRO DE INTENSIDAD DE CORRIENTE. CELDA TI/AGDEF (D ₁)	97
FIGURA 31A. CELDA AG _{DEF} /TI. PARTÍCULAS DISPERSAS.	99
FIGURA 31B. CELDA AG _{DEF} /TI.	99
FIGURA 31. REGISTRO DEL ENSAYO DE ONDA CUADRADA	101
FIGURA 32. INCREMENTO DE LA INTENSIDAD DE CORRIENTE CON RESPECTO AL TIEMPO. EMPLEO DE ONDA CUADRADA. CELDA AG/AG.	102
FIGURA 33. AGLOMERADOS DE AGNP'S. ONDA CUADRADA.	103
FIGURA 34. EDX 1. MICROANÁLISIS DE AGLOMERADOS. ONDA CUADRADA	104
FIGURA 36. EDX 2. MICROANÁLISIS DE AGLOMERADOS. ONDA CUADRADA	105
FIGURA 37. EDX. MICROANÁLISIS DE HIDROGEL	106
FIGURA 38. CONTAMINACIÓN POR CLORUROS.	107
FIGURA 39. AGNP'S OBTENIDAS VÍA PRODUCTO COMERCIAL	108
FIGURA 40, DISPOSITIVO INTRACORPORAL IMPREGNADO CON C ₆ H ₅ O ₇ Na ₃ 1%	109
FIGURA 41. DISPOSITIVO POLIMÉRICO. SUPERFICIE EXTERNA IMPREGNADA CON AGNP'S	110
FIGURA 42. DISPOSITIVO POLIMÉRICO. SUPERFICIE INTERNA IMPREGNADA CON AGNP'S	110
FIGURA 43. ANÁLISIS ELEMENTAL (EDX) DEL DISPOSITIVO TRATADO SUPERFICIALMENTE	113

FIGURA 44. EVALUACIÓN DE SUSCEPTIBILIDAD DE LAS DIFERENTES SOLUCIONES Y DEL DISPOSITIVO TIPO CATÉTER.	114
FIGURA 45. EVALUACIÓN DE LAS SOLUCIONES SINTETIZADAS. MÉTODO ESTÁNDAR DE EVALUACIÓN DE FAGOS.	117
FIGURA 46. ANÁLISIS ELEMENTAL. PVA COMO DISPERSANTE	126
FIGURA 47. MÉTODO DEL NABH_4 . RELACIÓN [2:3] CON ADICIÓN MICROGRAFÍA. MAGNIFICACIÓN: 5000X	127
FIGURA 48. MÉTODO DEL NABH_4 . RELACIÓN [2:3] CON ADICIÓN DE PVA COMO DISPERSANTE. EDX.	127
FIGURA 49. MONTAJE DE REACCIÓN. MÉTODO DEL CITRATO	128
FIGURA 50. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL DISPOSITIVO POLIMÉRICO. CARA INTERNA	140
FIGURA 51. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL DISPOSITIVO POLIMÉRICO. CARA INTERNA	140

1. INTRODUCCIÓN

Actualmente las nuevas tecnologías abarcan muchas áreas de investigación y aplicación. Con el fenómeno de la globalización mundial, el área de investigación para el desarrollo de nuevos materiales, resulta un espacio de inclusión para profesionales de todas las especialidades. La nanotecnología es un ejemplo de ello.

La nanotecnología es el estudio de la materia en dimensiones de una millonésima de metro. Esta es la tendencia más novedosa en el campo de las investigaciones científicas. Se aplica en robótica, medicina, biología, medioambiente, física, etc. La aplicación en biomedicina ha tenido grandes adelantos para la inhibición de la actividad de microorganismos patógenos. La producción de nanopartículas de plata (AgNP's) ha contribuido a contrarrestar células malignas y a evitar la mutación de virus y bacterias.

Históricamente la plata ha servido como un material capaz de inhibir la acción de bacterias. Con la creación de los antibióticos y la evolución de la ingeniería de los materiales el uso de la plata decreció. Sin embargo, las bacterias y virus tienen la capacidad de hacerse resistentes a los antibióticos y mutar, generando así cepas mucho más agresivas y de las cuales puede no tenerse la cura inmediata.

La estadística de morbilidad a nivel internacional, establece que los pacientes post quirúrgicos tienden a presentar infecciones. En muchos países resulta en un serio problema de salud [2]. La infección se debe a

que durante o luego de las intervenciones quirúrgicas se colocan sondas y/o catéteres. De igual manera los pacientes con insuficiencia renal u otra patología nefrológica están expuestos a la contaminación. Los dispositivos médicos utilizados, son un puente entre el organismo y el medio ambiente. Los microorganismos ingresan al cuerpo humano por esta vía.

La investigación realizada se propuso sintetizar e incorporar nanopartículas de plata a un material polimérico utilizado para la fabricación de dispositivos intracorporales (catéteres y sondas). Para ello se produjeron nanopartículas aplicando dos métodos convencionales (Métodos del borohidruro de sodio y del citrato de sodio) y uno no convencional (electroquímico, disolución anódica). En los primeros, se pretendió evaluar un agente dispersante que tuviera un buen control sobre el crecimiento de las partículas. En el segundo se estudiaron las variables naturaleza de los electrodos, utilizando celdas con ánodos de plata deformada y plata recocida; distancia entre los electrodos, tiempo de reacción, corriente y onda sobre la obtención, tamaño y morfología de las nanopartículas.

Las suspensiones obtenidas fueron caracterizadas vía Microscopía Electrónica de Barrido, Dispersión Dinámica de Luz y análisis químico elemental por Espectroscopia de Rayos X (EDX).

La caracterización del material impregnado se realizó mediante las técnicas de MEB y EDX para garantizar la incorporación de las AgNP's al polímero. Fue necesario verificar la actividad antibacteriana por medio de

cultivos de *Staphylococcus aureus* y/o *Escherichia coli*, microorganismos comunes en el medio clínico que afectan la función renal.

El desarrollo de estos materiales en el país y su incorporación en el sistema de salud pública, podría mejorar el tratamiento de los pacientes, disminuirá la tasa de morbilidad, ayudará a las recuperaciones postquirúrgicas y disminuirá los riesgos de contagio infeccioso en las instalaciones hospitalarias. El apoyo a las investigaciones sobre los biomateriales es inminente y contribuiría al desarrollo de la industria médica nacional.

2. MARCO TEÓRICO

2.1. NANOTECNOLOGÍA

La nanotecnología trata sobre las diferentes estructuras de la materia con dimensiones del orden de una millonésima parte de metro, así lo definen Charles P. Poole y Frank Owens en *Introducción a la Nanotecnología* [3]. Aún cuando éste término es nuevo, la aplicación de nanopartículas no es exclusiva de este siglo. Se ha determinado que en el arte gótico, en la metalurgia asiática antigua, así como en la naturaleza, las nanopartículas han dado diferentes propiedades ópticas, como los colores en los vitrales, la resistencia mecánica de herramientas y las características estructurales del caparazón de cierto molusco respectivamente.

La nanotecnología busca compaginar la producción y aplicación de sistemas físicos, químicos y biológicos a gran escala a partir de átomos individuales o moléculas con dimensiones menores al micrón, para obtener como resultado grandes sistemas nanoestructurados [4]. El desarrollo actual y el auge en la investigación de esta nueva tecnología tienen gran diversidad de aplicaciones. La preparación de polvos nanoestructurados con diferentes propiedades puede llevar a la obtención de nuevos materiales más resistentes, con propiedades ópticas, paramagnéticas, ferromagnéticas, piezoeléctricas o superconductoras. Otras aplicaciones de la nanotecnología son en la catálisis, en la industria de protección al medio ambiente, con la fabricación de filtros o tamices moleculares que sirven

para la recolección de material fino perjudicial para la salud de las personas, en biomedicina y en materiales compuestos.

En biomedicina se busca utilizar nano partículas que puedan ser colocadas directamente sobre células malignas, y éstas inhiban el desarrollo de las células cancerígenas. Con la incorporación de nanopartículas se desea obtener materiales más resistentes a la corrosión, al desgaste, a la fatiga, en resumen obtener un material con mejores propiedades químicas y mecánicas. Si combinamos la aplicación biomédica con la ingeniería de materiales, se pueden obtener materiales compuestos que sean de utilidad en el área de la medicina. Con la tecnología manométrica se han logrado una diversidad de adelantos para tratamientos preventivos de posibles patologías como melanomas. Estudios han demostrado, que es posible lograr la inhibición del desarrollo de microorganismos, bacterias o virus, que afectan a la humanidad por medio de la fabricación de sustancias y materiales con la incorporación de nano partículas.

Existen diversos métodos para la obtención de estructuras a escala nanométrica. Las variables más importantes a controlar son el tamaño de las partículas y la pureza. La aglomeración descontrolada conlleva a la generación de cúmulos y a una disminución del área superficial. Al disminuir el área superficial la propiedad característica de la partícula se verá disminuida [5].

Dependiendo del método de obtención se emplearán mecanismos o reactivos que inhiban la atracción entre las partículas. Los reactivos utilizados tienden a envolver a la partícula formando sobre ella una “película” que disminuirá considerablemente las fuerzas de atracción.

El método de síntesis dependerá directamente de la propiedad que se desee obtener en el material nanoestructurado y de la naturaleza de éste. Para ello se han desarrollado diversos procesos:

Por vía húmeda: precipitación-coprecipitación, evaporación y extracción de solventes, procesos sol-gel, etc. Tales como Reacciones en fase vapor, plasma, Descomposición de sales, Síntesis orgánica, Reacciones hidrotérmicas, Procesos electroquímicos, etc.

Cuando se desea obtener polvos de metales, los procesos generalmente se realizan en presencia de: agentes fuertemente reductores, solventes, dispersantes, surfactante, etc. En aquellos casos en que se desee acoplar la nanopartícula a otro material generalmente se sintetiza el polvo en una disolución del material o se incorpora por medio de un proceso de sol-gel con un agente tensoactivo.

Entre las propiedades de las nanopartículas individuales es posible resaltar la geometría de la nanoestructura. La estructura cristalina de las nanopartículas grandes es la misma que la de la macroestructura, aún cuando presentan algunas diferencias en los parámetros de red. Sin embargo, si son muy pequeñas, tienen todos, o casi todos sus átomos en la

superficie. En el exterior los átomos están menos restringidos en su capacidad para vibrar que los que se encuentran en el interior y son capaces de realizar mayores desplazamientos desde sus posiciones de equilibrio, lo cual puede conducir a cambios en la estructura de la partícula [3].

Con respecto a la estructura electrónica, cuando los átomos forman un retículo, sus niveles discretos de energía se dispersan en bandas de energía. Para un metal, la banda de energía superior no se encuentra totalmente llena. Cuando una partícula metálica se reduce al tamaño de unos cientos de átomos, la banda superior que contiene electrones y sus estados de densidad (niveles de energía presentes en un intervalo dado), cambian considerablemente. En ellos se presentan niveles de energía discretos que se traducen en un espaciamiento a niveles de energía mayores a la energía térmica. En los cúmulos metálicos pequeños, los niveles de energía se igualan a los de un metal voluminoso con orbitales enlazantes y antienlazantes. En ocasiones se alcanzan tamaños en los cuales las superficies de las partículas se encuentran separadas por órdenes de las longitudes de onda de los electrones. Esto se puede explicar mediante el principio de incertidumbre de Heisenberg, el cual plantea que mientras más confinado se encuentre un electrón, mayor será su intervalo de momento. La energía promedio viene determinada tanto por la naturaleza de los átomos como por la dimensión de la partícula [3]

Los cúmulos de diferentes tamaños presentan diferentes estructuras electrónicas, con diferentes niveles de energía. Cuando éstos interactúan con una luz a determinada longitud de onda, son capaces de absorber la energía luminosa y los fotones inducen a los electrones a efectuar transiciones entre los orbitales llenos inferiores con los no llenos más externos, generando así coloraciones específicas para cada dimensión de nanopartículas. De igual manera, dado que la estructura electrónica depende del tamaño de partícula, la capacidad del cúmulo para reaccionar con otras especies también dependerá de su propia dimensión. Experimentalmente se ha demostrado esta relación [3].

El tamaño de las nanopartículas o de los cúmulos afecta directamente la morfología, las propiedades ópticas, así como la reactividad de las partículas. El control de éste parámetro es de gran importancia para la producción de materiales nanoestructurados con aplicaciones específicas [6].

2.2. RESEÑA HISTÓRICA

- **La plata y su aplicación en medicina**

La plata es un elemento metálico de brillo intenso que generalmente está oscurecido por una pátina negruzca debido a alteración superficial. Es buen conductor de calor y electricidad. Se encuentra en estado nativo (generalmente aleada con cobre y oro), formando minerales como la argentita, que es sulfuro de Plata. Es mucho más abundante que el oro, se

encuentra mezclada con sulfuros o en zonas de oxidación de otros depósitos.

En el sistema periódico se denota con el símbolo **Ag**, número atómico 47, valencia uno (1) y estado de oxidación +1. Su configuración electrónica [Kr] $4d^{10} 5s^1$. Sistema de cristalización cúbico centrado en las caras (FCC). Dureza 2,5 en la escala de Moss. Densidad de 10,5 g/mL[7].

La plata es estable en el aire y en el agua, pero se ennegrece en presencia de pequeñas cantidades de sulfuros, por formación de sulfuro de Plata. Químicamente es bastante inerte debido a su potencial electroquímico [7]

Uno de los agentes que ha ganado un lugar establecido en el tratamiento tópico de quemaduras severas es la plata. Muchas sustancias han sido desarrolladas para el tratamiento de afecciones de la piel. El manejo farmacológico para quemaduras de alto grado se aplica desde 1799. Sin embargo después de la segunda guerra mundial el interés por la actividad antibacteriana de las soluciones de plata en aplicaciones cutáneas se desvaneció [8].

En 1965, Moyer revitalizó el interés por la solución de nitrato de plata. Popularizó el tratamiento con nitrato de plata y fue responsable de un adelanto en el tratamiento de quemaduras [9]. Sin embargo, enfatizó en sus trabajos que su propuesta para utilizar plata no fue original. Dada esta

observación, existen numerosas referencias al uso terapéutico de compuestos de plata [8].

El principal problema era el crecimiento de microorganismos patógenos y su penetración en el cuerpo. El estudio se concentró en generar un agente antiséptico para prevenir la infección invasiva. Los investigadores concluyeron que sales atómicas de plata y plata tenían los requisitos para ser considerados como un agente antiséptico. También determinaron que la plata metálica en forma coloidal es estable en agua, con 0,9% de formación salina; desarrollaron la solución de Locke y también que el nitrato, lactato y acetato de plata, son hidrosolubles [10].

En base a estudios in vitro, Moyer concluyó que una concentración de 0,5% de AgNO_3 es la cantidad mínima necesaria para establecer acción antibacteriana contra microorganismos como *Estafilococo aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *E. coli*. El acetato de Mafenida se desarrolló al poco tiempo de la reintroducción de nitrato de plata, sustituido posteriormente por sulphadiazina de plata la cual fue introducida por C.L. Fox. Así, en un período de tiempo corto, tres medicamentos aparecieron en el mercado. Esto representó un cambio radical en el tratamiento tópico de quemaduras [10].

Otra metodología fue utilizar la propiedad antibacteriana de la plata, generando un flujo continuo de iones de plata independiente del tiempo. Para ello se emplearon dos hilos de nylon de plata (SN), con un contenido

en 26% de plata metálica. Estudios in vitro demostraron que el procedimiento fue efectivo contra muchos microorganismos. Posteriormente los estudios fueron dirigidos a la posibilidad de aumentar la concentración de iones de plata en la superficie de herida por medio de la electrólisis. La combinación de corriente eléctrica y los hilos de nilón revestidos de plata fue investigado. El poder antibacteriano del nilón de plata resultó ser aumentado notablemente por aplicación de una corriente continua débil, debido a un aumento en la liberación de plata del material. Schmalzel et al. y Chu et al, también estudiaron el efecto de la corriente eléctrica en materiales que contenían plata. Experimentaron con animales cuyas quemaduras habían sido infectadas con una dosis mortal de *P. aeruginosa*. Crearon un circuito eléctrico, insertando una aguja de plata bajo la herida de quemadura y la conectaron, a través de un electrodo, a una corriente regulada por una fuente. El voltaje máximo varió entre 0,1 y 0,86 V en miliamperios (mA) $0,4 \pm 40$, durante 5 días. El nylon de plata fue utilizado como ánodo en la superficie y la aguja de plata como cátodo, y se generó una terapia antibacteriana más efectiva. Utilizando el nilón de plata como cátodo no se obtuvo el mismo efecto [10].

2.3. NANOPARTÍCULAS DE PLATA (AgNP's)

Actualmente, la atención de la industria como de los investigadores hacia las nanopartículas de plata se debe a sus propiedades ópticas, físicas y químicas. Algunos de sus campos de aplicación son: catálisis,

fotoelectrónica, biología por su actividad antibacteriana, etc. Debido a sus morfologías definidas y alta distribución en el tamaño de partículas, resultan interesantes para la industria de la electrónica. Generalmente son integradas en circuitos eléctricos que requieren o serán empleados para alta densidad de corriente y conductividad térmica, así como una alta resistencia a la corrosión. Otra de sus principales aplicaciones ha sido en el área de la medicina debido a su poder antibacteriano [11].

La plata ha sido ampliamente aplicada en medicina debido a su baja toxicidad en células animales, pero con una actividad letal en microorganismos y bacterias como *Escherichia coli* y *staphylococcus aureus*. [12] . Materiales poliméricos y cerámicos fabricados con recubrimientos de plata nanométrica [13], plata coloidal y polvos nanoestructurados de óxido de plata son empleados y reconocidos por su amplio espectro de inhibición de la actividad bacteriana. Las nanopartículas de plata tienen un alto poder en sus propiedades cuando se obtienen en soluciones coloidales, debido a su mayor área superficial; pueden garantizar mayor efectividad en sus aplicaciones como recubrimientos [14].

Alrededor del mundo se ha buscado producir nanodispersados por diversos métodos. Los métodos acuosos por medio de procesos de reducción química han sido los más efectivos. Otros procedimientos como el procedimiento de pirolisis, no han tenido altos rendimientos y resultan

costosos, con tendencia a aglomeración y morfologías irregulares del producto [11].

Las nanopartículas de plata pueden ser aplicadas a diversos campos. Sin embargo, sus propiedades las hacen muy atractivas y eficientes en la biomedicina. Investigadores han tratado de incorporarlas en materiales quirúrgicos o implantes médicos, que los lleven a obtener biomateriales o equipos de aplicación médica [15] que puedan inhibir la contaminación de pacientes por bacterias patógenas.

2.3.1. Propiedades físicas y químicas [16]

Dentro de las propiedades físicas de las nanopartículas de plata, sobresalen sus propiedades ópticas. Estas se deben a la agrupación de oscilaciones producidas por electrones libres, resultantes de las interacciones con la radiación electromagnética. El campo eléctrico producido por la radiación, induce la formación de un dipolo en la nanopartícula; en su interior aparece una fuerza compensadora del efecto, y como resultado se obtiene una única y característica resonancia a una longitud de onda determinada. La longitud de onda de absorción de las nanopartículas de plata, depende de factores como el tamaño de partícula, morfología, la naturaleza del medio que le rodea, así como la distancia promedio entre nanopartículas vecinas.

Uno de los métodos más utilizados para la caracterización de las nanopartículas de plata ha sido el espectrofotómetro de absorción de luz,

así como el microscopio electrónico de transmisión. Según la teoría de Mie, el espectro de absorción UV-visible, aumenta en la intensidad del pico de absorción al incrementar el tamaño de las nanopartículas, acompañado de un decrecimiento en el ancho de banda. En el caso de nanopartículas muy pequeñas, el espectro de absorción es menos intenso y con un incremento en su ancho de banda.

Las nanopartículas de plata poseen diversas propiedades catalíticas. Al disminuir el tamaño de ellas, el área superficial incrementa marcadamente. La superficie es más reactiva, debido a que la mayoría de los átomos quedan expuestos y la actividad catalítica se hace más eficiente. Un ejemplo de ello, es su habilidad catalítica para disociar moléculas de oxígeno, CO y CO₂, por lo que poseen una potencial aplicación como descontaminantes atmosféricos.

Debido a sus atractivas propiedades fisicoquímicas y la fuerte toxicidad para un amplio espectro de microorganismos, a diferencia de su forma iónica, las AgNP's se han considerado como una promesa contra nuevos agentes microbianos y virales. Se ha demostrado que el efecto bactericida de las nanopartículas de plata, está íntimamente relacionado con su morfología y distribución de tamaño.

- Propiedades ópticas ^[17]

Un rasgo característico de las nanopartículas metálicas es la interacción fuerte y específica con la radiación electromagnética.

Soluciones altamente dispersas de metales presentan una paleta intensa de color. El color de la solución depende del tamaño de partícula, de la transmisión y dispersión de luz. No es casualidad que la primera aplicación práctica de NP se relacione con la preparación de pigmentos para la producción de vidrieras y cerámica.

Las propiedades ópticas de las AgNP's dependen fuertemente de las características de las partículas individuales (su tamaño, forma, composición, la presencia de capas de adsorción y su estructura) y su medio ambiente incluyendo el orden espacial de partículas. Un rasgo característico de la absorción y espectros de dispersión de metal NP con tamaños por encima de 2 nm, es la presencia de una banda intensa y amplia en la gama visible (Fig.1) o cercano al IR y - valores de UV. Esta banda se denomina la banda de resonancia de superficie plasman (SPR) o, más frecuentemente, la resonancia de Mie (después de que Gustav Mie realizara la más importante contribución a la interpretación teórica de este fenómeno).

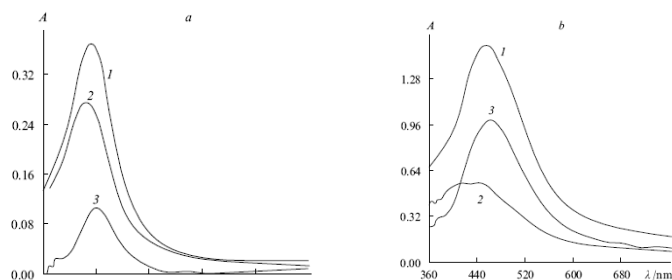


Figura 1. Bandas de resonancia características de las nanopartículas de plata.
Espectros: 1) extinción, 2) absorción y 3) dispersión. a) 44nm y b) 76 nm. [18]

De todos los metales, la plata tiene la mayor intensidad de banda SPR; para el oro y el cobre, la intensidad es mucho más débil. La plata exhibe la más alta proporción de extinción en el pico de la banda SPR, no sólo entre metales, sino también entre otros materiales conocidos que absorben en el mismo intervalo espectral. La aparición de una banda SPR es el resultado de la interacción de la luz incidente en la superficie de NP con los electrones de conducción del metal. De conformidad, con la teoría de gas de electrones, los electrones de las capas interiores (cercanos al núcleo) están localizados en el núcleo atómico, mientras que los electrones de las capas de valencia exteriores son libres para moverse dentro de una partícula de metal y ser la razón de su alta conductividad.

Bajo el efecto del campo eléctrico alternante de un haz de luz, los electrones de conducción móviles se desplazan. Si el tamaño de la partícula es mucho menor que la longitud de onda de luz incidente (ver Fig. 2a), el movimiento de electrones conduce a la aparición de un dipolo que oscila con la frecuencia del campo eléctrico. Si la frecuencia de oscilaciones de luz incidentes coincide con la frecuencia intrínseca de los electrones de conducción cerca de la superficie de la partícula, entonces hay resonancia, absorción de luz y se observa dispersión, lo que se conoce como SPR. Para partículas no esféricas, o aquellas fijadas en un soporte, presentan diferentes orientaciones del dipolo con respecto a la onda incidente (ver Fig. 2b).

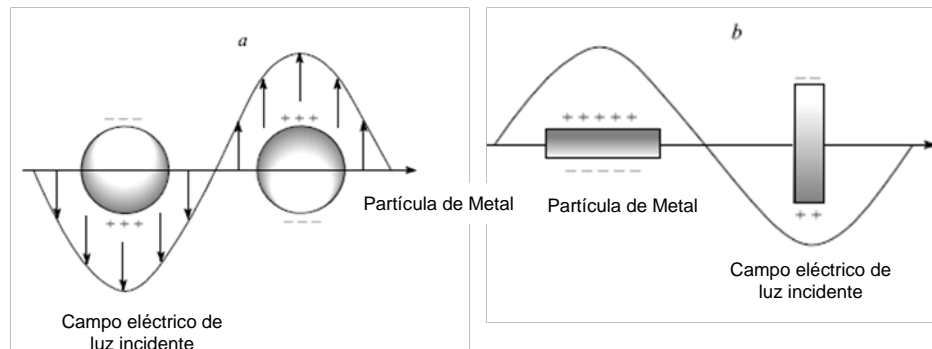


Figura 2. Interacción de la radiación electromagnética con las partículas de metal.
[18].

Las regiones de carga positiva y negativa se forman cerca de la superficie de la nanopartícula (NP) como resultado de un cambio de resultado de electrones de conducción en la polarización del medio ambiente en el que se encuentra la partícula de metal. Esta polarización reduce la amplitud y la frecuencia de las oscilaciones de dipolo inducido y, como consecuencia, desplaza la banda de la SPR a largo de las longitudes de onda. Este efecto se ve pronunciado cuando existe una fuerte susceptibilidad del medio a polarización, es decir, para la mayor permitividad dieléctrica del medio (ϵ_M).

Cuantitativamente, PARA calcular la posición de pico y el ancho de una banda SPR, es necesario conocer la permitividad dieléctrica de la plata (ϵ). En el caso general, para un material isótropo, el parámetro ϵ es una cantidad compleja y depende de la frecuencia variable del campo eléctrico (ω):

$$\varepsilon(\omega) = \varepsilon_1(\omega) + i\varepsilon_2(\omega) \quad (\text{Ec. 1})$$

La parte imaginaria de cero de ε se asocia con la resistencia eléctrica del medio y da lugar a un cambio de fase entre las oscilaciones del dipolo y la intensidad de campo eléctrico. La $\varepsilon(\omega)$ de la función puede ser determinado experimentalmente o calculado en términos de diferentes modelos de la estructura de la materia. En comparación con otros metales capaces de oscilaciones de plasmon, la Plata tiene la menor parte imaginaria de la permitividad dieléctrica, que es responsable de la disipación de la energía del campo eléctrico. Por lo tanto, la eficiencia de la excitación de la superficie plasmon en NP plata es el más alto. Según la teoría de Mie, el corte total transversal de la absorción de la luz y la dispersión por una partícula (C_{ext}) está representado por la siguiente ecuación:

$$C_{ext} = \frac{24\pi^2 R \varepsilon_M^{3/2}}{\lambda} \frac{\varepsilon_2}{(\varepsilon_1 + 2\varepsilon_M)^2 + \varepsilon_2^2} \quad (\text{Ec. 2})$$

donde R es el radio de la partícula, ε_M es la permitividad dieléctrica del medio (su parte real; la parte imaginaria se puede omitir en esta derivación), λ es la longitud de onda de luz incidente y teniendo en cuenta el hecho de que para la plata, ε_2 depende débilmente la longitud de onda.

Una ventaja esencial de la teoría de Mie es que el problema de calcular el espectro de absorción de una partícula se divide en dos partes independientes. La dependencia del espectro con el tamaño de partícula se

evidencia en el aumento en la intensidad de la banda con el aumento en el radio de la partícula. Datos experimentales han demostrado que, además del incremento de la absorción, el crecimiento de las partículas de plata es acompañado por la ampliación de la banda SPR y el corrimiento de su máximo hacia el color rojo (en el espectro electromagnético). Al mismo tiempo, con un aumento en el tamaño de partícula, la banda SPR de NP se desplaza hacia longitudes de onda más cortas. El tamaño de la partícula tiene efecto en la posición de la banda SPR y la anchura y depende de la permitividad dieléctrica de la plata

Cabe mencionar que el razonamiento y los cálculos anteriores son adecuados para el caso más simple, donde una longitud de onda electromagnética induce un dipolo. Cuanto mayor tamaño tenga una partícula, mayor será la probabilidad de que los sistemas desarrollen multipolos. Esto es acompañado por la aparición de las bandas SPR adicionales correspondientes en el espectro. La contribución de cuadrupoles en la absorción de la luz en general se hace notable si el tamaño de partícula plata supera 50 nm.

2.3.2. Propiedad antibacteriana [19]

Las propiedades antibacterianas de la plata metálica y sus compuestos se conocen desde tiempos inmemoriales. En pequeñas concentraciones, la plata es segura para las células humanas, pero letal para la mayoría de las bacterias y los virus y, por tanto, ampliamente utilizado en la desinfección

de agua y alimentos en la vida cotidiana y en el control de infecciones en medicina. Las propiedades únicas antimicrobianas y antivirales de compuestos de plata fueron estudiadas exhaustivamente. Parece improbable que los microorganismos sean capaces de desarrollar resistencia a la plata por mutaciones, porque los iones de plata atacan un vasto número de diversas proteínas en una célula. Esta valiosa característica ha tomado especial importancia, debido al aumento del número de especies de bacterias patógenas que son resistentes a los antibióticos de espectro estrecho y presentar un grave peligro para la salud y vida humana.

Los cálculos de las distribuciones de tamaño de NP's ubicado dentro de una bacteria para que se mantenga en su membrana debe tener un diámetro entre 5 y 2 nm. Por lo tanto, esto hace evidente la suposición de que acción bactericida de NP depende directamente de su tamaño y aumenta con la disminución del mismo. Las NP sólo con diámetros más pequeños (< 10nm) son las que pueden interactuar directamente con una bacteria. Esto se debe a fenómenos fisicoquímicos de superficie en las nanopartículas de plata.

La interacción entre la nanopartícula con la bacteria o virus, provoca imperfecciones en procesos respiratorios y de división celular, ocasionando la muerte de la célula. El mecanismo mediante el cual las nanopartículas de plata, penetran al interior de la bacteria, no está totalmente entendido. Se

conoce que la membrana de la bacteria posee muchas proteínas ricas en sulfuro y fósforo, los que podrían ser sitios de afinidad bioquímica para las nanopartículas de plata e inhibir su actividad. Uno de los mecanismos propuestos es que la NP se fija a la membrana celular. Las AgNP's son capaces de penetrar a través de ella y distribuirse dentro de una bacteria (ver Fig. 3).

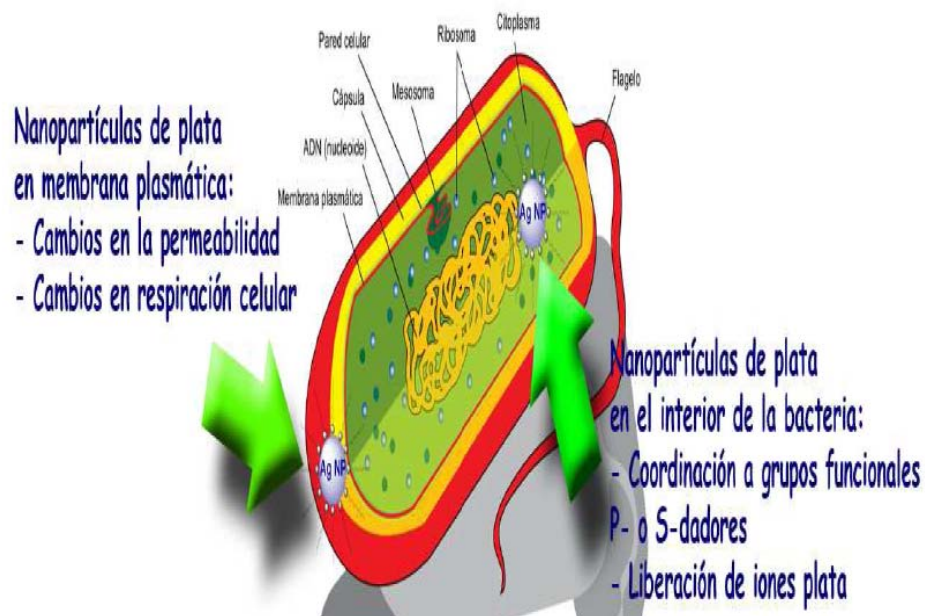


Figura 3. Propuesta de mecanismo de acción de las AgNP's sobre un microorganismo. [20].

Esta capacidad es inherente en NP independientes, en lugar de sus aglomerados. Además, como regla general, el tamaño de la partícula no debe exceder el tamaño de la membrana para que ésta se pueda encontrar dentro de la célula. Este hecho, ha llevado a concluir que sólo los clústeres

capaces de interactuar con la membrana celular, son capaces de incorporarse en el espacio citoplasmático. De esta manera al ingresar la NP a la célula, interacciona con su ADN lo cual inhibe su capacidad de réplica y de ésta manera contribuir a la muerte de la célula [18].

Independientemente de que el daño a la célula puede ser causado por la interacción de las AgNP's con el fósforo y azufre, compuestos contenidos el ADN [21], los iones Ag^+ interactúan fuertemente con los grupos $-SH$ disponibles de la biomolécula para inactivar las bacterias [22]. Las interacciones en la membrana celular evitan las replicaciones de ADN y esto conduce a la muerte bacteriana. La actividad antibacteriana del ión Ag^+ bajo condiciones anaeróbicas es menos potente que en ambientes ricos en oxígeno [6].

2.3.3. Métodos de obtención. Antecedentes.

Las nanopartículas de plata pueden ser sintetizadas por diversos métodos. Algunos investigadores han realizado una clasificación de los mismos en función de los procedimientos empleados, otros en función de la morfología obtenida.

Se puede decir que existen métodos convencionales y no convencionales de obtención de nanopartículas. A continuación se presenta un esquema correspondiente a la clasificación:

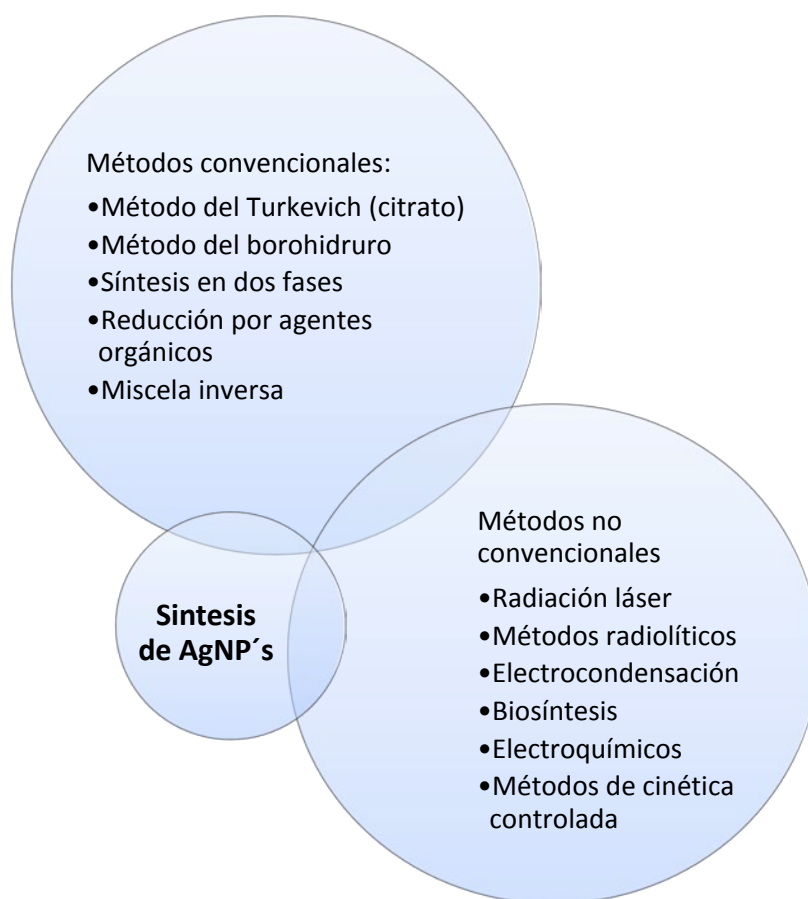


Figura 4. Clasificación de los métodos de síntesis para obtener nanopartículas de plata
(Elaboración propia)

Cada procedimiento presenta una característica propia que lo hace específico para la obtención de las nanopartículas. Los métodos convencionales se caracterizan por ser por vía húmeda y por la utilización de agentes químicos reductores. Los métodos no convencionales son notables por su innovación en el procedimiento, como son radiación láser,

radiolíticos y electrocondensación. Sin embargo dentro de éstos últimos se puede introducir las llamadas síntesis verdes (green synthesis) como las biosíntesis que involucran microorganismos específicos en los procesos de reducción, o los métodos con azúcares y/o polisacáridos. Los métodos de cinética controlada se realizan para obtener nanoestructuras específicas como tubos, aros, prismas, entre otros.

A continuación se desarrollan los métodos de síntesis utilizados para la realización de este trabajo. Dos procedimientos catalogados como métodos tradicionales y el método electroquímico.

2.3.3.1. Método de Turkevich (síntesis del citrato)

En 1951, Turkevich et al, describió una síntesis hidrofílica de nanopartículas de oro. El procedimiento se basaba en la reducción en solución acuosa a ebullición, de ácido cloroáurico con citrato de sodio. La caracterización de las partículas por microscopía electrónica de transmisión (TEM), arrojó que el producto sintetizado era esférico, con una distribución de tamaño estrecha y el diámetro promedio de 20 ± 1.5 nm. Posteriormente, el método de Turkevich fue aplicado para la preparación de AgNP's. Sin embargo, considerando que Turkevich logró obtener AuNP's esféricas, con una distribución de tamaño estrecho, para el caso de la plata, se obtuvo sintetizados de diversas formas, así como agregados, con una diámetro promedio en un intervalo de 60 -200 nm. A pesar de sus inconvenientes, el

método de citrato fue usado para la síntesis de plata NP. La particularidad del método, es la capacidad del ión citrato para actuar como agente reductor y dispersante o estabilizador simultáneamente [23].

Sin embargo, la doble actividad del reductor condujo a dilucidar la concentración óptima del mismo. La concentración de citrato afecta simultáneamente a la tasa de reducción, nucleación y crecimiento de las partículas. Además, los productos de oxidación de citrato de aniones (ácidos acetonedicarboxylicos e itacónicos) pueden absorberse en la superficie de las NP, afectando así su mayor crecimiento.

A bajas y altas concentraciones de citrato (5×10^{-5} mol/L y $1,5 \times 10^{-3}$ mol/L respectivamente), se formaron agregados gruesos de plata (15 a 30 nm de diámetro). Sin embargo, a una concentración intermedia entre $1-5 \times 10^{-4}$ mol/L, se obtuvieron partículas esféricas con diámetros promedios de 8 a 11 nm. Los estudios realizados, hicieron posible suponer diversos mecanismos para describir el crecimiento de NP (ver Fig. 4).

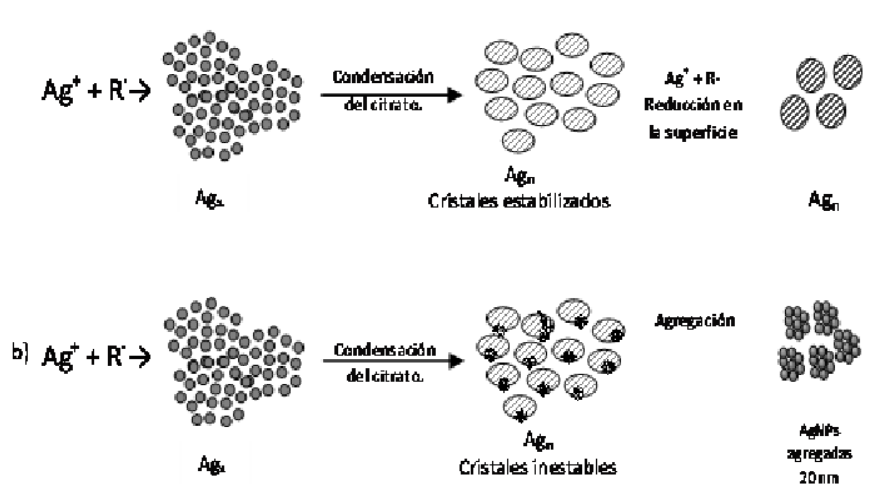


Figura 4. Mecanismos de formación de AgNP's.

- a) Obtención de aglomerados con concentraciones límites de citrato. b) Partículas de 20 nm, obtenidas con la concentración intermedia.[18]

2.3.3.2. Método del borohidruro

En la actualidad, la reducción de sales de plata con borohidruro de sodio es el método más usado de síntesis de plata NP. Es empleado en sistemas homogéneos y heterogéneos. Su aplicación se debe a la alta reactividad del borohidruro (en comparación con citrato y carbohidratos), su habilidad (en comparación con hidrógeno gaseoso y métodos físicos) y “baja” toxicidad (en contraposición a la hidracina y hidroxilamina). Uno de las primeras publicaciones sobre la preparación de NP plata por el método de borohidruro, describió la reducción de un $AgNO_3$ a $8^\circ C$ con un exceso de seis veces de solución de $NaBH_4$ en vigorosa agitación. El diámetro de partículas formadas estuvo en el intervalo de 1 a 10 nm. Debido a sus propiedades ópticas, se registró una banda con el máximo en $\lambda = 400$ nm en

el espectro de absorción. Posteriormente se realizó la síntesis de plata NP estabilizado por poly(vinyl alcohol) (PVA) [24].

Los mecanismos de crecimiento de NP quedaron claros durante mucho tiempo, y se suponía que todos los procesos obedecían a una u otra medida al modelo de LaMer-Dinegar. En él se afirma que el número de partículas coloidales en solución es estable durante un período corto de la nucleación. El mayor crecimiento de partículas se produce por la reducción de iones en la superficie de clústeres formados. En la década de 1980, se mostró que el paso de la agregación de clúster podría desempeñar un papel clave en la formación de partículas coloidales.

La formación de NP esféricas en la reducción de soluciones acuosas de perclorato de plata con borohidruro de sodio fue estudiada. La reducción involucraba varias etapas, cada una correspondiente a un determinado color de solución. En la primera etapa (0,5 a 1 s), la solución era fangosa, verde oscuro (con una banda de absorción característico a $\lambda = 220$ nm). La segunda etapa (duración: 45 min) el color cambiaba a amarillo claro (400 nm) y, en la fase final, la solución se oscureció nuevamente ($\lambda=500$ nm a 800 nm). En los experimentos participan diversos parámetros, como la relación molar $[\text{NaBH}_4]: [\text{AgClO}_4]$ (de 2 a 12) y la temperatura (de 5 a 25 °C). En la primera etapa se determinó que los aniones de borohidruro eran absorbidos por los primeros clústeres de plata formados. Sin embargo, no se identificaron las estructuras de estos. En la segunda etapa, la

absorbancia aumentó bruscamente en una longitud de onda de 390 nm y hubo una disminución de $\lambda = 220$ nm. Esto fue explicado por el aumento en el tamaño de plata NP causada por la Asociación de clústeres en agregados más gruesos (7-9 nm). Para comprobar el mecanismo de crecimiento de NP, se estudió la pérdida de iones de plata en el curso de la síntesis. Muestras tomadas en diferentes momentos de crecimiento fueron sometidas a análisis elemental para el contenido de iones Ag^+ ; la cantidad de iones Ag^+ resultó ser el mismo en todos los casos.

Esto hizo establecer que toda la plata se redujo en los primeros segundos del proceso, lo que hizo imposible el mayor crecimiento de NP por reducción de iones en su superficie. En la fase final, la agregación de las partículas se produjo debido a la descomposición de borohidruro, que al mismo tiempo actúa como el agente reductor y el estabilizador de NP. Posteriormente los procesos se afinaron, y se introdujo el nitrato de plata como precursor de las reacciones, no sin considerar las variables y parámetros para obtener los clústeres de material.

2.3.3.3. Método electroquímico (disolución anódica)

El proceso de disolución anódica consiste en construir una celda electrolítica, donde el ánodo empleado es un alambre de plata pura (99,9%) contrapuesto con un cátodo, que puede ser plata u otro metal de mayor nobleza. Es una síntesis empleada para producir soluciones acuosas de

nanoparticulados sin necesidad de involucrar algún agente dispersante como PVA, o involucrar alguna sal como electrolito; solo se utiliza agua.

Por medio de este procedimiento sólo se obtienen partículas de plata suspendidas en solución acuosa. Para activar la celda, ésta se conecta a una fuente que permite un paso de corriente en un intervalo de 5 a 50 voltios. Cuando la corriente eléctrica pasa a través del ánodo de plata, los átomos de plata que están en contacto con la interfaz ánodo-electrolito, pierden un electrón y son transformados en iones Ag^+ . En este proceso electroquímico, los iones más cercanos al cátodo son capaces de aceptar un electrón del paso de corriente y se reducen a plata metálica Ag^0 . La plata metálica en forma atómica, atrae a otros átomos por medio de las fuerzas de atracción de Van der Waal's para formar los nanoclusters. Por otra parte, el flujo de corriente eléctrica viaja a través de la plata reducida y hace migrar los iones plata (Ag^+) hacia el otro electrodo a través del electrolito (ver Fig.5) [1].

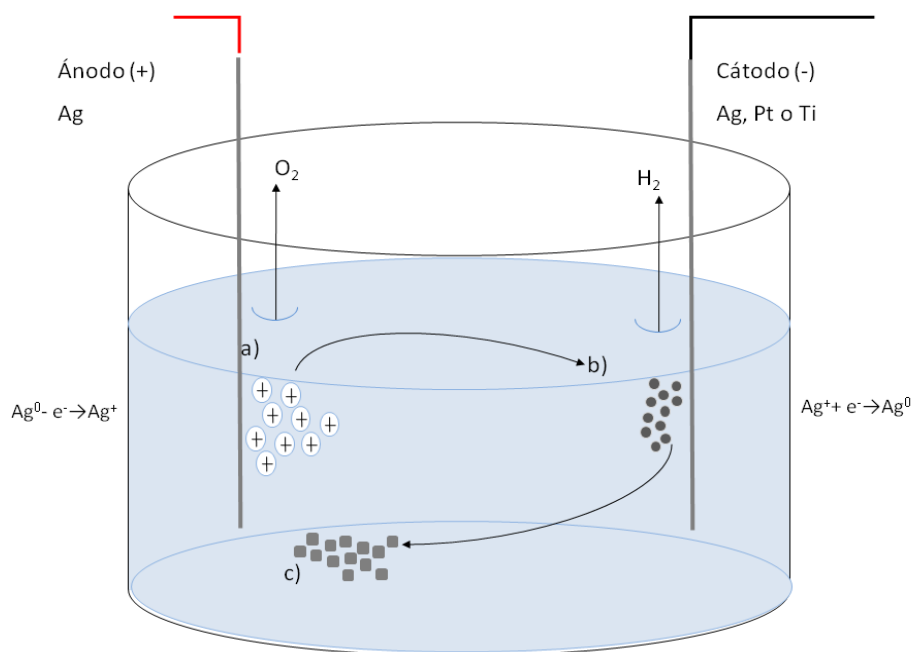


Figura 5. Mecanismo de producción de AgNP's por el método electroquímico

a) Disolución anódica, b) reducción (nucleación), c) clusters de plata. [1]

2.3.4. Técnicas de caracterización de nano partículas

2.3.4.1. Microscopía electrónica

La potencia amplificadora de un microscopio óptico está limitada por la longitud de onda de la luz visible. El microscopio electrónico utiliza electrones para iluminar un objeto. Dado que los electrones tienen una longitud de onda mucho menor que la de la luz pueden mostrar estructuras mucho más pequeñas. La longitud de onda más corta de la luz visible es de alrededor de 4.000 angstroms (1 angstrom es 0,000000001 metros). La

longitud de onda de los electrones que se utilizan en los microscopios electrónicos es de alrededor de 0,5 angstroms.

Todos los microscopios electrónicos cuentan con varios elementos básicos. Disponen de un cañón de electrones que emite los electrones que chocan contra el espécimen, creando una imagen aumentada. Se utilizan lentes magnéticas para crear campos que dirigen y enfocan el haz de electrones, ya que las lentes convencionales utilizadas en los microscopios ópticos no funcionan con los electrones. El sistema de vacío es una parte relevante del microscopio electrónico. Los electrones pueden ser desviados por las moléculas del aire, de forma que tiene que hacerse un vacío casi total en el interior de un microscopio de estas características. Por último, todos los microscopios electrónicos cuentan con un sistema que registra o muestra la imagen que producen los electrones.

Hay dos tipos básicos de microscopios electrónicos: el **microscopio electrónico de transmisión** (Transmission Electron Microscope, TEM) y el **microscopio electrónico de barrido** (Scanning Electron Microscope, SEM).

- *Microscopía electrónica de barrido (MEB o SEM) [25]*

En un microscopio electrónico de barrido se barre la superficie del sólido con un haz de electrones de energía elevada. Como consecuencia en la superficie del sólido se producen diversos tipos de señales, tales como electrones retrodispersados, secundarios y Auger, fotones debido a

la fluorescencia de rayos X y otros fotones de diversas energías. El MEB se fundamenta en los electrones retrodispersados y secundarios, y en la emisión de rayos X (EDX) que es empleado en el análisis con microsonda de electrones.

La instrumentación consta de un microscopio electrónico de barrido y una microsonda electrónica de barrido. El microscopio utiliza un cañón de electrones y un sistema focalizador de electrones. Sin embargo la microsonda utiliza un detector de rayos X . Trabaja a alto vacío y requiere de una fuente de energía.

El microscopio consta de un sistema de lentes condensadoras magnéticas y un objetivo. Las lentes condensadoras son las responsables de que el haz de electrones llegue a las lentes objetivo, quienes a su vez determinan el tamaño del haz que incidirá sobre la muestra (de 5 a 200nm).

El barrido se lleva a cabo mediante dos pares de bobinas localizadas entre las lentes objetivas (ver Fig.6). Uno de los pares desvía el haz en la dirección x a lo largo de la muestra y el otro lo desvía en la dirección y. El barrido se controla mediante aplicación de una señal eléctrica a uno de los pares de bobinas de barrido, de manera que el haz de electrones alcanza la muestra a un lado del eje central del sistema de lentes. La imagen de la muestra se obtiene utilizando la salida de un detector que permiten controlar la intensidad en un punto determinado con el tubo de rayos catódicos.

El tipo de detectores más utilizado es el de centelleo de rayos X. Consiste en un vidrio dopado o placa de plástico que emite una cascada de fotones visibles cuando es alcanzado por un electrón, los fotones son guiados por un conducto de luz a un fotomultiplicador que está alojado fuera de la región de alto vacío del instrumento. También se emplean detectores semiconductores. Cuando un electrón de alta energía alcanza el detector, se producen unos pares hueco-electrón que dan lugar a un aumento de la conductividad. Este fenómeno permite tener una alta eficacia.

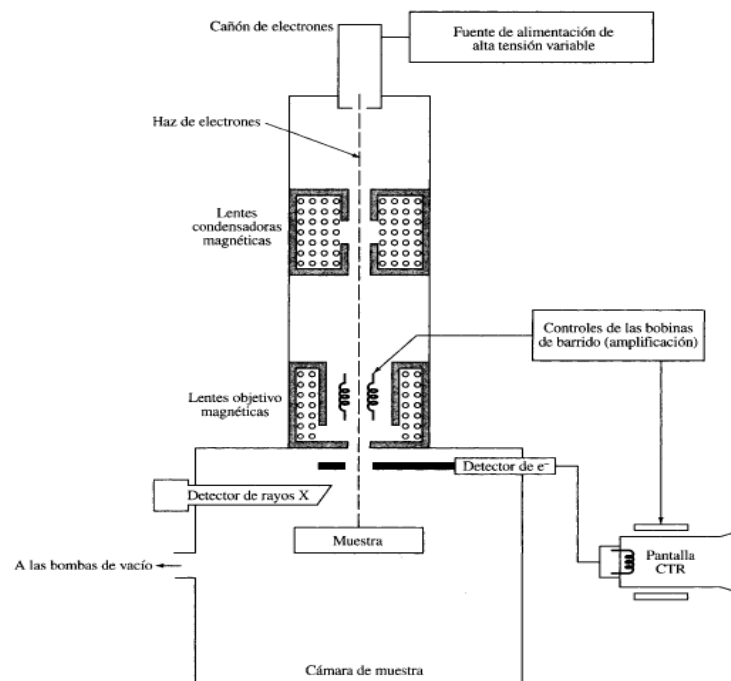


Figura 6. Esquema de microscopio electrónico de barrido

Se ha mencionado, que la versatilidad de la técnica proviene de la amplia variedad de señales que se generan cuando el haz de electrones interactúa con el sólido. Las interacciones del haz con el sólido se divide en dos categorías: elásticas e inelásticas. Las primeras afectan a las trayectorias de los electrones en el haz sin que se alteren significativamente sus energías. Las segundas resultan de la transferencia total o parcial de la energía de los electrones al sólido.

Cuando un electrón colisiona elásticamente con un átomo se produce un cambio en la componente de dirección del electrón, pero se mantiene intacta la energía cinética. El ángulo de desviación es aleatorio y puede variar desde 0 hasta 180°. La energía que se asigna al haz es de 20keV. Los electrones penetran hasta una profundidad mínima de 1,5µm. Aún cuando algunos electrones pierden su energía en la colisión, otros experimentan numerosas colisiones y como resultado, acaban saliendo de la superficie como electrones retrodispersados. Es importante señalar que el haz de electrones retrodispersados tiene un diámetro mayor al haz de incidencia. El diámetro del haz retrodispersado es uno de los factores que limita la resolución del microscopio.

De igual manera, cuando una superficie es bombardeada con un haz de electrones, se observa que a lo largo de ella se emiten electrones en el orden de los 50keV o menos, junto con los electrones retrodispersados. Los electrones secundarios se producen como resultados de interacciones

entre los electrones altamente energéticos del haz y los electrones de conducción, débilmente enlazados, del sólido, lo que da lugar a la expulsión de estos electrones de la banda de conducción con energías de unos pocos electrón voltios. Los electrones secundarios se pueden producir a una profundidad de 50 a 500 Å tan solo y forman un haz que tiene un diámetro algo superior al haz incidente.

Un tercer efecto del bombardeo de electrones sobre un sólido es la obtención de fotones de rayos X. Los espectros de líneas característicos como el espectro continuo de rayos X son producidos y emitidos desde la superficie de la muestra.

El microscopio electrónico de barrido proporciona información morfológica y topográfica sobre la superficie de los sólidos que normalmente es necesaria para entender el comportamiento de las superficies.

2.3.4.2. Métodos de determinación del tamaño de partícula.

- *Difusión dinámica de luz (Dynamic light scattering, DLS)*

La dispersión dinámica de luz, también es conocida como Espectroscopía de correlación del fotón. Es uno de los métodos más populares que se utiliza para determinar el tamaño de partículas. En él, se hace incidir un haz de luz monocromático, por ejemplo una luz láser, en una solución con partículas esféricas (en movimiento browniano) provoca un cambio de Doppler cuando la luz incide en la partícula en movimiento,

modificando así la longitud de onda de la luz entrante. Este cambio está relacionado con el tamaño de la partícula. Es posible calcular la distribución de tamaño (considerando partículas esféricas), y dar una descripción del movimiento de la partícula en el medio y medir el coeficiente de difusión de la partícula y utilizando la función de autocorrelación [26].

Este método tiene dos grandes ventajas, la duración del experimento es corta y está automatizada, de manera que para las mediciones de rutina no es necesaria una amplia experiencia. Además, este método resulta económico [26]

La ventaja de utilizar la dispersión dinámica es la posibilidad de analizar muestras que contiene amplias distribuciones de especies de diferentes masas moleculares (por ejemplo, una proteína nativa y distintos tamaños de agregados), y para detectar cantidades muy pequeñas de mayor masa (de especies <0.01%) [26]

De acuerdo con la teoría de dispersión de la luz semi-clásica [27], cuando la luz incide en la materia, el campo eléctrico de la luz induce una polarización oscilante de electrones en las moléculas. Por lo tanto, las moléculas proporcionan una fuente de luz secundaria y posteriormente dispersión de luz. Los cambios de frecuencia, la distribución angular, la polarización y la intensidad de la dispersión de luz, se determinan por el tamaño, forma y las interacciones moleculares en el material de dispersión. Gracias a esto es posible, con la ayuda de la electrodinámica y la teoría de

tiempo dependiente de la estadística mecánica, es posible obtener información sobre la estructura y la dinámica molecular de las características del medio, a través de la dispersión de luz en el sistema [26].

Cuando la luz es dispersada por la interacción de los electrones con la radiación incidente. El campo eléctrico oscilante causa una vibración en los electrones convirtiéndolos en dipolos oscilantes. Los dipolos reemiten radiación (radiación o luz secundaria). En la medida que los electrones se mueven la frecuencia de radiación secundaria es modificada a frecuencias más altas o más bajas, dependiendo de su velocidad y dirección relativa al detector (efecto Doppler). El movimiento Browniano modifica las distancias que existe entre las partículas difusoras y el detector, que son ahora una función del tiempo. En consecuencia, la luz difundida puede interferir constructiva o destructivamente, dependiendo de la distancia que recorre hasta el detector. El resultado es un valor medio de intensidad difundida que se registra, sobre la que se superpone una serie de fluctuaciones [28].

Los tiempos de relajación de las fluctuaciones están relacionados con las constantes de difusión, y en consecuencia con los tamaños de las partículas. Las partículas pequeñas tienen menor tiempo de fluctuación que las grandes, debido a su movilidad. A este fenómeno se le conoce como dispersión de luz cuasielástica y su estudio se ha convertido en la aplicación del método clásico de determinación de coeficientes de difusión

traslacionales de macromoléculas en disolución. En esencia los equipos de difusión de luz cuasielástica tienen un diseño similar a los de difusión de luz clásica (ver Fig. 7). Simplemente el fotomultiplicador es capaz de transformar la variación de intensidad en variación de voltaje y está conectado a un correlador numérico de múltiples canales que permiten realizar medidas en tiempos muy cortos (inferiores a las centésimas de micro segundos) [28]

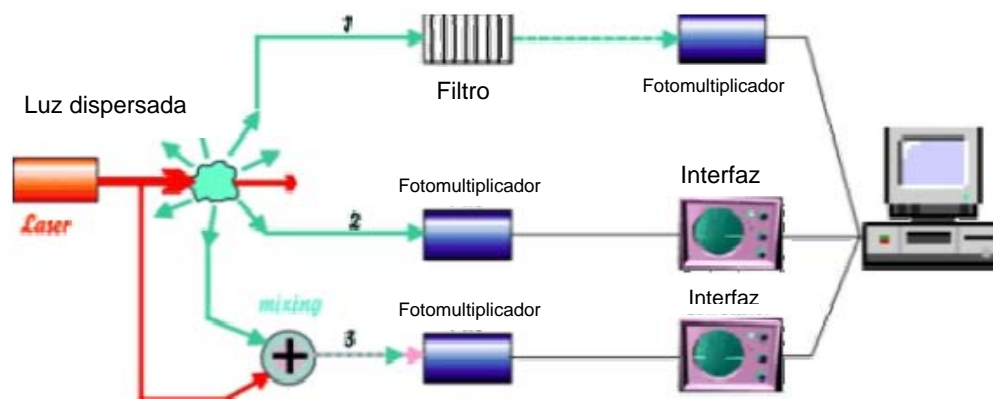


Figura 7. Equipo de difusión dinámica de luz [26].

Un monocromador o filtro (interferómetro o red de difracción) se coloca delante del fotomultiplicador (dirección 1) y se utiliza cuando la escala de tiempo de las fluctuaciones está por encima del microsegundo (frecuencia por encima de 1 MHz). La salida de la densidad de corriente promedio del fotomultiplicador es proporcional a la densidad espectral de la luz dispersada en la frecuencia de filtro. A continuación, en el filtro ocurre

un barrido, a través de una gama de frecuencias para procesos más rápido que un picosegundo ($f > 10$ GHz), rejillas de difracción se utilizan como filtro, y para las fluctuaciones lentas (entre picosecond y microsegundo), se usa interferómetros de Fabry - Perot. Se utilizan técnicas ópticas mixtas cuando las fluctuaciones son más lentas que microsegundo ($f < 1$ MHz) g [28].

Para poder usar las fluctuaciones a favor, se representan a través de la autocorrelación. La autocorrelación es una técnica muy usada en el procesamiento de señales. En estadísticas la autocorrelación de una serie temporal es simplemente la correlación de dicho proceso con una versión desplazada en el tiempo. A ese desplazamiento temporal se le denomina desfase. La variación de la intensidad con respecto al tiempo contiene información del movimiento aleatorio de las partículas y puede ser usado para medir los coeficientes de difusión. Con la medida de los tiempos de difusión se puede determinar el tamaño de la partícula [28].

La técnica usada para determinar el tamaño de partícula, está basada en dos suposiciones. La primera es que la partícula se encuentre en movimiento Browniano [26]. En esta condición se puede conocer la función de autocorrelación como una función del radio y del tiempo:

$$P(r, t|0,0) = (4\pi Dt)^{-3/2} e^{(-r^2/Dt)} \quad (\text{Ec.3})$$

Donde D es la constante de difusión.

La segunda hipótesis es que las partículas son esféricas, con un diámetro pequeño en comparación con las dimensiones moleculares. Si es así, entonces es posible aplicar a la relación de Stoke-Einstein y, por tanto, tener una ecuación sencilla para la constante de difusión:

$$D = k_B T / 6\pi\eta a \quad (\text{Ec.4})$$

Donde a es el radio hidrodinámico de las partículas, k_B es la constante de Boltzmann, T es la temperatura en grados Kelvin y η es la viscosidad del solvente. De la dispersión de la luz es posible obtener información sobre la posición de las partículas, y su distribución mediante ecuaciones sencillas que relacionen el radio [26].

Para distribuciones anchas e incluso para distribuciones estrechas (cuasi monodispersados) el valor de referencia de D , comúnmente conocido como coeficiente de difusión aparente puede cambiar con el ángulo de medida y la concentración de la muestra.

2.4. BIOMATERIALES

La implantación de dispositivos y órganos artificiales plantea un enorme reto para el científico y el paciente. Para el paciente, la finalidad primaria es la subsistencia mediante la función de su organismo por la implantación de dispositivos artificiales. Para el científico, el planteamiento de cuestiones trascendentales, lo hace evaluar diversos aspectos. Para el diseño de órganos y dispositivos artificiales se deben plantear diversas preguntas

como el tipo de material a utilizar, el tiempo de vida útil del implante, la biocompatibilidad, etc.[29]

Los biomateriales pueden ser de origen natural, como por ejemplo colágeno, fibras del tipo proteico (seda, lana, etc.), polisacáridos (algodón, materiales celulósicos) que presentan una estructura y composición compleja, y sintéticos, denominados generalmente biomédicos para diferenciarlos de los de origen natural, que incluyen metales cerámicas y polímeros [30].

El diccionario de la Lengua Española define como órgano a “cada una de las partes del cuerpo animal o vegetal que ejercen una función” [31]. En función de ello, la gran mayoría de las partes del cuerpo humano pueden considerarse como órganos y ser sustituidos parcial o totalmente por un dispositivo protésico o biomédico. Esto implica un gran espectro de funciones y propiedades específicas, por lo que los dispositivos diseñados deben satisfacer condiciones selectivas. Sí se considera que el cuerpo humano está diseñado milimétricamente para detectar, atacar y rechazar cualquier cuerpo extraño que se pone en contacto con sus tejidos, un buen número de materiales sintéticos no son biocompatibles [29].

En los últimos treinta años se han desarrollado materiales poliméricos con propiedades específicas para cada tipo de aplicación médica. Los biomateriales de matriz polimérica son unos de los más utilizados para

reparar, restaurar o reemplazar tejidos u órganos humanos que han sufrido daños irreversibles.

2.4.1. Polímeros y composites

El uso de los polímeros y composites es prometedor en aplicaciones de biomateriales. Los polímeros ofrecen grandes ventajas, como elasticidad, resistencia a la corrosión, poca reactividad, etc., que les permiten ser compatibles con los tejidos. Si a su vez estos materiales son reforzados con fibras, se incrementan sus propiedades mecánicas [30].

Entre los biomateriales poliméricos más inertes se incluyen el politetrafluoroetileno (PTFE), polietileno tereftalato (PET), polimetilmetacrilato (PMMA), polipropileno, polisulfona (PSF), polidimetilsiloxano (PDS, o caucho de silicona (SR)), poliamidas, policloruro de vinilo (PVC), entre otros [30].

2.4.1.1. Policloruro de vinilo [29]

Es un material de uso biomédico casi generalizado. Presenta buena tenacidad, elevada resistencia mecánica y excepcional resistencia al agua y otros compuestos químicos como disolventes, lípidos, etc. La presencia de átomos de cloro en su estructura lo hace autoextinguible ante el fuego.

El policloruro de vinilo es de naturaleza rígida, pero su grado de flexibilidad puede modificarse con la incorporación de agentes plastificantes, lubricantes, estabilizantes o mediante copolimerización con monómeros adecuados. El PVC flexible es muy empleado en la

preparación de conductos de drenaje, tubos endotraqueales y como conductos de transfusión sanguínea.

2.4.1.2. Siliconas [29]

Hoy en día, una gran cantidad de dispositivos utilizados para implantes se fabrican con cauchos de silicona debido a sus excelentes propiedades y buena compatibilidad. La estructura básica de siliconas de uso clínico corresponde a cadenas poliméricas de metilsiloxano con grupos metilo ($-\text{CH}_3$) en sus extremos de cadenas. Normalmente se someten a un proceso de entrecruzamiento o vulcanización para dar materiales elásticos tipo caucho que presentan una inercia química mucho menor que la del caucho natural, debido fundamentalmente a la fortaleza del enlace Si-O frente al enlace C-C.

Las siliconas vulcanizadas mediante activación térmica son las más empleadas en implantes artificiales. Se trata de polímeros a base de dimetilsiloxano, que poseen unidades de metil-vinil-siloxano distribuidas al azar en cadenas macromoleculares. Estos grupos favorecen el entrecruzamiento dando lugar a materiales tipo caucho adecuados para la confección de dispositivos cilíndricos. También presentan una alta permeabilidad a los gases (O_2 , CO_2 , etc.). Cuando se persigue resistencia química pueden utilizarse derivados fluorados como el 3,3,3-trifluoropropilmetiloxano. Estas son los más empleados en catéteres de aplicación nefrológica.

2.4.1.3. Látex

El látex natural es una suspensión acuosa coloidal compuesta de grasas, ceras y diversas resinas gomosas obtenida a partir del citoplasma de las células laticíferas presentes en algunas plantas angiospermas y hongos [32]. Es una sustancia con una composición de gran complejidad, puesto que entre sus elementos constituyentes se encuentran gomas, aceites, azúcares, sales, minerales, proteínas, alcaloides, terpenos, ceras, hidrocarburos, almidón, resinas, taninos y bálsamos [33]. Además, la cantidad de cada uno de estos compuestos que existe en el látex varía ostensiblemente dependiendo de la especie vegetal.

Las partículas de caucho, que en estado natural aparecen en forma de suspensión coloidal en el látex de las plantas productoras, se encuentran cargadas negativamente y tienen un diámetro que se sitúa entre los 0,5 y los 3µm. El caucho, que con frecuencia presenta un tono blanquecino, también puede llegar a ser incoloro [34].

Químicamente, el caucho natural se define como un polímero del metilbutadieno o isopreno (C_5H_8) cuyo grado de polimerización es de 2500 a 4500. En el caucho natural se pueden hallar dos formas isómeras, diferenciadas por el tipo de unión (que puede ser *cis* o *trans*) entre las unidades isoprénicas fundamentales. Mientras la forma *cis* es la constituyente del caucho normal, la *trans* es propia de la gutapercha y la

balata, considerados cauchos de menor nobleza al tener propiedades diferentes y una utilidad más reducida [34].

El caucho puro es insoluble en agua, álcalis y ácidos débiles, y soluble en benceno, petróleo, hidrocarburos clorados y disulfuro de carbono. Con agentes oxidantes químicos se oxida rápidamente, pero con el oxígeno de la atmósfera la oxidación es mucho más lenta [34].

Mediante tratamientos químicos, el látex se procesa y vulcaniza. De él se obtienen materiales para la elaboración de materiales y consumibles médicos. Sin embargo, el látex no es inerte al cuerpo humano. Algunas personas presentan alergias al material. Por ello en la mayoría de los casos, en los cuales deben ser utilizados en dispositivos intracorporales, es recubierto con materiales más inertes como las siliconas [29].

2.5. EQUIPOS MÉDICOS [2]

La ciencia y tecnología médica ha avanzado en función del desarrollo de nuevas técnicas, equipos y biomateriales que puedan facilitar el manejo de pacientes, procedimientos médico-quirúrgicos e implantes o dispositivos, respectivamente, que permitan un desempeño favorable para el paciente como para el equipo de profesionales que los tratan. Existen infinidad de consumibles que son utilizados cotidianamente para el tratamiento de ciertas patologías.

Durante los procesos de hospitalización, cirugía, recuperación, cuidados intensivos, etc. Los humanos necesitan la aplicación de tratamientos

médicos por vía endovenosa; para ello se implementa un catéter o Yelco. En otros casos también se requiere la aplicación de sondas para la recolección de fluidos. Estos dispositivos médicos intracorporales, son de naturaleza polimérica, generalmente porosos. Ellos vinculan el cuerpo humano con el medioambiente y son vectores para infecciones por microorganismos que se hayan fortalecido o evolucionado ante la presencia de antibióticos.

No es secreto que las bacterias y virus tienen una alta capacidad para mutar. Su actividad citoplasmática y de división celular es rápida y eficiente. La facilidad de estos microorganismos para modificar su ADN los convierte en un ejército capaz de utilizar cualquier vía de acceso a nuestro organismo. Para evitar la contaminación, la mayoría de los dispositivos intracorporales se encuentran impregnados con antibióticos y el medio hospitalario debe ser lo más aséptico y pulcro posible. Sin embargo, algunas de las infecciones más tratadas son las nefrológicas. Estas generalmente se presentan por bacterias que conviven en nuestro propio cuerpo, pero que a causa de manipulaciones erráticas pueden penetrar en nuestro organismo por la vía urinaria.

Generalmente los pacientes más expuestos a infecciones son aquellos que presentan disfunción renal. Ellos deben someterse a procedimientos de diálisis, en los cuales sus cuerpos se encuentran conectados en un período considerable, a una máquina de hemodiálisis por medio de una sonda

vesicular. Dadas sus condiciones especiales, su sistema inmune se encuentra debilitado y se hace una presa fácil para las bacterias del medio como para las propias que pueden migrar de una región a otra. De aquí la importancia del desarrollo de una nueva tecnología que permita impregnar estos dispositivos con antibióticos u otras sustancias que eviten o disminuyan los riesgos de contaminación. Las nanopartículas de plata, debido a su actividad antibacteriana, resultan un mecanismo interesante, y puede ser estudiado para desarrollar nuevos productos. A continuación se hace una reseña sobre los tipos de sondas empleadas en procedimientos médicos.

- **TIPOS DE SONDAS [35]**

En función de las patologías que presente cada paciente se necesitarán diversos procedimientos que permitan ayudar al individuo a cumplir con alguna necesidad fisiológica como comer, expectorar, orinar, etc. El uso de las sondas es necesario para facilitar el drenaje de ciertas sustancias de desecho, así como también para la ingesta de alimentos.

Existen diversos tipos de sondas que se ajusta a cada tipo de sondeo. Para los fines de la investigación realizada se definirán sólo los tipos de sondas empleadas en procedimientos nefrológicos, que puedan estar expuestas a las bacterias *E. coli* y *S. Aureus*.

El sondeo vesical consiste en la introducción de una sonda por el meato urinario hasta llegar a la vejiga. Puede ser temporal para realización de

exámenes o drenaje vesical (sonda Nelaton), o permanente para intubación por varios días o drenaje continuo (sonda Foley) [35]. Sus objetivos son:

- Facilitar la salida de la orina.
- Obtener una muestra estéril de orina.
- Medición exacta del flujo de orina.
- Irrigar la vejiga.
- Introducir medicamentos.
- Determinar la cantidad de orina residual.

Las sondas urinarias son unos dispositivos que constan básicamente de tres partes: la punta (es la porción por la que la sonda se introduce en la uretra), el cuerpo, el embudo colector o pabellón (es la porción por la que sale la orina) (ver Fig. 8). La oferta posible de catéteres vesicales es muy amplia y se puede clasificar según la duración del sondaje (intermitente, temporal, permanente), según el material del catéter y por el calibre y la longitud.

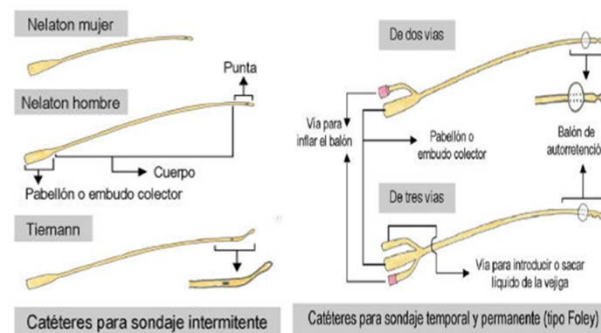


Figura. 8. Constitución y tipos de sondas [35]

El catéter que se usa para los sondajes tanto **temporales** como **permanentes** es un dispositivo flexible con ciertas particularidades. En la zona próxima a la punta posee un balón de autorretención que se infla desde una válvula externa que se encuentra cercana al pabellón (sondas tipo Foley). La capacidad del balón aparece impresa en el embudo colector, así como en el envoltorio de la sonda (generalmente entre 5 y 20 cm³). En el embudo colector se conecta el sistema de drenaje que se haya elegido (también se puede colocar un tapón). Pueden ser de dos vías (una para evacuar la orina y otra para inflar el balón desde el exterior) o de tres (se añade una tercera vía para poder introducir o sacar líquido de la vejiga) [36].

- Clasificación según el material del catéter [36]

El material con el que ha sido elaborado el catéter va a determinar sus características, tales como elasticidad, coeficiente de fricción (preferiblemente bajo), biodurabilidad (tiempo máximo de permanencia sin deteriorarse), biocompatibilidad (capacidad de no inducir reacciones o toxicidad), tendencia a la incrustación (precipitación de mucoides y cristaloides), tendencia a la adherencia bacteriana.

Los catéteres están hechos con materiales poliméricos que pueden ser naturales (látex) o sintéticos (cloruro de polivinilo, teflón, silicona u otros plásticos más modernos):

El **látex** ha sido el material de uso estándar, ya que es blando y maleable. Sin embargo, puede presentar incrustación rápida y toxicidad local con inducción de estenosis uretral. Su duración es de hasta 45 días (Sondas Nelaton y de Petzer).

La **silicona** es más adecuada para el sondaje permanente, al ser más biocompatible (induce estenosis uretral con menor frecuencia) y muy resistente a la incrustación. Sin embargo, su excesiva flexibilidad obliga a fabricar catéteres de paredes gruesas y con orificios de drenaje pequeños, mientras que su permeabilidad permite el desinflado progresivo del balón de retención (lo que conduce a la pérdida de la sonda o al recambio precoz). Como los catéteres de silicona pura son más caros, la mayoría están fabricados con látex que se recubre con silicona o teflón para mejorar su tolerancia y facilitar su inserción (Sondas Foley). Pueden durar hasta 90 días.

El **cloruro de polivinilo (PVC)** es un material más rígido y permite proporciones diámetro externo/interno óptimas para un drenaje adecuado. Es mejor tolerado que el látex y más barato que la silicona, aunque no es apto para el uso a largo plazo por la rápida incrustación que presenta.

Los materiales más modernos de superficie hidrofílica, por su mayor biocompatibilidad y su menor coeficiente de fricción, reducen la irritación de la mucosa y la incrustación. El grado de adherencia bacteriana a la

superficie del catéter es mayor con el látex y la silicona, variable con el teflón y escasa con los catéteres con superficie hidrofílica.

3. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

3.1. MATERIALES

3.1.1. Síntesis química

- Nitrato de plata (AgNO_3)
- Citrato de sodio ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$): 99,98% , marca Fluka.
- Borohidruro de sodio (NaBH_4)
- Agua destilada
- Polivinil alcohol
- Etanol ($\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$)
- 2-Propanona ($\text{C}_4\text{H}_8\text{O}$)
- Esferas de silicona

3.1.2. Síntesis electroquímica

- Electrodo de plata 99,99%, cilíndricos, $\Phi = 2\text{mm}$.
- Electrodo de titanio.
- Electrodo de referencia (Pt)
- Esferas de silicona
- Agua destilada

3.2. EQUIPOS

- Balanza
- Planchas de calentamiento y agitación

- Agitadores magnéticos
- Fuente eléctrica
- Resistencias de 20 Ω
- Conductímetro, marca Hanna Instruments.
- Programa LabVIEW 8.5. Fabricante: National Instruments
- Interfaz Analógica Digital
- Microscopio Electrónico de Barrido. Marca: Hitachi. Modelo: S-2400. Detector: Thermo Electron Corporation. Modelo: 4431B-1NUS-SN. Resolución específica: 132nm.
- Sputter (Metalizador o ionizador). Marca: Hitachi. Modelo: E102.
- DLS.
- Equipo comercial: Silvergen

3.3. SÍNTESIS QUÍMICA

Se realizaron dos procedimientos de reducción del ión Ag^+ , a partir de la sal del metal (AgNO_3). Para ello se emplearon dos agentes reductores (borohidruro de sodio y citrato de sodio). Las soluciones obtenidas para cada reductor fueron estudiadas por DLS y microscopía electrónica de barrido, y así evaluar distribución, tamaño y morfología de las partículas de plata obtenidas por los dos métodos.

Las síntesis químicas en la cuales se evaluó la eficacia del dispersante fueron soportadas en portaobjetos de aluminio y/o vidrio y secadas, para su

posterior metalización y caracterización en el MEB. Los ensayos realizados posteriormente para definir tamaño y morfología de la partícula, fueron impregnados en esferas de hidrogel (llamadas comercialmente como tierra artificial)[37].

3.3.1. Obtención de nanopartículas de Ag. Agente reductor citrato de sodio.

Se realizó el procedimiento para la reducción de la sal de nitrato de plata bajo el procedimiento de Lee y Meisel [38]. Se prepararon soluciones de 1×10^{-3} M de AgNO_3 (alta pureza) y citrato de sodio ($\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$) al 1% ($3,4 \times 10^{-3}$ M) y a $3,4 \times 10^{-4}$ M (Turkevich). El citrato de sodio actúa como agente reductor y dispersante.

En un balón de reacción se vierten 50 mL de la solución de AgNO_3 . Se sometió a agitación vigorosa y calentamiento hasta ebullición (85°C). Durante el procedimiento se agregan 5 mL de la solución de $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ al 1%. Se mantiene la agitación hasta observar un cambio de coloración y turbidez en la solución. El color amarillo determina la formación de las nanopartículas de plata [39].

De igual manera se aplicó el procedimiento de Turkevich, en proporciones de [1:1] de AgNO_3 y Citrato de sodio a $3,4 \times 10^{-4}$ M. Se dejó ebullición la solución de AgNO_3 y se agregó el volumen de reductor, en agitación constante y a una alta velocidad en porciones iguales.

3.3.2. Obtención de nanopartículas de Ag. Agente reductor NaBH_4 .

Se prepararon soluciones a $1 \times 10^{-3} \text{M}$ de AgNO_3 y $2 \times 10^{-2} \text{M}$ de NaBH_4 . Como dispersante se utilizó una solución de PVA al 1%. Se realizaron procedimientos para generar la reacción de reducción del ión Ag^+ en diversas proporciones hasta obtener una relación óptima de [1:1]. Se estudió el efecto del PVA como dispersante. Todas las soluciones se aforaron en balones de 25mL. La turbidez y coloración amarilla, indicaron la formación de nanopartículas de Ag^0 [40].

3.4. SÍNTESIS ELECTROQUÍMICA

3.4.1. Ensayos a corriente continua

Por el método electroquímico se obtuvo una suspensión de nanopartículas de plata, por medio del método de disolución anódica. Para ello se utilizaron dos electrodos de 2 mm de diámetro y 10 cm de longitud. Como cátodo se utilizaron barras de plata deformada (Ag_{def}), plata recocida (Ag_{rec}) y titanio (Ti). Las barras de plata deformada y recocida fueron empleadas como ánodos, para estudiar el fenómeno de disolución anódica en función de la naturaleza del material. Los electrodos fueron sumergidos en agua destilada (electrolito) a una profundidad de 5,8 cm en los electrodos. Se realizaron ensayos a diferentes distancias interelectrodos (0,70 , 2,25 y 3,65 cm \pm 0,01 cm).

Se utilizó un electrodo de referencia de platino, una fuente de energía ajustada a 28v. Una resistencia eléctrica de 20Ω , utilizada para obtener una caída de potencial dentro del intervalo de voltaje que mide la tarjeta de National Instruments (calculada a partir de la ley de ohm). La tarjeta funcionó como interfaz o convertidor analógico-digital entre el circuito y el ordenador, el cual funcionó como registrador bajo el programa de LabView. Se mantuvo una agitación contante.

3.4.2. Montaje de la celda

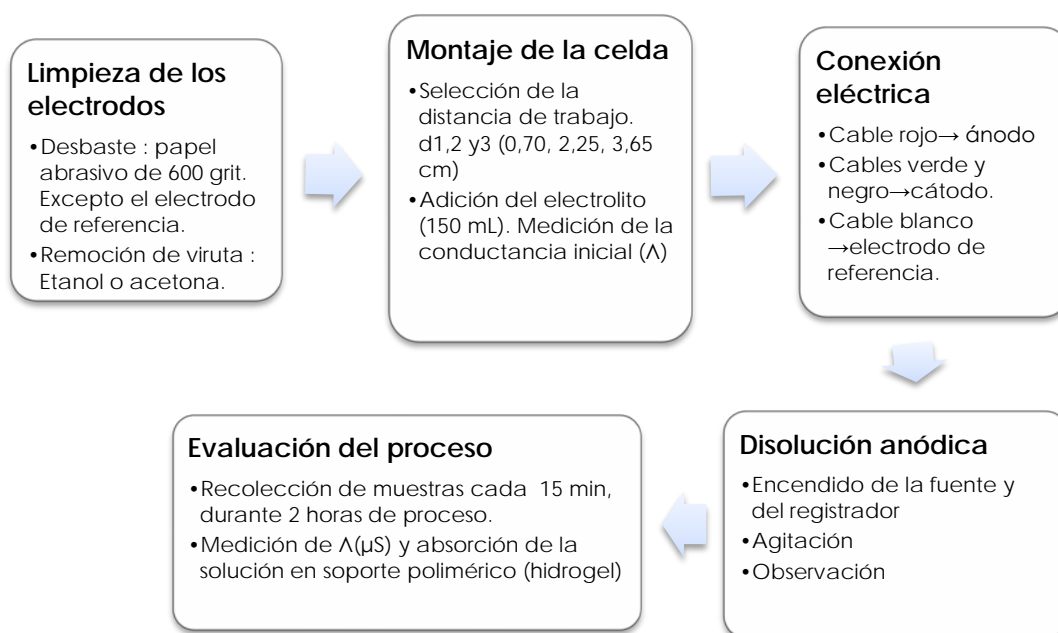


Figura 9. Esquema del montaje y puesta en marcha de la celda para ensayos a corriente directa
(Elaboración propia)

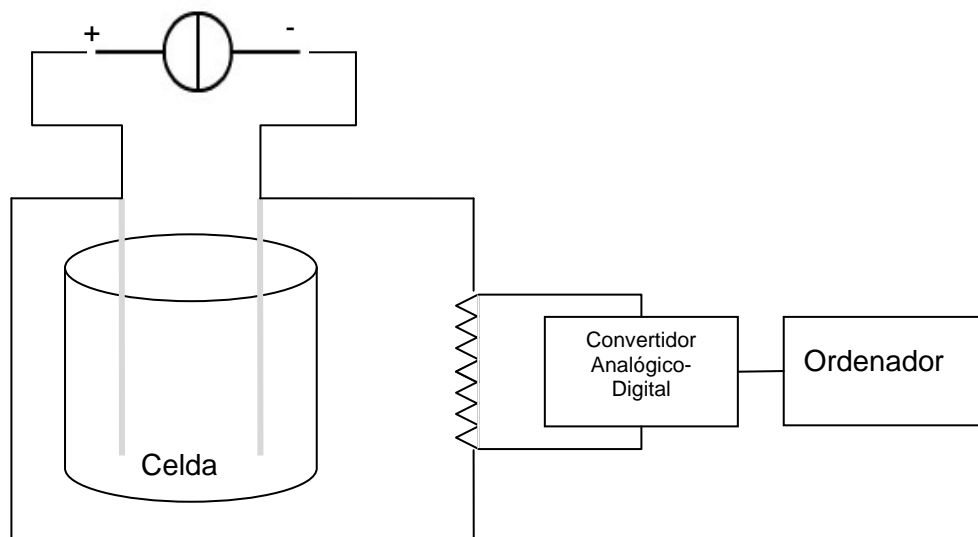


Figura10. Diagrama de bloque. Circuito para ensayos a corriente continua.

(Elaboración propia)

3.4.3. Ensayos con onda cuadrada

Para los ensayos con onda cuadrada, se escogieron los electrodos de plata deformada. Se empleó un circuito eléctrico con una fuente capaz de variar la frecuencia de la onda a utilizar (ver Fig. 11y 12). Se realizó un barrido entre 0,01 Hz hasta 0,1 Hz.

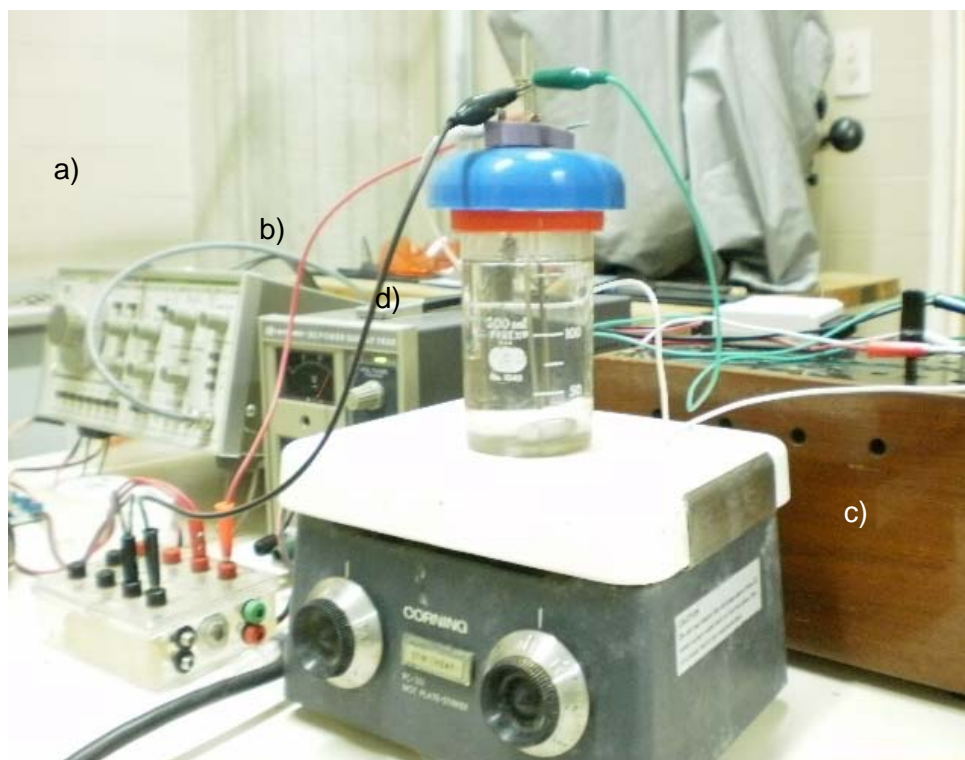


Figura 11. Circuito utilizado para los ensayos de onda cuadrada.

a) Generador de frecuencias, b) fuente, c) resistencia, d) celda, e) Convertidos analógico digital, f) Plancha de agitación

La frecuencia fijada para el procedimiento fue de 0,04 Hz. Se realizó el montaje de la celda (de igual manera que en el procedimiento anterior) y se procedió a realizar el ensayo dejando un registro por medio del software. Se dejó reaccionar por dos horas. Al finalizar se recolectó la muestra y se introdujo el hidrogel para su caracterización en el microscopio electrónico de barrido.

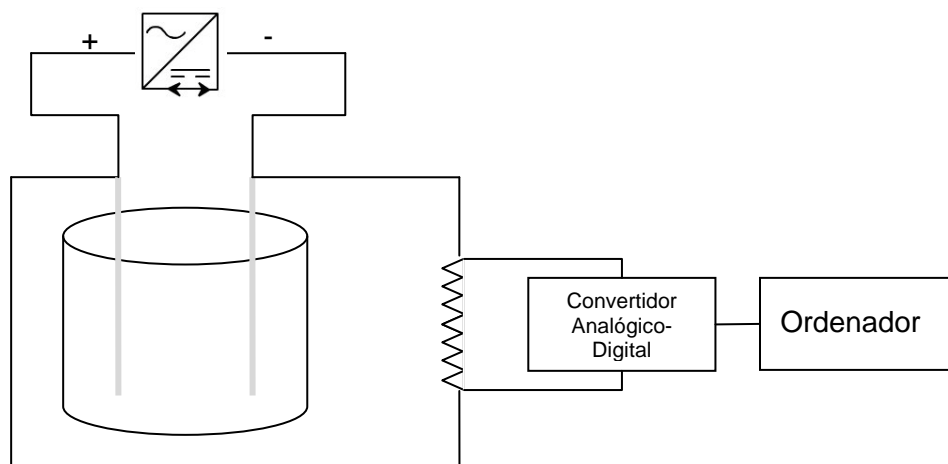


Figura 12. Diagrama de bloque. Circuito para ensayos a onda cuadrada
(Elaboración propia)

3.4.4. Ensayo con el equipo comercial

Se procedió a realizar un ensayo con el equipo comercial disponible en el mercado (Silvergen). El silvergen es un sistema de producción de AgNP's que trabaja a corriente constante. Mantener una intensidad de corriente constante puede tener un efecto significativo en la morfología o concentración iones y partículas.

Este equipo consta de una fuente de energía con: interruptor, dos indicadores luminosos, y una perilla para ajuste de la saturación, conectada a los puertos de ánodo y cátodo, un agitador de rotor y un recipiente plástico (ver Fig.13). Como electrodos, utiliza dos láminas de plata de forma rectangular, de espesor menor a 1mm.



Figura 13. Equipo comercial “SilverGen Colloid Generator”.

- Montaje del sistema

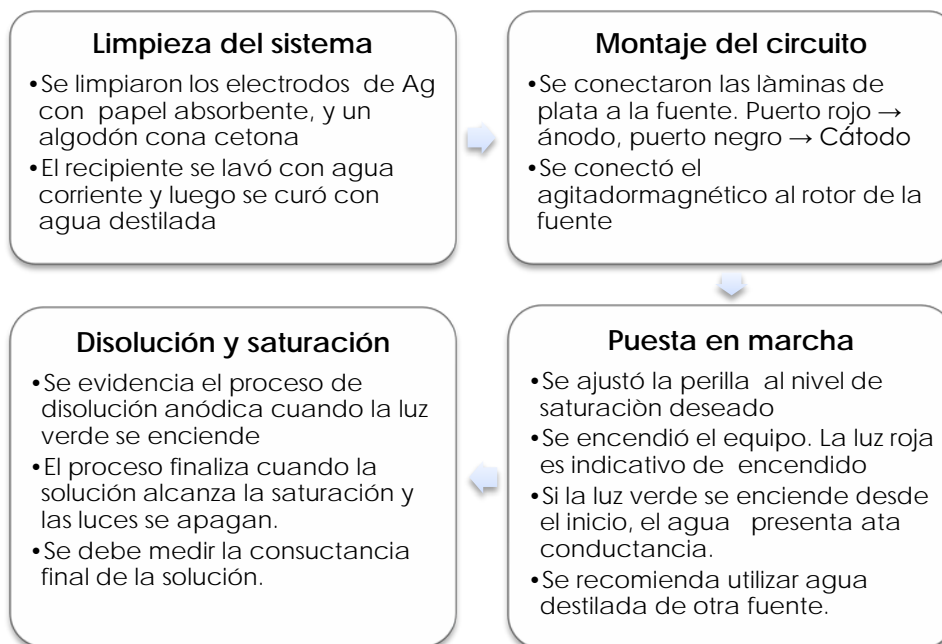


Figura 14. Esquema del montaje del sistema comercial de producción de AgNP's
(Elaboración propia)

3.5. IMPREGNACIÓN DEL POLÍMERO

La impregnación del sustrato polimérico (sonda Foley y catéter) se realizó por medio de tratamientos superficiales, entre los cuales se exploró tratamientos químicos de “solubilización parcial” o “tratamientos térmicos”, del material polimérico, seguidos de inmersión en las soluciones de AgNP's. También se realizó la reducción de la sal en presencia del material, para posterior comprobación de la presencia de nanopartículas de plata en la superficie del mismo.

3.6. CARACTERIZACIÓN

3.6.1. Microscopía electrónica de barrido

3.6.1.1. Preparación de las probetas y análisis de muestras

Las partículas obtenidas fueron absorbidas en un hidrogel comercial. Este procedimiento se desarrolló específicamente en este trabajo para poder soportar la AgNP's sobre un sustrato que permitiese la posterior observación de las nanopartículas en el microscopio Electrónico de barrido [37]. Sin embargo, la composición química del hidrogel pudiese originar productos de contaminación. Luego fueron rebanadas con un bisturí, recolectadas, identificadas y cubiertas con tela de serigrafía para evitar el contacto con el medio y la deposición de polvo.

Al lograr el secado total del hidrogel, las rebanadas fueron colocadas sobre portamuestras de aluminio y soportadas sobre papel adhesivo de grafito. Posteriormente se realizó la conducción con suspensión coloidal de

carbón. Debido a las características no conductoras del hidrogel, las muestras se introdujeron en el equipo de recubrimiento por salpicado iónico (metalizador) para su posterior metalización con platino. La metalización se llevó a cabo en una atmósfera inerte de Argón (Ar) a una presión de 9 Pa. Los dispositivos impregnados, fueron soportados y metalizados de igual manera que los hidrogeles que contenían las nanopartículas.

Posteriormente se introdujeron las muestras en el microscopio electrónico de barrido (ver Fig.14). Se realizaron microanálisis y, en algunos casos, fotografías con electrones secundarios y retrodispersados.



Figura14. Microscopio Electrónico de Barrido utilizado para los análisis.

3.6.2. Dispersión de luz láser

La determinación del tamaño de partícula se realizó a un ángulo de 60°. Primeramente, el equipo debió ser calibrado con una solución de látex

que fue introducido en la cubeta capilar. Posteriormente, se hace incidir un haz de luz láser. El haz es filtrado por un circuito de espejos y filtros monocromadores. El registrador procesa el patrón de látex obtenido y se fija el ángulo y la longitud de onda de trabajo para sustancias claras (ver Fig. 15).

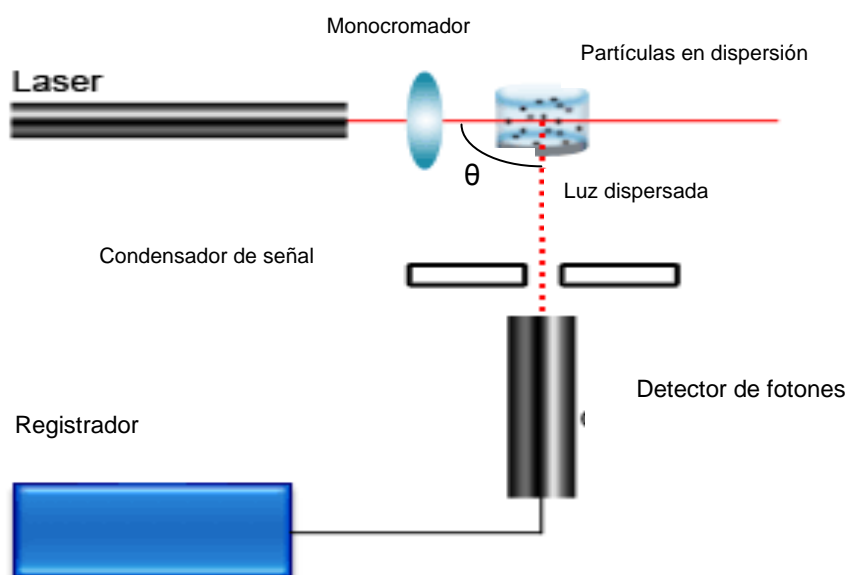


Figura15. Esquema equipo de DLS.

Θ es variable. En la figura se muestra a 90° [41]

3.6.3. Caracterización biológica

3.6.3.1. Método de evaluación de antibióticos

Los ensayos de actividad antibacteriana se realizaron en el laboratorio de microbiología, de la cátedra de Microbiología (Escuela de Bioanálisis de la Facultad de Medicina de la UCV) bajo la dirección del Prof. Luis Torres.

Para ello se utilizaron tres cepas de bacterias del tipo *Estafilococcus aureus* ATCC-25923, *Escherichia coli* ATCC-25922 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853 para medir la actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata obtenidas. La selección de las tres cepas se debe a que son las más utilizadas para evaluar control de calidad a los discos de antibióticos [42].

Se empleó como medio de cultivo el proceso Mueller-Hinton en capsulas de Petri. Se realizó un patrón, un ensayo con un papel de filtro impregnado con las soluciones de AgNP's obtenidas y un ensayo con los dispositivos médicos incorporados en el medio de cultivo, para cada clase de bacteria.

El método consistió en inocular la cepa en el medio de cultivo aplicando el material o antibiótico de análisis. Cada placa se inocula con una concentración estandarizada en escala McFarland, este inóculo equivale a 0,5 de esa escala, y en concentración bacteriana es un inóculo en el intervalo de 1.105 UFC/mL (UFC: unidades formadoras de colonias/mL), durante 24h.

3.6.3.2. Método de evaluación de Fagos

Este procedimiento se realizó en el Laboratorio de Microbiología en el Instituto de Biología Experimental (IBE) de la Universidad central de Venezuela, bajo la dirección del Profesor Vidal Rodríguez y la supervisión de la Profesora Juana Viteli.

El método consistió en inocular, en forma confluyente, una concentración de $0,1$ cantidades/mL de un cultivo bacteriano de 10^8 bacterias de *Escherichia coli* CVCM126, derivada de J53.NCTC 50165 [43], en un medio de cultivo LB (agar Luria Bertanis). La dilución correspondió a 10^7 bacterias. Concentración muy superior a la disponible en cualquier medio. La evaluación se realizó a las 24 h de la inoculación. Sobre el medio se colocaron gotas de las soluciones obtenidas por el método del citrato de sodio, de la disolución anódica correspondiente a la celda E_{23} y a la solución obtenida por el silvergen.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. SÍNTESIS QUÍMICAS

Para la obtención de nanopartículas de plata vía reducción química, se aplicaron los métodos de Lee y Meisel (método del borohidruro de sodio) [38] y el procedimiento de reducción por citrato de sodio. Estos ensayos fueron nombrados con la letra Q.

Los ensayos realizados, utilizando como precursores AgNO_3 ($1 \times 10^{-3} \text{ M}$) y NaBH_4 ($2 \times 10^{-2} \text{ M}$) y PVA al 1%, sirvieron para realizar el estudio del PVA como agente dispersante. La muestra Q₁, fue sintetizada con relaciones en volumen iguales para cada compuesto involucrado en la reacción (AgNO_3 , NaBH_4 y PVA). La reacción se llevó a cabo en un medio ligeramente básico (pH=8), obteniéndose como resultado una solución de color ocre claro, con presencia de partículas coloidales. La coloración amarilla, es indicativo de la formación de las AgNP's [44]. La solución se colocó en un portaobjetos y se dejó secar en una estufa a 40°C para su posterior caracterización por microscopía electrónica de barrido. Luego del proceso de secado, se observó un esmalte sobre la superficie del portaobjeto, con una ligera coloración amarillenta.

Durante la observación por MEB, se observaron cúmulos superiores a 5µm. Sin embargo, al magnificar la imagen, se hizo evidente la presencia

de pequeños puntos distribuidos por toda la superficie de los aglomerados, que correspondían a las AgNP's (ver Fig. 16).

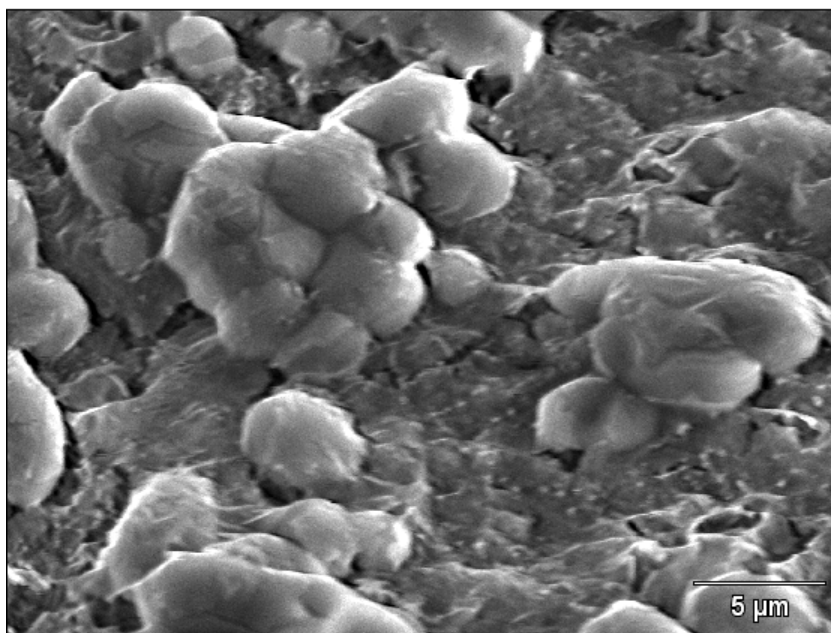


Figura 16. Método del NaBH_4 . Micrografía. Magnificación:4000x

Muestra Q₁. Polimerización del PVA con AgNP's en su interior. Relación [1:1] con adición de PVA como dispersante.

Dado que el PVA es un polímero hidrosoluble, biodegradable y biocompatible, es utilizado en dispositivos médicos como agente plastificante, para evitar reacciones alérgicas o irritativas en el organismo [29]. Su polimerización se activa con la temperatura o por simple secado del solvente. Por lo tanto, la presencia de aglomerados corresponde a la polimerización del agente dispersante.

Durante la polimerización, las partículas de plata quedaron inmersas en la estructura polimérica dando como resultado un producto característico de

una síntesis “in situ”, donde las partículas de plata se encontraban inmersas en el producto de polimerización (ver Apéndice N°1). La síntesis In Situ de partículas metálicas en matrices poliméricas involucra la disolución y reducción de las sales del metal dentro de la matriz; otra metodología es realizar simultáneamente la polimerización y la reducción [45]. Estudios de EDX evidenciaron la presencia de Ag, en cada punto brillante de la superficie del polímero (ver Figura 17 y Tabla 1).

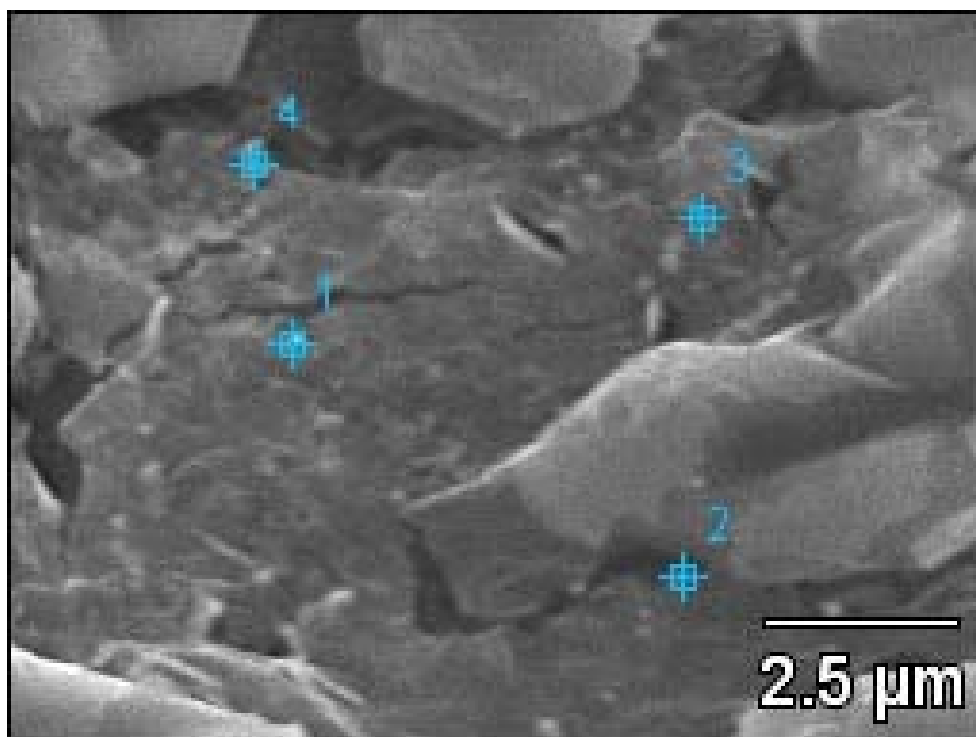
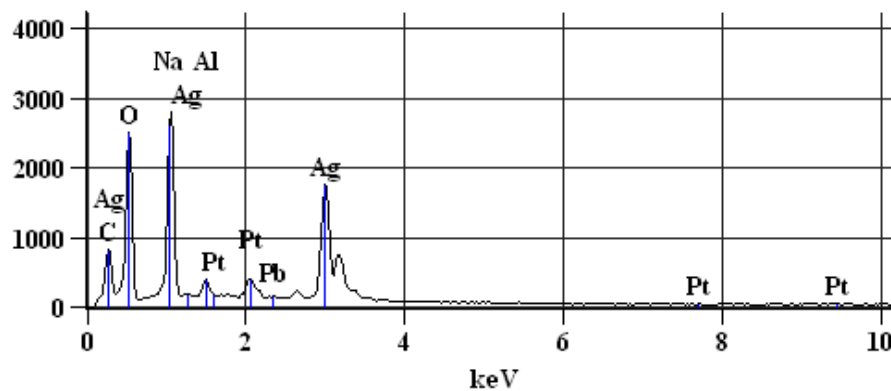


Figura 17. Método del NaBH_4 . Micrografía. Magnificación: 10000x.

Muestra Q₁. Polimerización del PVA. Nótese las AgNP's en el interior de la red polimérica de PVA.. Relación [1:1] con adición de PVA como dispersante

Tabla 1: Muestra Q ₁ . Análisis químico (microanálisis).									
% en peso									
Zona	Na	Al	S	Cu	Cl	Zr	Mo	Ag	Pb
1	49,43	2,54	0,93		4,25	9,95		32,89	
2	60,89	13,71					0,72	24,67	
3	56,56	2,70		1,76	5,56			33,42	
4	35,89	2,86						59,31	1,95



Resuelta la incógnita de la ubicación de las partículas de Ag, se procedió a realizar la medición de las mismas a una magnificación de 20000x, obteniéndose como resultado una partícula de 183, 837 nm (ver Fig.18). Este resultado fue comparado con el obtenido por el método de DLS, que arrojó un diámetro promedio de 96,50 nm, calculado a partir de una curva de distribución de tamaños de partícula (ver Fig.19).

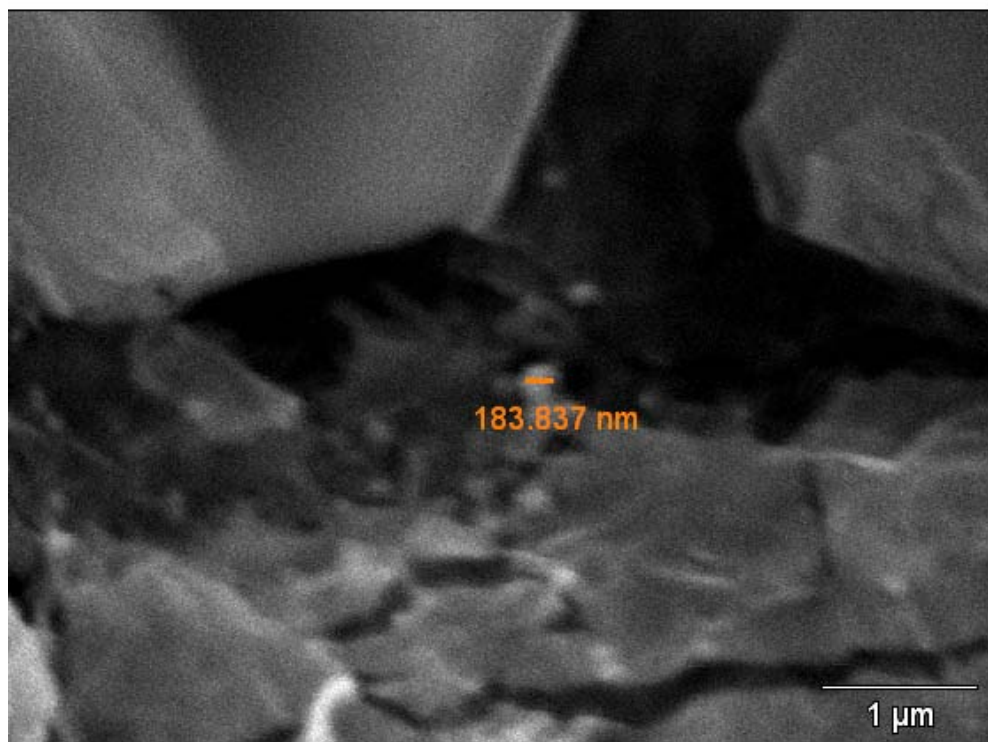
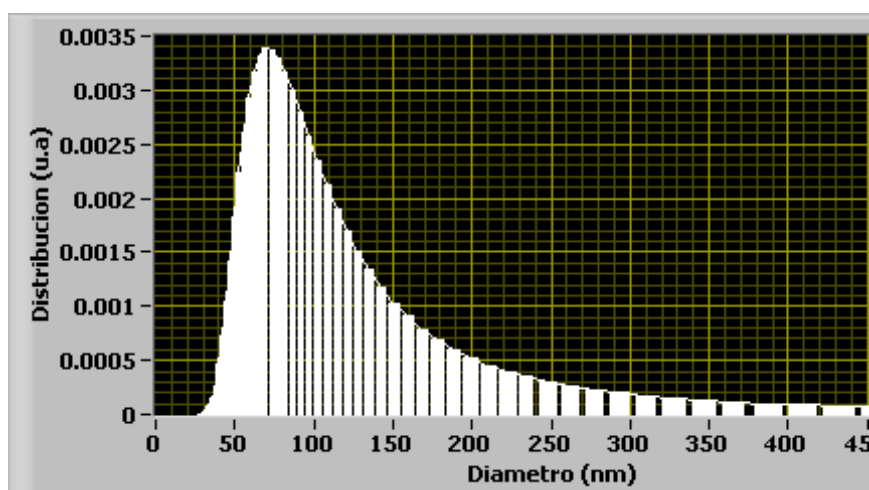


Figura 18. Método del NaBH_4 . Medición del tamaño de partícula

Muestra Q_1 Relación [1:1] con adición de PVA como dispersante. Magnificación: 20000x.



**Figura19. Muestra Q_1 . Curva de distribución de diámetro de partículas (DLS).
 $d_m=96,50\text{nm}$.**

De igual manera la muestra Q₂, que fue sintetizada en una relación AgNO₃: NaBH₄ de [2:3], ya que el reactivo limitante es el nitrato de plata, resulta indiferente el exceso del agente reductor, presentó polimerización del dispersante (PVA) y la captura de las AgNP's en la estructura polimérica (ver Apéndice 2)

Los ensayos realizados por el método del citrato, arrojaron para ambos casos (concentración de citrato 1% y $3,4 \times 10^{-3}$), soluciones más dispersas y sin presencia de aglomerados, debido a que en este procedimiento no se requiere la utilización del PVA. El citrato de sodio por ser un molécula orgánica con electrones libres en su estructura, presenta características quelantes, al igual que otras moléculas empleadas para procesos de "síntesis verdes"[46].

El proceso de reducción se llevó a cabo a un pH de 8,54, aportado por las dos especies precursoras. Se agitó vigorosamente y se mantuvo una temperatura de 85°C (ver Apéndice 3). La adición del agente reductor se hizo a relación de 1 mL cada 5 min a gran velocidad; esto para garantizar la homogenización de las soluciones. Se dio término a la reacción, transcurridos 90 min. Las soluciones originalmente incoloras se tornaron amarillas y con ligera turbidez (ver Fig. 20). Estas soluciones fueron colocadas en un portaobjeto de vidrio para su observación en el microscopio electrónico de barrido.

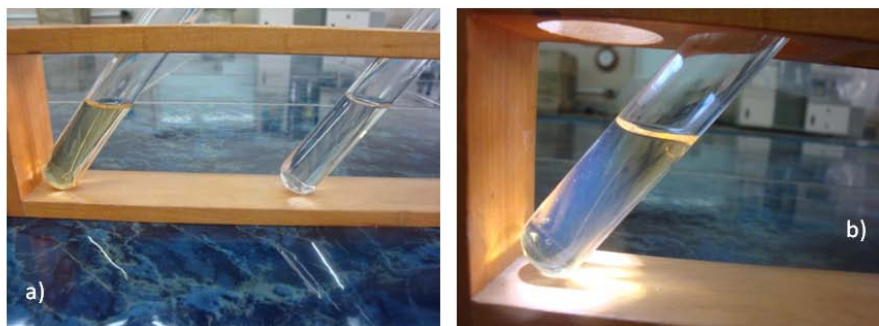


Figura 20. Efecto Rayleigh en las suspensiones de AgNP's.

- a) Soluciones de AgNP's, Nótese la coloración amarilla, con mayor intensidad en la obtenida a partir de $C_6H_5O_7Na_3$ al 1%. b) Dispersión de luz en la solución, evidencia de partículas en suspensión.

Durante las visualizaciones en el MEB, se hizo evidente la presencia de partículas dispersas en la superficie del silicato. Se manifestaron como puntos brillantes. Para verificar la presencia de plata en las mencionadas estructuras, se realizó un análisis químico elemental (ver Fig. 20).

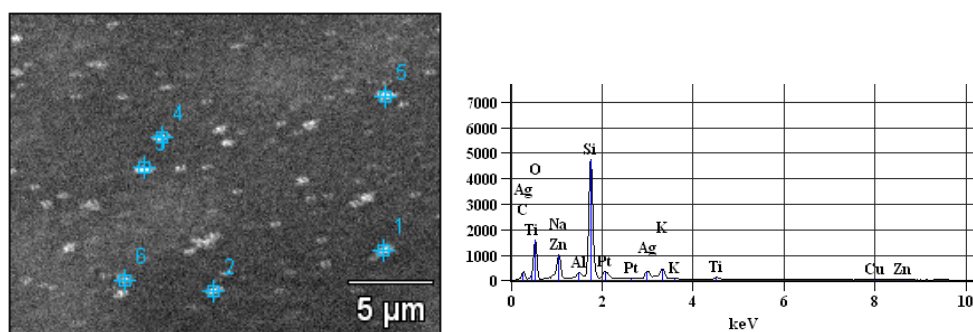


Figura 21. EDX. Procedimiento de Lee y Meisel.

Micrografía Magnificación: 5000x. Muestra Q₃. Método del citrato de sodio. Relaciones en peso, reportadas en la tabla N°2.

Tabla 2: Muestra Q ₃ . Análisis químico (microanálisis).								
% en peso								
Zona	Na	Al	Si	K	Ti	Cu	Zn	Ag
1	16,55	2,00	50,23	8,57	3,15	2,47	10,97	6,05
2	12,37	2,17	45,49	7,49	3,24	3,07	11,37	14,79
3	12,27	2,05	46,82	7,68	3,25	2,83	11,39	13,69
4	12,05	2,26	46,19	7,78	3,07	3,37	9,73	15,55
5	11,66	2,60	48,58	8,00	2,57	1,85	8,35	16,38
6	10,50	2,32	46,39	7,67	3,03	3,18	10,72	16,18

Para la determinación de morfología y tamaño de partícula se alcanzó una magnificación de 10000x. Al igual que en las partículas obtenidas por el método del NaBH_4 , la observación se torna difusa. No se logró definir la morfología de las partículas. Se presume que la partícula medida en la Fig. 22, corresponde a un aglomerado de nanopartículas alrededor de la superficie de un núcleo. Esto puede explicarse con dos posibles mecanismos de crecimiento de la partícula: la condensación de agrupaciones de plata (I mecanismo), y la reducción del ión Ag^+ sobre las partículas de plata mediante de la transferencia de electrones del radical

libre de citrato a la partícula [47] . De igual manera, los mecanismos propuestos cobran validez al contraponer el resultado de la medición por microscopía electrónica con el de dispersión de luz láser (ver Fig. 22 y 23); 367,674 nm y 453,00nm respectivamente.

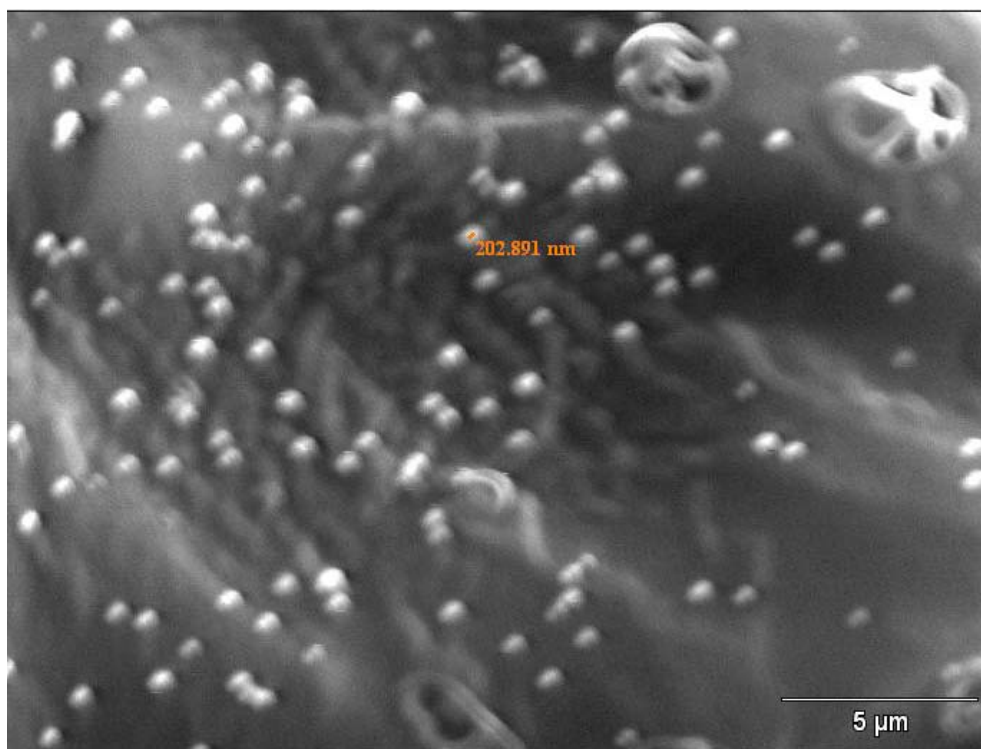


Figura 22. Citrato de sodio como dispersante.

Micrografía $C_6H_5O_7Na_3$ 10^{-4} M. Magnificación: 5000x. Partícula: 202,891nm. Método del citrato de sodio. Método de Turkevich.

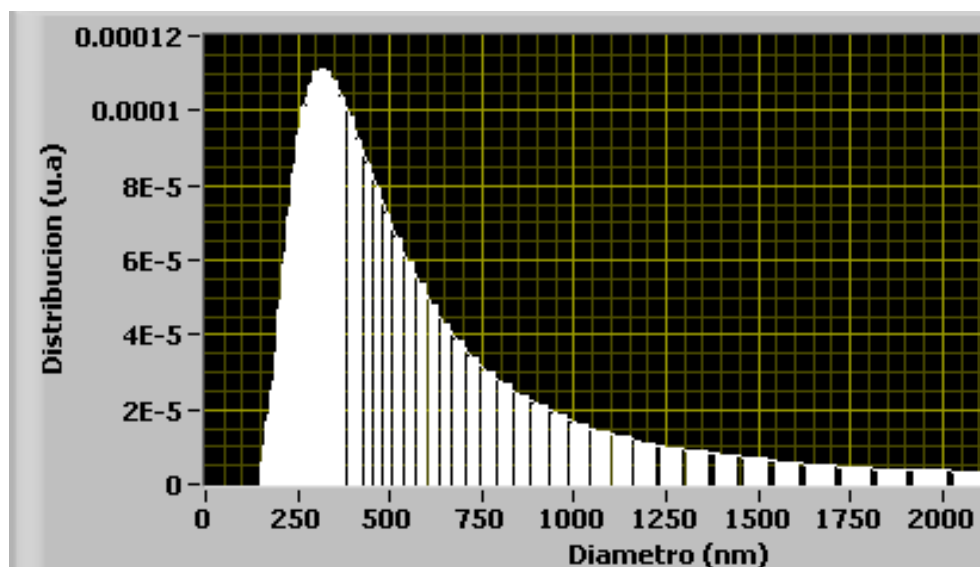


Figura 23. Muestra $C_6H_5O_7Na_3$ (1%). Distribución de tamaños de partículas. $d_m = 453,00\text{nm}$

La obtención de las AgNP's fue efectiva por medio de ambos métodos. Sin embargo, las partículas obtenidas son de gran tamaño con respecto a las reportadas en la literatura (intervalos de 10 a 50 nm)[24]. Aún cuando por el método del borohidruro de sodio se obtuvo un diámetro promedio menor (96,50nm) se considera que hubo aglomeración. Debido a la polimerización del PVA, no fue posible definir con exactitud la morfología de las partículas, más se presume que es redonda, según lo observado por Microscopía electrónica de barrido.

En el caso de las partículas obtenidas por el método del citrato de sodio, los tamaños de partículas obtenidos, alrededor de 400nm para una

concentración al 1% y de 200,00 nm para concentraciones del orden de 10^{-4} , son producto del mecanismo de reacción “b” propuesto por Trurkevich (ver Fig. 4). Se supone que en el proceso de reducción la molécula orgánica de citrato debió haber actuado como quelante, debido a su capacidad de realizar enlaces dativos por efecto de los electrones libres que presenta la estructura^a. Probablemente, a causa de las grandes dimensiones de las moléculas de citrato, con respecto a las nanopartículas, se produjo un efecto de impedimento estérico [48] y el halo alrededor de la partícula queda saturado en iones que se depositaron sobre la NP para su reducción. El efecto quelato se produciría si la concentración solvatante (citrato) fuera la adecuada y así no evitara que la NP pueda coordinarse con él, para que el crecimiento del clúster sea inhibido (ver fig. 24). También se debe considerar el modelo de LaMer-Dinegar. En él se afirma que el número de partículas coloidales en solución es estable durante un período corto de nucleación. El mayor crecimiento de partículas se produce por la reducción de iones en la superficie de los núcleos formados.

^a Se recuerda que el efecto de quelato se produce cuando una molécula orgánica tiene electrones libres que son capaces de coordinarse con una molécula que sus átomos externos tengan la capacidad en su última capa de valencia de compartir un espín electrónico.

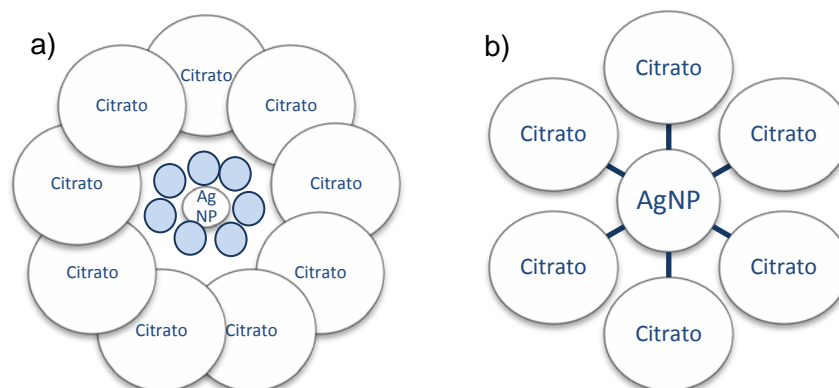


Figura 24. Efectos estérico y coordinación del dispersante.

a) Efecto quelante inhibido por el efecto estérico. Nótase la competencia entre las moléculas de citrato y el halo de iones plata alrededor de la NP. b) Efecto de solvatación adecuado y coordinación del citrato con la AgNP's (Elaboración propia)

4.2. SÍNTESIS ELECTROQUÍMICAS

4.2.1. Ensayos a corriente directa

Los ensayos a corriente directa se realizaron a voltaje constante (28v). El ánodo y el cátodo se colocaron a distancias equidistantes del electrodo de referencia (ver Fig.25).

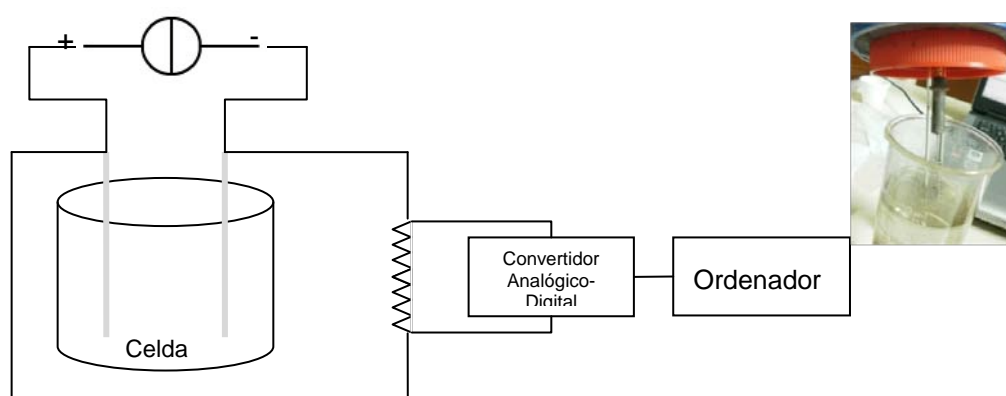


Figura 25. Diagrama del circuito y celda Agdef /Agdef .

Los ensayos a corriente continua sirvieron para establecer la influencia de: la distancia interelectrodos, la naturaleza del cátodo y del ánodo. Primero se establecieron las tres distancias de trabajo (d_1 , d_2 y d_3 , correspondientes a: 0,70, 2,25 y 3,65 cm respectivamente) interelectrodos. Para estudiar la influencia del material en la disolución, se trabajó con plata deformada y plata recocida como ánodo. Por último se varió el cátodo entre las dos presentaciones de plata y una barra de titanio. Se establecieron los siguientes sistemas de celdas utilizando la nomenclatura E_{xy} , donde E es ensayo electroquímico, “x” es el número de celda y, “y” es la distancia utilizada. A continuación se muestra la organización y nomenclatura empleada

<i>TABLA 3. NOMENCLATURA DE CELDAS</i>						
Celda	Ag_{def}/Ag_{def}	Ag_{rec}/Ag_{def}	Ag_{rec}/Ag_{rec}	Ag_{def}/Ag_{rec}	Ag_{def}/Ti	Ag_{rec}/Ti
Nombre	E1	E2	E3	E4	E5	E6

Para cada celda y distancia de trabajo se realizó un seguimiento de la reacción por medio de la medición de la conductancia con el conductímetro (Hanna Instruments) cada 15 min. El dispositivo de National Instruments, realizó una recolección de datos de 60 lecturas por minutos, para así registrar las variables tiempo y densidad de corriente (ver Fig.26). Se realizaron evaluaciones de la saturación de iones Ag^+ en las soluciones recolectadas y se contrapusieron con los valores de corriente en los puntos

iniciales, máximos y finales de los gráficos de registro obtenidos por el programa LabVIEW. A continuación se presentan los resultados obtenidos para las celdas que involucran sólo el sistema Ag/Ag.

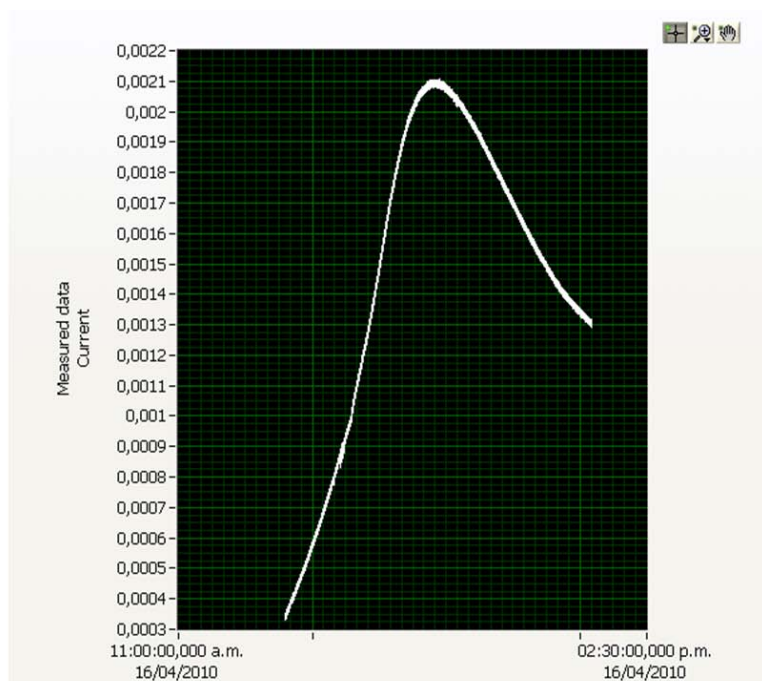


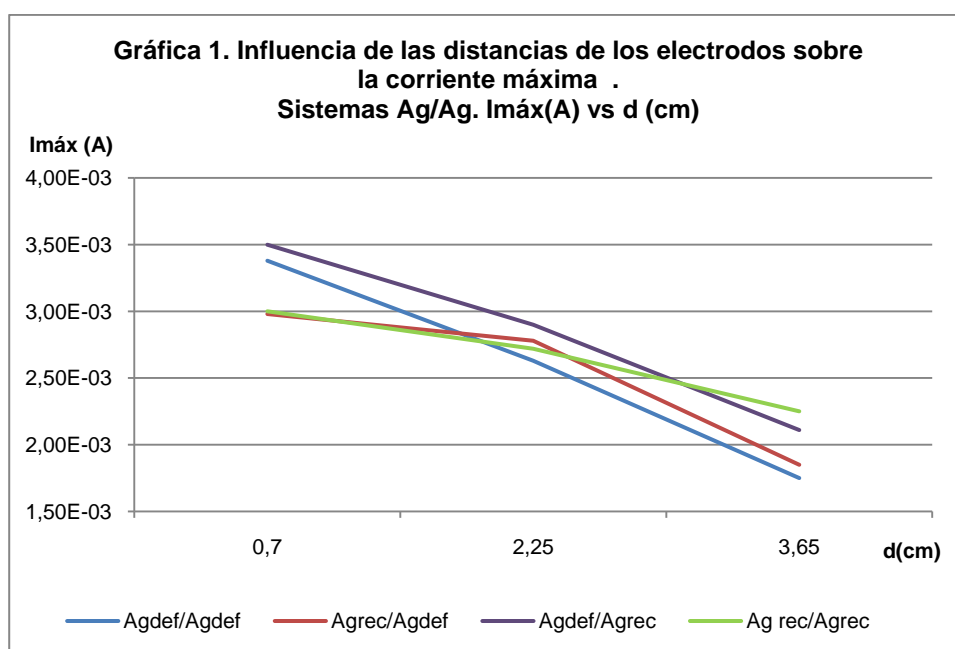
Figura 26. Registro de corriente celda E₂₃ (Ag_{rec}/Ag_{def} d₃).

a) Punto máximo y b) Punto de saturación.

Para la evaluación de los sistemas es necesario definir que el tiempo máximo es aquel valor en el cual se obtuvo la máxima intensidad de corriente en la celda ($I_{\text{máx}}$). Cabe destacar, que en la mayoría de las celdas implementada, los valores de I y t máximos coinciden con los valores de tiempo para los cuales se obtuvo el máximo valor de conductancia (Λ) que es una medida de los iones, con carga positiva en el

medio. Los valores de conductancia están íntimamente relacionados con los valores de concentración.

Los ensayos electroquímicos realizados utilizaron como electrolito agua destilada. Por lo tanto, los iones registrados en el conductímetro correspondieron a Ag^+ . Esto permitió, realizar el cálculo para cuantificar los iones de plata en las soluciones a la máxima I y a la I de saturación al finalizar los ensayos (120 min).



La gráfica 1 refleja la influencia de la distancia entre los electrodos con respecto a la corriente máxima alcanzada por el circuito. A menor distancia presentó los valores más altos correspondientes a la intensidad de corriente, para todas las celdas del sistema Ag/Ag. Por el contrario, a

mayor distancia, la intensidad máxima de corriente recolectadas de las gráficas obtenidas por el programa (ver Apéndice 4)^b, correspondieron a los valores más bajos.

Si se considera la Ley de Ohm,

$$V = I \times R \quad (\text{Ec. 3})$$

donde el voltaje es directamente proporcional a la intensidad "I" y a la resistencia "R", también se obtiene que la R e I son inversamente proporcionales.

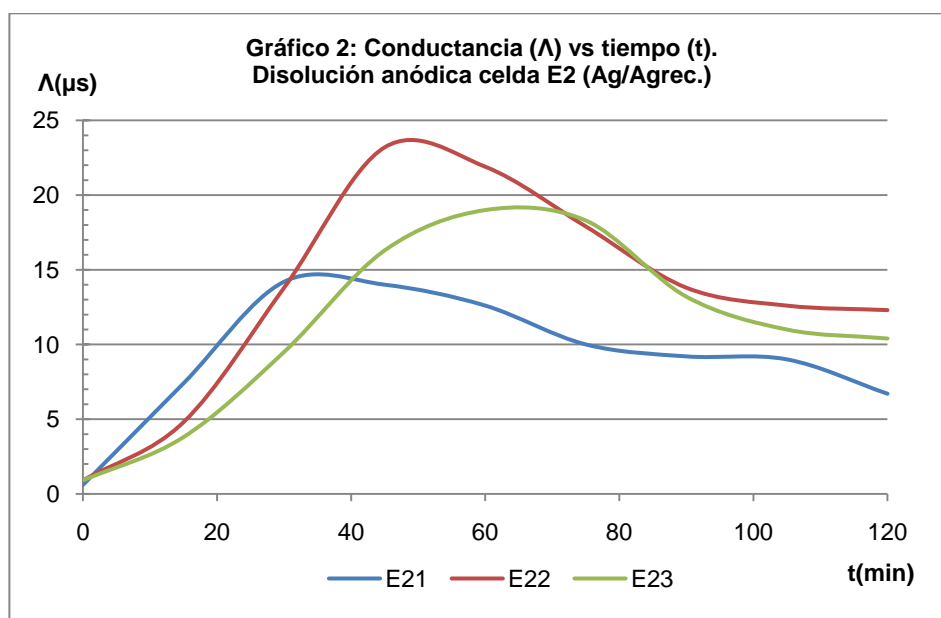
$$I = V/R \quad (\text{Ec.4})$$

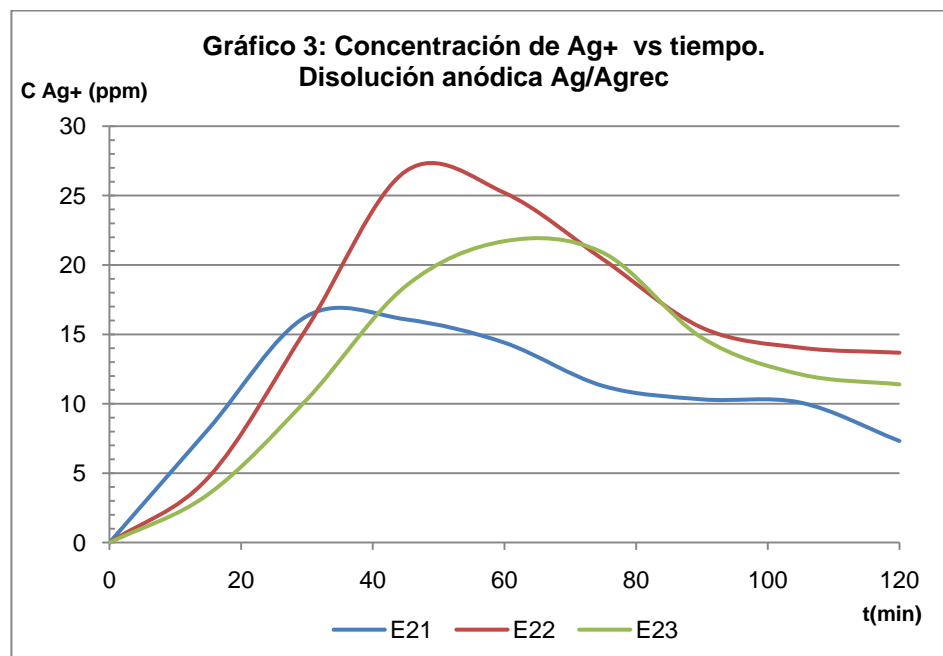
Al aumentar la distancia entre los electrodos, se aumentó la resistencia del circuito. Al haber más masa del electrolito, el flujo de corriente debe atravesar un espacio mayor, lo cual se traduce en un aumento de la resistencia del medio. Se puede establecer que la distancia entre los electrodos es inversamente proporcional a la intensidad de corriente, condición que explica la tendencia decreciente obtenida en el gráfico.

De igual manera si se observan las tendencias obtenidas para las conductancias y concentraciones de iones Ag^+ (ver gráfica 2 y 3), se puede

^b La Figura26 corresponde a un ensayo de repetición para la visualización de la tendencia de la I con respecto al tiempo de reacción. En los gráficos de I vs t de los registros del programa (apéndice N°4) se observaron "crestas" cada 15 min. Las variaciones en el registro corresponden con la recolección de electrolito.

observar que la actividad iónica presentó un máximo y al finalizar la disolución anódica, hubo una disminución de los iones plata. Este fenómeno puede explicarse mediante el mecanismo propuesto por Michael Zu (Fig. 8). En la medida en que transcurre el tiempo, los iones plata se adhieren a la superficie de los núcleos de Ag^0 formados en las adyacencias del cátodo. Los clusters de menor tamaño tienen la facilidad de que sus átomos más superficiales pueden transferir los electrones de sus últimas capas de valencia y los iones ven favorecida la reacción de reducción [3]. Mientras mayor sea el tiempo de disolución, se propicia la formación de cúmulos de mayor tamaño, disminuyendo así la concentración de iones.

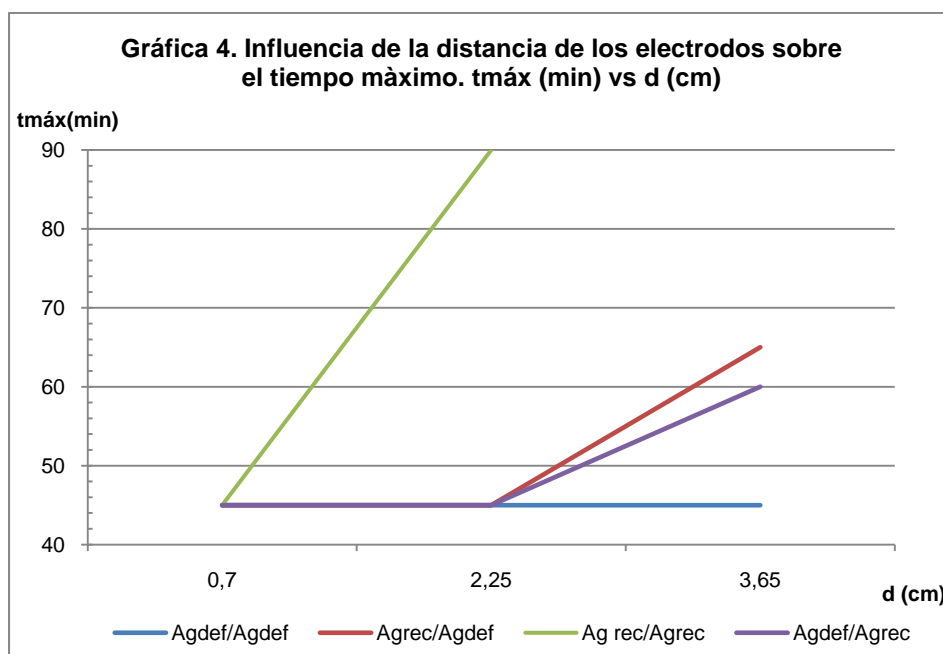




En la gráfica 4 se puede observar la influencia de la distancia en el tiempo para alcanzar la máxima disolución y densidad de corriente. Si se comparan las graficas 3 y 4, para el sistema Ag_{del}/Ag_{rec} , se puede observar la relación entre los tiempos a los que se obtiene la máxima concentración de iones y la máxima intensidad de corriente ($t_{m\acute{a}x}$). A mayor distancia la disolución tarda más en alcanzar los máximos de corriente y concentración de iones. Estas relaciones gráficas fueron realizadas para todos los sistemas de celda y pueden ser detalladas en el apéndice 5.

Para determinar el tamaño de partícula con respecto al tiempo, se analizaron, vía Microscopía electrónica de Barrido (MEB) tres muestras de una misma celda a tiempos diferentes. La celda E_{23} fue estudiada a tiempos

de 30, 60,90 y 120 min (ver Fig. 27, 28 y 29). Sin embargo a los 30 minutos, no hubo observación de partículas. Esto pudo deberse a que no era posible resolver a dimensiones tan pequeñas.



Las soluciones de los sistemas Ag/Ag fueron soportadas en el hidrogel y llevadas a microscopía electrónica de barrido. Por otra parte, para poder alcanzar magnificaciones superiores a los 10000x, hubo que soportar las soluciones en porta objetos de vidrio. En primer lugar se evaluó el tiempo de 30 minutos, pero no fue posible visualizar partícula alguna. Esto pudo deberse a que para el sistema E_{23} es el que se realizó con mayor distancia entre los electrodos. Si se observa la gráfica 3, se puede notar que el proceso de saturación se alcanza a partir de los 60 minutos. Cabe recordar que para que se produzca un producto sólido, las soluciones

deben estar saturadas en iones y sobrepasar el equilibrio de solubilización (K_{ps}). Por ello, es posible decir que antes de los 60 minutos sólo había presencia de iones.

Al analizar la solución recolectada a los 60 minutos se puede observar una partícula pequeña en medio de un halo claro, aparentemente esférica de aproximadamente 62 nm (ver Fig.27). De igual manera se evaluó la solución a los 90 minutos y se observaron partículas aparentemente esféricas de dimensiones entre 100 y 200nm (ver Fig.28).

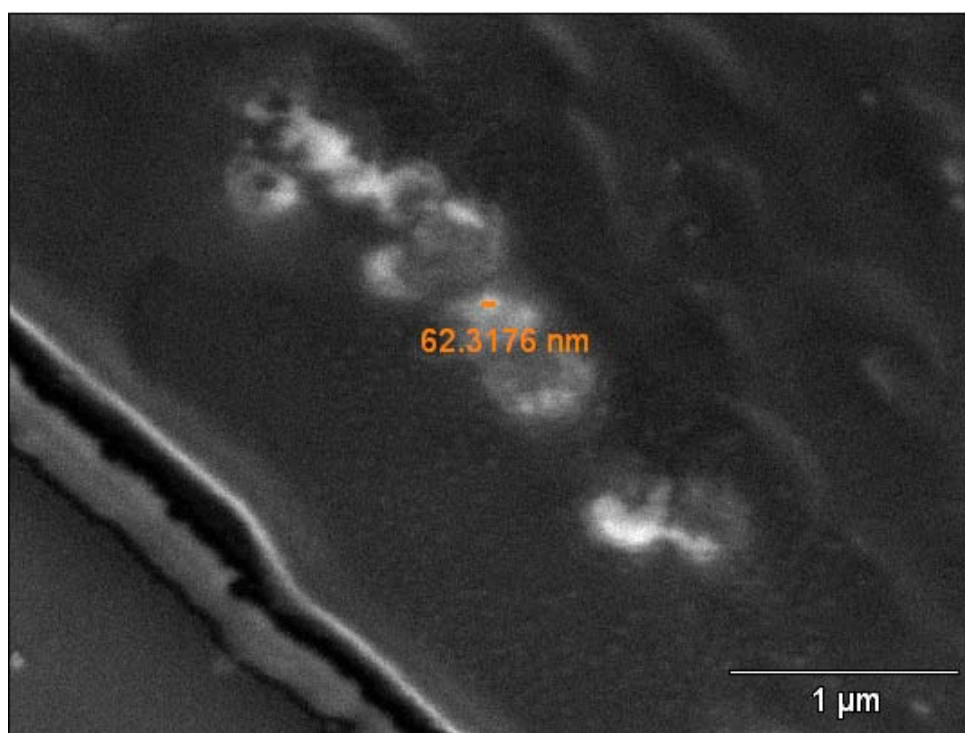


Figura 26. Medición de tamaño de partícula a t=60 min.

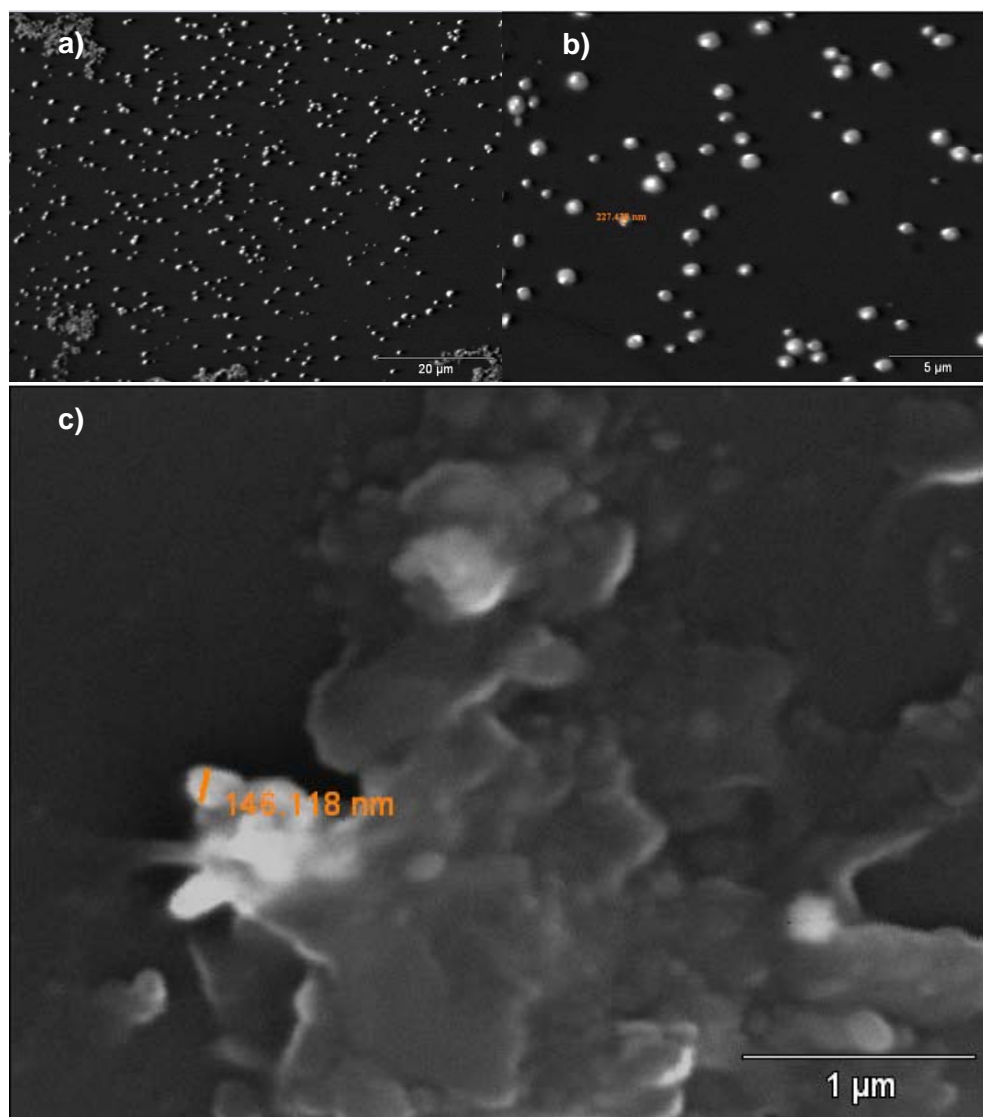


Figura 27. Medición de tamaño de partículas en función del tiempo Celda Agrec/Agdef (E23) t=90min.

a y b) Partículas soportadas en hidrogel Magnificación: 1000x y 5000x. c) AgNP's soportadas en portaobjeto. Magnificación: 30000x.

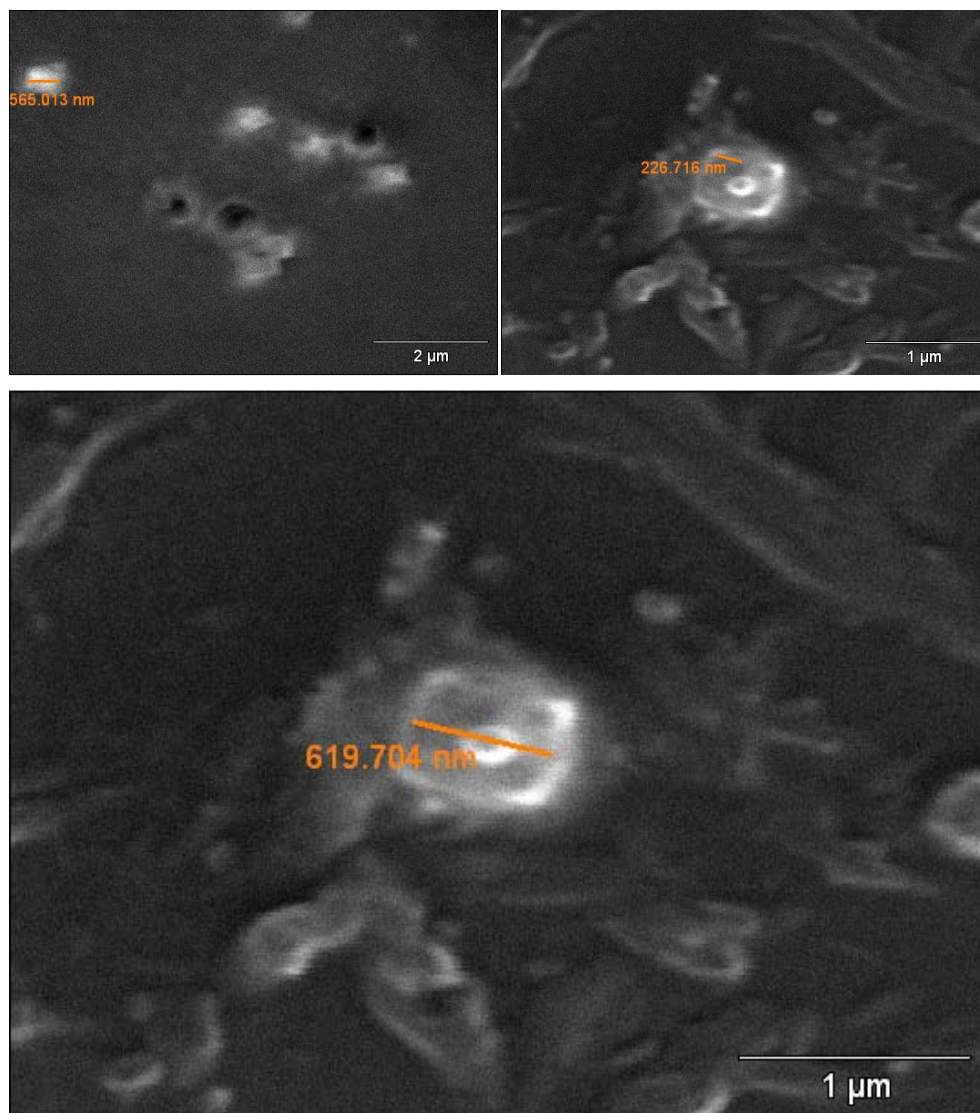


Figura 28. Medición de tamaño de partículas en función del tiempo Celda Agrec/Agdef (E23) t=120min.

- a) Magnificación: 15000x. b) Magnificación: 30000x. Nótese morfología cúbica del aglomerado, constituida por cinco esferas de 226 nm aproximadamente.

Como se pudo observar, el seguimiento de la reacción mediante la recolección de solución cada 15 minutos y su evaluación por microscopía electrónica cada 30 minutos, arrojó como resultados una influencia directa del tiempo en relación al tamaño de partícula. Las figuras 27, 28 y 29 exponen la secuencia de formación. Primero la formación de un núcleo de pequeñas dimensiones (40-60nm), luego la formación de especies de dendritas (t=90min), donde era evidente las partículas en los límites o puntas. Por último, la observación transcurridas las dos horas, de partículas de sección transversal esféricas (Fig. 29), organizadas a su vez en un cúmulo de apariencia cúbica. Este fenómeno confirma el proceso de aglomeración que ocurre al transcurrir el tiempo de reacción.

Con respecto a la influencia del cátodo en el proceso de disolución, no hubo variación con respecto a las tendencias. En todos los ensayos se produjo el máximo de corriente e iones, así como la disminución de los mismos al tiempo final. Al incrementar las distancias los tiempos máximos aumentaron Sin embargo, con el cátodo de titanio la máxima concentración de iones y corriente, se desplazó en el tiempo, aunque a las dos horas se produjera la disminución de ambos (ver gráficos 5 y 6, y Fig.30).

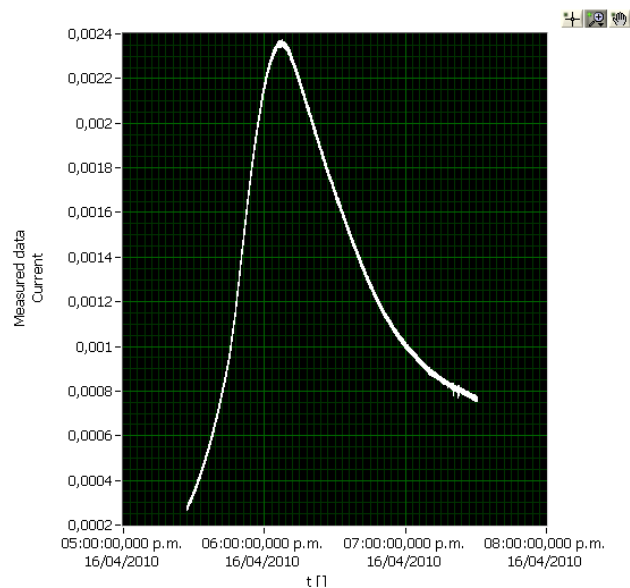
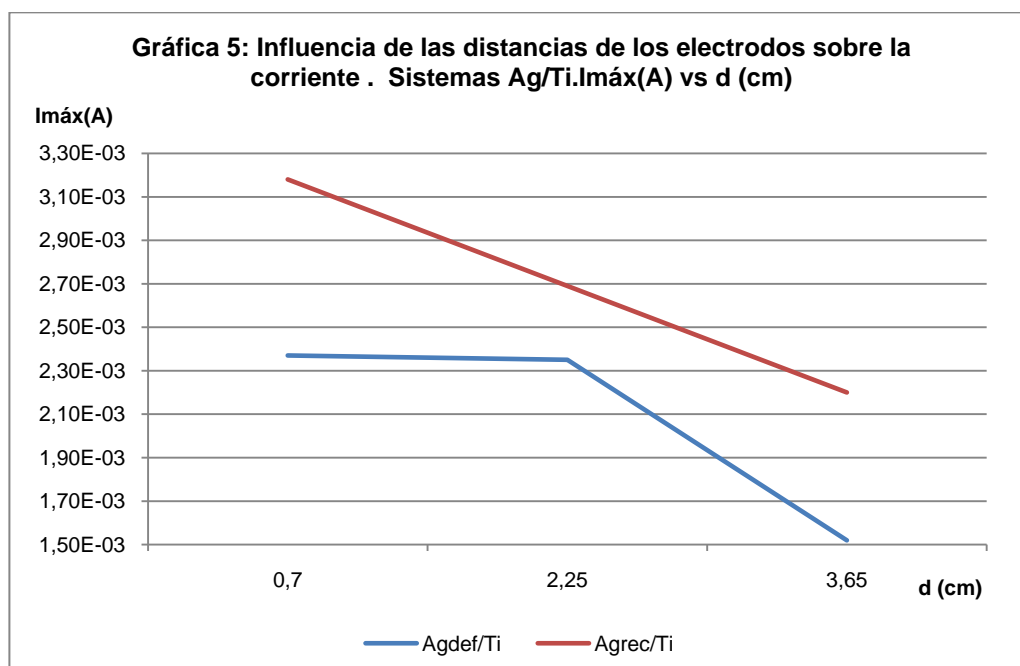
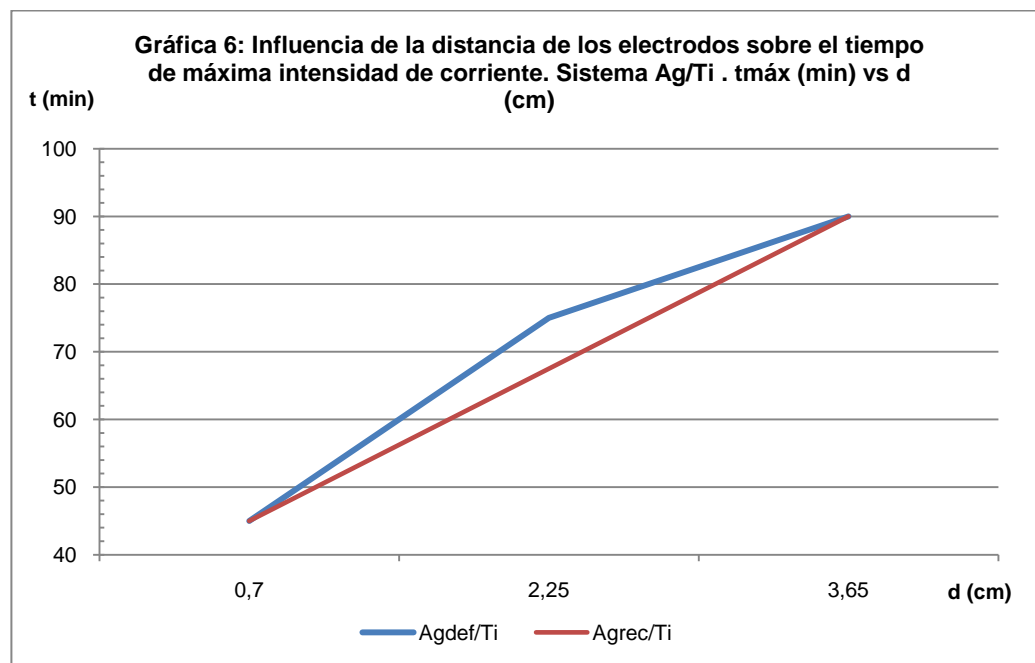


Figura 30. Registro de intensidad de corriente. Celda Ti/Agdef (d₁)





Las soluciones obtenidas para las celdas de $\text{Ag}_{\text{def}}/\text{Ti}$ fueron analizadas por microscopía electrónica de barrido. Las imágenes obtenidas arrojaron acumulaciones de partículas. Durante el proceso de secado de los hidrogeles, las partículas pueden interactuar entre sí. Este es un proceso lento, donde la solución pierde solvente en el tiempo. Puede ser que en ese intervalo, las partículas tienden a atraer los iones de Ag^+ que se encuentran en su alrededor. Con la disminución del solvente, la solución contenida en las esferas de hidrogel, aumenta su concentración de iones y se ve favorecido el mecanismo de reducción en la superficie de la NP. Sin embargo, durante la observación fue posible ubicar zonas con partículas dispersas. En ellas

se pudo determinar un tamaño de partícula de 249,22 nm y una morfología aparentemente esférica (ver Fig. 31).

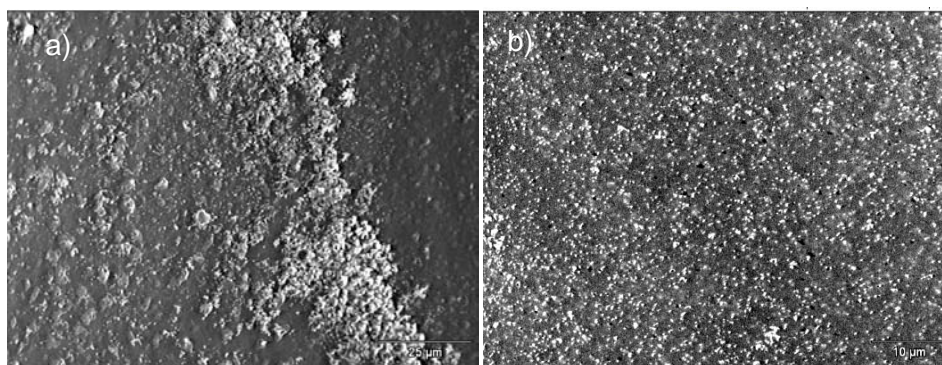


Figura 31a. Celda Ag_{def}/Ti . Partículas dispersas.

a) Evidente aglomeración de partículas. Magnificación:1000x.b) Zona con partículas dispersas. Magnificación:2000x.

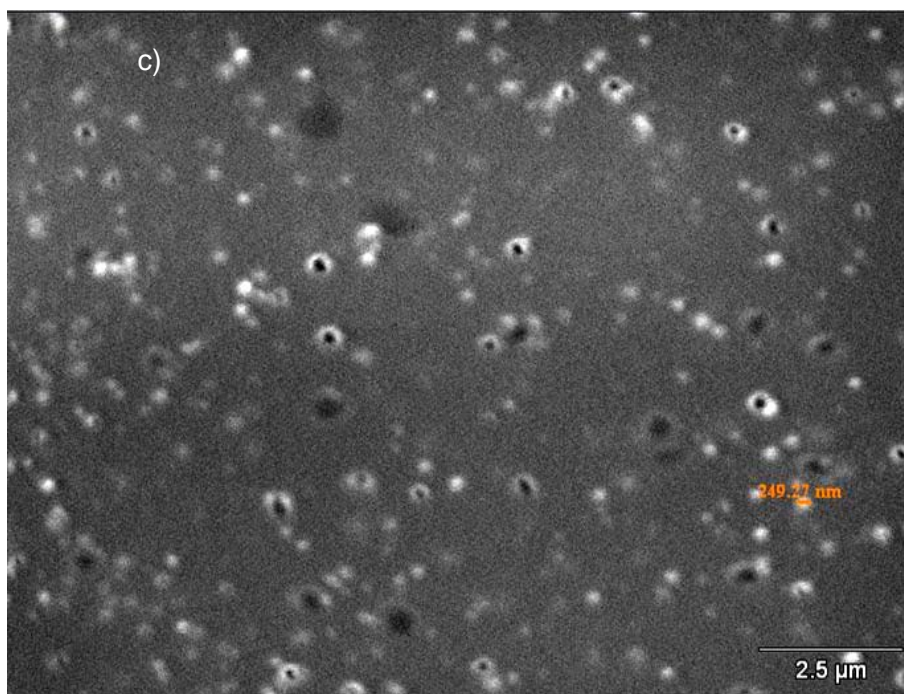
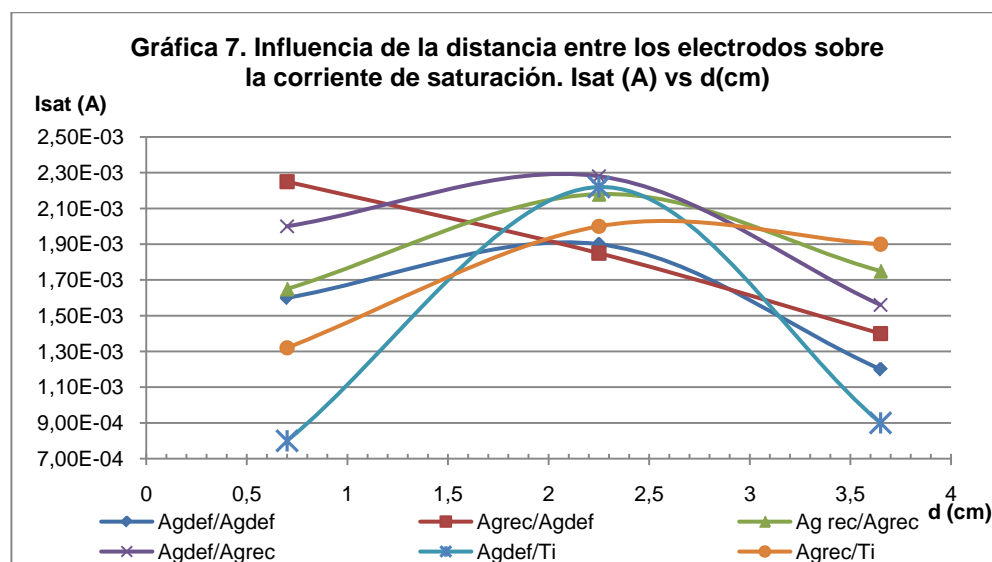


Figura 31b. Celda Ag_{def}/Ti .
Medición de partículas esféricas. Magnificación:10000x

Los experimentos realizados involucraron variación del sistema de celda. Para aquellos casos donde el ánodo correspondió a plata deformada (E1,E2 y E5) se observó que estos alcanzaron los máximos de corriente a menor tiempo, en comparación con los sistemas en los cuales se utilizó plata recocida. Este comportamiento correspondió con lo esperado. Debido a los esfuerzos acumulados por el proceso de trefilación de la plata, las dislocaciones generadas actuaron como un catalizador para la disolución anódica.

Las tendencias con respecto a las corrientes de saturación, intensidades de culminación de los ensayos (ver gráfico 7), arrojaron que entre las tres distancias evaluadas la que generó un mayor flujo de corriente fue la d_2 al finalizar la disolución. Es decir, que a esta distancia se produce un mínimo en la reducción de los iones. Las soluciones correspondientes a estas celdas arrojaron mayor conductancia.



Si se observa el apéndice N°5, se puede observar que las partículas tienden a aglomerarse luego de alcanzar la saturación de iones Ag^+

4.2.2. Ensayos con onda cuadrada

Se realizó un ensayo a onda cuadrada para estudiar la influencia del cambio de polaridad sobre la disolución anódica de plata. Para ello se realizó un barrido de frecuencias. Por observación, se escogió una frecuencia de 0,04Hz. Esta frecuencia resultó la más conveniente, pues el período permitía la disolución del ánodo. Al igual que en los procedimientos anteriores, el ensayo tuvo un registro de la corriente en función del tiempo (ver Fig. 31).

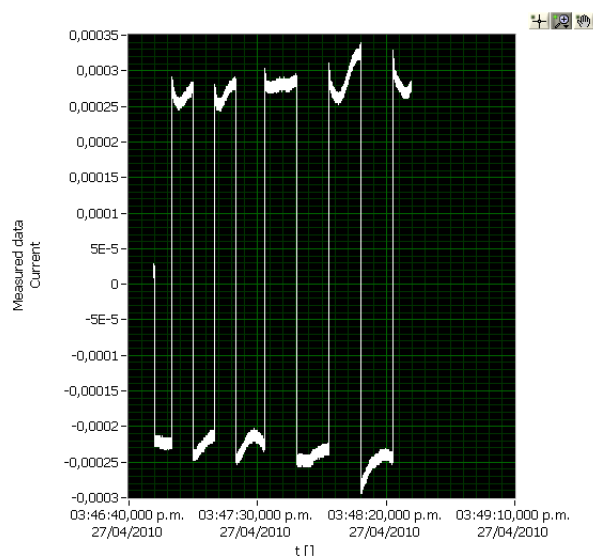


Figura 31. Registro del ensayo de onda cuadrada

El ensayo se realizó en un tiempo de dos horas, a razón de mantener constante la variable tiempo para la comparación con el procedimiento de

corriente continua. También se utilizó la celda Ag_{def}/Ag_{def} . Luego de transcurridos 60 minutos, se hizo evidente que el material depositado en el cátodo se desprendía y era arrastrado por el flujo de la agitación. Este fenómeno era producto del cambio de polaridad de los electrodos.

Transcurridos los 120 minutos de reacción se observó una turbidez grisácea en la solución, correspondiente al material desprendido del cátodo y una coloración ligeramente amarilla en la solución. Posteriormente, hubo sedimentación de parte del material suspendido al apagar la agitación. El registro en la interface (circuito-ordenador) corresponde a una tendencia donde la intensidad de corriente aumenta en el tiempo al igual que en los ensayos a corriente directa (ver Fig. 32).

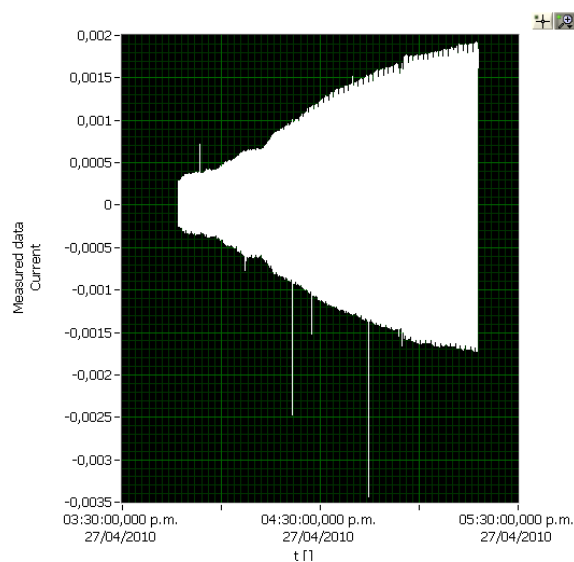


Figura 32. Incremento de la intensidad de corriente con respecto al tiempo. Empleo de onda cuadrada. Celda Ag/Ag .

Transcurridas las dos horas, se produjo el máximo en la densidad de corriente. Se obtuvo una conductividad de $24,8\mu\text{s}$ ($19,76\text{ ppm Ag}^+$), valores superiores a los obtenidos para el mismo sistema de celdas a corriente directa (alrededor de los $20\mu\text{s}$). No se alcanzó la Intensidad de saturación. Debido a las condiciones del sistema, la saturación debe ocurrir transcurridos 180 min.

Las imágenes obtenidas para esta solución evidencian la acumulación de partículas. Considerando las observaciones macroscópicas, los depósitos desprendidos debieron tener un efecto de atracción de los iones para su posterior reducción. En esta imagen se hace presente el efecto de aglomeración de partículas (ver Fig. 33)

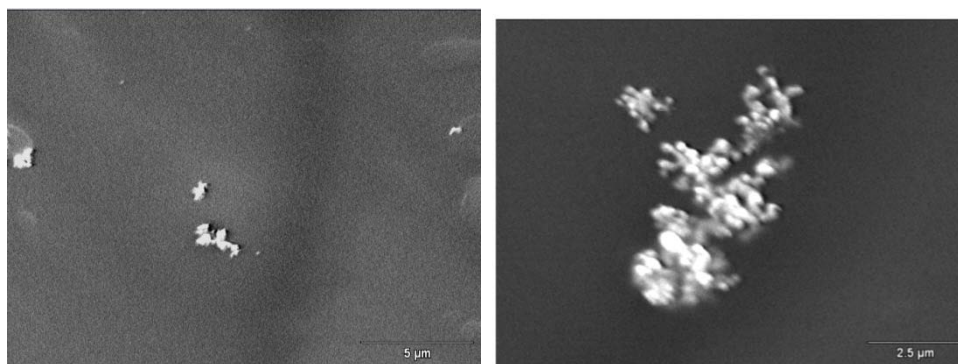


Figura 33. Aglomerados de AgNP's. Onda cuadrada.

Magnificación: a) 6000x, b) 10000x.

Se realizaron microanálisis a cada cúmulo de partículas por EDX (ver Fig. 34 y 35).

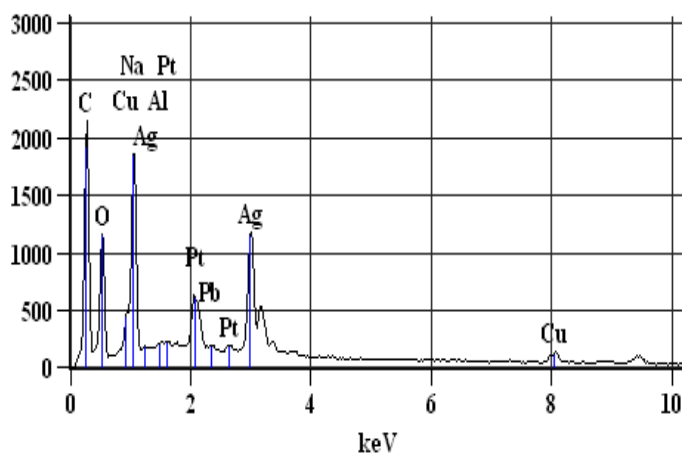
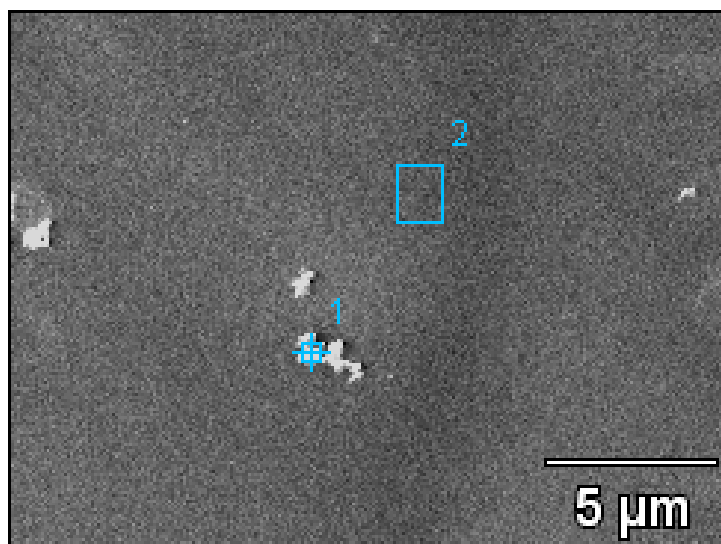


Figura 34. EDX 1. Microanálisis de aglomerados. Onda cuadrada
Micrografía. Magnificación: 6000x. La tabla N°4 reporta los valores de cada elemento

<i>TABLA 4: Microanálisis ensayos con onda cuadrada</i>						
%peso						
Zonas de análisis	F	Na	Al	Cu	Ag	Pb
Punto 1		54,69	2,39	7,26	35,66	0,00
Punto 2	0,20	83,30		11,94	4,56	

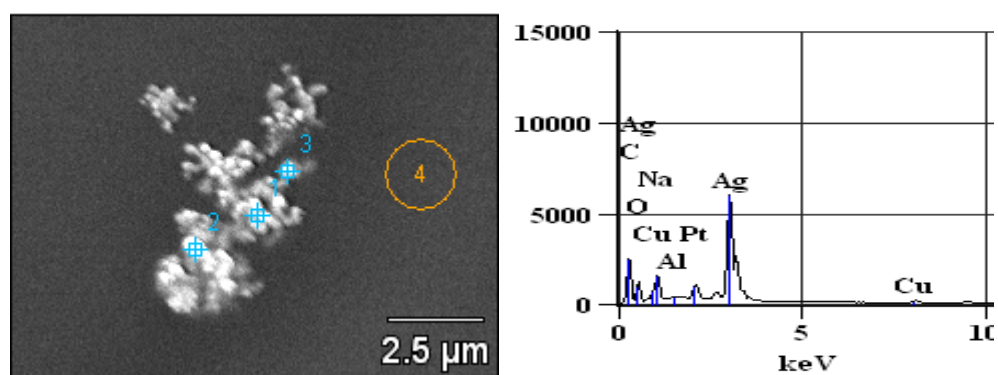


Figura 36. EDX 2. Microanálisis de aglomerados. Onda cuadrada
Micrografía. Magnificación: 10000x. La tabla N°4 reporta los valores de cada elemento

<i>TABLA 5: MICROANÁLISIS ONDA CUADRADA.</i>						
<i>MAGNIFICACIÓN:10000X</i>						
% en peso						
Zonas de análisis	Na	Al	Si	Cu	Ag	Pb
Punto 1	24,60	2,15		3,06	70,19	
Punto 2	30,81	1,63	1,03	5,08	61,45	
Punto 3	51,67			5,57	42,30	0,47
Punto 4	82,89			10,54	6,58	

Como se pudo observar, los aglomerados correspondían a partículas de plata, La presencia de cobre se debió al desgaste del disco de platino utilizado para el recubrimiento por el ionizador, El Si, N, O, Na, C, entre otros, son elementos constituyentes de las partículas de hidrogel, Un estudio por EDX así lo comprobó (ver Fig. 37),

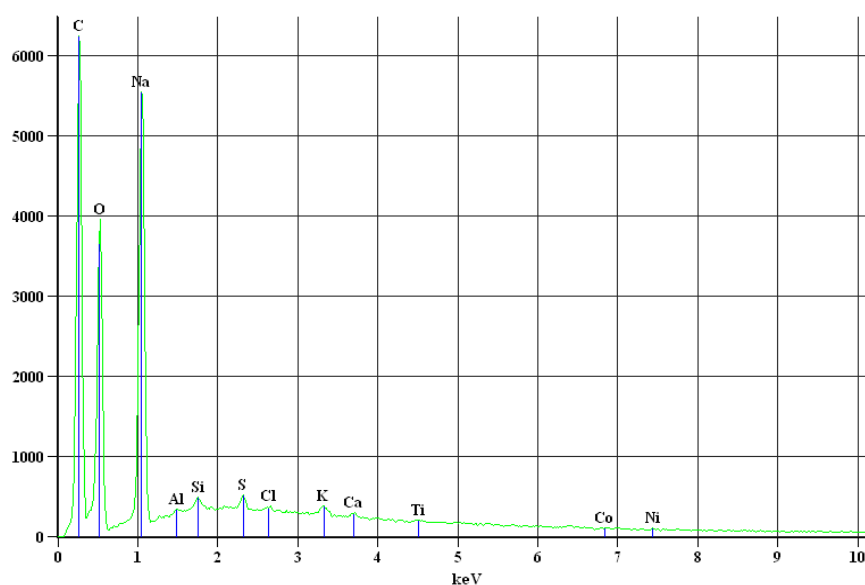


Figura 37. EDX. Microanálisis de hidrogel

Hubo ensayos que presentaron precipitados de AgCl, El cloruro de plata se manifestó en forma de anillos o discos (ver Fig. 38), Se presume que el Cl que conforma la estructura del hidrogel, se libera de la misma en el proceso de hidratación. Los iones cloruros interaccionaron con los iones Ag^+ y se alojaron alrededor de las AgNP's, Este producto sólo se obtuvo para los ensayos electroquímicos, debido a que se encontraban saturados de iones

plata, En los ensayos químicos, la cantidad de iones Ag son muy bajos y las reacciones realizadas presentan rendimientos en el orden de 80% [47],

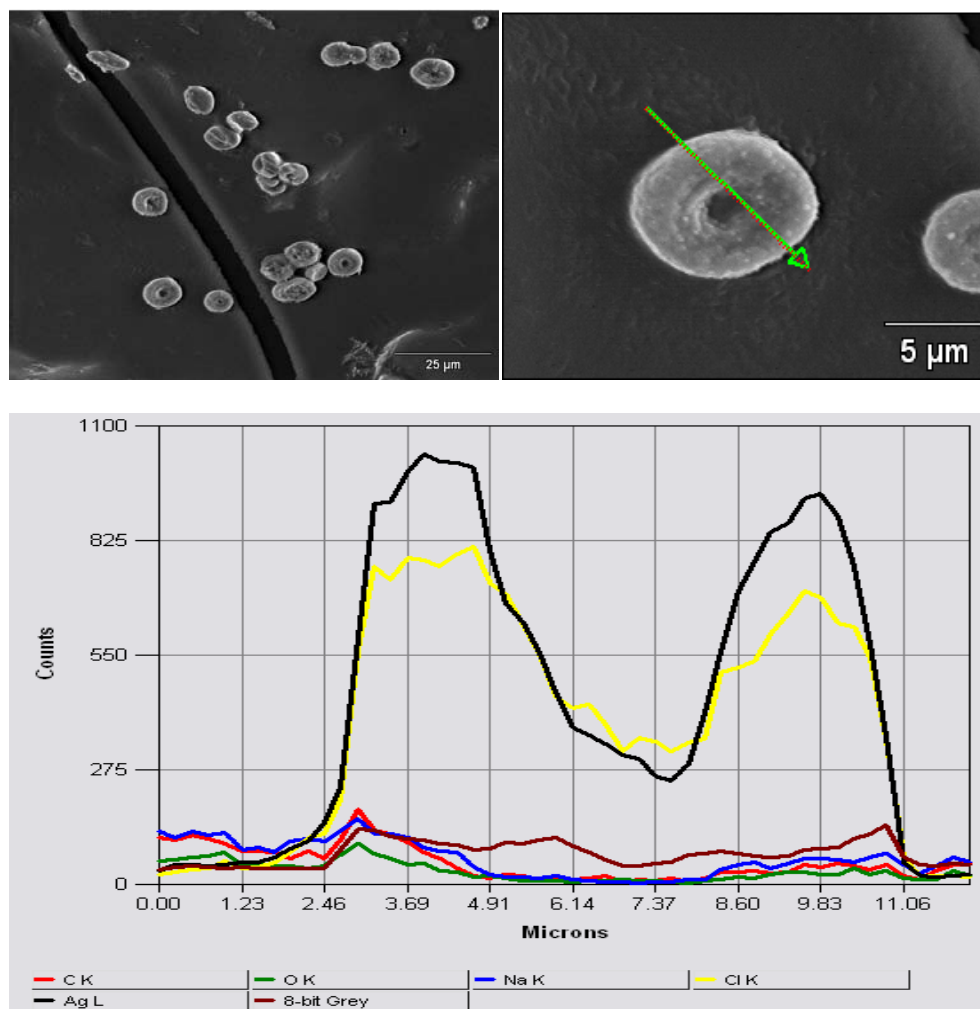


Figura 38. Contaminación por cloruros.
EDX del halo que envuelve las AgNP's. Partículas rodeadas por AgCl

4.2.3. Ensayos con el equipo comercial

La solución obtenida con el equipo silvergen, culminó a un tiempo superior a los 120 min. No presentó efecto Rayleigh ni coloración. Hubo un

comportamiento similar al presentado por las soluciones sintetizadas por corriente directa.

De igual manera fueron impregnadas en el hidrogel y visualizadas por microscopía electrónica. La medición de la muestra arrojó como resultado un diámetro de 321,05nm (ver Fig.39). Al comparar con los resultados obtenidos para las celdas Ag/Ag, presentó nanopartículas con mayor dimensión. Es probable que dado el tiempo de reacción superior, las partículas crezcan por reducción de iones en su superficie.

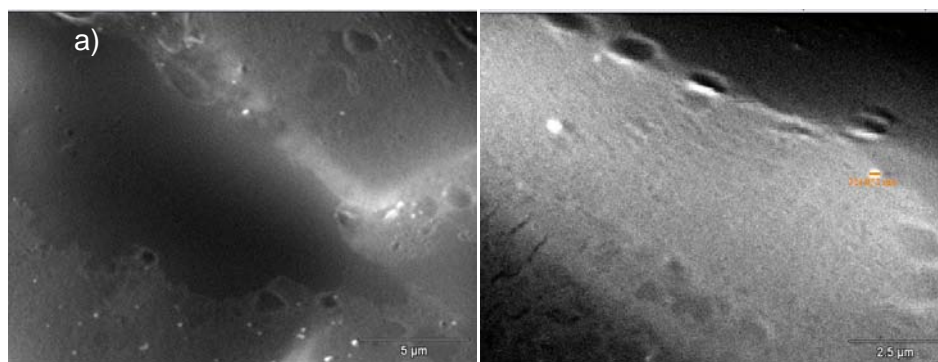


Figura 39. AgNP's obtenidas vía producto comercial
Magnificación: a) 6000x , b)10000x

4.2.4. Impregnación del polímero

Para la impregnación del polímero se utilizó una sonda tipos Foley, La sonda está constituida por látex en su interior y silicona en el exterior Se impregnaron por medio de una síntesis In Situ, donde se realizó la reacción de reducción en presencia del material, Otro método fue tratar superficialmente las membranas con temperatura a 80°C e introducir las en

las soluciones ya sintetizadas, Posteriormente se aplicó un lavado con agua destilada para evaluar cualitativamente la adhesión de las partículas,

Para impregnar los dispositivos se utilizó el método del citrato, Se realizaron tomas micrográficas del material impregnado por la AgNP's (ver Fig. 40),

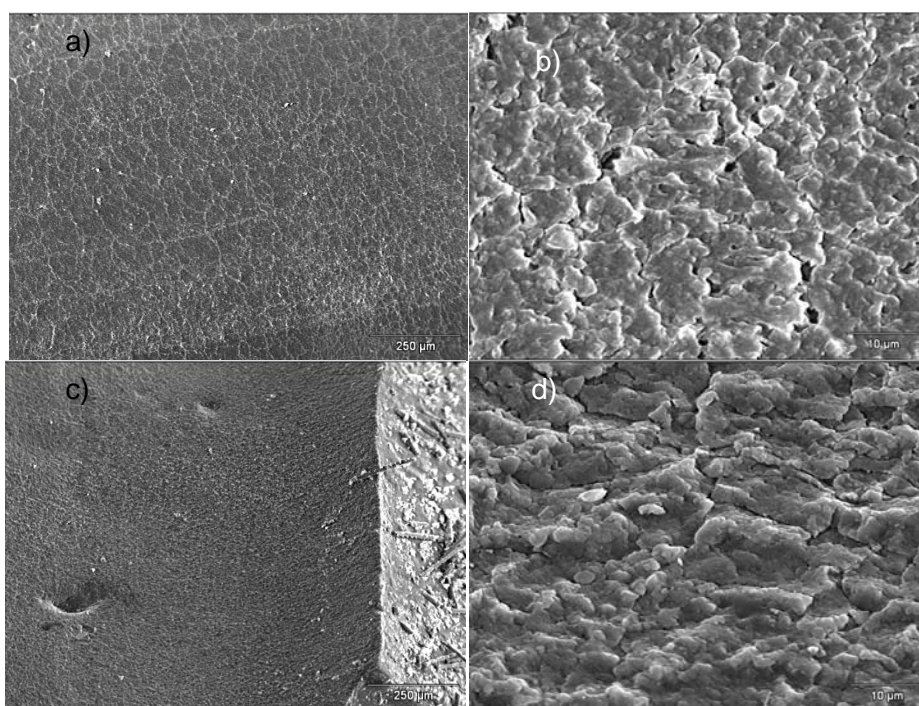


Figura 40, Dispositivo intracorporal impregnado con $C_6H_5O_7Na_3$ 1%
a y b) Superficie externa, c y d) Superficie interna, Magnificación: 100x , 2000x,

La impregnación de las partículas se verificó mediante un estudio de EDX (ver Fig. 41 y 42).. Los resultados se encuentran expresados en las tablas 6 y 7

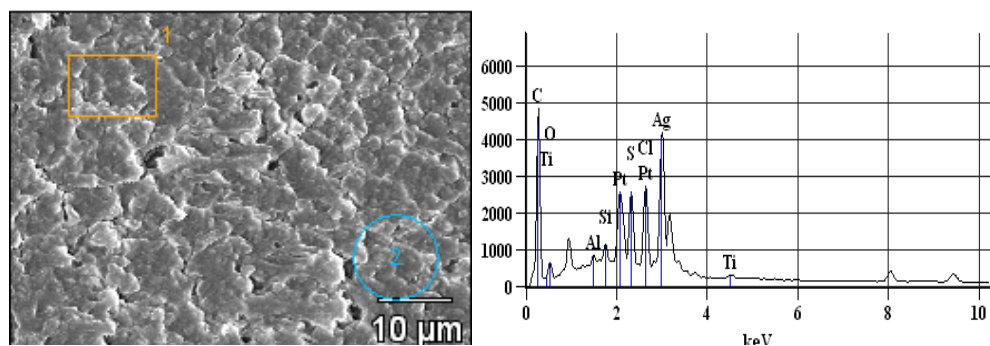


Figura 41. Dispositivo polimérico. Superficie externa impregnada con AgNP's

Micrografía, Magnificación: 2000x. Al lado EDX de la superficie.

TABLA 6: MICROANÁLISIS DISPOSITIVO INTRACORPORAL, SUPERFICIE EXTERNA							
% en peso							
Superficie externa	Al	Si	S	Cl	Ti	Zn	Ag
Punto 1	1,81	3,11	11,15	13,64	1,54		68,74
Punto 2	1,66	2,84	10,17	13,33	1,99	2,59	67,42

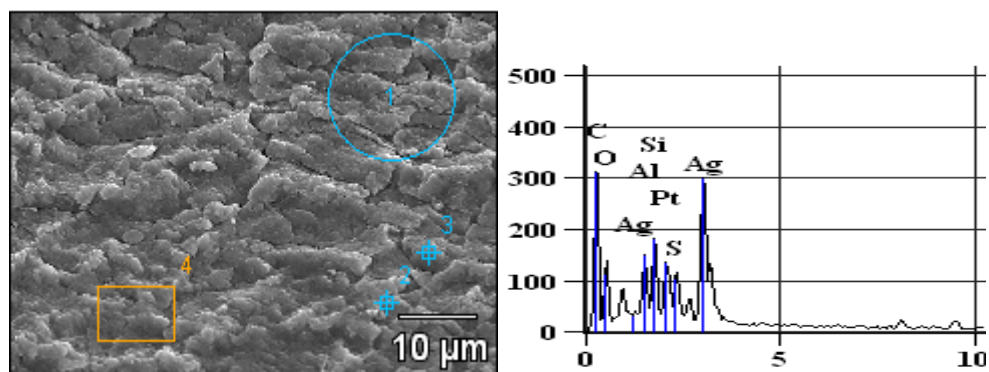


Figura 42. Dispositivo polimérico. Superficie interna impregnada con AgNP's

Micrografía, Magnificación: 2000x. Al lado EDX de la superficie.

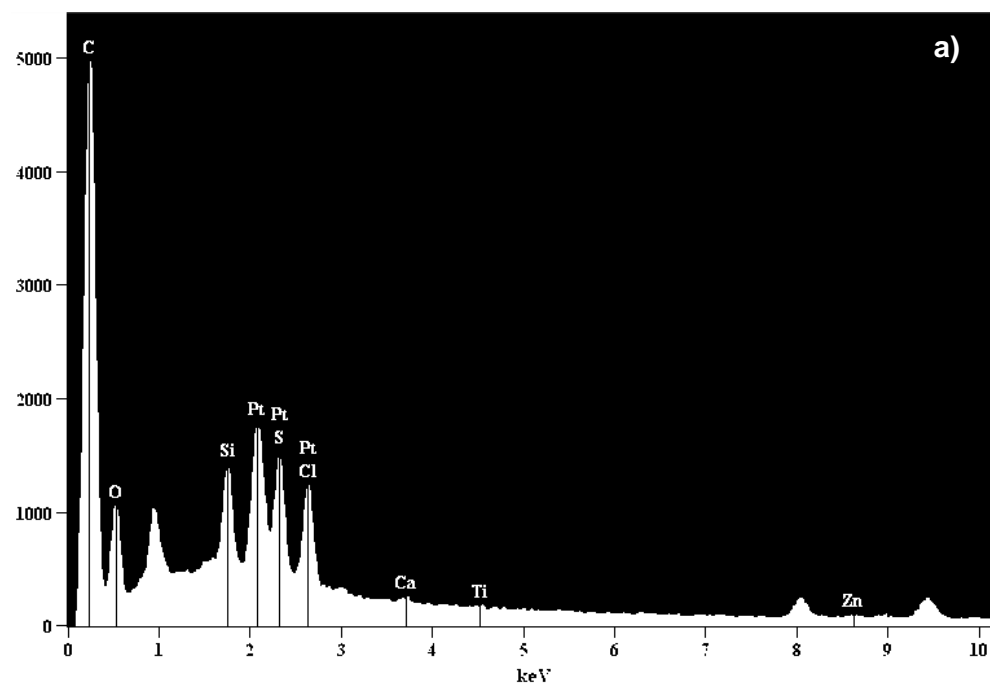
<i>TABLA 7: MICROANÁLISIS DISPOSITIVO INTRACORPORAL. SUPERFICIE INTERNA</i>					
% en peso					
Superficie interna	Al	Si	S	Zn	Ag
Punto 1	8,03	10,41	7,48		74,08
Punto 2	3,70	4,68	6,39	1,21	84,02
Punto 3	11,89	15,21	8,75		64,15
Punto 4	8,20	10,11	8,31		73,39

De igual manera se analizaron los dispositivos luego del lavado y se obtuvo como resultado una disminución del porcentaje de plata en la superficie externa alrededor del 50% y en la interna del 20 %, (ver Tabla 8), La presencia de los elementos S, Al, Si, Cl etc., se debe a que son elementos presentes en cada una de las estructuras de los materiales que constituyen la sonda (ver apéndice 6),

<i>TABLA 8. DISMINUCIÓN DEL PORCENTAJE DE PLATA</i>			
Superficie	% Ag promedio		ΔAg(%)
	Impregnada	Lavada	
Externa	68,08	12,70	55,38
Interna	67,23	41,78	25,45

La adhesión de las nanopartículas de plata a la superficie externa del material no es perdurable, Si se observan la micrografías de las Fig.40 a la 42, el material externo de la sonda luce más uniforme que el de la superficie interna, Se puede decir que hay un efecto de arrastre de las partículas por la acción del fluido,

El método de tratamiento superficial, fue ineficaz, No hubo impregnación de las AgNP's en el dispositivo médico intracorporal (sonda Foley) (ver Fig.43).



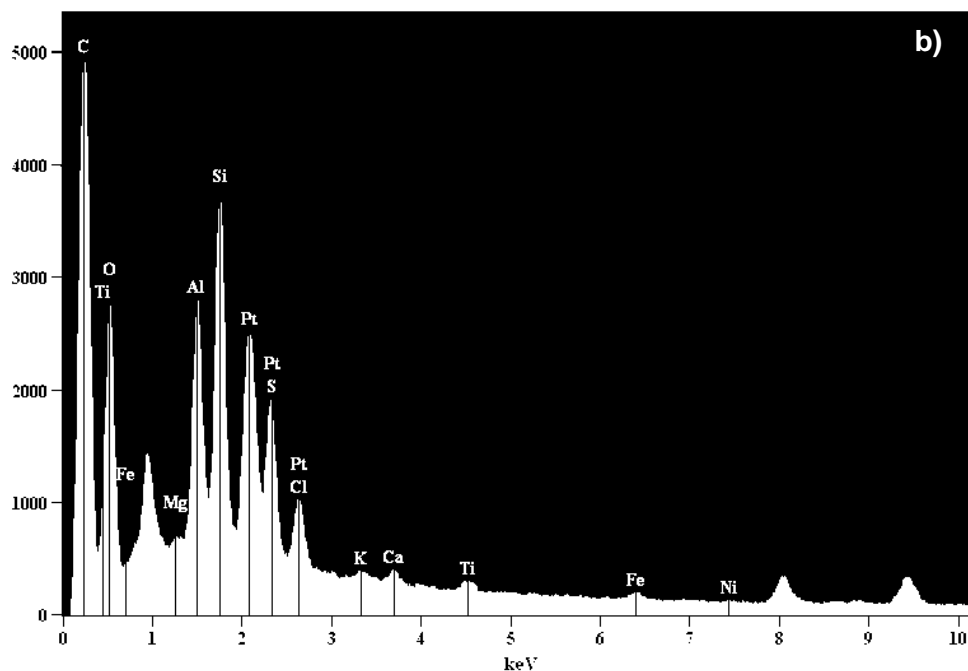


Figura 43. Análisis elemental (EDX) del dispositivo tratado superficialmente

a) Superficie externa y b) Superficie interna, de la sonda

Se puede notar que no hubo presencia de Ag en alguna de las superficies. La acetona no fungió efecto de adhesión de las AgNP's presentes en la solución a los materiales de los dispositivos (siloxanos).

4.2.5. Ensayos microbiológicos

4.2.5.1. Método de evaluación para antibióticos

El ensayo empleado para la determinación de la actividad antibacteriana no presentó el halo de inhibición esperado para alguna de las cepas estudiadas (ver Fig.44).

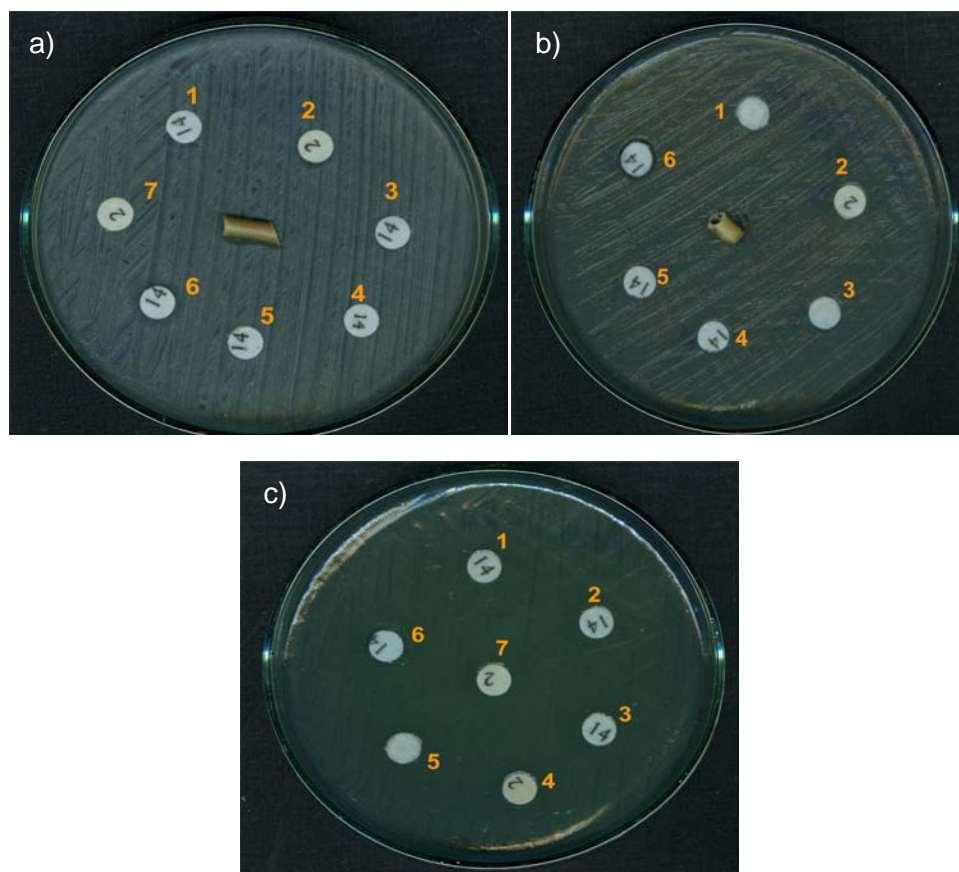


Figura 44. Evaluación de susceptibilidad de las diferentes soluciones y del dispositivo tipo catéter.

a) *Staphylococcus aureus* ATCC-25923, b) *Escherichia coli* ATCC-25922, c) *Pseudomonas aeruginosa* ATCC-27853. Leyenda. Soluciones: 1) Celda E_{23} $t=20\text{min}$ ($V=5\mu\text{L}$). 2) $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ 10^{-4}M ($V=5\mu\text{L}$). 3) Onda cuadrada ($V=5\mu\text{L}$). 4) Producto comercial ($V=5\mu\text{L}$). 5) Celda E_{23} $t=20\text{min}$ ($V=10\mu\text{L}$). 6) $\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7\text{Na}_3$ 10^{-4}M ($V=10\mu\text{L}$). 7) Onda cuadrada ($V=10\mu\text{L}$)

El ensayo utilizado se basó en la inoculación de tres cepas clásicas para evaluar control de calidad a los discos de antibióticos. Sin embargo, este procedimiento no aplica para la medición de actividad bacteriana [49].

Según el procedimiento, las soluciones se encontraban muy diluidas como para ejercer alguno de los mecanismos de interacción con las bacterias.

Aún cuando, los diámetros promedios no contemplen dimensiones menores a los 50nm, el efecto de inhibición de los iones Ag^+ sobre la actividad citoplasmática no debería verse afectado. Sin embargo, Moyer y Fox establecieron que la concentración mínima para que los iones platas tuvieran actividad antibacteriana es del 0,5%. Si se considera, que las soluciones obtenidas presentaron una concentración alrededor de 20 ppm, según determinado por conductometría, la concentración empleada equivale a 5×10^{-4} ppm. A partir de la concentración en partes por millón, se determinó que la cantidad utilizada fue de 0,05%, 10 veces menos a lo establecido por los investigadores.

4.2.5.2. Método de evaluación de Fagos

Para evaluar la actividad antibacteriana por éste método, se escogió una cepa de *Escherichia coli* CVCM126, debido a que es una de las bacterias más sensibles y abundantes en el organismo y medio. Como medio de cultivo se utilizó agar Luria Bertanis, depositado uniformemente en la cápsula de petri..

Primero se realizó un ensayo patrón para evaluar el grado de contaminación de las soluciones. Posteriormente, luego de preparar las cápsulas de Petri con el medio de cultivo, se distribuyeron las bacterias en

forma confluyente, en una concentración de 0,1 cantidades/mL de un cultivo bacteriano de 10^8 bacterias. La dilución corresponde a 10^7 bacterias. La concentración de bacterias empleada correspondió a un valor exagerado con respecto a la realidad del medio ambiente.

Como resultado se obtuvieron soluciones estériles. En la placa control no se observó crecimiento bacteriano luego de la incubación (24 h) (ver fig. 45 a). La figura 45b, muestra un halo de inhibición de la actividad bacteriana, lo cual indica un efecto bactericida generado por la solución de AgNP's obtenidas por el método de Lien Miesel. La figura 45c, corresponde a la cápsula donde se evaluó la solución de la celda E₂₃. Igualmente se puede observar la actividad antibacteriana de la solución obtenida electroquímicamente.

Si se compara la actividad antibacteriana de las soluciones obtenidas en el laboratorio, con la de la solución sintetizada con el producto comercial, presentó mayor efectividad las soluciones sintetizadas por los métodos convencionales y los no convencionales desarrollados en el procedimiento experimental.

Si se detallan las imágenes de la figura 25, los halos de inhibición se presentaron en las tres soluciones. Sin embargo, la cápsula de la solución obtenida por el producto comercial, presenta en el interior del halo pequeños puntos que corresponden a colonias de bacterias de *E. coli* , resistentes a la plata coloidal. Aún cuando las otras soluciones presentaron

pequeñas colonias, la solución comercial se encontraba más poblada que las demás. Ésta última solución fue menos efectiva en la función bactericida que las soluciones realizadas por los métodos del citrato de sodio y disolución anódica.

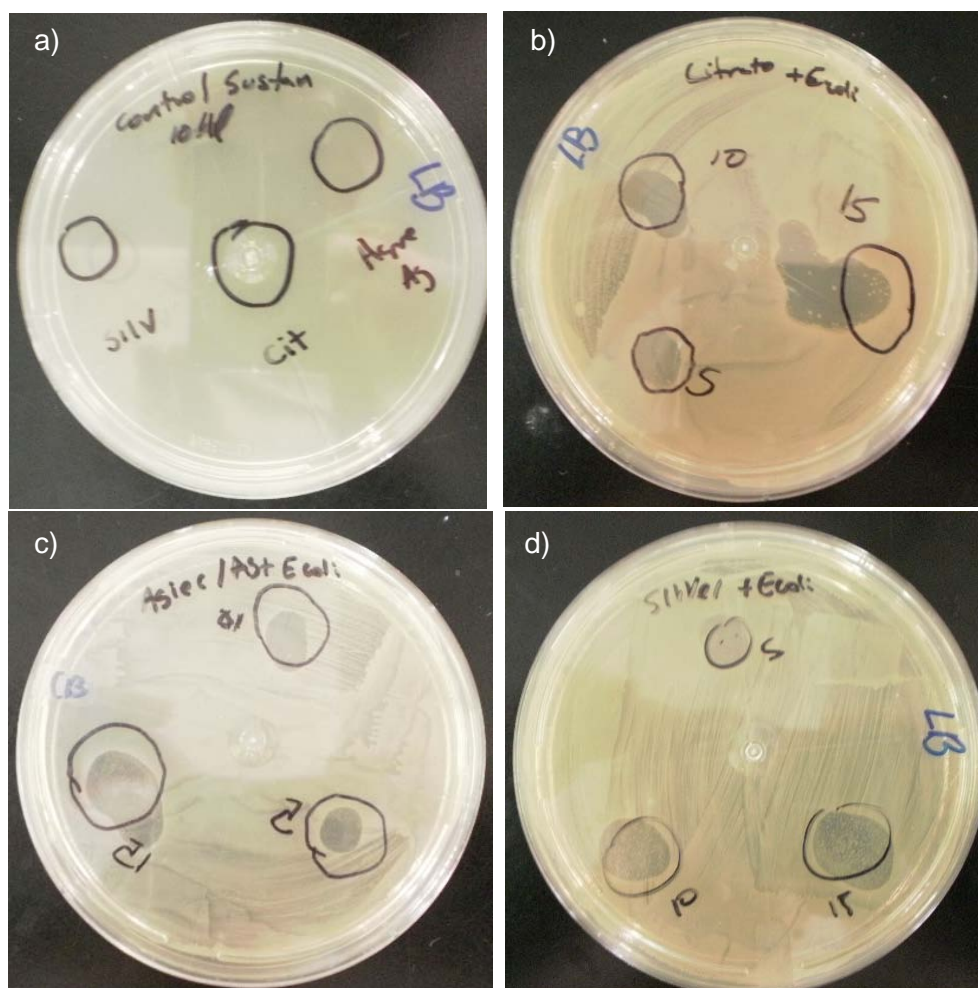


Figura 45. Evaluación de las soluciones sintetizadas. Método estándar de evaluación de fagos.

- a) Cápsula patrón. b) Solución de citrato de sodio. c) Solución celda Ag_{rec}/Ag_{def} . d) Solución equipo comercial (Silvergen).

5. CONCLUSIONES

1. Se obtuvieron nanopartículas de plata (AgNP's) mediante dos técnicas de reducción química y tres procedimientos electroquímicos, entre ellos un dispositivo comercial.
2. En las soluciones sintetizadas por vía química, se obtuvo AgNP's de geometría esférica.
3. Los diámetros promedios de partículas fueron de 96,50 y 453,00 nm para las soluciones sintetizadas por los métodos del borohidruro y citrato de sodio respectivamente.
4. El PVA ejerce un mayor control sobre el tamaño de la partícula. El citrato de sodio debe agregarse en concentraciones específicas para evitar efecto estérico.
5. En los procedimientos electroquímicos se determinó que:
 - 5.1. Las nanopartículas obtenidas para cada celda de reacción presentaban características morfológicas y de aglomeración similares para todos los casos. Se obtuvo NP de forma esférica con una tendencia a aglomerarse cúbicamente.
 - 5.2. La tendencia presentada por la formación de agregados (cluster) coincidió con el mecanismo de reducción de Michael y Zuh, disolución anódica, nucleación y formación de clusters.
 - 5.3. Se determinó que luego de alcanzar el máximo de intensidad de corriente y concentración de iones, es posible visualizar los núcleos de

AgNP's que crecen en el tiempo durante el proceso de disolución anódica.

5.4. Por medio de las mediciones conductométricas, se estableció que el tiempo de reacción influye sobre la concentración de los iones Ag^+ y la corriente de saturación. A mayor tiempo de reacción los iones tenderán a reducirse a plata metálica y la intensidad de corriente disminuye.

5.5. La distancia entre los electrodos tiene un efecto directamente proporcional sobre la velocidad de la disolución anódica, e inversamente proporcional sobre la intensidad de corriente máxima.

5.6. La variación de los electrodos no afecta las relaciones distancia-tiempo- $I_{\text{máx}}$ - I_{sat} . Sólo influye sobre la velocidad de reacción

6. En los ensayos con onda cuadrada no se logró definir morfología para este método, hubo formación de aglomerados. Este sistema afectó significativamente la formación de precipitados de plata metálica. La inversión de la polaridad genera desprendimiento de la plata depositada en el cátodo.
7. El método In Situ (Síntesis sobre el sustrato) logró una mayor penetración en la matriz de los materiales. Sin embargo, la adherencia no fue resistente al paso de un flujo constante. Se presentó una disminución del contenido de plata en las superficies externa e interna.

8. La evaluación antibacteriana arrojó un resultado positivo para el método de falo. Se obtuvo un halo de inhibición de la actividad bacteriana.
9. Las soluciones obtenidas experimentalmente presentaron mayor poder antibacteriano que la solución producida por el equipo comercial.

6. RECOMENDACIONES

Para las síntesis químicas de AgNP's es necesario contar con procedimientos que permitan evaluar parámetros para el control de tamaño de partícula (Medidor de potencial Z, Viscosímetros, etc.) durante la reacción.

Los análisis bacterianos deben ser realizados bajo otros protocolos que permitan realizar la cuantificación de las bacterias y determinar su interacción con las superficies impregnadas con las AgNP's.

7. REFERENCIAS

1. Michael Z. Hu, C.E.E., *A novel thermal electrochemical synthesis method for production of stable colloids of "naked" metal (Ag) nanocrystals*. Materials Science and Engineering C 2009. **29**: p. 726–736.
2. Mónica Bolis, c., *INFECCIONES HOSPITALARIAS. Legislación para América Latina*, in *Documento Técnico.HDM/CD/A/500-07*, O.R.d.I.O.M.d.I. Salud, Editor. 2007.
3. Charles P. Poole Jr, F.J.O., *Propiedades de las nanopartículas individuales*, in *Introducción a la Nanotecnología*, Reverté, Editor. 2007: Barcelona-España. p. 79-109.
4. Bhushan, B., *Introduction to nanotechnology*, in *Handbook of Nanotechnology*, B. Bhushan, Editor. 2004: Berlin. p. 1-5.
5. Vijay R. Chaudhari , S.K.H., S.K. Kulshreshtha, and P.A.H. J.R. Bellare, *Micelle assisted morphological evolution of silver nanoparticles*. Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 2007. **301**: p. 475–480.
6. Virender K. Sharma □, R.A.Y., Yekaterina Lin, *Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities*. Advances in Colloid and Interface Science, 2009. **145**: p. 83-96.
7. Ernout, A.A.M., *Histoire des mots*, in *Dictionnaire Étymologique de la langue latine*, L.C. Klicksieck, Editor. 1939: París.
8. Klasen, H.J., *Historical review of the use of silver in the treatment of burns I. Early uses*. Burns, 2000. **26**: p. 117-130.
9. Moyer CA, B.H., *Shock and plasma volume regulation*. Burns, 1967: p. 274-354.
10. Klasen, H.J., *A historical review of the use of silver in the treatment of burns II. Renewed interest for silver*. Burns, 2000. **26**: p. 131-138.
11. Janardhanan R, M.K.e.a., *Synthesis and surface chemistry of nano silver particles*. Polyhedron 2009. **28** p. 2522–2530.
12. U. Klueh, V.W., S. Kelly, A. Johnson, J.D. Bryers, J. , *Biomed. Mater.* , 2000. **53**: p. 621.
13. J. Yan, J.C., US, Editor. 2003: USA.
14. Der-Chi Tien, K.-H.T., Chih-Yu Liao, Tsing-Tshih Tsung, *Colloidal silver fabrication using the spark discharge system and its antimicrobial effect on Staphylococcus aureus*. Medical Engineering & Physics 2008. **30**: p. 948–952.
15. L. Baia, D.M., M. Baia, J. Popp, S. Simon, *Structural properties of silver nanoclusters–phosphate glass composites*. Vibrational Spectroscopy 2007. **43**: p. 313–318.

16. González, C.J.E., *Propiedades Físicas y Químicas de Partículas Metálicas de Tamaño Nanométrico. Nanopartículas de Plata*. Diseño de Materiales Poliméricos Avanzados. , 2007. **6**: p. 23-27.
17. Yu A Krutyakov, A.A.K., A Yu Olenin, G V Lisichkin, *Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects*. Russian Chemical Reviews, 2008. **(3)** (77): p. 233 - 257.
18. Yu A Krutyakov, A.A.K., A Yu Olenin, G V Lisichkin, *Synthesis and properties of silver nanoparticles: advances and prospects*. Russian Chemical Reviews 2008. **(3)** (77): p. 233 - 257.
19. Mahendra Rai □, A.Y., Aniket Gade, *Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials*. Biotechnology Advances, 2009. **27**: p. 76-83.
20. Monge, M., *NANOMATERIALES DE PLATA: PROPIEDADES BACTERICIDAS.*, in *Departamento de Química*. 2009, Universidad de la Rioja: España.
21. Amit Gupta, M.M., and Simon Silver, *Effects of Halides on Plasmid-Mediated Silver Resistance in Escherichia coli*. Applied and Environmental Microbiology, 1998. **64**: p. 5042.
22. Matsumura Y, K.Y., Kunisaki S-I, Tsuchido T., *Mode of Bactericidal Action of Silver Zeolite and Its Comparison with That of Silver Nitrate*. Applied and Environmental Microbiology, 2003. **69**: p. 4278.
23. G N R Tripathi, M.C.J., *Adsorption of 2-Mercaptopyrimidine on Silver Nanoparticles in Water*. The Journal Physical chemistry, 2003. **B 107**(40): p. 11125-11132.
24. Sharma Virender, e.a., *Polimer silver nanoparticle*.In: *Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities*. Advances in Colloid and Interface Science 2009. **145**: p. 89.
25. Skoog D, J.H.y.S.C., *Caracterización de superficies por espectroscopía y microscopía*, in *Principios de análisis Instrumental*, M.G. Hill, Editor. 2001: Madrid. p. 593-597.
26. Sartor, M., *Dynamic Light Scattering*, U.o. California, Editor. 2003, University of California San Diego. p. 21.
27. Pecora, B.y., *Dynamic light scattering*, J. Wiley, Editor. 1975.
28. Álvarez, M., *Estructuras supramoleculares generadas por derivados de ácidos biliares y ciclodextrinas*, in *Facultad de Ciencias*, Universidad de Santiago de Compostela: Santiago de Compostela. p. 418.
29. De Pedro, J.A.D., J. Blanco, J. De Cabo, A. San Román, J, *Biomateriales en cirugía y ortopedia*, in *Propedeútica quirúrgica: preoperatorio, operatorio y postoperatorio*, J. Arias, Editor. 2004. p. 527-523.
30. Misch, C.E., *Biomateriales para implantes in Implantología Contemporánea*, ELSIEVER, Editor. 2009. p. 524-530.

31. Española, R.A.d.I.L., *Diccionario de la Lengua Española*. 2001: <http://buscon.rae.es/drae/>.
32. Puigdomènech, P., *Las plantas, el mundo de la botánica*, in *Enciclopedia de las Ciencias*, E.O. S.A, Editor. 1986. p. 132.
33. Rojas, J.R., María; Meccia, Gina; Morales, Antonio. (2009) *Análisis por CG/EM de hidrocarburos y compuestos terpénicos en las especies Euphorbia caracasana Boiss y Euphorbia cotinifolia L. (Euphorbiaceae)*. .
34. Vian Ortuño, Á., *Introducción a la química industrial*, ed. E. Reverté. 1999.
35. Benguria P, E.A., *Tipos y cuidados de sondas*, U.C.d. Chile, Editor: Santiago de Chile.
36. Botella, c. *Cateterismo o sondaje vesical*. Técnicas en atención primaria 2007 01/03/2007 [cited 2010 22/04].
37. Caballero, R.A., *Absorción de AgNP's en esferas de hidrogel comercial*. 2010: Ciudad Universitaria de Caracas.
38. Sileikaite A, P.I., Puiso J, Juraitis A y Guobiene A., *Analysis of silver nanoparticles produced by chemical reduction of silver salt solution*. Materials science., 2006. **12**(4): p. 287-291.
39. Sileikaite, A.P., Igoris, *Analysis of silver nanoparticules produced by chemical reduction of silver salt solution*. Materials science., 2006. **12**(4): p. 287-291.
40. Marcos Marques da Silva Paula , C.V.F., Mario César Baldin , Larissa Rodrigues , and G.D.S. Tatiana Barichello , Luiz Felipe Bellato , Márcio Antônio Fiori , Luciano da Silva *Synthesis, characterization and antibacterial activity studies of poly-{styrene-acrylic acid} with silver nanoparticles*. Materials Science and Engineering C, 2009. **29**.
41. company, M.I.L.e.S. *Dynamic Light Scattering Instrumentation for classical 90 degree scattering measurements*. 2010.
42. Torres, L., *evaluación de susceptibilidad de las diferentes soluciones y del dispositivo tipo cateter*. 2010: Ciudad Universitaria de Caracas. p. 1-3.
43. Culture, N.C.o.T.o., *Catalogue of the UK National Culture Collection*, W.F.f.c. collection, Editor. 2009: Londres.
44. Angshuman Pal, S.S., Surekha Devi, *Microwave-assisted synthesis of silver nanoparticles using ethanol as a reducing agent*. Materials Chemistry and Physics 2009 **114**: p. 530–532.
45. Xiao-Dong Ma, X.-F.Q., Jie Yin and Zi-Kang Zhu, *Preparation and characterization of polyvinyl alcohol–selenide nanocomposites at room temperature*. Materials chemistry, 2002. **12**: p. 663-666.
46. A.L. Wang, H.B.Y., M. Red, X.N. Cheng, Q.F. Zho and X.F. Zhang, *Effects of different funtional group-containing organics on*

- morphology-controlled synthesis of silver nanoparticles at room temperature.* *Acts Metall. Sin. (Engl. Lett.)*, 2006. **19** (5): p. 362-370.
47. A Henglein, M.G., *Formation of colidal silver Nanoparticles: capping action of citrate.* *Physical Chemistry B*, 1999. **103**(44): p. 9533.
 48. Wade., L.G., *Efectos estructurales sobre la reacción SN2*, in *Química orgánica*, P. education, Editor. 1993. p. 194.
 49. Liao J, Z.Z., Mo Anchum, Li Lei, *Deposition of silver nanoparticles on titanium surface for antibacterial effect.* *International Journal of Nanomedicine*, 2010: p. 261-267.

8. APÉNDICES

APÉNDICE 1: Microanálisis de PVA con partículas de plata en su estructura

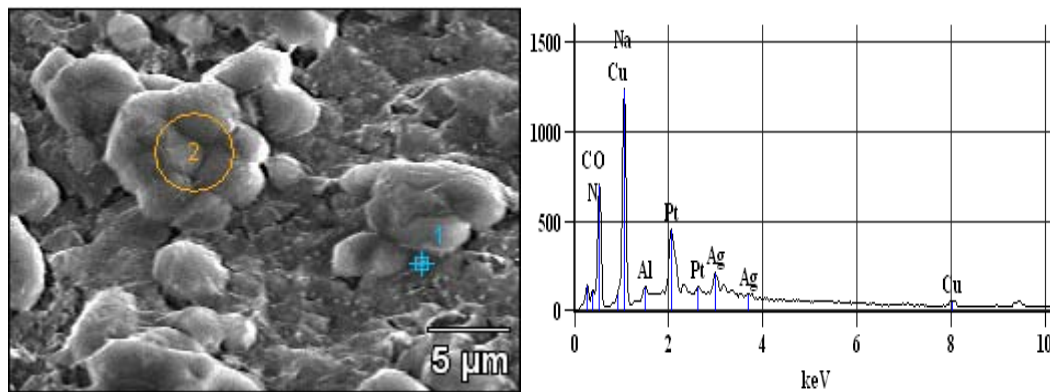


Figura 46. Análisis elemental. PVA como dispersante

TABLA 9. ANÁLISIS ELEMENTAL DE AGLOMERADOS DE PVA					
%Peso					
Zona de análisis	N	Na	Al	Cu	Ag
Punto 1	9,03	53,97	0,12	19,47	17,41
Punto 2	43,63	52,54		3,83	

APÉNDICE 2. Muestra q₂. Síntesis relación AgNO₃:NaBH₄ [2:3].

Corroboración de síntesis in situ.

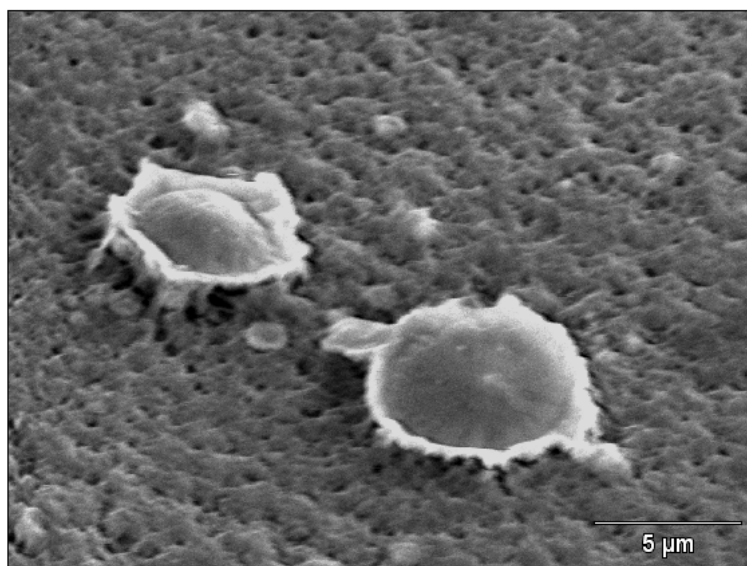


Figura 47. Método del NaBH₄. Relación [2:3] con adición Micrografía. Magnificación: 5000x
Muestra Q₂. Polimerización del PVA con AgNP's en su interior. de PVA como dispersante.

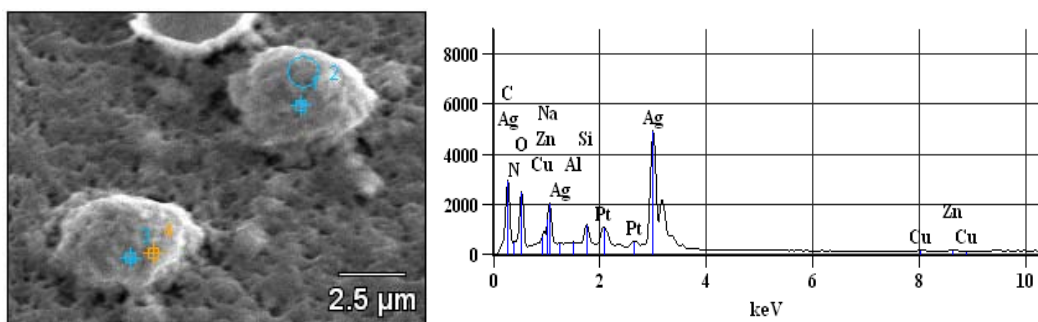


Figura 48. Método del NaBH₄. Relación [2:3] con adición de PVA como dispersante. EDX.
Polimerización del PVA con AgNP's en su interior.. . Micrografía muestra Q₂ Magnificación: 8000x.

Tabla 10: Muestra Q2. Análisis químico (microanálisis).

% en peso									
Zona	N	Na	Al	Si	K	Ti	Cu	Zn	Ag
1	3,31	8,05		1,20			2,19	4,17	81,08
2	5,84	10,36	1,80	9,89	1,91	0,47	3,56	5,77	60,38
3	4,68	9,06		1,26			1,86	3,93	79,20
4	8,51	14,09	1,24	3,45			3,04	5,64	64,04

APÉNDICE 3. Síntesis de AgNP's. Procedimiento de Turkevich



Figura 49. Montaje de reacción. Método del citrato

APÉNDICE 4. Gráficos de intensidad vs tiempo. Registros de programa lobbies.

Gráfico 9 Celda E11. Agdef/Agdef

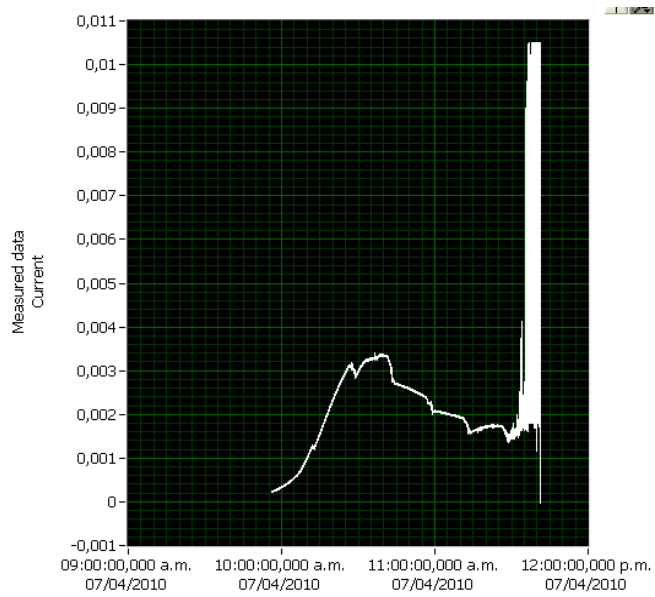


Gráfico 10. Celda E12 Agdef/Agdef.

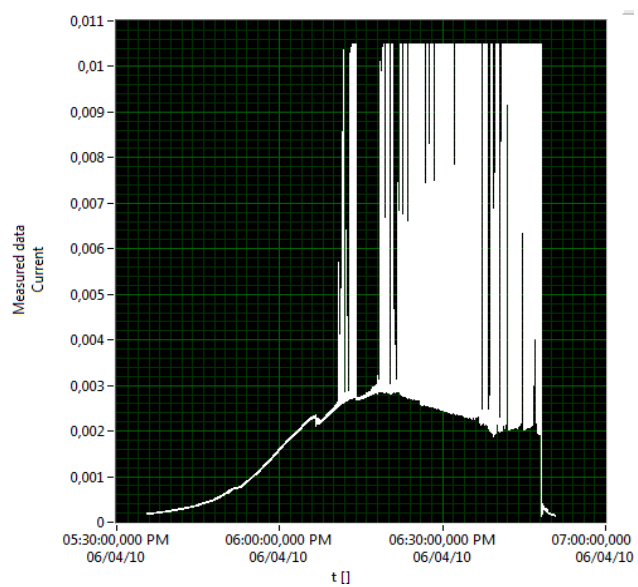


Gráfico 11. Celda E13. Agdef/Agdef.

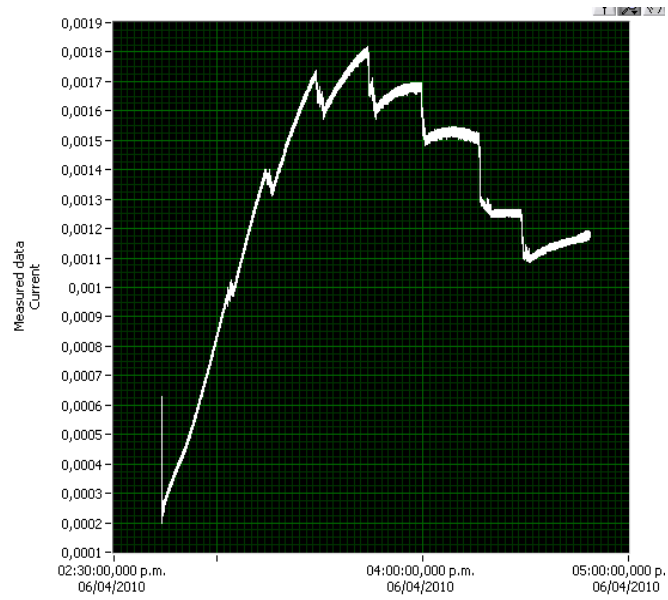


Gráfico 12. Celda E21. Agdef/Agrec.

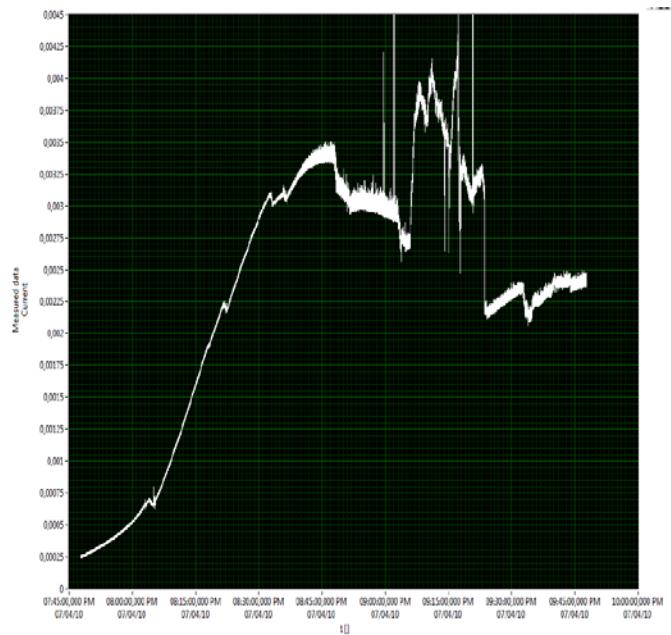


Gráfico 13. Celda E22. Agdef/Agrec.

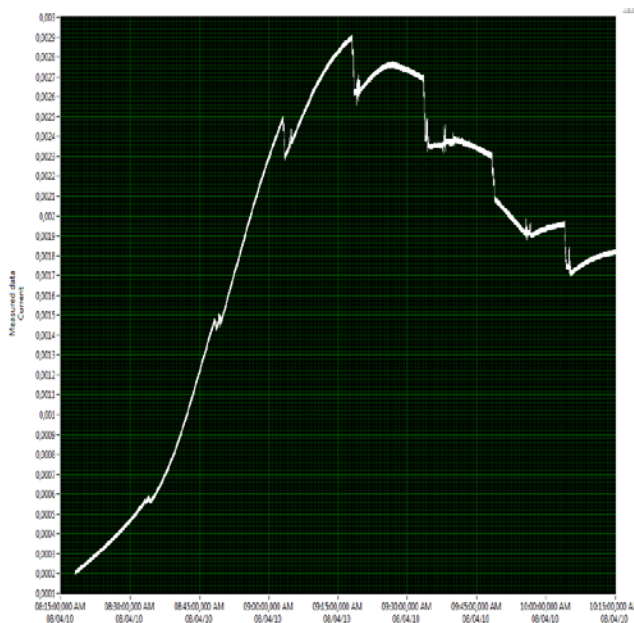


Gráfico 14. Celda E23. Agdef/Agrec.

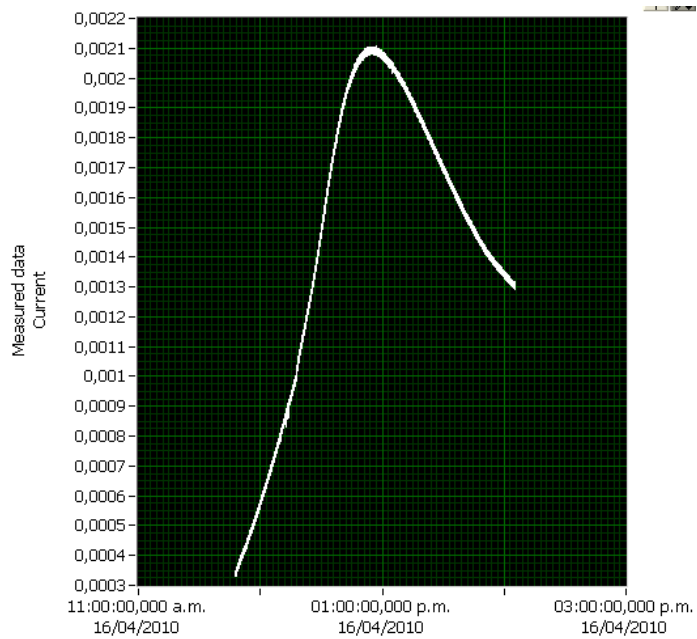


Gráfico 15. Celda E31. Agrec/Agrec.

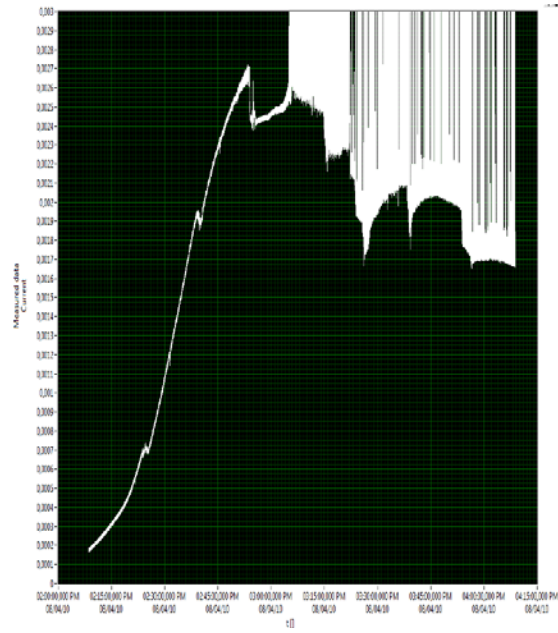


Gráfico 16. Celda E32. Agrec/Agrec.

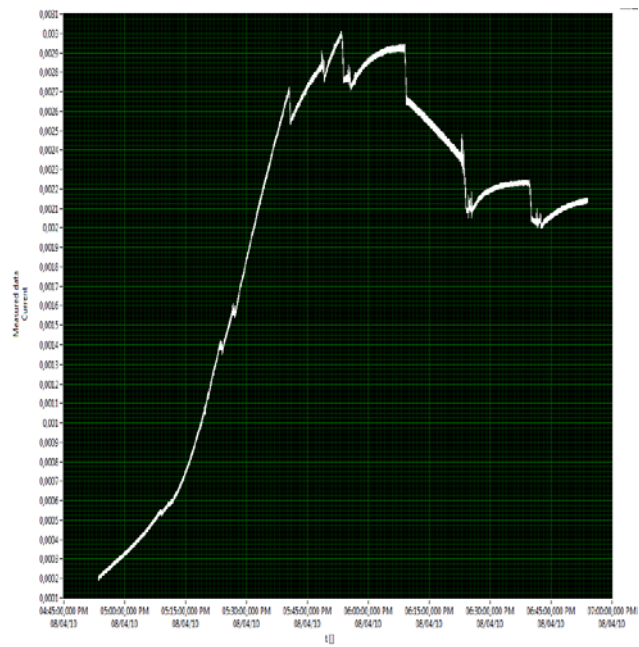


Gráfico 17. Celda E33. Agrec/Agrec.

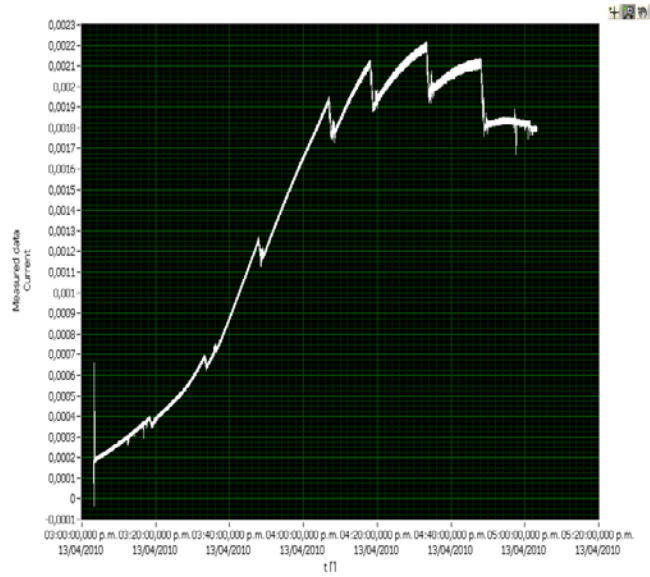


Gráfico 18. Celda E41. Agrec/Agdef.

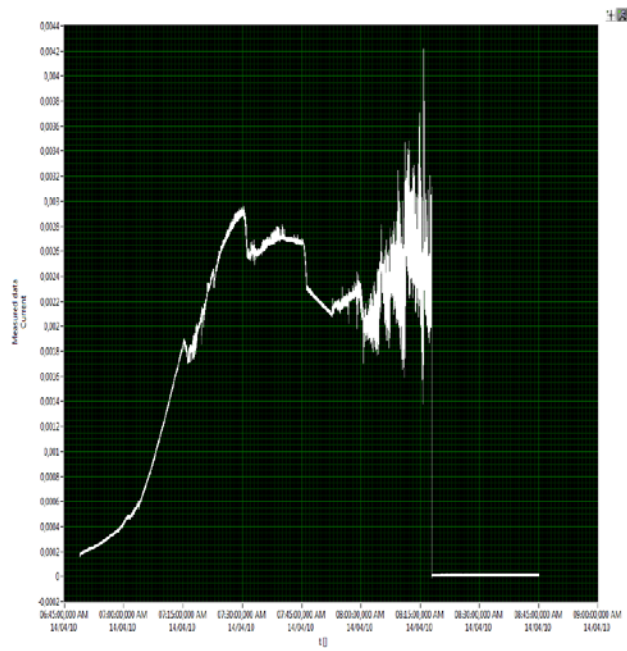


Gráfico 19. Celda E41. Agrec/Agdef.

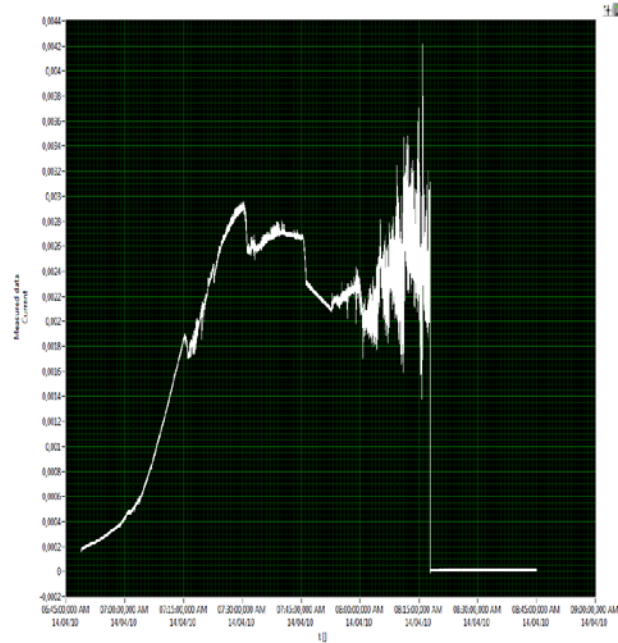


Gráfico 20. Celda E42. Agrec/Agdef.

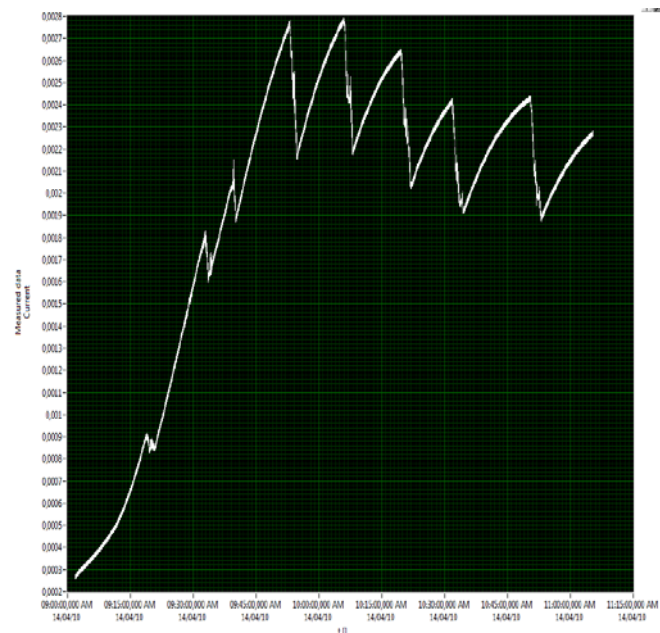


Gráfico 21. Celda E43. Agrec/Agdef.

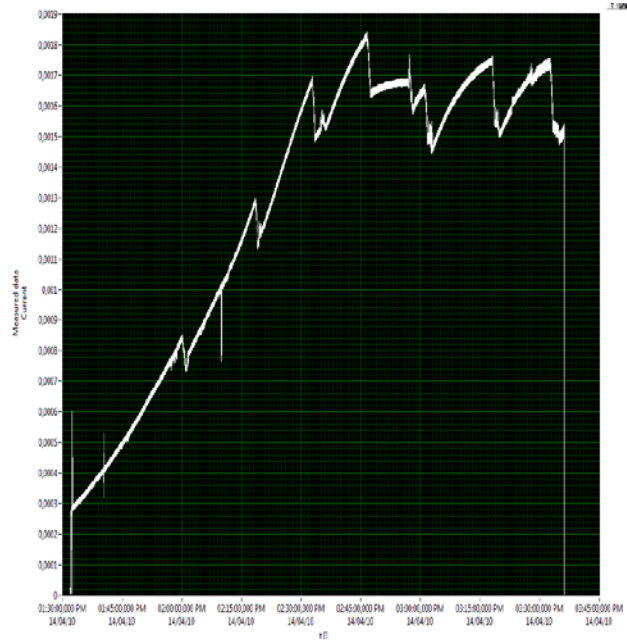


Gráfico 22. Celda E51. Agdef/Ti.

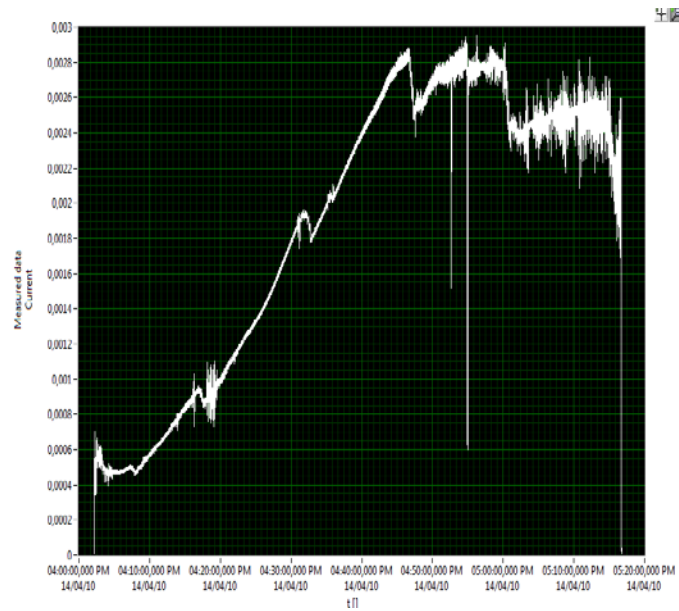
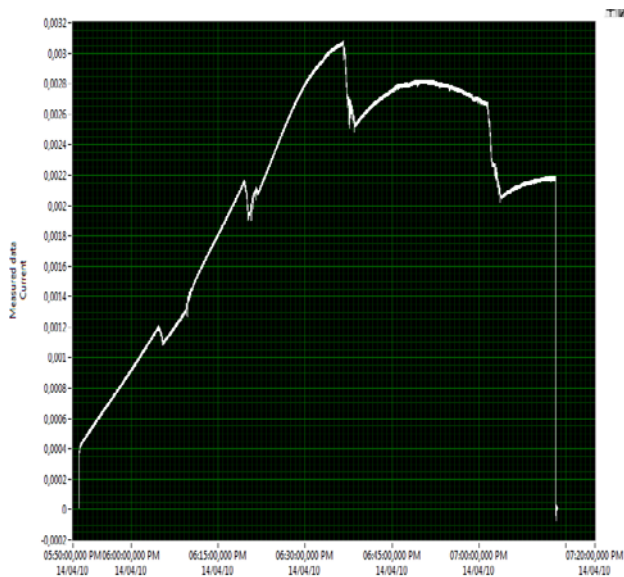
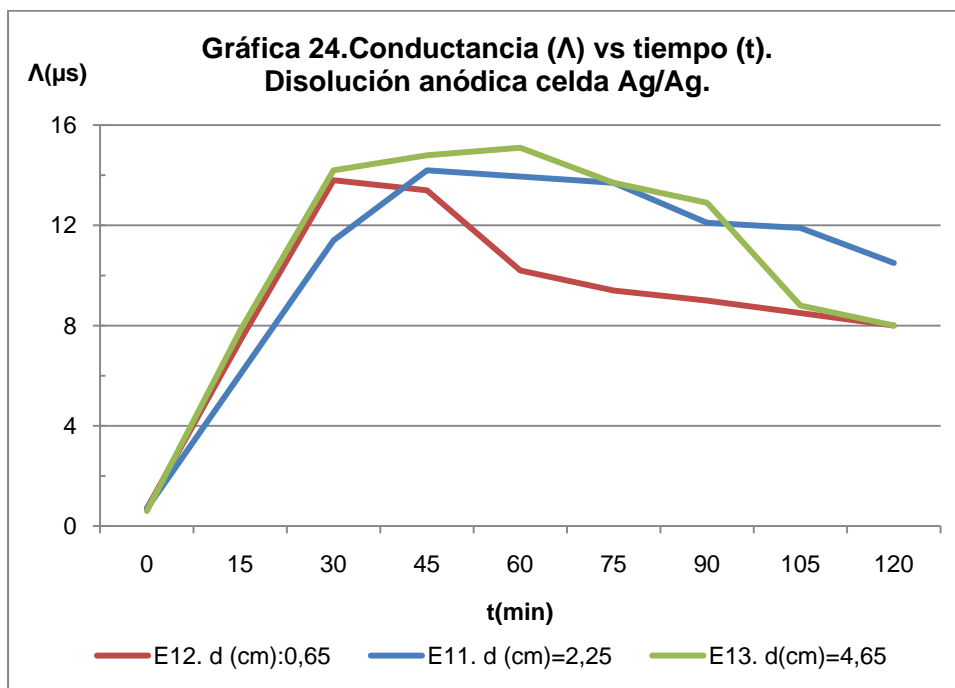
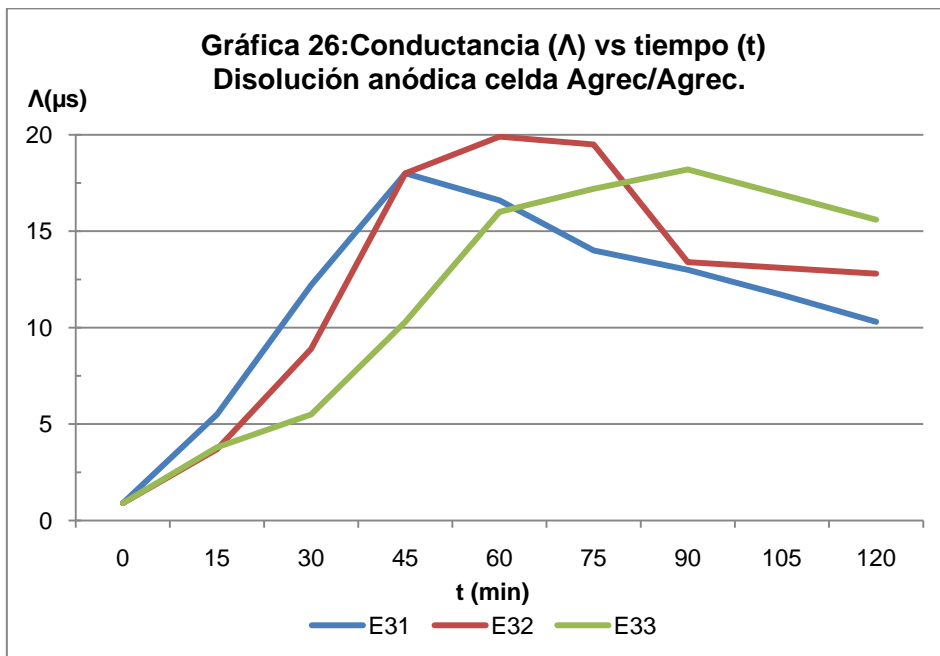
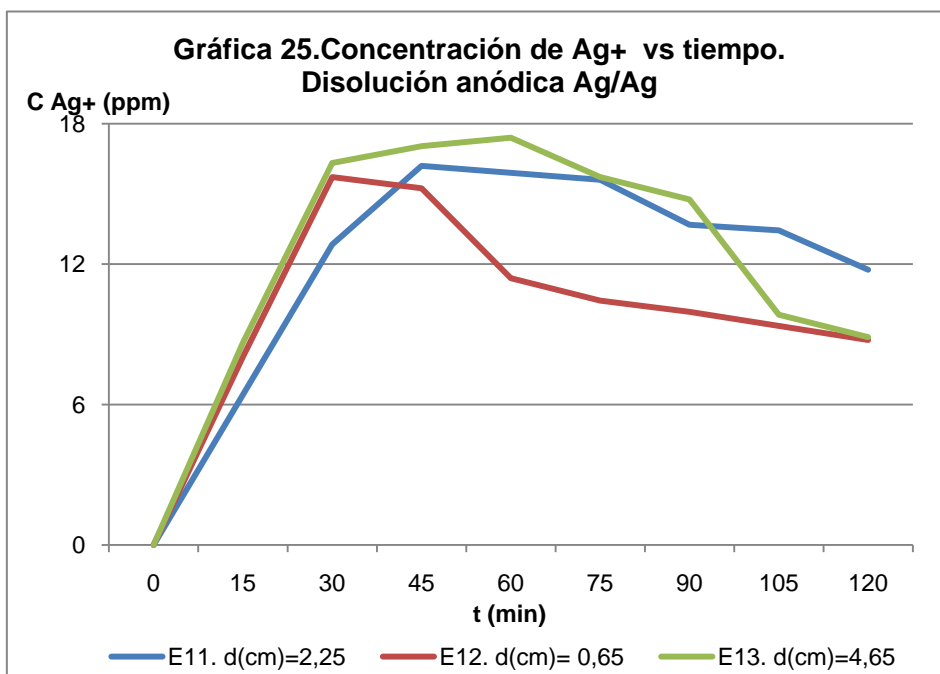


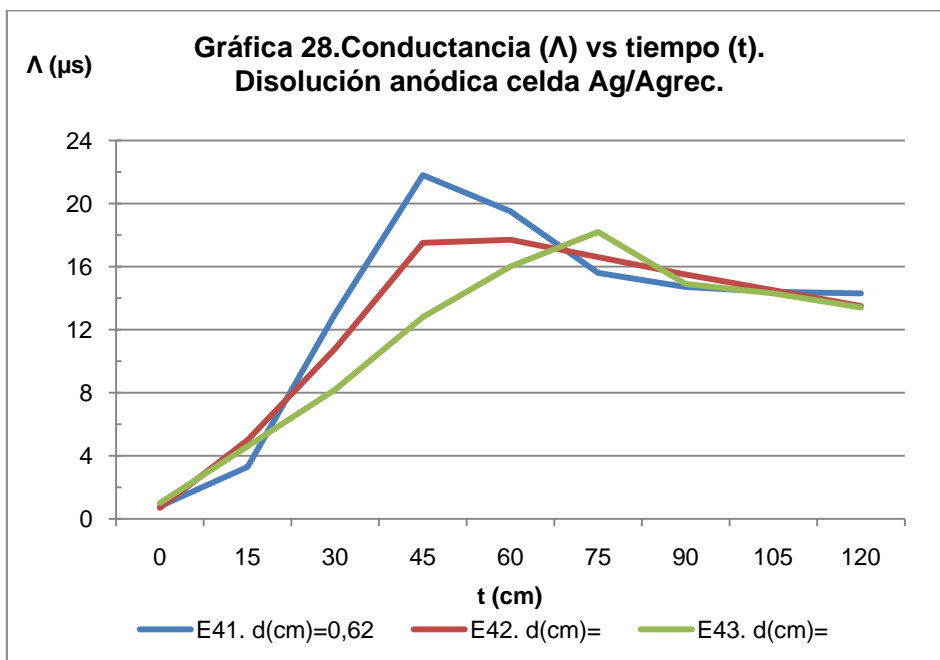
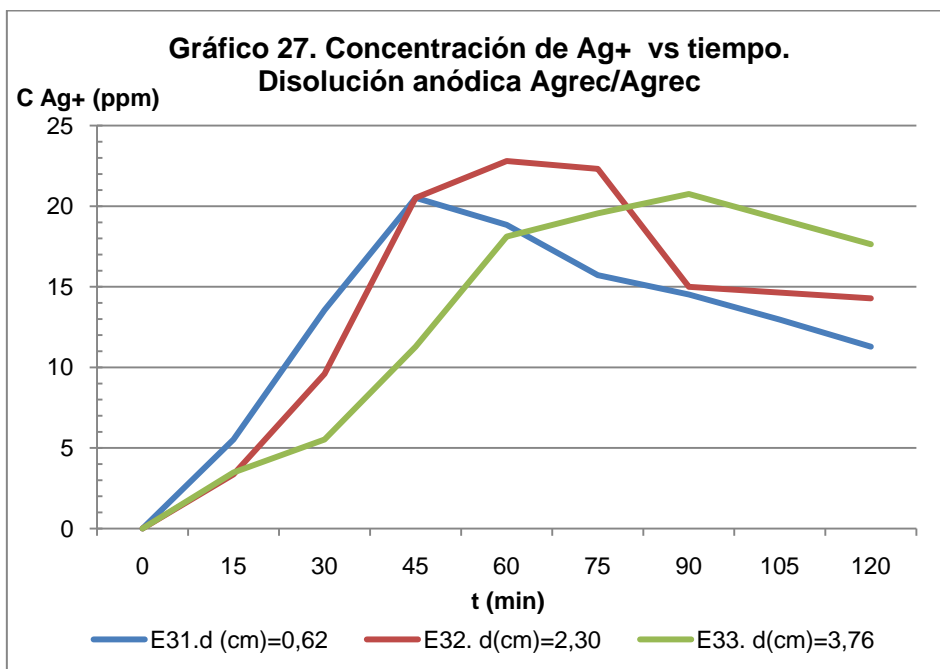
Gráfico 23. Celda E52. Agdef/Ti.

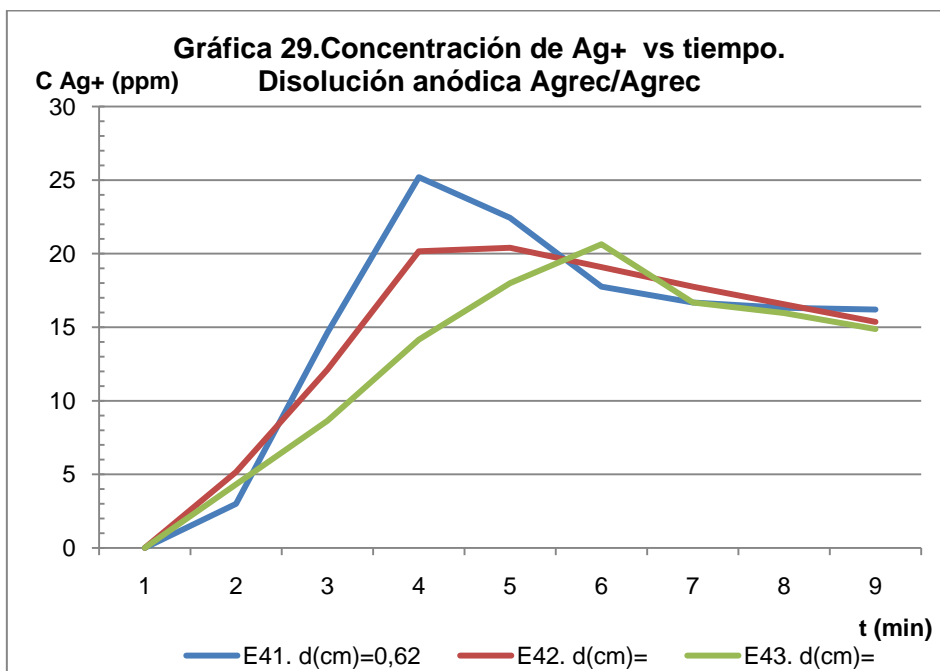


APÉNDICE 5. Relación de variables para los métodos electroquímicos









APÉNDICE N°6. Microanálisis de los componentes del dispositivo

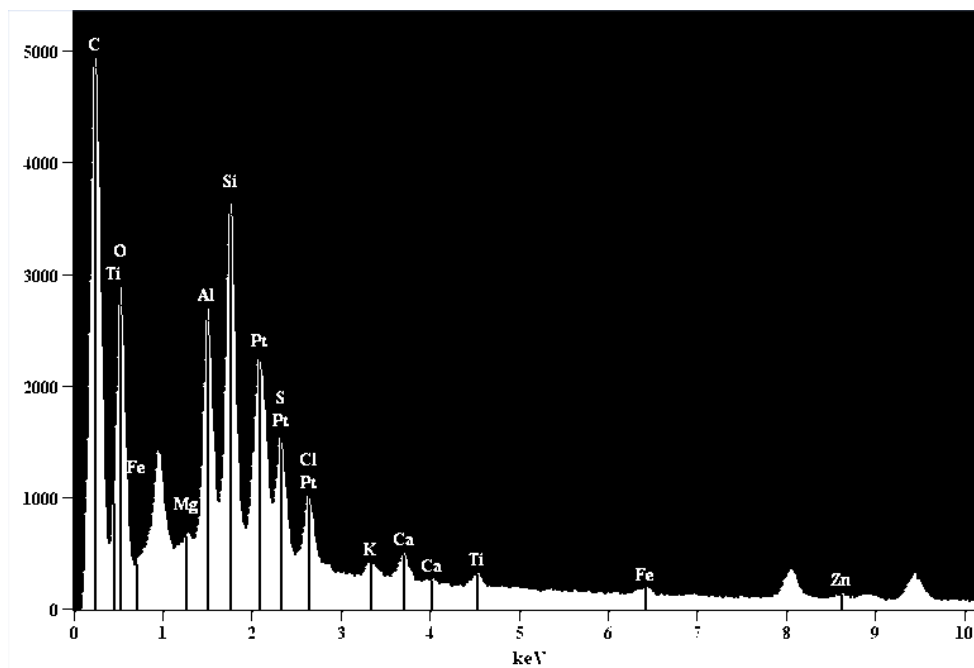


Figura 50. Composición química del dispositivo polimérico. Cara interna

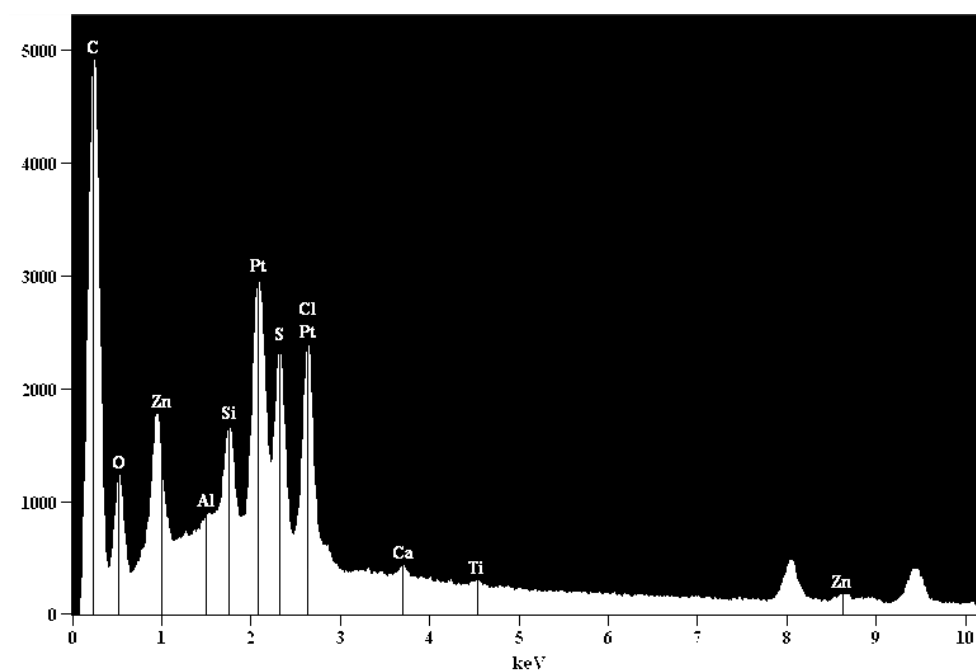


Figura 51. Composición química del dispositivo polimérico. Cara interna