

Síntesis verde de nanopartículas de plata soportadas en fibra de algodón para su uso como apósitos con propiedades bactericidas

Luis Adolfo Mercado R., Ph.D*

*Instituto de Investigación de Medicina
Universidad Católica Boliviana San Pablo, Regional Santa Cruz.

1. Resumen Ejecutivo

En esta investigación se ha llevado a cabo la síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs) utilizando extracto de té verde como biorreductor, se emplearon dos tipos de estabilizantes: polietilenglicol y aloe vera. Las síntesis se llevaron a cabo mediante luz ultravioleta y microondas. La caracterización de las AgNPs se llevó a cabo por microscopía electrónica de transmisión (TEM) y de barrido (SEM), en el análisis de las imágenes TEM se pudo evidenciar que no se obtuvieron monocristales sino policristales y, en muchos casos con partes amorfas. En todos los casos, las AgNPs fueron polidispersas y los tamaños obtenidos con valores medios comprendidos entre 25 nm y 45 nm. Las AgNPs obtenidas por irradiación con microondas tienden a formar menos aglomeraciones o clústeres que las obtenidas por irradiación con UV. En la deposición de las AgNPs sobre fibra de algodón se encontró que el mejor método es empleando aloe vera como estabilizante porque permite una distribución uniforme en la fibra.

2. Antecedentes

En los últimos años, las nanopartículas metálicas han sido el foco de interés debido a su gran potencial en nanotecnología, muchos sectores industriales han desarrollado productos basados en nanopartículas en diferentes campos como: electrónica (Kang, Risbud, Rabolt, & Stroeve, 1996), biotecnología (Pankhurst, Connolly, Jones, & Dobson, 2003), liberación de genes y drogas (Dobson, 2006), entre otros. Las propiedades que exhiben las nanopartículas metálicas se deben a factores como: la alta relación superficie/volumen, el confinamiento cuántico del movimiento electrónico en las nanopartículas semiconductoras, la resonancia de plasmones superficiales o del superparamagnetismo en nanomateriales magnéticos (Cushing, Kolesnichenko, & O'Connor, 2004).

En medicina, cada vez se encuentran mayores aplicaciones debido a que: (a) pueden llegar con rapidez y efectividad al blanco elegido (Schmid, 2010), (b) tiene mayor área por unidad de volumen que un material macroscópico, por lo que ofrece una mayor exposición al blanco (Caruthers, Wickline, & Lanza, 2007).

Las nanopartículas de plata tienen algunas ventajas sobre otras nanopartículas, estas no son tóxicas para el humano y tienen mayor efectividad contra bacterias, virus y otros microorganismos a muy baja concentración, sin efectos laterales conocidos (Chauhan, Gupta, & Prakash, 2012). El efecto bactericida de la plata puede atribuirse al bloqueo de las vías respiratorias y alteración del DNA microbiano y de la pared celular (Modak & Fox, 1973).

En la literatura se reportan varias rutas para la obtención de nanopartículas de metales como plata, oro, selenio, paladio, entre otros, algunas de ellas rutas verdes, en las que se han empleado productos naturales como extractos de plantas y biopolímeros, entre otros, debido

a sus efectos no tóxicos y adecuada biocompatibilidad (Darroudi, Ahmad, Shameli, Abdullah, & Ibrahim, 2009; Pahlavan Noghabi, y otros, 2017). Para la síntesis verde de nanopartículas de plata es posible emplear toda la planta o sus hojas, raíces, flores o frutos de manera selectiva, en la literatura actual es posible encontrar una serie de publicaciones respecto a este tema (Singh, Kim, Zhang, & Yang, 2016).

3. Justificación

El manejo de una herida es de mucho cuidado, requiere de un profesional médico o de enfermería; no obstante, muchas veces no se toman las medidas adecuadas o no se realiza una correcta valoración de la misma y se acude al uso desmesurado de antibióticos. Esta práctica ha tenido sus consecuencias, pues ha llevado al desarrollo de bacterias resistentes, razón por la cual se deben explorar otras alternativas para evitar determinadas infecciones. Actualmente se cuenta con un gran desarrollo tecnológico de apósitos que junto a una correcta valoración médica ha dado como resultado la disminución de complicaciones y de los costos de tratamiento.

En este trabajo se ha llevado a cabo la obtención de nanopartículas de plata mediante un método de síntesis verde y se las ha soportado en fibra de algodón, para un potencial uso en el tratamiento de infecciones de heridas y por su efecto cicatrizante.

4. Objetivo

Obtener y caracterizar nanopartículas de plata mediante síntesis verde empleando fibra de algodón como soporte para su uso como apósitos con propiedades bactericidas.

5. Marco Teórico

En la literatura se encuentra abundante información sobre la actividad bactericida de las nanopartículas de plata (AgNPs), una de las ventajas de su uso es la baja probabilidad del desarrollo de resistencia por parte de los microorganismos en comparación a los antibióticos. Además, se ha reportado la aplicación de las nanopartículas de plata como agente cicatrizante, estos estudios han sido realizados con nanopartículas de plata insertadas en vendajes habiéndose observado un mejor efecto cicatrizante que la sulfadiazina de plata (Tian, y otros, 2007).

La obtención de AgNPs en disolución, requiere el empleo de métodos que permitan controlar el tamaño y forma de las nanopartículas, además de evitar la formación de clústeres de nanopartículas. En todo método de síntesis de AgNPs en disolución se necesitan los siguientes componentes: i) precursor metálico, ii) agente reductor y iii) agente estabilizante. El precursor metálico es, generalmente, una sal de plata como el nitrato de plata; como reductor se suele emplear reductores comunes como borohidruro de sodio, citrato de sodio, entre otros (Cason, Khambaswadkar, & Roberts, 2000); como estabilizantes se suele emplear polímeros orgánicos como poli(vinil pirrolidona), entre otros (Sun & Xia, 2002).

En los últimos años ha despertado mayor interés el uso de métodos verdes para la síntesis de nanopartículas metálicas, por su mayor compatibilidad con el medioambiente en comparación con los métodos químicos. Partes de plantas como raíces, látex, semillas, tallos, hojas son

usadas en las síntesis de NPs, los agentes activos, presentes en estas partes, hacen posible la reducción y la estabilización incorporando biomoléculas que actúan de ambas formas, como agente reductor y de estabilización, y que producen un control de la forma y el tamaño de las NPs. Los compuestos que principalmente ejercen esta influencia son biomoléculas como terpenoides, polisacáridos, fenoles, alcaloides, flavonas, aminoácidos, enzimas y proteínas (Rafique, Sadaf, Rafique, & Tahir, 2016). En la literatura se reportan diversos métodos empleando biorreductores y estabilizantes de origen vegetal, en reacciones mediadas por irradiación de luz blanca, luz ultravioleta o por microondas. Así, se describen métodos como la biorreducción de iones plata con extracto acuoso de hojas de *O. Sanctum* (Chandran, Ravichandran, Chandran, Chemmanda, & Chandarshekar, 2016) obteniendo nanopartículas de plata de 20 nm; también se ha reportado el empleo de infusión de té negro y de té verde para la biorreducción de iones plata obteniéndose nanopartículas de plata con tamaños entre 20 y 60 nm con formas cristalinas simétricas cúbicas centradas en la cara (Begum, Mondal, Basu, Laskar, & Mandal, 2009), (Loo, Chieng, Nishibuchi, & Radu, 2012).

Los agregados metálicos y nanopartículas pueden ser contenidos en una matriz de origen natural, estos se llaman bionanocompuestos, que representan un nuevo grupo de materiales híbridos nanoestructurados, así se tienen por ejemplo fibras naturales como el algodón conteniendo AgNPs con excelentes propiedades bactericidas (Emam & Zahran, 2015).

La caracterización de las AgNPs se la realiza principalmente por microscopía electrónica de transmisión (TEM), esta técnica proporciona información sobre la morfología y distribución de tamaño de las AgNPs. Los cambios morfológicos de la fibra que soporta a las nanopartículas se pueden evidenciar mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) (Emam & Zahran, 2015).

6. Desarrollo del trabajo

6.1 Materiales, reactivos y equipos

Materiales:

Materiales de uso común de laboratorio.
Lámparas de UV de 254 nm
Fibra de algodón de uso farmacéutico.

Reactivos:

Nitrato de plata, >99 % Sigma-Aldrich
Mucílago de aloe vera recién obtenido.
Ácido cítrico, 99,5% Sigma-Aldrich
Té verde, obtenido del mercado local.
Polietilenglicol PEG-400, Sigma-Aldrich.

Equipos:

El horno de microondas utilizado fue un horno de uso doméstico marca Whirlpool.
Las medidas experimentales de microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) fueron realizadas microscopio Jeol 2100 operado a 200 kV y equipado con fuente de electrones de LaB₆ y resolución puntual de 0.25 nm.

Las imágenes de microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés) fueron obtenidas a temperatura ambiente en un microscopio FEI Quanta 650 FEG operado a 5 kV en modo de detección de electrones secundarios con una resolución puntual de 3 nm.

6.2 Síntesis de las NP-Ag

El extracto de té verde se preparó por cocción en agua a una temperatura aproximada de 70 °C durante 30 minutos de 8,56 g de té en 100 mL de una disolución de ácido cítrico 0,1 M, posteriormente se filtró en papel filtro Whatman No.1, el filtrado fue utilizado para la preparación de las AgNPs.

Se prepararon tres mezclas reaccionantes:

- a) Sin estabilizante: 90 mL de disolución de AgNO_3 5 mM con 10 mL de extracto de té.
- ii) Con PEG-400 como estabilizante: 89 mL de disolución de AgNO_3 5 mM con 1 mL de PEG-400 y 10 mL de extracto de té.
- iii) Con aloe vera como estabilizante: 90 mL de de disolución de AgNO_3 5 mM con 6 mL de extracto de té y 4 mL de una disolución acuosa del mucílago de aloe vera (50 mL mucílago/200 mL agua)

cada una de las mezclas reaccionantes fue dividida en 3 partes, cada una de las partes se hizo reaccionar en condiciones diferentes: a) al abrigo de la luz, b) irradiada por UV durante dos horas y c) irradiada por microondas durante 30 minutos con una potencia de 90 W. Las muestras fueron obtenidas por triplicado.

6.3 Medidas de TEM y SEM

Las medidas de TEM fueron obtenidas a temperatura ambiente. Las muestras fueron preparadas disolviendo las nanopartículas en isopropanol y posteriormente colocándolas por goteo en gradillas de cobre cubiertas con una película delgada de carbono amorfo.

Fueron obtenidas imágenes en modo de baja magnificación y alta resolución. Patrones de difracción de electrones (SAED, *Selected Area Electron Diffraction*) fueron obtenidos para los aglomerados de partículas.

7. Presentación de resultados obtenidos

7.1 Síntesis de las AgNPs

Las síntesis de las AgNPs en las diferentes condiciones de reacción se llevaron a cabo con agitación constante y a temperatura ambiente, en el caso de las reacciones mediadas por microondas la temperatura de reacción se elevó por el calor generado evaporándose parte del agua. En la figura 1 se muestran a modo de comparación los matraces de reacción correspondientes a las reacciones sin estabilizante en las tres condiciones.

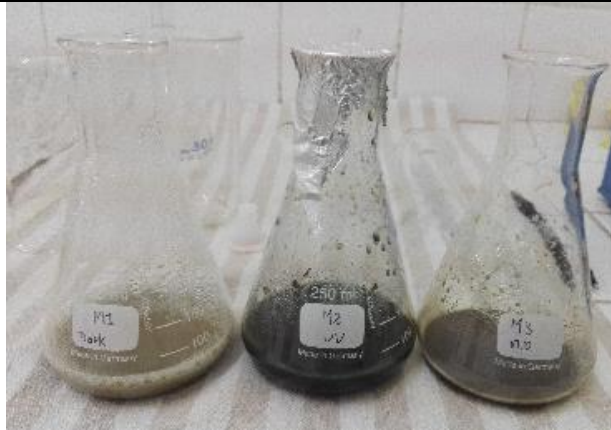
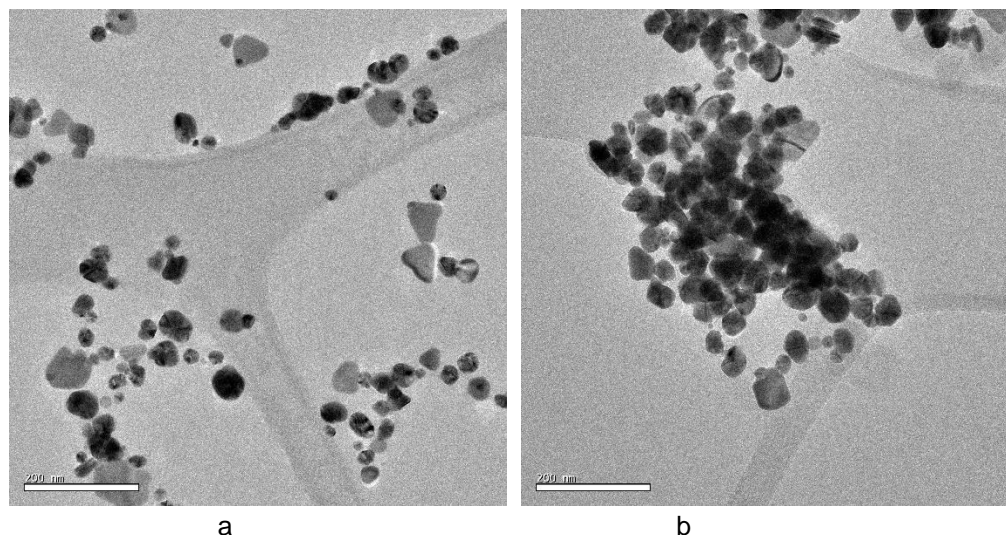


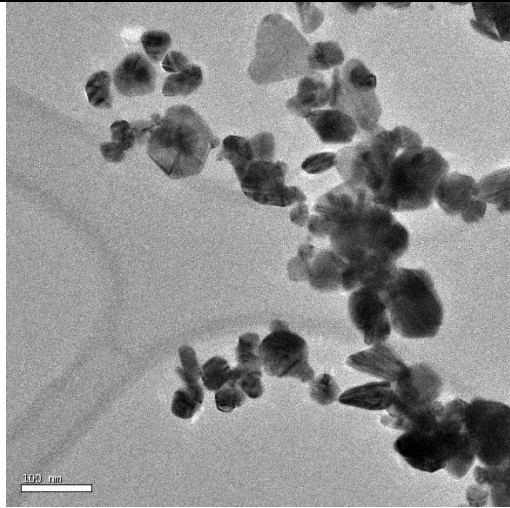
Figura 1. Reacciones sin estabilizante. Izquierda: reacción llevada a cabo al abrigo de la luz; centro: reacción llevada a cabo por irradiación UV y derecha: reacción llevada a cabo por irradiación de microondas.

Se puede apreciar la diferencia en el color de los productos. La reacción que se llevó a cabo al abrigo de la luz mantuvo un color pardo, incluso después de 48 horas de reacción, lo que refleja un avance de la reacción muy lento. La reacción que se realizó con irradiación de luz UV muestra un color oscuro intenso y la reacción irradiada por microondas exhibe un color marrón oscuro, en ambos casos es una fuerte indicación de que la reducción se ha llevado a cabo con éxito y que se han formado AgNPs.

7.2 Caracterización de las AgNPs

En la figura 2 se muestran las imágenes TEM de las AgNPs obtenidas por irradiación con UV, sin estabilizante y con estabilizante. Las AgNPs obtenidas sin estabilizante no forman clústeres, tienen un menor tamaño, pero una mayor polidispersidad. Las AgNPs obtenidas en presencia de estabilizantes forman clústeres, pero son menos polidispersas.





c

Figura 2. Imágenes TEM de AgNPs obtenidas por irradiación con UV: a) sin estabilizante, b) con PEG-400 como estabilizante y c) con aloe vera como estabilizante.

En la figura 3 se muestran imágenes SEM de las AgNPs depositadas en la fibra de algodón, estas fueron obtenidas mediante irradiación con UV empleando ambos estabilizantes, el PEG-400 y el aloe vera.

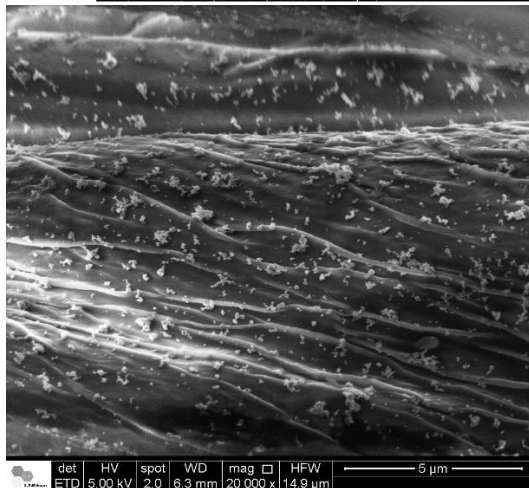
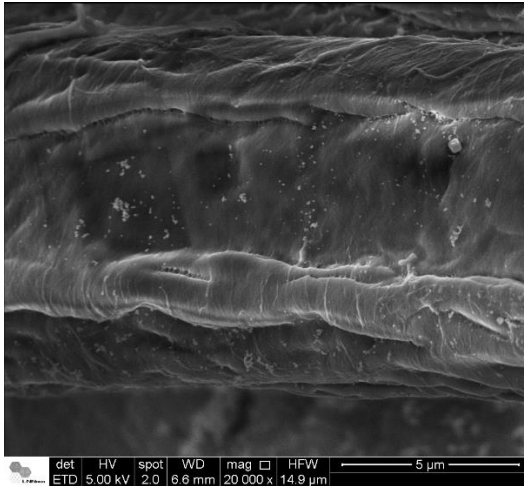


Figura 3. Imágenes SEM de AgNPs soportadas en fibras de algodón. Izquierda: utilizando PEG-400 como estabilizante, derecha utilizando aloe vera como estabilizante.

En las AgNPs que se sintetizaron empleando aloe vera como estabilizante se puede apreciar una mejor distribución de las mismas en la fibra.

8. Discusión de resultados

El extracto acuoso de té verde resultó ser un excelente biorreductor de iones plata, el avance de la reacción fue seguido de una forma visual, la aparición del color marrón oscuro es un indicador de la obtención de las AgNPs. En todos los casos, cuando la reacción se llevó a cabo con irradiación de microondas se formaron menos aglomeraciones de AgNPs que con irradiación de luz UV. Cuando la reacción se llevó a cabo con radiación UV, se obtuvieron los siguientes tamaños de AgNPs: a) sin estabilizante 25 nm, b) con PEG-400 41 nm y c) con aloe vera 45 nm; en todos los casos, como se muestra en la figura 2, las nanopartículas obtenidas fueron polidispersas.

En el análisis de las imágenes TEM se observó que no se han formado monocristales, sino aparentemente policristales y algunas nanopartículas con fases amorfas, lo que sugiere que, si bien se ha logrado la reducción de iones plata, no se ha logrado tener un mayor control de la forma y el tamaño de las AgNPs con las condiciones de reacción empleadas.

Como se puede ver en la figura 3, cuando se emplea aloe vera como estabilizante se logra una mejor distribución de las AgNPs en la fibra de algodón, probablemente esto sea debido a la compatibilidad entre los componentes del mucílago (carbohidratos, entre otras biomoléculas) y la celulosa del algodón; muchos de estos compuestos pueden formar puentes de hidrógeno con la celulosa logrando de esta manera depositar las nanopartículas sobre la superficie. En las AgNPs obtenidas con PEG-400 como estabilizante no se logra visualizar una cantidad apreciable de nanopartículas, quizás porque se han depositado muy pocas sobre la superficie de la fibra.

9. Impactos logrados

Se han llevado a cabo diferentes caminos de síntesis verde de nanopartículas de plata, empleando como biorreductor el extracto de té verde y como agente estabilizante el aloe vera. Con el aloe vera como agente estabilizante se ha logrado una mejor distribución de las AgNPs en la fibra de algodón, probablemente debido a la afinidad entre las biomoléculas que forman el mucílago y la celulosa del algodón. A las propiedades bactericidas y cicatrizantes de las AgNPs se le deben agregar las propiedades del aloe vera. El producto obtenido tiene un potencial uso como apósito para el tratamiento de heridas, evitando de esta manera el uso de antibióticos.

10. Conclusiones

Se han explorado vías distintas para la obtención de nanopartículas de plata y se han caracterizado los productos obtenidos mediante microscopía electrónica de transmisión y de barrido. Las AgNPs obtenidas son polidispersas y tienen tamaños promedios que varían entre 25 nm y 45 nm, según el método de síntesis seguido. Se ha obtenido una deposición de AgNPs

sobre la superficie de la fibra de algodón bastante uniforme cuando se emplea aloe vera como estabilizante, lo que sugiere una buena alternativa para su uso como apósitos en el tratamiento de heridas.

11. Recomendaciones

Como continuación de la presente investigación, a partir de los resultados obtenidos se deben realizar las siguientes acciones:

Explorar más condiciones de reacción que permitan tener un mayor control en la forma y el tamaño de las AgNPs.

Evaluar el efecto sinérgico de las AgNPs y el aloe vera.

Evaluar las propiedades de la fibra de algodón conteniendo AgNPs.

12. Referencias Bibliográficas

- 1) Begum, N., Mondal, S., Basu, S., Laskar, R., & Mandal, D. (2009). Biogenic synthesis of Au and Ag nanoparticles using aqueous solutions of black tea leaf extracts. *Colloids surfaces B: Biointerfaces*, 71, 113-118.
- 2) Caruthers, S., Wickline, S., & Lanza, G. (2007). Nanotechnological applications in medicine. *Current opinion in biotechnology*, 18, 26-30.
- 3) Cason, J. P., Khambaswadkar, K., & Roberts, C. B. (2000). Supercritical Fluid and Compressed Solvent Effects on Metallic Nanoparticle Synthesis in Reverse Micelles. *Industrial & engineering chemistry research*, 39(12), 4749-4755.
- 4) Chandran, S., Ravichandran, V., Chandran, S., Chemmanda, J., & Chandarshekar, B. (2016). Biosynthesis of PVA encapsulated silver nanoparticles. *Journal of Applied Research and Technology*, 14, 319-324.
- 5) Chauhan, R., Gupta, C., & Prakash, D. (2012). Methodological advancements in green nanotechnology and their applications in biological synthesis of herbal nanoparticles. *International Journal of bioassays*, 1(07), 6-10.
- 6) Cushing, B. L., Kolesnichenko, V. L., & O'Connor, C. J. (2004). Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles. *Chemical Reviews*, 104(9), 3893-3946.
- 7) Darroudi, M., Ahmad, M., Shameli, K., Abdullah, A., & Ibrahim, N. (2009). Synthesis and characterization of UV-irradiated silver/montmorillonite nanocomposites. *Solid State Sciences*, 11(9), 1621-24.
- 8) Dobson, J. (2006). Gene therapy progress and prospects; Magnetic nanoparticle-based gene delivery. *Gene Therapy*, 13(4), 283-287.
- 9) Emam, H., & Zahran, M. K. (2015). Ag⁰ nanoparticles containing cotton fabric: Synthesis, Characterization, color data and antibacterial action. *International Journal of Biological Macromolecules*, 75, 106-114.
- 10) Kang, Y., Risbud, S., Rabolt, J., & Stroeve, P. (1996). Synthesis and characterization of nanometer size Fe₃O₄ and γ-Fe₂O₃ particles. *Chemistry of materials*, 8(9), 2209-2211.
- 11) Loo, Y., Chieng, B., Nishibuchi, M., & Radu, S. (2012). Synthesis of silver nanoparticles by using tea leaf extract from *Camellia Sinensis*. *International Journal Nanomedicine*, 7, 4263-4267.
- 12) Modak, S., & Fox, C. (octubre de 1973). Binding of silver sulfadiazine to the cellular components of *Pseudomonas aeruginosa*. *Biochemical pharmacology*, 22(19), 2391-2404.
- 13) Pahlavan Noghabi, M., Reza Parizadeh, M., Ghayour-Mobharan, M., Taherzadeh, D., Hosseini, H. A., & Darroudi, M. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles and investigation of their colorimetric sensing and cytotoxicity effects. *Journal of Molecular Structure*, 1146, 499-503.

- 14) Pankhurst, Q., Connolly, J., Jones, S., & Dobson, J. (2003). Applications of magnetic nanoparticles in biomedicine. *Journal of physics D: Applied Physics*, 36(13), R167-R181.
- 15) Rafique, M., Sadaf, I., Rafique, M., & Tahir, M. (2016). A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications. *Artificial Cells, Nonmedicine, and Biotechnology*. doi:10.1080/21691401.2016.1241792
- 16) Schmid, G. (2010). *Nanoparticles: From Theory to application*. Wiley.
- 17) Singh, P., Kim, Y., Zhang, D., & Yang, D. (2016). Biological synthesis of nanoparticles from plants and microorganisms. *Trends in Biotechnology*, 34, 588-599.
- 18) Sun, Y., & Xia, Y. (2002). Shape-Controlled Synthesis of gold and silver nanoparticles. *Science*, 298, 2176-2179.
- 19) Tian, J., Wong, K. K., Ho, C.-M., Lok, C.-N., Yu, W.-Y., Che, C.-M., . . . Tam, P. K. (2007). Topical Delivery of Silver Nanoparticles promotes wound healing. *ChemMedChem*, 2, 129-136.