

Síntesis radiolítica y actividad antimicrobiana de hidrogeles de alcohol polivinílico conteniendo nanopartículas de plata

Julieta Cabrera¹, Kety León², Julio Santiago^{2,3,*}

¹ Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Av. Túpac Amaru S/N, Lima 25, Perú

² Dirección de Investigación y Desarrollo, Instituto Peruano de Energía Nuclear, Av. Canadá 1470, Lima 41, Perú

³ Facultad de Química e Ing. Química, Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Av. Venezuela S/N, Lima 1, Perú

Resumen

Se ha preparado hidrogeles de alcohol polivinílico (PVA) conteniendo nanopartículas de plata por impregnación de una solución de AgNO_3 en hidrogeles de PVA y posterior reducción de los iones Ag^+ inducida por radiación gamma. Los espectros UV-Visible de las películas mostraron las bandas de absorción del plasmón superficial en 410 nm. Los hidrogeles de PVA/Ag mostraron tener excelente actividad frente a *S. aureus* y *P. aeruginosa*, mostrando tener potencial para ser aplicadas como apósitos de heridas.

Abstract

Polyvinyl alcohol (PVA) hydrogels containing silver nanoparticles have been prepared by impregnation of PVA hydrogels in AgNO_3 solution and subsequent reduction of Ag^+ ions induced by gamma radiation. UV-Visible spectra showed the absorption bands of the surface plasmon at 410 nm. The hydrogels of PVA/Ag have shown excellent activity against *S. aureus* and *P. aeruginosa* and have potential for use as wound dressings.

1. Introducción

Los materiales compuestos nanoestructurados hidrogel-nanopartículas metálicas son materiales promisorios que están siendo ampliamente estudiados en virtud a las interesantes propiedades de los hidrogeles combinadas con las propiedades que poseen las nanopartículas debido al tamaño cuantizado. En el caso de los metales nobles, las propiedades electromagnéticas, ópticas, catalíticas y antimicrobianas son altamente influenciadas por el tamaño y forma de las nanopartículas [1-4]. Así mismo, se sabe que la plata presenta mejores propiedades que otros metales en cuanto a propiedades eléctricas, ópticas y efecto antimicrobiano [5]. Por su parte, El PVA es ampliamente utilizado para la formación de hidrogeles y en la preparación de nanocompuestos debido a su fácil procesabilidad, alta densidad óptica y biocompatibilidad [6,7].

En tal sentido, las redes tridimensionales de los hidrogeles ofrecen un enorme espacio libre entre las cadenas entrecruzadas cuando se encuentran en el estado hinchado; estos espacios servirían como nanoreactores para

generar nanopartículas ofreciendo una plataforma para la nucleación y crecimiento de nanocristales los cuales eventualmente conducirían a la formación de las nanopartículas [8].

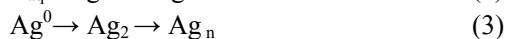
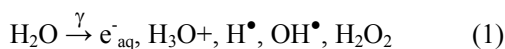
Estos materiales tienen potencial para ser aplicados en diversos campos de la bioingeniería como sistemas de purificación de aguas y otros; sin embargo, su aplicación más prometedora estaría en el campo de la medicina como apósitos de heridas [9], recubrimientos antibacterianos [10] y biosensores [11].

Las nanopartículas de plata son obtenidas generalmente por reducción química [4-8], pero para aplicaciones biomédicas, la síntesis radiolítica, empleando radiación gamma, es la más promisoriosa ya que no implica el uso de solventes orgánicos u otros reactivos tóxicos.

En los procesos de síntesis inducidos por radiación gamma, dado que los sistemas se encuentran principalmente en medios

* Correspondencia autor: jsantiago@ipen.gob.pe

acuoso, el entrecruzamiento de los polímeros así como la reducción de los iones Ag^+ a Ag^0 se lleva a cabo vía la interacción con las especies reactivas generadas como consecuencia de la radiólisis del agua, ecuación 1. Los radicales hidroxilos son las principales especies de transferir reactividad desde el agua hacia la cadena polimérica. Estos extraen átomos de hidrógeno de las macromoléculas, formando así radicales poliméricos que posteriormente se recombinan para formar la red tridimensional del hidrogel [12]. Mientras que la reducción de los iones Ag^+ se realiza por interacción con los electrones solvatados, e^-_{aq} , de acuerdo con la ecuación 2. Los átomos metálicos se unen formando partículas que coalescen para formar aglomerados, ecuación 3 [13-15].



En este trabajo se presenta la preparación de hidrogeles de PVA conteniendo nanopartículas de plata obtenidos por impregnación de las matrices poliméricas en una solución de AgNO_3 , y posterior reducción de los iones Ag^+ inducida por irradiación gamma. Igualmente se presenta la actividad antibacteriana para evaluar su potencial uso como apósitos para el tratamiento de quemaduras o lesiones graves a la piel.

2. Experimental

2.1 Síntesis radiolítica del hidrogel de PVA conteniendo nanopartículas de plata

El hidrogel de PVA (130 kDa, Sigma Aldrich) se obtuvo irradiando, a 25 kGy a una tasa de dosis constante de 8 kGy/h, una solución acuosa de PVA al 8 % p/v, la cual fue previamente envasada en recipientes de poliestireno y burbujeadada por aproximadamente 5 minutos con nitrógeno para eliminar el oxígeno presente.

El hidrogel de PVA fue secado a temperatura ambiente y luego fueron sumergidas, a temperatura ambiente durante 24 horas, en soluciones acuosas de AgNO_3 . Posteriormente, las películas impregnadas con la sal precursora fueron enjuagadas con

agua destilada e irradiadas a 15 kGy. Las concentraciones de AgNO_3 variaron entre 2×10^{-4} y 2×10^{-2} M.

2.2 Caracterización de los nanocompuestos Hidrogel/Ag

Las propiedades ópticas del nanocompuesto hidrogel/Ag fueron evaluadas por espectroscopia UV-Vis utilizando el equipo Biochrom Libra S22. Los espectros fueron obtenidos ubicando las películas directamente sobre el haz.

2.3 Evaluación de la actividad antibacteriana de los nanocompuestos Hidrogel/Ag

Las pruebas se realizaron siguiendo los estándares de la NCCLS. Para la preparación del inóculo se cultivó los respectivos microorganismos sobre agar casoy en plano inclinado. Se inoculó de 3 a 5 colonias sobre caldo casoy, se homogenizó y se diluyó el cultivo hasta obtener una concentración de 10^8 UFC/ml. Para la preparación de las placas de cultivo, se incubaron las placas con agar Muller Hinton por 24 horas. Sobre las placas, se sembró el inóculo de un microorganismo. En estas placas sembradas, se colocaron las películas de PVA/Ag. Finalmente, se dejó incubar a 37 °C por 24 horas. Luego de la incubación se procedió a realizar las lecturas correspondientes, midiendo con la ayuda de un vernier el tamaño de los halos de inhibición. Las bacterias estudiadas fueron *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853.

3. Resultados y Discusión

Los nanocompuestos obtenidos al irradiar películas de PVA impregnadas en soluciones acuosas de AgNO_3 mostraron coloraciones amarillentas, indicando la reducción de la plata, cuya intensidad varía en función de la concentración de AgNO_3 empleada, Figura 1. Los nanocompuestos así obtenidos fueron de fácil manipulación y mecánicamente estables (pruebas cualitativas). Este método permite la incorporación de mayores concentraciones de plata.

Los análisis por espectroscopia UV-Vis para los nanocompuestos hidrogel/Ag obtenidos por este método mostraron las bandas correspondientes a la resonancia del plasmón superficial, característico de las

nanopartículas de plata alrededor de 410 nm, Figura 2.

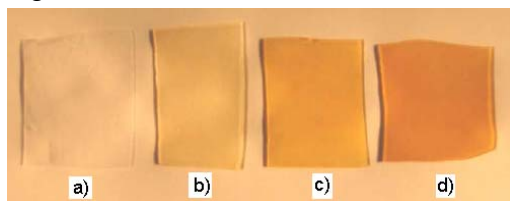


Figura 1. Hidrogel de PVA (a) y nanocompuestos PVA/Ag obtenidos a partir del hinchamiento de películas de PVA en soluciones acuosas de AgNO_3 2×10^{-4} (b), 2×10^{-3} (c) y 2×10^{-2} M (d).

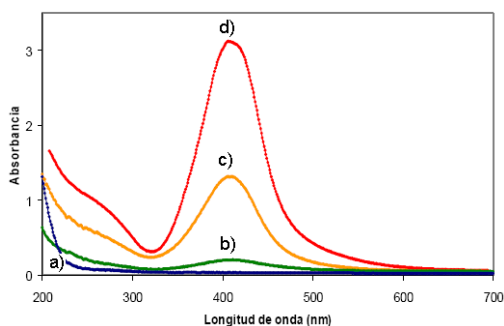


Figura 2. Espectros UV-Visible del hidrogel PVA (a) y nanocompuestos PVA/Ag obtenidos a partir del hinchamiento de películas de PVA en soluciones acuosas de AgNO_3 2×10^{-4} (b), 2×10^{-3} (c) y 2×10^{-2} M (d).

3.1 Evaluación de la actividad antibacteriana

La actividad antibacteriana de los nanocompuestos hidrogel/Ag fue evaluada principalmente en función de la concentración del precursor de plata (AgNO_3). Las películas fueron directamente evaluadas, tal y cual se obtuvieron después de la irradiación.

En la Figura 3 se muestra la actividad antibacteriana del hidrogel de PVA, el cual se utilizó como blanco, frente a la bacteria gram positiva, *S. aureus*, y gram negativa, *P. aeruginosa*. En ambos casos no se observó formación de halos de inhibición del crecimiento bacteriano. En cambio, se observó crecimiento en la zona de contacto del hidrogel con el medio de cultivo frente a *S. aureus* mientras que presenta una zona transparente frente a *P. aeruginosa*.

En contraste, la totalidad de los hidrogel con plata presentan zonas transparentes en la zona de contacto frente a ambas bacterias, lo cual indica la inhibición del crecimiento bacteriano, Figura 4. Así mismo, se han

observado halos de inhibición, tabla 1, para los nanocompuestos obtenidos con mayor concentración de AgNO_3 . Para los otros casos los halos fueron mínimos, lo cual demuestra la dependencia de la actividad antibacteriana con la concentración de plata.

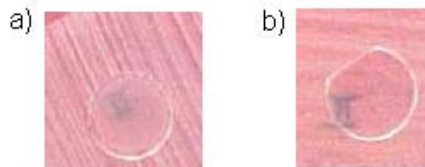


Figura 3. Actividad antibacteriana de hidrogel de PVA frente a a) *S. aureus* y b) *P. aeruginosa*.

PVA/ AgNO_3 (M)	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>
2×10^{-4}		
2×10^{-3}		
2×10^{-2}		

Figura 4. Actividad antibacteriana de los nanocompuestos PVA/Ag obtenidos con diferentes concentraciones de AgNO_3 frente a *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

Tabla 1. Medidas de los halos de inhibición (en mm) de la actividad antibacteriana de los nanocompuestos PVA/Ag en forma de discos de 7 mm de diámetro.

	PVA/ AgNO_3 (M)		
	2×10^{-4}	2×10^{-3}	2×10^{-2}
<i>S. aureus</i>	NH*	10	16
<i>P. aeruginosa</i>	NH*	11	15

* No se observó ningún halo.

Los resultados obtenidos con nuestros hidrogel son comparables con los obtenidos con hidrogel de poli(acrilamido-ácido acrílico) conteniendo

nanopartículas de plata, los que mostraron actividad antimicrobiana frente a *E. coli*. [9].

4. Conclusiones

Se han obtenido hidrogeles PVA conteniendo nanopartículas de Ag por reducción de los iones Ag(I) inducidos por radiación gamma. Se obtuvieron hidrogeles de PVA/Ag bastante estables y con concentraciones de plata variables. La actividad antibacteriana de estas películas es fuertemente influenciada por la concentración de plata. En contraste, los hidrogeles sin plata presentaron crecimiento bacteriano en la zona de contacto frente a *S. aureus*.

5. Agradecimientos

A los Ing. M. Linares y Lic. J. Vargas por su apoyo con la irradiación gamma de las películas.

6. Bibliografía

- [1] Liz-Marzan L. Nanometals: Formation and color. *Materials Today*. 2004; 7: 26-31.
- [2] Mulvaney P. Surface Plasmon Spectroscopy of Nanosized Metal Particles. *Langmuir*. 1996; 12:788-800.
- [3] Burda C, Chen X, Narayanan R, El-Sayed M. Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. *Chemical reviews*. 2005, 105: 1025-1102.
- [4] Elechiguerra J, Burt J, Yacaman M. Interaction of silver nanoparticles with HIV-I. *Journal of Nanobiotechnology*. 2005; 3: 1-10.
- [5] Zhang Z, Zhang L, Wang S, Chen W, Lei Y. A convenient route to polyacrylonitrile/silver nanoparticle composite by simultaneous polymerization-reduction approach. *Polymer*. 2001; 42: 8315-8318.
- [6] Tadd E, Zeno A, Zubris M, Dan N, Tannenbaum R. Adsorption and polymer film formation on metal nanoclusters. *Macromolecules*. 2003; 36(17): 6497-502.
- [7] Li Y, Neoh KG, Kang E. Poly(vinyl alcohol) hydrogel fixation on poly(ethylene terephthalate) surface for biomedical application. *Polymer*. 2004; 45(26): 8779-89.
- [8] Thomas D, Yallapu M, Sreedarh B, Bajpai S. A versatile strategy to fabricate hydrogel silver nanocomposites and investigation of their antimicrobial activity. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2005; 315: 389-395.
- [9] Yu H, Xu X, Chen X, Ly T, Zhang P, Jing X. Preparation and antibacterial effects of PVA-PVP hydrogels containing silver nanoparticles, *Journal of Applied Polymer Science*. 103; 2007: 125-133.
- [10] Oh S, Byun B, Lee S, Choi S, Radiolytic Synthesis of Ag-Loaded Polystyrene(Ag-PS) Nanoparticles and their Antimicrobial Efficiency Against *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*, *Macromolecular Research*. 2007; 15: 285-290.
- [11] Endo T, Ikeda R, Yanagida Y, Hatsuzawa T. Stimuli responsive hydrogel-silver nanoparticles composite for development of localized surface plasmon resonance-based optical biosensor. *Analytica chimica acta*. 2008; 611: 205-211.
- [12] Rosiak J. OIEA Report, Radiation Formation of Hydrogels for Biomedical Application.[serie en Internet]. Disponible en URL: http://www.mitr.p.lodz.pl/biomat/raport/1_radiation_hydrogels.html
- [13] Temgire M, Joshi S, Optical and structural studies of silver nanoparticles, *Radiation and Physic Chemistry*. 2004; 71: 1039-1044.
- [14] Li T, Park H, Choi S. γ -Irradiation-induced preparation of Ag and Au nanoparticles and their characterizations, *Materials Chemistry and Physics*. 2005; 105: 325-330.
- [15] Doudna C, Bertino M, Pillalamarri S, Blum F, Tokuhira A, Chattopadhyay S, Terry J. Radiolytic Synthesis of Bimetallic Nanoparticles with High Aspect Ratio, *Materials Research Society Symposium Proceedings*. 2003. 740, I11.2.