

Polímero antibacteriano elaborado con HDPE reciclado y nanotubos de carbono funcionalizados con plata

JIMÉNEZ-RODRÍGUEZ, José Alfredo†*, GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, Brenda Janette, LUGO-COPADO, Atziri Abigail y MUÑOZ-RAMÍREZ, Sandra

Universidad Tecnológica Fidel Velázquez, Nicolás Romero, Estado de México. CP. 54400

Laboratorio de Nanociencia y Nanotecnología de Grupo Jumex, Ecatepec, Estado de México. CP. 55400

Recibido 11 de Octubre, 2017; Aceptado 29 de Diciembre, 2017

Resumen

En este trabajo se estudió el efecto antimicrobiano del compuesto formado por la extrusión de Polietileno reciclado de Alta Densidad (HDPE, por sus siglas en inglés) mezclado con nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con plata. La síntesis de los nanotubos de carbono de pared múltiple se realizó mediante el método de Deposición Química de Vapores (CVD por sus siglas en inglés), con una funcionalización química posterior utilizando AgNO_3 como fuente de plata. La actividad antibacteriana se evaluó por siembra directa en agar Eosina Azul de Metileno y por inmersión en Caldo Nutritivo utilizando como fuente bacteriana una muestra de agua residual doméstica. Se analizaron MWCNTs sin funcionalizar (como blanco), Ag-MWCNTs y el polímero funcionalizado. En la siembra directa en agar EAM se obtuvo crecimiento bacteriano en todos los casos, sin embargo, la velocidad de crecimiento de los Ag-MWCNTs fue notablemente menor que en la de los MWCNTs sin funcionalizar. En el caldo nutritivo se presentó turbidez relativamente baja en la muestra de Ag-MWCNTs. Como parte del análisis nanoestructural, las muestras tanto de Ag-MWCNTs como de polímero funcionalizado fueron analizadas por el Método de Dispersión de Rayos X, en donde se comprobó la presencia de plata dentro de la estructura.

Nanotubos de carbono de pared múltiple, Funcionalización, Actividad Antibacteriana

Citación: JIMÉNEZ-RODRÍGUEZ, José Alfredo, GONZÁLEZ-GONZÁLEZ, Brenda Janette, LUGO-COPADO, Atziri Abigail y MUÑOZ-RAMÍREZ, Sandra. Polímero antibacteriano elaborado con HDPE reciclado y nanotubos de carbono funcionalizados con plata. Revista de Ingeniería Tecnológica 2017. 1-4:40-47

Abstract

The antimicrobial effect of the compound formed by the extrusion of High Density Polyethylene (HDPE) recycled mixed with silver-functional multilayered carbon nanotubes was studied. Synthesis of the multiple wall carbon nanotubes was carried out using the Chemical Vapor Deposition (CVD), with a later chemical functionalization using AgNO_3 as the source of silver. The antibacterial activity was evaluated by direct seeding in Methylene Blue Eosin Agar and by immersion in Nutrient Broth using as bacterial source a sample of domestic residual water. Non-functionalized MWCNTs (as blank), Ag-MWCNTs and the functionalized polymer were analyzed. The growth rate of the Ag-MWCNTs was significantly lower than that of the non-functionalized MWCNTs. In the nutrient broth, relatively low turbidity was presented in the Ag-MWCNTs sample. As part of the nanostructural analysis, the samples of Ag-MWCNTs as functionalized polymer were analyzed by the X-ray Dispersion Method, where the presence of silver inside the structure was verified.

Multiple Wall Carbon Nanotubes, Functionalization, Antibacterial Activity

*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: jjimenezr@jumex.com.mx)

† Investigador contribuyendo como primer autor.

Introducción

Los nanotubos de carbono poseen longitudes de grado nanométrico, por lo cual, es posible su adición a compuestos poliméricos con mayor facilidad de distribución además de proporcionar nuevas características físicas que mejoran la resistencia y durabilidad del polímero. La deposición química de vapor (Chemical Vapor Deposition, CVD por sus siglas en inglés), es el método más popular para la producción de nanotubos de carbono, debido a las ventajas que proporciona.

Por otra parte, las partículas de plata además de presentar propiedades ópticas, magnéticas, metálicas, eléctricas y catalíticas interesantes, las nanopartículas de plata poseen propiedades biosidas o antimicrobianas y que se han encontrado aplicaciones diversas en áreas como la farmacología, medicina, industria alimentaria, purificación de agua etc. (Sondi & Slopek- Sondi, 2004).

Los nanotubos de carbono son otro tipo de nano material para el que se ha descrito actividad antimicrobiana en varios estudios, tanto los de pared simple (SWNT) como los de multipared (MWNT) .Se han señalado varios posibles mecanismos de toxicidad que explican esta actividad microbicida, como interrupción de la transferencia de electrones transmembrana, disrupción o penetración de la envoltura celular, oxidación de componentes celulares y producción de especies reactivas del oxígeno (ROS).

Problema

Las infecciones hospitalarias (también llamadas nosocomiales) son un problema cada vez mayor en los países desarrollados.

Pese a que las medidas de higiene y el uso de antibióticos es cada vez mayor entre la población española, llegando a rozar el 50% de los pacientes en los últimos años, las infecciones en el hospital no se están reduciendo de la misma manera, y en los últimos meses han registrado incluso un aumento. El Centro de Información y Servicios de Asesoría en Salud (Cisas), señala que en todo el mundo hay una gran cantidad de enfermedades provocadas en los hospitales porque ahí se mueven todo tipo de bacterias, virus y microorganismos. En el mundo contraen infecciones en el hospital más de 1,4 millones de personas (Villareal, 2016).

Por otro lado, en función de las propiedades de los plásticos, la estructura del mercado ha crecido considerablemente. Para el año 2000, la producción mundial alcanzó los 160 millones de toneladas y en México para el año 2006, superó los 4 millones de toneladas en donde se calcula que anualmente cada persona en México consume 49 kg de plásticos. Se calcula que 25 millones de toneladas de plásticos en el mundo se acumulan en el ambiente cada año y pueden permanecer inalterables por un periodo de entre 100 y 500 años. Esto se debe a que su degradación es muy lenta y consiste principalmente en su fragmentación en partículas más pequeñas, mismas que se distribuyen en los mares (en estos se han encontrado entre 3 a 30 kg/km²), ríos, sedimentos y suelos, entre otros (Ortiz, 2013).

Justificación

Con el fin de inhibir la propagación microorganismos, se pensó en la fabricación de un polímero antibacteriano que está constituido por una base de polipropileno de alta densidad reciclado, este mezclado con nanotubos de carbono recubiertos de plata que. El dopaje con plata aportará aún mayores propiedades y la de interés es el comportamiento antibacteriano.

El polímero se está planeado para aplicarse a la fabricación de depósitos sanitarios, ya que es uno de las principales fuentes de propagación de bacterias.

Realizando esta parte podemos atacar dos puntos muy relevantes, como es la proliferación de bacterias y así la contaminación del polipropileno desechado.

Son grandes problemas que hoy en día están muy presentes en el mundo y que sin duda sería de gran ayuda de este polímero reciclado mezclado con nanotubos recubiertos de plata.

Hipótesis

La adición de nanotubos de carbono funcionalizados con plata aportará al polímero la propiedad antibacteriana para aplicación en un producto sanitario.

Objetivos

Objetivo General

Producir un polímero reforzado con nanotubos de carbono funcionalizado con nanopartículas de plata con propósitos antibacteriales.

Objetivos específicos

- Sintetizar nanotubos de carbono multipared MWCNTs por el método de CVD.
- Funcionalizar nanotubos de carbono con plata Ag-MWCNTs.
- Decorar el polímero HDPE con los Ag-MWCNTs por el método de extrusión.
- Realizar evaluación antibacteriana de los MWCNTs, Ag-MWCNTs y del polímero funcionalizado.
- Comprobar la presencia de plata en el polímero mediante un análisis de Difracción de Rayos X.

Marco Teórico

La deposición química de vapor (Chemical Vapor Deposition, CVD por sus siglas en inglés), es el método más popular para la producción de nanotubos de carbono, debido a las ventajas que proporciona. El CVD consiste en la descomposición térmica de hidrocarburos con un catalizador metálico en una atmósfera inerte (Shifrina, 2011).

Este método implica la pirolisis de hidrocarburos (acetileno, etileno, propileno, metano, benceno, tolueno etc.), u otro material de carbono (polímeros, carbono monóxido) diluido en la corriente de gas inerte en el sistema de horno sobre la superficie de los catalizadores de metal. El intervalo de temperatura típico para la síntesis es 500- 1200 °C a la presión atmosférica. El sistema típico utilizado en el método de CVD térmico de hacer nanotubos de carbono, con un tubo de reacción horizontal (González, 2015).

El método CVD permite el crecimiento CNTs en una variedad de formas, tales como polvo, películas finas o gruesas, alineada o enredarse, recta o en espiral, o incluso una arquitectura deseada de nanotubos en sitios predefinidos en un sustrato modelado (Koziol, 2010). Para el crecimiento de CNTs son necesarios un precursor y un catalizador. Los catalizadores más comúnmente utilizados para el crecimiento de CNT son los metales de transición (Fe, Co, Ni) de fuentes como organometalocenos (ferroceno, cobaltoceno, niqueloceno), nitratos y otros.).

Se ha determinado que son los tubos de pared simple los que poseen mayor toxicidad y los que tendrían más potencial para ser utilizados como materiales antimicrobianos.

También se ha descrito que esta actividad depende de la presencia de una solución buffer y de la concentración, y que los grupos funcionales de la superficie de los nanotubos no van a tener un papel importante en este sentido, además se ha visto mayor actividad antimicrobiana en los tubos en suspensión en comparación con los agregados. En otro estudio se observó que el uso de radiación junto con la aplicación de nanotubos de carbono (CNT por sus siglas en inglés) a cultivos bacterianos puede incrementar la actividad antimicrobiana de este nano material.

Metodología de Investigación

La metodología se dividió en cuatro etapas fundamentales que van desde la síntesis de los MWCNTs, la funcionalización química, la extrusión y mezclado, para finalmente concluir con la evaluación de actividad antimicrobiana.

Síntesis de CNTs

Se preparó una mezcla de 300 ml en concentración del 3% de Ferroceno más 97% de Xileno, para introducir a sistema de vaporización CVD. La síntesis se llevó a cabo en un reactor de cuarzo introducido en una mufla tubular durante 30 minutos a 850°C. Los nanotubos obtenidos fueron guardados en un vial de boro silicato.

Funcionalización química

Los nanotubos de carbono se introducen a una solución en concentración 3:1 del ácido sulfúrico y ácido nítrico, para después dejarlo en baño ultrasónico durante 5 horas. Una vez transcurrido ese tiempo, se procede a filtrar la solución en una bomba de vacío. Se lavan los MWCNTs con una solución 0.01 M de Hidróxido de Sodio para después realizar un aclarado con agua destilada. Nuevamente se realiza otra filtración al vacío y un nuevo lavado con agua destilada.

Posteriormente se añaden 5 mg de MWCNTs y 83 µl de solución de AgNO₃ (0.1 M) y se pasa a agitación magnética durante 30 minutos a 50°C. Finalmente, se realiza un nuevo filtrado lavando con agua destilada.

Extrusión y mezclado

Se utiliza polietileno de alta densidad obtenido de la molienda de botellas del mismo material. El grosor de la película de la botella se encuentra entre 3-5 mm. De la molienda se obtiene una laminilla de 1 cm², lo que hace fácil su extrusión. Para mezclar los Ag-MWCNTs con el polímero se hizo una relación de peso para realizar una concentración de 0.01% de nanotubos por cada kilogramo de polímero. Se utilizó un extrusor de usillo simple a 180 °C.

Evaluación de Actividad Antimicrobiana

Para comprobar la efectividad antimicrobiana del polímero, se decidió realizar un análisis de inhibición bacteriana a nanotubos de carbono sin funcionalizar y funcionalizados, el cual se presenta a continuación:

Experimentación:

- Se realizaron dos pruebas antibacteriales, la primera con los nanotubos de carbono y la segunda con nanotubos de carbono funcionalizados con plata.
- Se sembró agua residual doméstica en los medios de Eosina Azul de Metileno (EAM) y caldo nutritivo.

Nanotubos de carbono en agar EAM

La preparación de agares se dividió en dos variables:

1. 200 ml de medio de cultivo, preparación normal (según indica el frasco).
2. 200 ml de medio de cultivo con 0.01% de concentración en peso de MWCNTs.

Ambos matraces se introdujeron a la autoclave a 120 ° C durante 15 minutos a 1 atmósfera de presión.

Todo el proceso de vaciado y siembra se llevó a cabo dentro de una campana previamente desinfectada. Para el método de estrías se utilizó un asa de siembra y por goteo una pipeta de 5 ml.

En 5 cajas con EAM sin nanotubos inmersos se le fueron colocados con una azada MWCNTs en el centro.

Se realizó un estriado simple sobre cada uno de los agaros y se dejó en incubación a 35°C y se revisó su crecimiento en 48 horas.

Nanotubos de Carbono en caldo nutritivo

El caldo se preparó según indica el frasco del producto. De la misma forma, se realizaron dos preparaciones diferentes:

1. 70 ml de caldo, preparación normal.
2. A 70 ml de caldo se añadieron a concentración de 0.01% MWCNTs y se esterilizó de manera normal.

Ambas preparaciones se introdujeron a la autoclave a 120 ° C durante 15 minutos a 1 atmósfera de presión. Se vació en tubos y se hizo la siembra por goteo.

Resultados

- MWCNTs sin Ag

Como se observa en las tablas 1 y 2 (véase en anexos), en todos los casos se dio el crecimiento de microorganismos, no hubo inhibición bacteriana.

Unos días pasada la primera observación, pudo notarse que en los cultivos en donde se insertaron MWCNTs el crecimiento era menor en comparación al control, entonces se deduce que aunque las nanopartículas no eviten la proliferación de microorganismos, si influyen en el retraso del crecimiento.

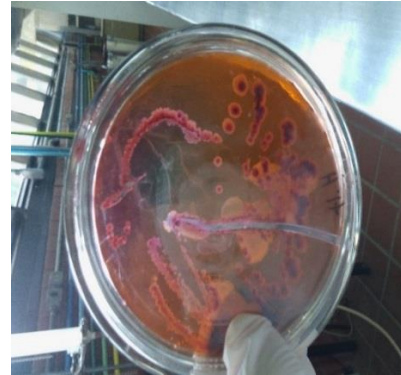


Figura 8. Agar EAM, siembra por estriado, nanotubos inmersos en el medio.

- MWCNTs con Ag



Figura 9 Siembra de Nanotubos de Carbono funcionalizados con plata en medio EAM

La inhibición de crecimiento bacteriano es mayor en los medios de cultivo con nanotubos de carbono funcionalizados con plata (véase tablas 3 y 4 en anexos).

Recordando que la micro biota predominante en aguas residuales domésticas comprenden principalmente de bacterias altamente infecciosas como *Escherichia*, *Salmonella*, *Pseudomonas*, *Aeromonas*, *Serratia*, *Nocardia*, etc. Por otro lado, esta prueba no fue suficiente para demostrar la eficacia del material ante hongos, por lo que se propone que la investigación quede abierta para probar distintas concentraciones del material sobre el polímero.



Figura 10 Comparación de Caldos de Cultivo Nutritivos con Ag-MWCNTs

En la figura 3 se aprecia cómo es que la presencia de los Ag- MWCNTs influye circunstancialmente en el crecimiento y proliferación microbiana, ya que no se observa turbidez en ninguno de los 5 tubos que contienen las nanopartículas, en cambio, si se aprecia alto grado de turbidez en los tubos control (1 y 2 de izquierda a derecha).

Con el estudio de actividad antimicrobiana se concluye que las nanopartículas de Ag-MWCNTs tienen mayor capacidad de inhibir el crecimiento microbiano en comparación con los simples MWCNTs, probando así que la funcionalización con plata es efectiva para dotar al polímero de capacidad antimicrobiana. Nuevamente se hace hincapié en que se necesita continuar el estudio probando la efectividad antimicrobiana que podrían llegar a poseer.

Análisis por Difracción de Rayos X

A continuación se muestran los resultados del análisis de Difracción de Rayos X realizados a los Ag-MWCNTs y al polímero decorado con Ag-MWCNTs.

En el gráfico 1 se observa el análisis a los Ag-MWCNTs funcionalizados. El resultado comprobó que efectivamente se cuenta con la presencia de nanotubos de carbono además de la detección de plata.

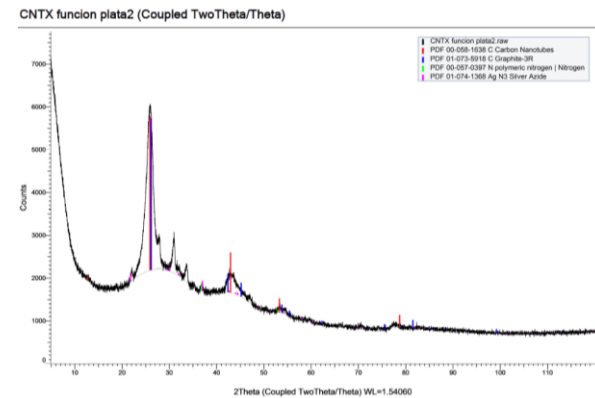


Figura 11 Resultados del Análisis de Difracción de Rayos X a los Ag-MWCNTs

Se realizó otro muestreo posterior a la extrusión del plástico en donde el material ya se encuentra mezclado con el polietileno. Los resultados mostrados en la gráfica número 2 señalan nuevamente la presencia de nanotubos de carbono y de la misma forma se puede observar el pico que indica que existe plata en la muestra, aunque en menor intensidad.

En este punto cabe recordar que el proceso de polimerización por el que son sometidos los nanotubos de carbono, genera que haya una especie de encapsulación de las nanopartículas, lo que disminuye su intensidad y lo hace mucho más accesible al contacto humano dado a que las nanopartículas se encuentran adheridas al material y su facilidad de desprendimiento es menor.

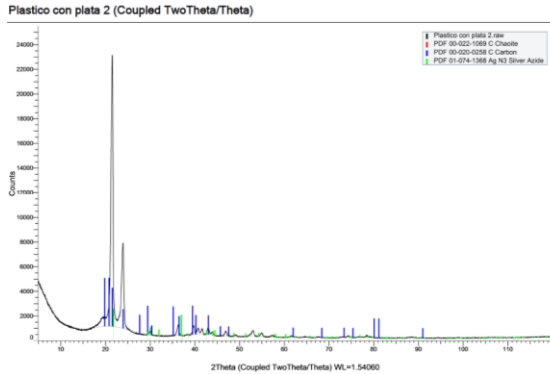


Figura 12 Resultados del Análisis de Dispersión de Rayos X al polímero decorado con Ag-MWCNTs

Anexos

MWCNTs sin Ag

Nanotubos de carbono en agar EAM

Caja	Método	Resultado
1	Agar con NTC disueltos	Positivo
2	Agar con NTC disueltos	Positivo
3	Agar con NTC disueltos	Positivo
4	Agar con NTC disueltos	Positivo
5	NTC en el centro	Positivo
6	NTC en el centro	Positivo
7	NTC en el centro	Positivo
8	NTC en el centro	Positivo
9	NTC en el centro	Positivo
10	Control	-----

Tabla 1 Resultados de la siembra de MWCNTs en Agar EAM

Nanotubos de Carbono en caldo nutritivo

Tubo	Método	Resultado
1	Agar con NTC disueltos	Positivo
2	Agar con NTC disueltos	Positivo
3	Agar con NTC disueltos	Positivo
4	Agar con NTC disueltos	Positivo

Tabla 2 Resultados de la siembra de MWCNTs en Caldo Nutritivo

- MWCNTs con Ag

Nanotubos de carbono funcionalizados con plata en agar EAM

Caja	Método	Resultado
1	Agar con NTC Ag disueltos	Negativo
2	Agar con NTC Ag disueltos	Negativo
3	Agar con NTC Ag disueltos	Negativo
4	Agar con NTC Ag disueltos	Negativo
5	NTC Ag en el centro	Negativo
6	NTC Ag en el centro	Negativo
7	NTC Ag en el centro	Negativo
8	NTC Ag en el centro	Negativo
9	NTC Ag en el centro	Negativo
10	Control	-----

Tabla 3 Resultados de la siembra de Ag-MWCNTs en Agar EAM

Nanotubos de Carbono funcionalizados en caldo nutritivo

Tubo	Método	Resultado
1	Agar con NTC disueltos	Negativo
2	Agar con NTC disueltos	Negativo
3	Agar con NTC disueltos	Negativo
4	Agar con NTC disueltos	Negativo

Tabla 4 Resultados de la siembra de Ag-MWCNTs en Caldo Nutritivo

Conclusiones

Fueron sintetizados nanotubos de carbono multipared mediante el método CVD y posteriormente el análisis de Difracción de Rayos X demostró la existencia de plata dentro de su estructura.

Los Ag-MWCNTs inmersos en agar EAM después de 48 horas de cultivo no presentaron crecimiento bacteriano, caso contrario a los cultivos inoculados con MWCNTs sin plata. Por lo tanto, las nanopartículas de plata incorporadas a la estructura del nanotubo tuvieron efectos inhibitorios de crecimiento bacteriano. En este punto cabe aclarar que se requiere realizar más pruebas para identificar si el material es capaz de inhibir algún otro género microbiológico como lo son los hongos y las levaduras.

El proceso de mezclado y extrusión llevó a la formación de un polímero color grisáceo, con características físicas similares al HPDE sin tratamiento, sin embargo, es recomendable envía a realizar estudios físicos cuantitativos para evaluar el efecto del reforzamiento sobre el mismo.

Referencias

González, V. (2015). Nanomateriales de Carbono, síntesis, funcionalización y aplicaciones. (Doctorado). Universidad Carlos III de Madrid.

Koziol, K., Boskovic, B., & Yahya, N. (2010). Synthesis of Carbon Nanostructures by CVD Method. *Advanced Structured Materials*, 23-49. http://dx.doi.org/10.1007/8611_2010_12

Ortíz Hernández, M. (2013). LA JORNADA ECOLOGICA. *Jornada.unam.mx*. Retrieved 26 June 2017, from <http://www.jornada.unam.mx/2013/05/27/eco-f.html>

Shifrina, P. (2011). Synthesis of Carbon Nanotubes. Retrieved from http://www.physik.fu-berlin.de/einrichtungen/ag/ag-reich/lehre/Archiv/ss2011/docs/Polina_Shifrina-Handout.pdf

Sondi, I., & Salopek-Sondi, B. (2004). Silver nanoparticles as antimicrobial agent: a case study on E. coli as a model for Gram-negative bacteria. *Journal Of Colloid And Interface Science*, 275(1), 177-182. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.012>

Villareal, A. (2016). El peligro del hospital: aumenta el riesgo de infección por bacterias. *El Español*. Retrieved 26 June 2017, from http://www.elespanol.com/ciencia/salud/20161017/163734466_0.html