



# UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO

---

CAMPUS GUANAJUATO  
DIVISIÓN DE CIENCIAS NATURALES  
Y EXACTAS

Maestría en Ingeniería Química (Integración de  
Procesos)

## **“Desarrollo de un compuesto de quitosano con PGMA con refuerzo de nanopartículas de Ag soportadas en ZnO”**

### **TESIS**

Que para obtener el título de

**MAESTRA EN INGENIERÍA QUÍMICA**  
**(INTEGRACIÓN DE PROCESOS)**

PRESENTA

**I.Q. Diana Nelly Contreras Zarazúa**

#### **Directores de Tesis**

*Dr. David Contreras López*

*Dra. María del Rosario Galindo González*

GUANAJUATO, GTO.

Agosto 2020



## Declaratoria

Por medio de la presente me responsabilizo de la autenticidad y originalidad del presente trabajo titulado

**“Desarrollo de un composito de quitosano con PGMA con refuerzo de nanopartículas de Ag soportadas en ZnO”**

---

Dr. David Contreras López

**Asesor y Director de Tesis**

---

Dra. María del Rosario Galindo González

**Codirectora de Tesis**

GUANAJUATO, GTO.

Agosto 2020



Miembros del jurado del examen recepcional para obtener el título de Maestra en Ingeniería Química (Integración de Procesos). Presenta la I.Q Diana Nelly Contreras Zarazúa con el trabajo titulado:

**“Desarrollo de un composito de quitosano con PGMA con refuerzo de nanopartículas de Ag soportadas en ZnO”**

---

Dr. Antonio Martínez Richa  
**Presidente**

---

Dr. Zeferino Gamiño Arroyo  
**Secretario**

---

Dr. Christian Gómez Solís  
**Vocal**

---

Dra. Adriana Medina Ramírez  
**Suplente**



## Dedicatoria

Este trabajo lo dedico con todo mi amor a mis padres Gabriel y Olga por estar siempre ahí para mí en los buenos y malos momentos, por reír conmigo en mis alegrías y llorar conmigo mis penas, por ser mi fuerza cuando soy débil, en fin por ser mi puerto seguro en este mar llamado vida. Los amo

A mis hermanos y amigos de la infancia Gaby y Leo, definitivamente sin ustedes la vida sería más aburrida, los quiero.

A mis abuelitos mama Cheli y papa Meli. Siempre es un placer, un honor y alegría su presencia. A papa Guti y mama Gollita, porque los seguimos extrañando.

A mis mejores amigos Heidi y Harry por su compañía y amor incondicional.

*“Las palabras amables pueden ser cortas y fáciles de decir, pero sus ecos son realmente infinitos”.- (Madre Teresa de Calcuta)*



## Agradecimientos

A Dios porque sin en él, no tendría nada. Por permitirme cumplir un sueño más, por siempre poner en mi camino a gente maravillosa y dejarme vivir momentos inolvidables.

A mis padres, por todo su sacrificio, sus enseñanzas, su amor, su cuidado y el apoyo que me brindaron, no me queda más que decir GRACIAS, GRACIAS, GRACIAS... Nunca habrá palabras suficientes para agradecerles.

A mis hermanos por siempre sacarme una carcajada en los momentos más inesperados, los quiero demasiado.

A mis amigos durante estos dos años Lore, Eri, Oscar, Omar, Ara, Chuy y May. Me lo pase en grande, gracias por toda la diversión.

Se agradece a los doctores David, Rosario y Rosalba, por transmitirme su conocimiento y brindarme siempre su tiempo, paciencia, apoyo y ayuda a lo largo de este proyecto. Los admiro y respeto mucho.

A la maestra Diana y al maestro Amezquita por el uso del equipo FT-IR así como por sus consejos y paciencia.

A la Dra. Lérica Liss Flores y su laboratorio por ayudarme y apoyarme con las pruebas microbiológicas de esta tesis. Muchas gracias por su paciencia.

Al Dr. Ramón Antonio Zárraga por su apoyo en las caracterizaciones y su siempre trato amable.

A mis compañeros y amigos del laboratorio, por estar siempre disponibles a ayudar y hacer los momentos amenos con sus divertidas platicas.

Se agradece a los proyectos: CIIC144/2020 "Obtención de nanocompositos poliméricos vía procesos de polimerización heterofásica para el desarrollo



de protección de superficies" y IJ 236 2019 "Asesoría para el desarrollo de pinturas con nanopartículas inorgánicas para generar una nueva línea de producción en la empresa MXL comercial S.A. de C.V primera fase", por permitir llevar a cabo el desarrollo de la presente tesis de maestría.

Por último agradezco a la beca de Conacyt, por permitir que estudiantes como yo puedan lograr sus metas y seguir capacitándose para ser mejores profesionistas.

*"La mejor manera de encontrarse a uno mismo es perderse en la ayuda de los demás".- (Mahatma Gandhi)*



# Contenido

<b>Lista de figuras</b> .....	IX
<b>Lista de tablas</b> .....	XI
<b>Lista de acrónimos</b> .....	XII
<b>1. Resumen</b> .....	1
<b>2. Introducción</b> .....	4
<b>3. Marco teórico</b> .....	9
<b>3.1 Trabajos previos</b> .....	10
<b>3.2 Materiales a utilizar como matriz</b> .....	14
<b>3.2.1 Quitosano</b> .....	14
<b>3.2.2 Metacrilato de glicidilo (GMA)</b> .....	23
<b>3.2.3 Polimerización por radicales libres convencional (FRP)</b> .....	24
<b>3.3 Materiales para el refuerzo</b> .....	27
<b>3.3.1 Nanopartículas de plata (AgNP's)</b> .....	27
<b>3.3.2 Óxido de zinc (ZnO)</b> .....	31
<b>3.3.3 Depositación fotocatalítica</b> .....	32
<b>3.4 Microorganismos probados</b> .....	35
<b>4. Justificación</b> .....	37
<b>5. Planteamiento del problema</b> .....	38
<b>6. Hipótesis</b> .....	39
<b>7. Objetivo general</b> .....	40
<b>8. Objetivos particulares</b> .....	41
<b>9. Metodología</b> .....	42
<b>9.1 Obtención del refuerzo ZnO-Ag</b> .....	44
<b>9.2 Síntesis del copolímero injertado</b> .....	47
<b>9.3 Síntesis de compositos</b> .....	50
<b>9.4 Metodología para pruebas antibacteriales</b> .....	51



9.4.1 Preparación del medio de cultivo .....	51
9.4.2 Crecimiento del hongo <i>Fusarium oxysporum</i> : .....	52
9.4.3 Conteo con la cámara de Neubauer: .....	53
9.4.4 Preparación de las pruebas antibacteriales: .....	54
10. Caracterización.....	60
11. Resultados.....	68
11.1 DLS .....	69
11.2 Reflectancia difusa .....	70
11.3 FT-IR .....	72
11.4 SEM.....	80
12. Pruebas antibacteriales .....	84
12.1 Vista el hongo con fluorescencia .....	85
12.2 Conteo de esporas con la cámara de Neubauer.....	87
12.3 Preparación de las prueba antibacteriales: .....	89
13. Conclusiones.....	97
14. Trabajo a futuro.....	99
15. Productos obtenidos .....	100
16. Anexo .....	101
17. Bibliografía.....	103

## Lista de figuras

<b>Figura 2.1</b> Tipos de materiales compuestos	5
<b>Figura 2.2</b> Tipos de matrices para formar un composito.	6
<b>Figura 2.3</b> Ejemplificación del material compuesto.	8
<b>Figura 3.1.</b> Fórmula desarrollada del quitosano.	14
<b>Figura 3.2.</b> Fórmula desarrollada de la quitina.	15
<b>Figura 3.3.</b> Fórmula desarrollada del quitosano conteniendo residuos...	16
<b>Figura 3.4.</b> Espectro de absorción de la muestra desproteïnizada...	18
<b>Figura 3.5.</b> Espectros de FT-IR del quitosano a diferentes grados DD...	19
<b>Figura 3.6.</b> Estructura química desarrollada del GMA	23
<b>Figura 3.7</b> Síntesis de la funcionalización del CTS con GMA.	24
<b>Figura 3.8</b> Esquema general de la polimerización por radicales libres	26
<b>Figura 3.9.</b> Proceso de la fotodepositación de metales nobles	34
<b>Figura 9.1.</b> Esquema general de la metodología aplicada en esta tesis.	44
<b>Figura 9.2.</b> Resultado de la dispersión del ZnO en agua desionizada...	45
<b>Figura 9.3.</b> ZnO con agua desionizada y etanol en con burbujeo de N <sub>2</sub> ...	45
<b>Figura 9.4.</b> Una vez ell AgNO <sub>3</sub> o Ag <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> se coloca en un fotoreactor...	46
<b>Figura 9.5</b> Recuperación del refuerzo ZnO-Ag por centrifugación.	47
<b>Figura 9.6</b> Síntesis de CTS- g- GMA	47
<b>Figura 9.7</b> Disolución del quitosano en ácido acético en un baño ultras...	48
<b>Figura 9.8.</b> Síntesis del copolimero injertado CTS-g-GMA.	48
<b>Figura 9.9.</b> Recuperación del copolimero.	49
<b>Figura 9.10.</b> Etapas de la recuperación del composito.	50
<b>Figura 9.11.</b> Preparación del medio de cultivo del hongo...	51
<b>Figura 9.12.</b> Hongo <i>Fusarium Oxysporum</i> .	52
<b>Figura 9.13</b> A) Microscopio Zeiss primo vert, B) un microscopio Lica...	53
<b>Figura 9.14</b> Caja Petri para prueba antifúngica	55
<b>Figura 9.15</b> A) Cultivo de <i>E.coli</i> B) y <i>Saccharomyces cerevisiae</i> .	57

<b>Figura 9.16</b> Material empleado para pruebas antibacteriales	58
<b>Figura 9.17</b> a) Medio Luria para la <i>E. coli</i> y b) medio YPG para la levadura	59
<b>Figura 10.1</b> Equipo <i>Zetasizer nanoseries</i> para la caracterización por DLS	62
<b>Figura 10.2</b> Espectrómetro <i>UV-VIS-2401PC</i>	63
<b>Figura 10.3</b> Espectrómetro <i>FT-IR Perkin Elmer Spectrum 100</i>	65
<b>Figura 10.4</b> Esquema de las partes del microscopio de barrido.	66
<b>Figura 11.1</b> Tamaño de partícula por DLS de la muestra de Ag.	69
<b>Figura 11.2</b> <i>Band gap</i> experimental del ZnO	70
<b>Figura 11.3</b> <i>Band gap</i> de ZnO-Ag usando como precursor $AgNO_3$ y $Ag_2SO_4$ .	71
<b>Figura 11.4</b> FT-IR experimental del ZnO	72
<b>Figura 11.5</b> FT-IR de ZnO-AgNp's usando como precursor $AgNO_3$ y $Ag_2SO_4$ .	73
<b>Figura 11.6</b> FT-IR experimental del Quitosano	74
<b>Figura 11.7</b> FT-IR de las Funcionalizaciones con 1:2 y 1:4 de CTS/GMA	76
<b>Figura 11.8</b> FT-IR de las Incorporaciones 1:2 al 0.1%, 0.3% y 0.5%...	77
<b>Figura 11.9</b> FT-IR de las incorporaciones al 0.1%, 0.3% y 0.5% ...	78
<b>Figura 11.10</b> SEM del refuerzo ZnO-AgNp's	80
<b>Figura 11.11</b> Composición del refuerzo ZnO- AgNp's ...	81
<b>Figura 11.12</b> SEM del composito GMA-CTS-ZnO- AgNp's	82
<b>Figura 11.13</b> Composición del composito GMA-CTS-ZnO- AgNp's	83
<b>Figura 12.1</b> <i>Fusarium Oxysporum</i> A) Con objetivo x20...	85
<b>Figura 12.2.</b> Usando blanco de calcoflor con objetivo de x40	86
<b>Figura 12.3.</b> Usando azul de algodón con objetivo de x20	86
<b>Figura 12.4.</b> Cámara de Neubauer	87
<b>Figura 12.5.</b> Conteo por cuadrante en la Cámara de Neubauer.	87
<b>Figura 12.6.</b> Parte posterior de la caja Petri en la prueba antifungica...	89
<b>Figura 12.7.</b> Caja Petri en la prueba antifungica de las incorporaciones...	90
<b>Figura 12.8.</b> Caja Petri en la prueba antifungica con GMA+CTS...	91
<b>Figura 12.9</b> Conteo para el efecto inhibitorio del quitosano con <i>E.coli</i> .	92
<b>Figura 12.10</b> Presencia de <i>E. Coli</i> en la parte experimental.	93



<b>Figura 12.11</b> Conteo para la <i>E. coli</i>	94
<b>Figura 12.12</b> Conteo para el efecto inhibitorio del quitosano con levadura.	94
<b>Figura 12.13</b> Presencia de Levadura en la parte experimental	95
<b>Figura 12.14</b> Conteo para la levadura	96

## Lista de tablas

<b>Tabla 1.</b> Estado del arte para el presente proyecto de tesis	10
<b>Tabla 2.</b> Valores de las constantes viscosimétricas para quitosano...	21
<b>Tabla 3.</b> Usos de la plata según la farmacopea británica.	28
<b>Tabla 4.</b> MIC y MBC de NP'S de Ag y ZnO	30
<b>Tabla 5.</b> Porcentaje de ZnO y Ag en el composito 1:2 de CTS/GMA	79
<b>Tabla 6.</b> Porcentaje de ZnO y Ag en el composito 1:4 de CTS/GMA	79



## Lista de acrónimos

**Nota:** La mayoría por sus siglas en inglés

AgNP's- Nanopartículas de plata

CTS/CS- Quitosano

DD/DA- Grado de N-desacetilación

DLS- Dispersión de luz dinámica

DRS- Reflectancia difusa

DSC- Calorimetría diferencial de barrido

EDS- Espectrometría de dispersión de energía de rayos X

FRP- Polimerización por radicales libres

FT-IR- Infrarrojo con transformada de Fourier.

GA- Grado de n-acetilación.

GMA- Metacrilato de glicidilo

IN- Incorporación

MIC- Concentración mínima inhibitoria

MBC- Concentración mínima bactericida

Np's/NP's- Nanopartículas

ROP- Polimerización por apertura de anillo

SDBS- Dodecylbencenosulfonato de sodio

SEM- Microscopio electrónico de barrido

TGA- Análisis termogravimétrico

THF- Tetrahidrofurano

UV-VIS- Espectroscopia ultravioleta-visible

# 1. Resumen



Este trabajo de investigación se enfoca en la síntesis de un compuesto o material compuesto, constituido por una matriz polimérica de metacrilato de glicidilo (GMA) injertado en quitosano (CTS); eso es, CTS-g-GMA y un reforzado con nanopartículas (Np's) de ZnO adornadas con plata (ZnO-Np's de Ag).

Para obtener este material se realizó la modificación química del quitosano (CTS, con un grado de desacetilación, DD= 83.77%) con metacrilato de glicidilo (GMA), por medio de la ruptura heterolítica del grupo epóxido de este último. Esta funcionalización se llevó a cabo a dos proporciones másicas de CTS-GMA en 1:2 y 1:4. Posteriormente se sintetizó el refuerzo por medio de una fotodeposición de Np's Ag para decorar al ZnO. Las Np's Ag se produjeron a partir de dos sales precursoras ( $\text{AgNO}_3$  y  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ), en ambos casos se obtuvo el mismo *band gap* de 3.1394 eV y también se pudo observar el plasmón característico de la Ag; debido a esta igualdad, se optó por usar solamente el precursor  $\text{AgNO}_3$  para las Ag-Np's debido a que su costo es más económico y de la cual se obtuvo un tamaño de 45.89 nm.

Para la síntesis del compuesto, se dispersó el refuerzo en el GMA en las proporciones: 0.1, 0.3 y 0.5% w/w con respecto al (GMA), y se procedió a polimerizar vía radicales libres (FRP) mediante la ruptura del grupo vinílico. El espectro de infrarrojo por transformada de Fourier (FT-IR) no mostró una diferencia significativa entre los diferentes grados de incorporación y en el caso de la microscopia electrónica de barrido (SEM) se mostró que no hubo una buena distribución del refuerzo en la matriz atribuida al método de recuperación y al encapsulamiento del refuerzo por la matriz.

En el caso de las pruebas antibacteriales no se observó inhibición en hongo (*Fusarium Oxysporum*), levadura (*Saccharomyces cerevisiae*) y bacteria (*E.coli*) atribuido a la poca biodisponibilidad causada por el encapsulamiento del compuesto en el cual la Ag, el ZnO y CTS no tuvieron el contacto necesario con los microorganismos.



Cabe resaltar que el objetivo principal es la de producir un nuevo material compuesto y esto se logró, por lo el presente trabajo sienta las bases de su síntesis y aplicación.

**Palabras clave:** FRP, quitosano, GMA, nano partículas.



## 2. Introducción

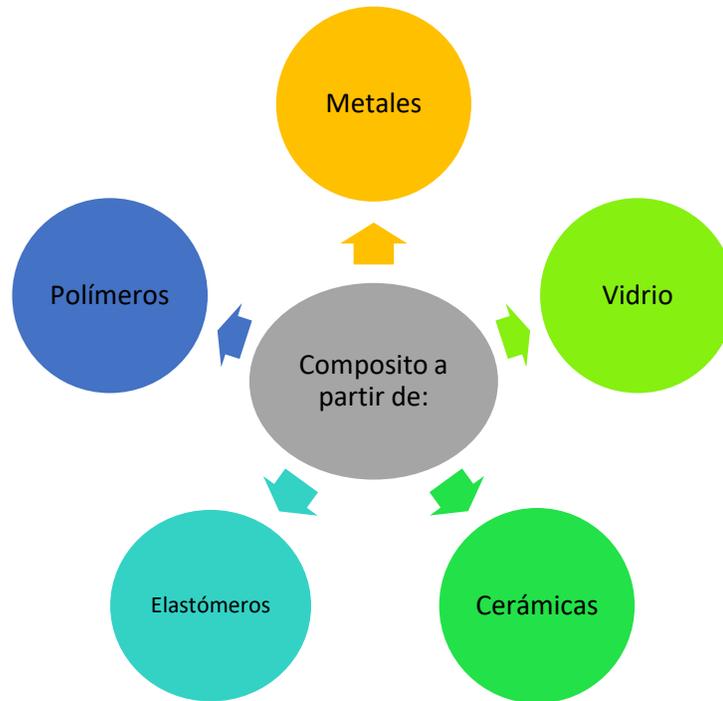
Un material compuesto es aquel donde la matriz (medio continuo) y de un material de refuerzo (medio disperso), por lo que surge de la combinación de las propiedades de diferentes materiales, esto puede ser por medio de una alteración en la superficie cambiando de esta manera su composición (un ejemplo es el carburizando) o mediante un tratamiento térmico diferencial (como la inducción del endurecimiento) o simplemente por la unión de dos (o más) materiales distintos (**Figura 2.1**), como es este caso de estudio<sup>[1]</sup>. El propósito de la unión de dos o más materiales de distinta naturaleza es conseguir propiedades combinadas, mejoradas o nuevas, respecto a los materiales originales.



**Figura 2.1** Tipos de materiales compuestos.

Con respecto a los materiales compuestos o composites son materiales de alto desempeño debido a su diseño tanto estructural como morfológico, que presentan combinaciones de propiedades de sus componentes originales, por ejemplo, en el caso de los composites se puede obtener reforzamiento a la matriz receptora, propiedades antibacteriales, resistencia mecánica, mejora estructural. Mientras que de la matriz, se obtiene la facilidad de procesamiento y aplicación. Los composites se pueden clasificar de acuerdo

con a su matriz (carbono, cerámica, metálica, polímeros, vidrio. Ver **Figura 2.2**, la cual dependerá de la aplicación y propiedades que se requieran. En general, los materiales compuestos por una matriz polimérica, tienen buenas propiedades mecánicas, son resistentes a la corrosión y a los agentes químicos, a causa de sus propiedades físicas pueden ser moldeados con absoluta libertad de formas.



**Figura 2.2** Tipos de matrices para formar un compuesto.

Por otra parte la incorporación química de dos o más monómeros con estructura química diferentes y por ende, con diversas propiedades físicas y/o químicas, permiten la formación de nuevos materiales (copolímeros) con gran importancia científica y comercial<sup>[2]</sup>. Los nuevos materiales preparados por copolimerización tienen un interés creciente. Estos materiales son importantes debido a la amplia gama de aplicaciones para materiales poliméricos funcionalizados. La copolimerización modula las fuerzas intra e intermoleculares ejercidas entre segmentos de polímeros similares y diferentes. Por lo tanto, sus propiedades intrínsecas tales como temperatura de transición vítrea, punto de fusión, solubilidad, cristalinidad,



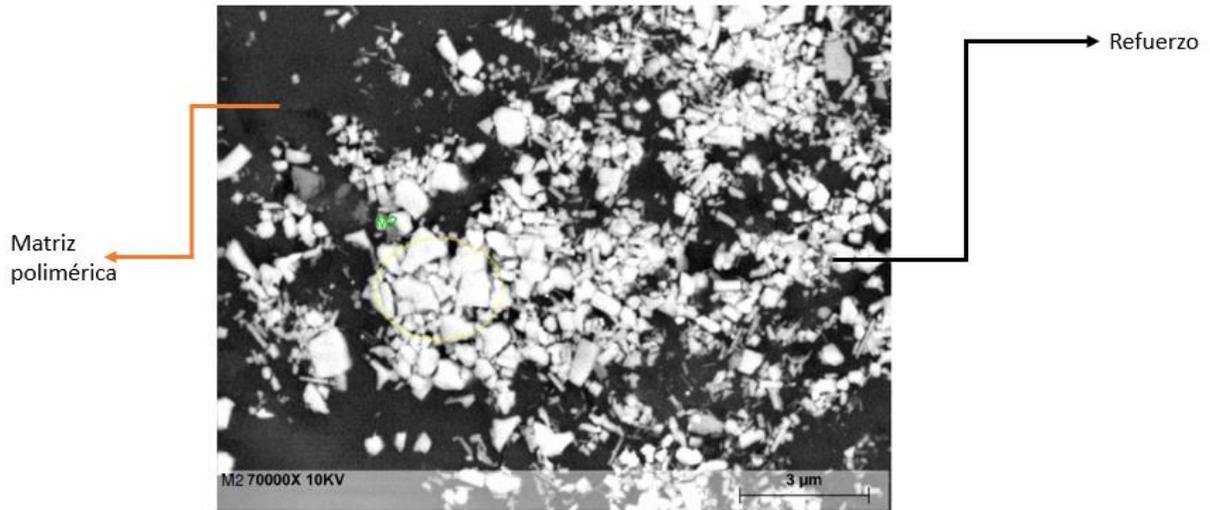
permeabilidad, capacidad de teñido, adhesión, elasticidad y reactividad química se modulan y pueden variar dentro de un amplio intervalo<sup>[2, 3]</sup>.

Los polímeros son considerados como buenas matrices para composites, debido a que pueden diseñarse fácilmente a la medida, lo que resulta en una gran variedad de propiedades físicas. Así mismo, los polímeros orgánicos poseen por lo general una estabilidad a largo plazo y buena procesabilidad. Las partículas inorgánicas, por su parte, tienen propiedades ópticas, catalíticas, electrónicas y magnéticas sobresalientes. Al combinar las atractivas funcionalidades de ambos componentes, se espera que los composites derivados exhiban propiedades sinérgicas mejoradas. Sus aplicaciones potenciales son variadas (automóviles, industria aeroespacial, optoelectrónica, entre otros)<sup>[4]</sup>.

Para fines del presente proyecto, es necesario definir que es un biopolímero, siendo una macromolécula presente en los seres vivos o sintetizadas por los seres vivos, algunos ejemplos son: el ADN, el caucho y algunos poliésteres. El biopolímero más abundante en la Tierra es la celulosa, seguida por la quitina<sup>[5]</sup> (encontrada en los exoesqueletos de arácnidos, crustáceos e insectos)<sup>[6]</sup>.

En el presente trabajo de investigación se empleó el biopolímero de quitosano, el cual tiene la ventaja de ser bioabsorbible. Para aplicaciones clínicas, a menudo es importante distinguir claramente entre “polímeros biodegradables” y “polímeros bioabsorbibles”. Los polímeros biodegradables son aquellos que se descomponen en el cuerpo vivo, pero los productos de degradación permanecen en los tejidos durante más tiempo. Por otro lado, se pueden definir polímeros bioabsorbibles, como polímeros que se eliminan del cuerpo o se metabolizan en él. El quitosano no es tóxico, es bioabsorbible y se asemeja estructuralmente a los glucanos. Actualmente, el quitosano es el material preferido para ser un dispositivo controlado de administración de medicamentos<sup>[7]</sup>.

Para fines de este estudio, el material compuesto estuvo integrado de una matriz de quitosano modificada con metacrilato de metilo (GMA), siendo esta la fase continua y posteriormente fue reforzada con ZnO adornado con nanopartículas de plata (como puede observarse en la **Figura 2.3**).



**Figura 2.3** Ejemplificación del material compuesto.

La síntesis de nanopartículas y por ende, la nanotecnología presenta un auge que permite diseñar materiales con características únicas en donde se trata de aprovechar las propiedades físicas, químicas y biológicas mejoradas, así como frecuentemente novedosas de los materiales a nano escala (0.2-100 nm)<sup>[8]</sup>.



# 3. Marco teórico

### 3.1 Trabajos previos

A continuación, en la **Tabla 1**, se muestran algunos trabajos previos reportados por diferentes grupos de investigación enfocados a los materiales que se emplearon en el presente trabajo, esto con el fin de dar un breve panorama de la importancia que tienen estos materiales y la originalidad del presente proyecto de investigación; es decir, (CTS, Ag, ZnO), (NP's CTS-ZnO), (CTS-GMA), (ZnO-Ag).

**Tabla 1.** Estado del arte para el presente proyecto de tesis

Artículo	Material compuesto	Propiedades reportadas
<b>Li-Hua Li, Jian-Cheng Deng, Hui-Ren Deng, Zi-Ling Liu, Xiao-Li Li</b> 2010 <sup>[9]</sup> .	Películas de CTS/Ag/ZnO	Película CTS/Ag/ZnO con mayor actividad antimicrobiana que las películas de CTS/Ag y CTS/ZnO.
<b>Li-Hua Li, Jian-Cheng Deng, Hui-Ren Deng, Zi-Ling Liu, Ling Xin</b> 2010 <sup>[10]</sup> .	Composito de CTS/Np's ZnO	Np's de ZnO Tuvieron dispersión homogénea en la matriz de CTS. El ZnO tuvo efecto en las propiedades mecánicas. Buenas propiedades antibacteriales con el composito dopado entre 6-10 wt% contra <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Escherichia coli</i> , y <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>O. García-Valdez, R. Champagne-Hartley, E. Saldívar-Guerra, P. Champagne, and M. F. Cunningham</b> 2013 <sup>[11]</sup> .	CTS se funcionalizó primero con (GMA) y luego se convirtió en una macroalcoxiamina por adición de radicales intermoleculares	La insolubilidad del CTS injertado con PS puede atribuirse a la terminación de las cadenas en crecimiento que conducen a la reticulación. En medios homogéneos, se aumentó el contenido de injerto de polímero en CTS a tiempos de reacción más cortos en comparación con los informes anteriores.
<b>Rajagopalan Thaya, Balasubramanian</b>	Nanocompuesto de Ag/ZnO	El nanocomposito (CTS/Ag/ZnO), exhibió propiedades



<p><b>Malaikozhundan, Sekar Vijayakumar, Jeyachandran Sivakamavalli, Raja Jeyasekar, Sathappan Shanthi, Baskaralingam Vaseeharan, Palaniappan Ramasamy, Avinash Sonawane</b> 2016<sup>[12]</sup>.</p>	<p>recubierto de quitosano</p>	<p>antibacteriales contra bacterias Gram positivas (<i>B. licheniformis</i> y <i>B. cereus</i>) a 8 µg/mL</p>
<p><b>Agripina Zaharia, Viorica Musat, Viorica Plescan Ghisman, Nicusor Baroiu</b> 2016<sup>[13]</sup>.</p>	<p>Copolímeros acrílicos comerciales se modificaron con nanopartículas (ZnO/Cs y Ag:ZnO/Cts) y nanopartículas (NP's) basadas en óxido de zinc (ZnO y Ag:ZnO).</p>	<p>Las muestras modificadas revelan una buena actividad antibacteriana contra <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i>. La actividad más fuerte se observa contra <i>E. coli</i> para el material híbrido que contiene NP's Ag:ZnO.</p>
<p><b>K.T. Karthikeyan , A. Nithyaa, K. Jothivenkatachalam</b> 2017<sup>[14]</sup>.</p>	<p>Nanocomposito de CTS/TiO<sub>2</sub></p>	<p>Excelente agente antimicrobial contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas, y también contra hongos. Exhibieron una zona de inhibición de 10.33 y 25.66 mm. Actuaron como fotocatalizadores para remoción rhodamine B (RhB) y congo red (CR).</p>
<p><b>Balaji J., Sethuraman M.G.</b> 2017<sup>[15]</sup>.</p>	<p>CTS dopado con Hy/nano-TiO<sub>2</sub></p>	<p>El CTS dopado con con Hy/nano-TiO<sub>2</sub>, exhibe mejor protección a la corrosión, que el que no está dopado.</p>
<p><b>Y. Acikbasa, R. Capanb, M. Erdoganb, L. Bulutc, C. Soykan</b> 2017<sup>[2]</sup>.</p>	<p>Copolímero Estireno-Metacrilato de glicidilo (ST-co-GMA)</p>	<p>Este material de copolímero se puede utilizar como material de detección y puede encontrar aplicaciones potenciales en el desarrollo de dispositivos de detección de vapor orgánico a temperatura ambiente.</p>



<b>Daniel Ramirez , Franklin Jaramillo</b> 2018 <sup>[16]</sup> .	Poliuretanos termoplásticos con Np's de Ag	Nueva metodología de polimerización in situ para la incorporación de Np's de Ag. Las Np's de Ag aumentó más del doble del módulo elástico y se observó una gran efectividad bactericida para nanocompuestos que contenían 1.5% en peso de Np's de Ag para <i>Escherichia coli</i> .
<b>A. Gouthaman, J. Auslin Asir, A. Gnanaprakasam, V.M. Sivakumar, M. Thirumarimurugan, Mohamed A. Riswan Ahamed, Raja S. Azarudeen</b> 2019 <sup>[17]</sup> .	Nanocompuestos poliméricos con incorporación de nanopartículas de ZnO dopadas con Ag	El polietilenglicol-g-polianilina con Ag-ZnO, se puede utilizar como una sustancia potencial para tratar efluentes de colorantes industriales en tiempo real. La mayor adsorción se logró en las condiciones de 0.075 g de dosis de adsorbente, 70 mg/L de concentración de colorante, 1% de Ag-ZnO.

Como se describió en la **Tabla 1**, se han elaborado materiales compuestos a partir de AgNp's con poliuretano, aquí el refuerzo de plata contribuyó al aumento del módulo elástico y propiedad bactericida del material. También se han hecho materiales compuestos de CTS/ZnO, Ag/ZnO, CTS/ZnO/Ag como materiales con propiedades antibacteriales; se ha sintetizado un nanocomposito de CTS/TiO<sub>2</sub> como material anticorrosivo, siendo TiO<sub>2</sub> un material inorgánico al igual que el ZnO, los que han demostrado tener propiedades antibacterianas; sin embargo, se ha probado más el uso de ZnO en la industria del cuidado personal y del empaquetamiento de comida<sup>[18, 19]</sup>; asimismo se ha hecho la funcionalización de ST/GMA para la detección de vapores orgánicos. En cuanto a la elaboración de una macroalcoxiamina por adición de radicales intermoleculares, se tuvo como intermediario la funcionalización de CTS/GMA, y se encontró que la insolubilidad del CTS injertado con PS puede atribuirse a la terminación de las cadenas en crecimiento que conducen a la reticulación y que en medios



homogéneos, aumenta el contenido de injerto de polímero en CTS a tiempos de reacción más cortos en comparación con los informes anteriores.

Es decir:

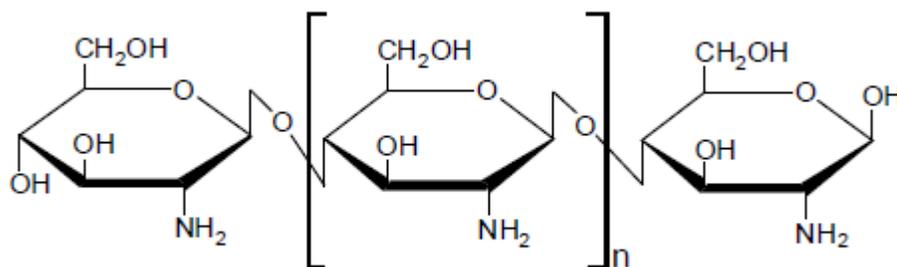
1. Se han hecho funcionalizaciones de CTS (un biopolímero) con un polímero (GMA, ST, PS).
2. Se han sintetizado materiales compuestos teniendo como matriz un biopolímero o un polímero (CTS o poliuretano, respectivamente) y como refuerzos materiales inorgánicos de Ag, ZnO, TiO<sub>2</sub>.

Sin embargo, estos dos casos se han hecho de manera aislada. Por eso lo que se buscó con esta investigación es crear un nuevo material compuesto, que contenga como matriz la funcionalización CTS/GMA y como refuerzo ZnO/AgNp<sup>s</sup>.

## 3.2 Materiales a utilizar como matriz

### 3.2.1 Quitosano

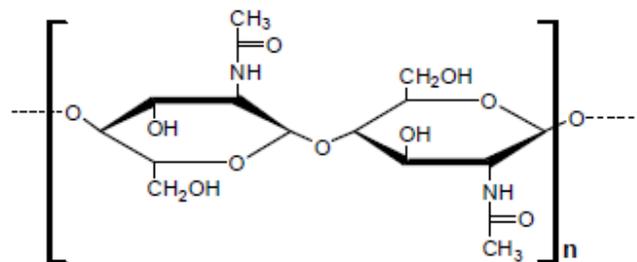
El quitosano presenta las ventajas de ser un biopolímero abundante y debido a sus propiedades funcionales y fisicoquímicas, tiene aplicaciones tan variadas en campos de la: alimentación, medicina, agricultura, cosmética y farmacia; sin embargo, carecen de propiedades mecánicas como: maleabilidad, elasticidad, tenacidad, ductilidad, plasticidad; siendo así un material frágil<sup>[5]</sup>. El quitosano (ver **Figura 3.1**) es un aminopolisacárido derivado de la quitina (ver **Figura 3.2**), y es el segundo polímero natural más abundante en el mundo después de la celulosa<sup>[5-7, 20]</sup>. Obtenido a escala industrial por N-desacetilación termoalcalina de la quitina obtenida de los crustáceos<sup>[20]</sup>. Una vez que la quitina ha sido desacetilada al menos en un 50%, se le conoce como CTS<sup>[21]</sup>.



**Figura 3.1.** Fórmula desarrollada del quitosano

\*Figura adaptada de Leticia Arizbeth Ramírez Mendoza, Aidé Sáenz Galindo, Lluvia Itzel López López, Pablo González Morones. “Nanomateriales poliméricos: Quitosano/nanoestructuras de carbono”. *Revista americana de ciencias farmacéuticas*. 2015. pp 8 <sup>[22]</sup>

El CTS es un compuesto con enlaces  $\beta$  (1  $\rightarrow$  4) a 2-amino-2-deoxi-D glucopiranososa y 2-acetamido-2-deoxi-D glucopiranososa, su potencial está en aplicaciones para purificación de agua y el tratamiento de aguas residuales, agricultura, biofarmacéuticos, cosméticos, artículos de tocador, en las industrias de alimentos y bebidas. Es por esto por lo que se han estado realizando investigaciones durante la última década, para el desarrollo de sistemas potencialmente innovadores para la liberación de fármacos e ingeniería de tejidos y comercialmente en la manufactura de parches cicatrizantes (e.g. HemCon<sup>®</sup>). Más del 50% del número total de solicitudes de patentes registradas en el 2006 utilizan este biopolímero y una parte de las mismas son sobre aplicaciones como la liberación de fármacos, ingeniería de tejidos y cicatrización [21, 23].

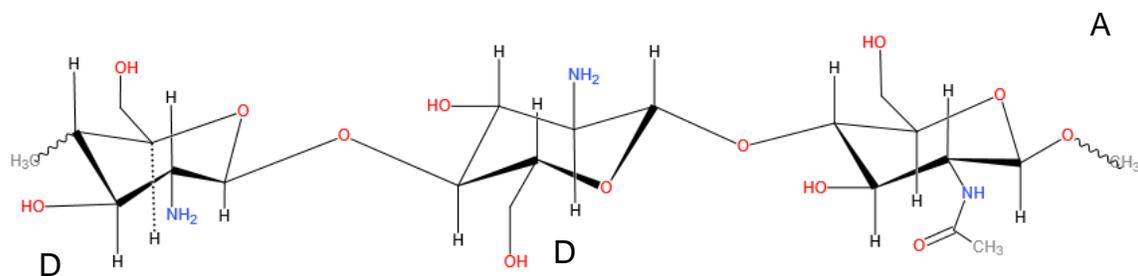


**Figura 3.2.** Fórmula desarrollada de la quitina

\*Figura adaptada de Zulay Mármol, Gisela Páez, Marisela Rincón, Karelen Araujo, Cateryna Aiello, Cintia Chandler y Edixon Gutiérrez. “Quitina y Quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones”. *Revista Tecnocientífica URU*. 2011. pp 54 [24].

Como se mencionó, la quitina tiene que estar al menos 50% desacetilada para que sea considerada como quitosano, esto puede observarse en la **Figura 3.3** siendo una estructura más completa, donde se toma en cuenta la estructura A con el grupo acetilo, mientras que las D son las partes desacetiladas. Químicamente se define como una familia de heteropolisacáridos lineales; que están formados por 2-amino-2-deoxi- $\beta$ -D-

glucosa (unidades D) y 2-acetamido-2-deoxi- $\beta$ -D-glucosa (unidades A) unidas por un enlace glicosídico (1 $\rightarrow$ 4).



**Figura 3.3.** Fórmula desarrollada del quitosano conteniendo residuos de monosacáridos [2-acetamido-2-deoxi- $\beta$ -D-glucosa (unidades A) y 2-amino-2-deoxi- $\beta$ -D-glucosa (unidades D), ambos unidos por enlaces  $\beta$  (1 $\rightarrow$ 4)].

\*Figura adaptada de F. M. Goycoolea, C Remuñán López, M. J. Alonso. “*Nanopartículas A Base De Polisacáridos: Quitosano*”. 2009. pp 105 [20].

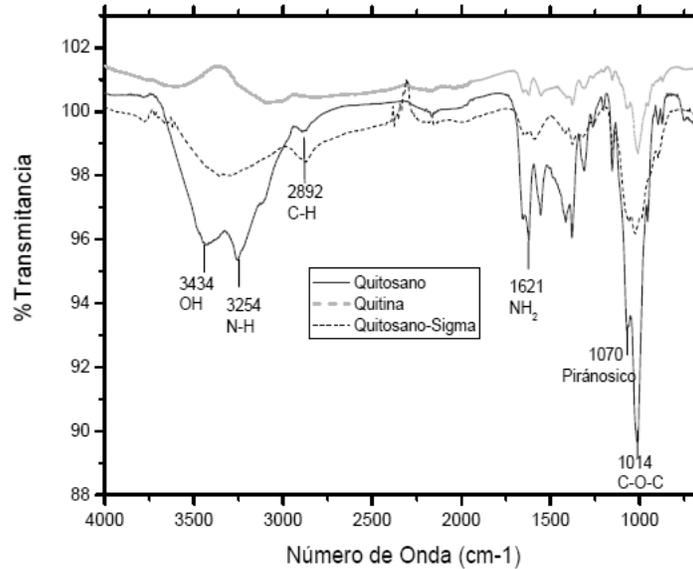
Las unidades tipo A, comúnmente están en menor proporción que las del tipo D y la relación molar de unidades A frente al total (A+D), se le conoce como grado de acetilación (GA) o como una fracción ( $F_A$ ). El GA junto con el grado de polimerización es un parámetro fundamental que determina las propiedades fisicoquímicas y biológicas del quitosano [25, 26]. Además de la proporción molar neta de unidades A, su distribución en la cadena de quitosano determina las propiedades y varía con el método de preparación[20].

Se han realizado previamente algunas caracterizaciones del quitosano, así como pruebas a diferentes grados de desacetilación (75, 87 y 96%) obtenido a partir del exoesqueleto del camarón y se encontró que al 75% mostró 1.5 veces mayor la absorción al agua, esto por su nivel más bajo de cristalinidad, mientras que al 87 y 96% se encontró 1.5 a 2 veces mayor la capacidad de absorción de grasas [27], en otros artículos se ha encontrado que el grado de N-acetilación es el parámetro más importante y que determina sus



características fisiológicas, que lo hace apto para aplicarlo en variados campos como el biotecnológico, biomédico, alimenticio y farmacéutico<sup>[28]</sup>. También se ha comprobado que a mayor grado de desacetilación mayor resistencia a la rotura de heridas cicatrizadas y mayor cantidad de fibroblastos generados <sup>[29]</sup>. Así mismo se descubrió que a mayor peso molecular se incrementan las propiedades mecánicas, siendo esta independiente del grado de desacetilación, sin embargo el grado de desacetilación (DD, por sus siglas en inglés) tiene influencia en la remoción de metales pesados en medio acuoso<sup>[21, 30]</sup>.

En la investigación que realizó H. Hernández Cocoltzi et al. <sup>[5]</sup> trabajó con muestras de tamaño de partícula menor de 250  $\mu\text{m}$ . La caracterización del quitosano obtenido se realizó mediante espectroscopía en el infrarrojo (IR) en la región de 500-4000  $\text{cm}^{-1}$ . Los espectros de absorción fueron obtenidos en un espectrofotómetro de infrarrojo con transformada de Fourier y sistema ATR. A su vez se realizó una determinación potenciométrica para obtener el grado de N-desacetilación, el procedimiento básicamente consistió en disolver el quitosano con un exceso de HCl <sup>[31]</sup>, y la solución de quitosano se valora con una solución de NaOH<sup>[5]</sup>, el espectro que se obtuvo de dicha caracterización se muestra a continuación en la **Figura 3.4** mismo que sirve de referencia para poder comparar la intensidad de los picos así como su ubicación.



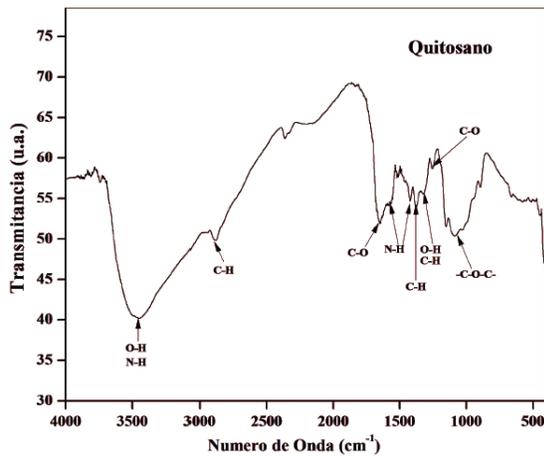
**Figura 3.4.** Espectro de absorción de la muestra desproteínizada (Quitina, línea discontinua gris), espectro de absorción de la muestra desacetilada (Quitosano, línea continua) y espectro de absorción de una muestra de la empresa Sigma Aldrich (línea discontinua negra).

\*Figura Tomada De H. Hernández Cocoltzi, E Águila Almanza, O. Flores Agustín, E.L. Viveros Nava, E. Ramos Cassellis. “Obtención Y Caracterización De Quitosano A Partir De Exoesqueletos De Camarón”. *Superficies Y Vacío* 2009, pp 58 <sup>[5]</sup>.

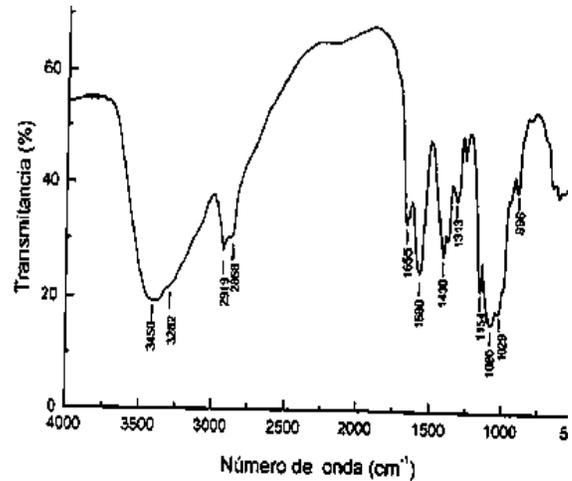
Las fuentes renovables, como la quitina, el quitosano, la celulosa y la polilactida, atraen la atención de los investigadores debido a su rentabilidad, baja toxicidad y naturaleza ecológica. Hay varios informes disponibles sobre las propiedades de resistencia a la corrosión del quitosano y sus derivados<sup>[15]</sup>. A continuación en la **Figura 3.5** se muestran resultados de los FTIR de dos artículos con diferente grado de desacetilación (70 % y 80.72%), así como el FT-IR de la quitina a manera de comparar la variación que se tiene en los picos<sup>[32-34]</sup>.



a) Quitosano con 80.72% de grado de desacetilación



b) Quitosano con 70% de grado de desacetilación



c) Quitina



**Figura 3.5.** Espectros de FT-IR del quitosano a diferentes grados de desacetilación (ambos sintetizados por diferentes grupos de investigación

[32, 33]), c) quitina [34].

\*Figura tomada de Richar Blanquicet Macea, Carlos Flórez de Hoyos, Yina González Montes, Edgardo Meza Fuentes y Johana Inés Rodríguez Ruiz. "Síntesis Y Propiedades De Filmes Basados En Quitosano/Lactosuero". *Polímeros* 2015; pp. 62 [32].



\*\* Figura tomada de C. Peniche, W. Arguelles, A. Gallardo, C. Elvira, J. San Román. “*Quitosano: Un Polisacárido Natural, Biodegradable Y Biocompatible con Aplicaciones En Biotecnología y Biomedicina*”. *Revista De Plásticos Modernos* 2001, pp 82 [33].

\*\*\* Figura tomada de Alexander Pérez Cordero, Johana Rojas Sierra, Johana Rodriguez Ruiz, Irma Arrieta Álvarez, Yenis Arrieta Álvarez y Andrés Rodríguez Carrascal. “*Actividad Antibacteriana de Soluciones Acidas de Quitosano Obtenido de Exoesqueleto de Camarón.*” *Revista Colombiana De Biotecnología* 2014, pp. 16 [34].

Desde un enfoque fisicoquímico, el quitosano es un biopolímero hidrosoluble que puede formar películas, hidrogeles, andamios porosos, fibras, micro y nano-partículas en condiciones de medio ácido suave. Además, el carácter policationico le confiere al quitosano una alta afinidad para asociar macromoléculas terapéuticas (como la insulina, la heparina, pADN) y antigénicas, a las cuales protege de la degradación enzimática hidrolítica<sup>[20, 25]</sup>.

El quitosano es valorado por su biocompatibilidad, biodegradabilidad, tolerancia biológica y resistencia contra el crecimiento de bacterias, virus y hongos<sup>[11]</sup>. Las características estructurales de los quitosanos que determinan la mejora de la absorción no están correlacionadas con las que determinan la toxicidad, lo que permite seleccionar quitosanos con un efecto máximo sobre la absorción y una toxicidad mínima<sup>[25]</sup>.

Sin embargo, las propiedades del CTS nativo a menudo no son adecuadas para ciertas aplicaciones, lo que motiva a los investigadores a modificar este biopolímero uniendo grupos funcionales o injertando cadenas poliméricas con el objetivo de obtener nuevos materiales basados en CTS con propiedades diseñadas para aplicaciones específicas. La principal limitación en los intentos de modificar el CTS es su insolubilidad en disolventes orgánicos comunes, siendo solo soluble en medios acuosos ácidos (pH <6.5), como se puede observar en la **Tabla 2**, esto es debido principalmente a la protonación del grupo amino primario en la posición C-2 de la unidad de repetición de D glucosamina<sup>[11]</sup>. Así mismo, se muestran las constantes viscosimétricas K y  $\alpha$  para el quitosano en tres sistemas de disolventes<sup>[33]</sup>.

**Tabla 2.** Valores de las constantes viscosimétricas  $K$  y  $\alpha$  para quitosano en tres sistemas de disolventes.

Sistema disolvente	GA*	$K \times 10^2$ (mL $\cdot$ g $^{-1}$ )	$\alpha$	T (°C)	$M_w \times 10^{-5}$
<b>Ac. Acético 0.2 M- Acetato de sodio 0.1M</b>	0	1.680	0.81	30	1.9 - 9.4
	0.09	0.6589	0.88		2.1 - 13
	0.16	0.1424	0.96		5.4 - 19
	0.31	0.0104	1.12		4.8 - 25
<b>Ac. Acético 0.2 M tampón de Acetato de sodio (pH=4.5)+ NaCl 0.1M</b>	0	55.9	0.58	20	0.42-3.1
	0.15	5.85	0.78		0.35-2.5
	0.6	0.219	1.06		0.15-1.6
<b>Ac. Acético 0.3 M- Acetato de sodio 0.2 M</b>	0.02	8.2	0.76	25	1-6
	0.115	7.6	0.76		1-6
	0.21	7.4	0.76		1-6

\*Grado de N-acetilación

\*Tabla tomada de: C. Peniche, W. Arguelles, A. Gallardo, C. Elvira, J. San Román. "Quitosano: un polisacárido natural, biodegradable Y biocompatible con aplicaciones en biotecnología y biomedicina". *Revista De Plásticos Modernos* 2001, pp 83 [33].

Con el fin de mejorar la solubilidad del CTS en disolventes orgánicos con pH menores a 5, se ha reportado que la incorporación de grupos funcionales a la cadena principal del quitosano permite su solubilización en medios orgánicos. La modificación de CTS que involucra cadenas de polímero de injerto se ha logrado principalmente a través de la polimerización por radicales libres (FRP)<sup>[35-39]</sup>, polimerización de apertura de anillo (ROP)<sup>[37-40]</sup>, radiación  $\gamma$ <sup>[35-37]</sup> y polimerización catiónica por injerto<sup>[36, 41]</sup>, y solo hay algunos reportes que abordan la polimerización por radicales controlada-viviente (L/CRP por sus siglas en inglés) o la polimerización por radicales por desactivación reversible (RDRP) o sus variaciones [11, 42, 43].



Se sabe que el CTS tiene actividad antibacteriana inherente, que se debe principalmente a su naturaleza policatiónica. El quitosano inhibe el crecimiento de una gran variedad de microorganismos patógenos: bacterias, levaduras, hongos grampositivos y gramnegativos [44]. Una de las principales razones para que el quitosano posea actividad antimicrobiana es la presencia de un grupo amino con carga positiva a pHs inferiores a 6.3 (carbono 2), el cual interactúa con las cargas negativas de la pared celular de los microorganismos, generando un rompimiento o *lisis* de estas estructuras, que lleva a la pérdida de compuestos proteicos y otros constituyentes intracelulares, se han estudiado estas propiedades contra bacterias Gram negativas (*Escherichia coli*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhi* y *Pseudomona aeruginosa* y Gram positivas (*Streptococcus mutans*, *Micrococcus luteus*, *Staphylococcus aureus*, *Saphylococcus epidermis* y *Bacillus subtilis* [45].

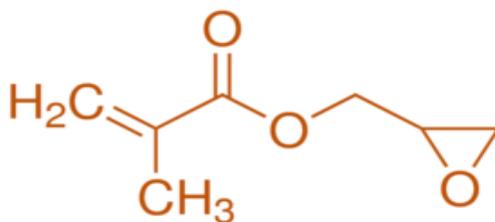
Otros derivados de quitosano también se han electrohilado, para obtener materiales fibrosos antibacterianos. Las nanofibras de aminochitosan obtenidas por electrohilado de la solución de iminochitosan en TFA han manifestado una excelente actividad antibacteriana contra las bacterias Gram-negativas (*E. coli*, *P. aeruginosa* y *Bacillus subtilis*) y las bacterias Gram-positivas (*S. aureus*).

Las nanofibras de cianoetilquitosano muestran una buena eficacia antibacteriana contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* y *S. aureus* [46]. Estas pruebas antibacteriales se han realizado a diferentes concentraciones por diversos grupos de investigación, Milena et al., realizaron pruebas con *S. aureus* y *E. Coli*, en una suspensión que contenía aproximadamente 100 000 células/mL y con una concentración de CTS de 3 000 µg/mL [44]. Otros grupos de investigación como el de Lifeng et al, han realizado NP's de quitosano las cuales exhiben como carácter único la potencial actividad antibacteriana contra *E. coli*, *S. choleraesuis*, *S. typhimurium*, y *S. aureus*,

en donde se encontraron valores de MIC menores a 0.25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y los valores de MBC de las nanopartículas alcanzaron 1  $\mu\text{g}/\text{mL}$  [47].

### 3.2.2 Metacrilato de glicidilo (GMA)

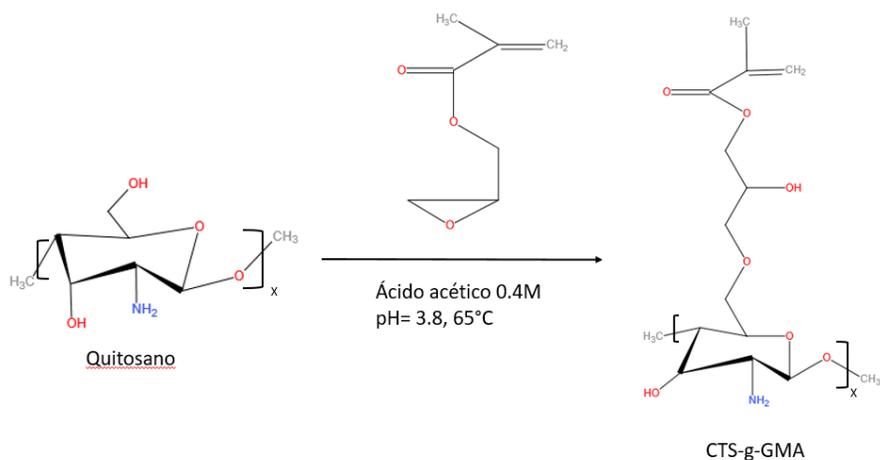
El metacrilato de glicidilo (GMA) es un éster del ácido metacrílico y del glicidol, presentando en su estructura molecular un grupo epóxido susceptible a una apertura de anillo (ver **Figura 3.6**). Los soportes de polímero basados en GMA se utilizan principalmente como excelentes adhesivos termoestables, que han ganado popularidad a lo largo de los años debido a su rendimiento superior en muchas aplicaciones como la unión de fármacos y biomoléculas [2, 48]. Los copolímeros de metacrilato de glicidilo han recibido una atención significativa, debido al grupo epóxido colgante y que permite un gran número de reacciones químicas posteriores<sup>[49]</sup>, ofreciendo así la oportunidad de modificación química de los copolímeros colgantes para diversas aplicaciones industriales, lo que hace viable a que pueda copolimerizar con el quitosano mediante la ruptura del grupo epoxi y polimerizar vía FRP debido a la insaturación del grupo vinílico.



**Figura 3.6.** Estructura química desarrollada del GMA

La polimerización por apertura de anillo ha sido iniciada con gran variedad de sistemas iniciadores, entre los que se encuentra los compuestos básicos, compuestos ácidos y compuestos organometálicos (como los organozinc) [40]. Las amplias aplicaciones de los homo- y copolímeros de esta clase de macromoléculas han sido reportadas<sup>[2, 50]</sup>. Algunos casos son los polímeros de acrilato, que tienen aplicaciones en la medicina: como soportes de

polímeros que son fácilmente degradables, ya que como se mencionó, al ser adhesivos termoestables se han empleado en la práctica clínica para la fijación interna de fracturas en la tibia y en los huesos del antebrazo como ayudante de los adhesivos biológicos (polisacáridos), los cuales son menos rígidos; así como en la liberación controlada de medicamentos<sup>[2, 51]</sup>, por lo tanto, esto lo hace un gran candidato para funcionalizar el quitosano. En este caso en particular, O. García-Valdez et al, lograron incorporar el GMA químicamente al quitosano mediante la ruptura del grupo epoxi (ver **Figura 3.7**) y posteriormente se polimerizó por radicales libres el grupo vinílico<sup>[11]</sup>.



**Figura 3.7** Síntesis de la funcionalización del CTS con GMA.

\*Figura adaptada de O. García-Valdez, R. Champagne-Hartley, E. Saldívar-Guerra, P. champagne, y M. F. Cunningham. "Modification Of Chitosan With Polystyrene And Poly (n-butyl Acrylate) Via Nitroxide-Mediated Polymerization And Grafting From Approach In Homogeneous Media". *Polymer chemistry* 2013.

### 3.2.3 Polimerización por radicales libres convencional (FRP)

La polimerización por radicales libres convencional (FRP, por sus siglas en inglés), es importante debido a que es la base sólida de muchos procesos industriales y una fuente de una serie de materiales poliméricos de gran

demanda comercial que se usan hoy en día, ya que casi el 50% de los polímeros sintetizados en el mundo se producen por esta vía<sup>[52]</sup>.

A partir de monómeros vinílicos (como el GMA) se pueden sintetizar este tipo de polímeros, es decir, son pequeñas moléculas que presentan dobles enlaces de carbono, C=C. Los materiales tales como polietileno, poliestireno, alcohol polivinílico, acetato de polivinilo, polibutadienos y otros productos bien conocidos, parten de este tipo de monómeros y han mejorado significativamente la vida cotidiana<sup>[52]</sup>. La FRP es uno de los procesos más utilizados en la producción comercial de polímeros de alto peso molecular<sup>[53]</sup>.

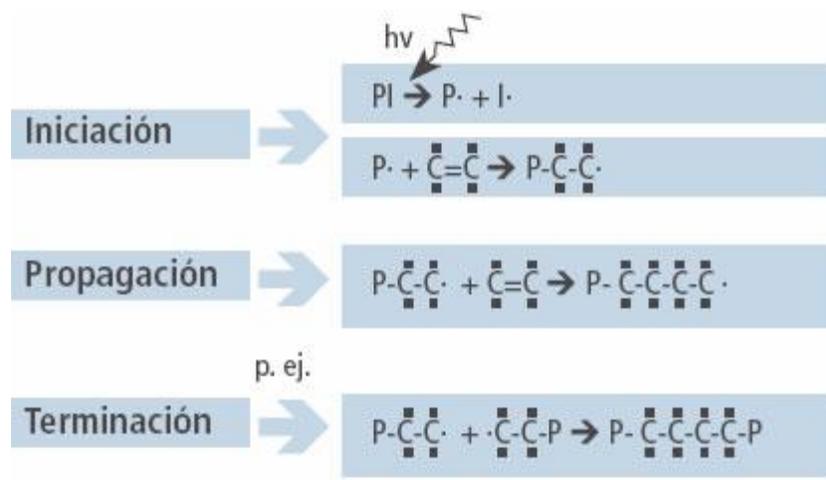
La característica crucial de una FRP es una fuente de radicales ajustable, que comúnmente se materializa mediante una sustancia termolábil (o iniciador) que se descompone por calentamiento para formar radicales libres, los cuales son especies químicas altamente reactivas producidas por la disociación homolítica de enlaces covalentes; la reactividad del radical libre estará en función de la estabilidad que tenga este, ya sea por efecto inductivo o por efecto resonante, lo que conllevará a la velocidad de adición de un monómero en la cadena en crecimiento del polímero<sup>[52]</sup>.

La generación de radicales y la primera adición de monómero a un radical iniciador constituyen el paso de iniciación, mientras que las sucesivas adiciones de monómero sobre un nuevo radical libre (propagación) y la terminación del crecimiento de la cadena por desproporción y/o acoplamiento, es decir, que finaliza a través la reacción de terminación en donde dos radicales interactúan para formar enlaces covalentes y cesar la propagación<sup>[52]</sup>.

Los principales factores responsables de la posición preeminente de esta polimerización es la amplia gama de monómeros a polimerizar, la tolerancia de la funcionalidad desprotegida en el monómero y el disolvente, y la

compatibilidad con una variedad de condiciones de reacción. La polimerización por FRP es simple de implementar y económica en relación con las tecnologías competitivas (como la catiónica, aniónica, apertura de anillo y policondensación). Cabe mencionar que su principal ventaja radica en la simplicidad de su procedimiento, ya que a diferencia de otros tipos de polimerización, FRP no necesita ambientes muy controlados<sup>[53]</sup>.

Para ser polimerizados, los monómeros de vinilo utilizan la propiedad de la adición de cada molécula, por medio de la ruptura del doble enlace C=C, generando un radical libre resultante en la parte terminal de la cadena y volver a iniciar la adición con otra unidad monomérica para ir incrementando el tamaño de la cadena. En la formación de dichas cadenas, la variación de la entropía es negativa; es decir, la conversión de monómero a polímero conlleva una reducción del desorden, mientras que se observa una compensación del término de entalpía, siendo esta negativa; por lo tanto, la reacción es exotérmica<sup>[52]</sup>. El esquema cinético genérico más convencional de FRP se muestra en la **Figura 3.8** e incluye pasos de reacción de iniciación, propagación y terminación principalmente por acoplamiento biomolecular.



**Figura 3.8** Esquema general de la polimerización por radicales libres

\*Figura tomada de Gary Freelin. "Sistemas de desprendimiento de siliconas de curado de radiación". EECF. 2008 pp 1<sup>[54]</sup>.



### 3.3 Materiales para el refuerzo

Los refuerzos son materiales que están en un estado de carácter discreto y su geometría es fundamental a la hora de definir las propiedades mecánicas del material compuesto. Los refuerzos pueden estar en forma de partículas o fibras y pueden ser materiales como vidrio, carbono, cerámicos u óxidos metálicos, entre otros.

Para los compuestos reforzados con partículas la fase dispersa es mas dura y resistente que la matriz receptora, las particulas del refuerzo tienden a restringir el movimiento de la matriz en las proximidades de la partícula y en escencia la matriz transfiere parte del esfuerzo aplicado a las partículas, las cuales soportan parte de la carga. Para fines de este proyecto el refuerzo es el ZnO soportadas (adornado) con AgNP's.

#### 3.3.1 Nanopartículas de plata (AgNP's)

La plata (y sus sales correspondientes) desde la antigüedad ha sido utilizada para la desinfección del agua, además que es relativamente no tóxica para las células humanas, por lo que es que es común encontrarla en procesos industriales, así como su uso en el cuerpo humano; la plata posee propiedades antibacterianas (incluso a bajas concentraciones) para un amplio espectro de cepas bacterianas que se encuentran en el medio ambiente<sup>[55, 56]</sup>. Como ejemplo, se ha estudiado que la plata es efectiva a *Staphylococcus epidermidis* (*S. epidermidis*) y la cepa Gram-negativa *Escherichia coli* (*E. coli*)<sup>[57]</sup>. Se ha usado en la filtración de agua a un caudal de 0.5 L/min y el agua filtrada no tiene ninguna bacteria *E. coli*<sup>[58]</sup>.

A continuación se presenta en la **Tabla 3** las preparaciones que utilizan plata acorde a la farmacopea británica (2012), así como las aplicaciones de estas:



**Tabla 3.** Usos de la plata según la farmacopea británica.

<b>Preparaciones</b>	<b>Usos</b>
<p><i>Acetato de plata, borato de plata, alantoinato de plata, alantoinato de plata y zinc, carbonato de plata, cloruro de plata, cromato de plata, glicerolato de plata, ioduro de plata coloidal, lactato de plata, manganita de plata, polímeros de nylon con plata</i></p>	<p>Antiséptico (uso similar al nitrato de plata).</p>
<p><i>Nitrato de plata (1%)</i></p>	<p>Profilaxis de oftalmía gonocócica neonatal (conjuntivitis neonatal) verrugas, granulomas umbilicales, tejido de sobregranulación y cauterización.</p>
<p><i>Proteína de plata</i></p> <p><i>Plata coloidal</i></p>	<p>Antisepsia; gotas para los ojos y membranas mucosas.</p>
<p><i>Sulfadiazina de plata (1%)</i></p>	<p>Profilaxis y tratamiento de heridas por quemadura, su utilización como un adyuvante en el tratamiento de corto plazo de las infecciones de úlceras en piernas y úlceras de decúbito, y también como adjunto en la profilaxis de las infecciones en sitios donantes de injertos de piel y en abrasiones extensivas.</p> <p>Prevención y tratamiento de</p>



infecciones en quemaduras severas  
Tratamiento ocular de infecciones  
por *Aspergillus*

A finales del siglo XIX se introduce la solución de nitrato de plata para uso en gotas oculares en el recién nacido. En 1920 la FDA (*Food and Drug Administration*) en Estados Unidos acepta las soluciones de plata iónica como agentes antibacteriales. El primer registro de síntesis de nanopartículas de plata se remonta a 1889, cuando M.C. Lea reporta un procedimiento mediante síntesis de plata coloidal, estabilizada con citrato se obtienen un tamaño de partícula de 7-9 nm<sup>[8]</sup>.

En cuanto a las nanopartículas, actualmente hay información sobre su uso en compositos para la mejora de las propiedades mecánicas y antibacteriales. Las nanopartículas de plata (AgNP's) son particularmente atractivas debido a su actividad biológica única, así como a sus propiedades ópticas y catalíticas <sup>[59]</sup>, por ejemplo en el trabajo de *Ramírez et al* <sup>[16]</sup>, exploran el uso de las nanopartículas de plata, considerando sus propiedades antibacteriales para emplearse en el área biomédica y también para mejorar las propiedades térmicas y mecánicas del material.

El aumento de la disponibilidad, la actividad antibacteriana superior y dependiente del tamaño reportado para las AgNP's han dado lugar a su uso generalizado en prendas de vestir, cosméticos, electrónica, envasado de alimentos, dispositivos médicos, textiles y diversos productos para el hogar<sup>[58]</sup>. En trabajos previos como el de *Ramírez et al*<sup>[16]</sup> y *Sabrina et al*<sup>[60]</sup> se han obtenido la incorporación exitosa de las nanopartículas de plata, lo cual fue demostrado a través de mediciones de EDS, TGA y Raman; así mismo las propiedades térmicas de los nanocompuestos fueron investigadas por DSC y se observó que los AgNP's tuvieron un impacto positivo de dos

maneras: primero, aumentó más del doble del módulo elástico, según se estudió mediante mediciones de nanoindentación y segundo, basado en el método de la zona de inhibición, se observó una gran eficacia bactericida para los nanocompuestos que contienen 1.5% en peso de Ag NPs para *Escherichia coli*<sup>[16, 60]</sup>.

En otros trabajos previos, se ha observado que como refuerzo existe una buena propiedad antibacterial cuando las AgNP's se encuentran en una concentración 1%-2% w/w con respecto a la matriz <sup>[61]</sup>. *Ricardo et al*, realizaron una síntesis de NP's de ZnO y Ag, estabilizadas con CTS, en donde las NP's-Ag obtenidas fueron de menos de 20 nm y las NP's-ZnO de menos de 100 nm, así mismo encontraron una MIC (concentración mínima inhibitoria) y una MBC (concentración mínima bactericida) para *E. coli* y *S. aureus*, en la **Tabla 4** se muestran estos resultados <sup>[62]</sup>.

**Tabla 4.** MIC y MBC de NP'S de Ag y ZnO

	NP's-Ag (µg/mL)		NP's-ZnO (µg/mL)	
	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
MIC	4	6	36	38
MBC	18	20	40<	40<

\*Tabla Adaptada de Ricardo Alvarado, Federico Solera, José Vega-Baudrit. "Síntesis Sonoquímica de Nanopartículas de Óxido de Cinc y de Plata Estabilizadas con Quitosano. Evaluación de su Actividad Antimicrobiana". *Revista Iberoamericana de Polimeros* 2014; 15:134-148.



### 3.3.2 Óxido de zinc (ZnO)

Actualmente los materiales inorgánicos han demostrado ser candidatos prometedores en propiedades antibacterianas y se les ha dado varias aplicaciones, su principal ventaja reside en su estabilidad debido a su robustez, resistencia al corte y larga vida útil, algunos de estos materiales son:  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{CuO}$ , y  $\text{ZnO}$ <sup>[63]</sup>.

Entre numerosos semiconductores, el óxido de zinc ( $\text{ZnO}$ ) ha recibido considerable atención en muchas aplicaciones potenciales, incluidos fotocatalizadores; debido a su excelente característica fotoeléctrica (gran absorción de la luz UV), celdas solares, sensores químicos; así como otras propiedades como la movilidad de electrones, facilidad de control morfológica, bajo costo de producción y abundante disponibilidad<sup>[64]</sup>. El  $\text{ZnO}$  también muestra una propiedad antibacteriana efectiva y una superficie cargada positivamente (potencial zeta,  $\zeta$  aproximadamente de 20 mV) para la captura de bacterias; sin embargo, deben cumplirse diversos parámetros: estabilidad química y mecánica, alta relación superficie-volumen, fuerte carga superficial, robustez, durabilidad, reproducibilidad y seguridad. El  $\text{ZnO}$  se ha aplicado y confirmado sus propiedades antibacterianas utilizando varios tipos de diferentes bacterias, como bacterias gramnegativas y gram positivas, como *Escherichia coli*, *Salmonella enteritis*, *Staphylococcus aureus* y *Bacillus cereus*<sup>[63]</sup>.

Una de las ventajas más importantes de usar nanopartículas de Ag soportadas en  $\text{ZnO}$  es su síntesis la cual es rápida, fácil y económica así como su compatibilidad en matrices poliméricas<sup>[59, 64]</sup>.

Se ha demostrado que el tamaño y cantidad de  $\text{ZnO}$  importa, ya que en investigaciones recientes se han preparado con éxito nuevas membranas compuestas de CTS/nano $\text{ZnO}$  y en donde se ha observado que el contenido de  $\text{ZnO}$  (con un tamaño de partícula de 11.9 nm) tuvo un efecto en las



propiedades mecánicas de las membranas compuestas, cuando se doparon con 6% en peso de ZnO, las membranas compuestas CS/nano-ZnO mostraron buenas propiedades antibacterianas y mecánicas. *Li-Hua et al* sugiere, que tales membranas compuestas de CS/nano-ZnO tienen potencial como materiales médicos como: recubrimientos, suturas, injertos o prótesis<sup>[10]</sup>. Un estudio señala que la acción de las NP's depende de los componentes y la estructura de la célula bacteriana. Se mencionó por ejemplo, que la acción antimicrobiana de ZnO es más efectiva en bacterias Gram-positivas. Los componentes peculiares de las bacterias Gram-negativas, como los lipopolisacáridos (lps), pueden prevenir la adhesión de las NP's de ZnO a la barrera de las células bacterianas y regular el flujo de iones dentro y fuera de la membrana celular bacteriana <sup>[65]</sup>.

Las nanopartículas de ZnO actúan como agentes antimicrobianos a través de diversos mecanismos, siendo el más importante la generación de especies reactivas de oxígeno al interior de la célula<sup>[65]</sup>. Se ha propuesto que las NP's de ZnO pueden actuar para generar la muerte celular, o bien, como fuente de iones de  $Zn^{2+}$ , cuyo exceso genera una alteración del metabolismo celular. Algunas especies reportadas como susceptibles a las NP's de ZnO son; *S aureus*, *S. epidermidis*, *Streptococcus pyogenes*, *Enterococcus faecalis* <sup>[66]</sup>, *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae*<sup>[67]</sup>.

### 3.3.3 Depositación fotocatalítica

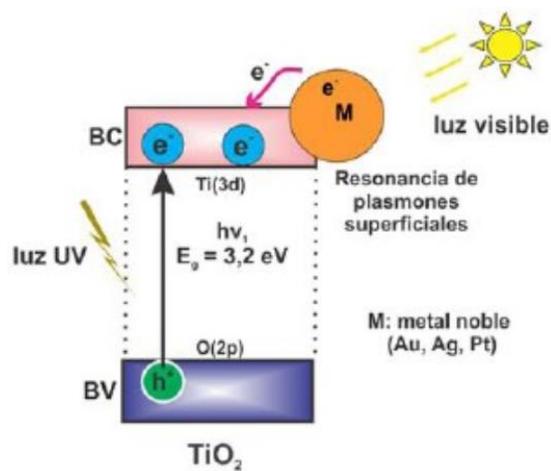
La fotocatalisis es la aceleración de una reacción química producida por la absorción de luz por medio de un fotocatalizador, no es de extrañar que en los últimos 15 años exista un gran interés por la fotocatalisis solar que ha crecido de forma sorprendente<sup>[68]</sup>.

Cuando se habla de modificar la superficie del fotocatalizador, se emplea el término “decoración” o “soporte” y consiste en añadir nanopartículas de metales nobles, semiconductores o polímeros a la superficie de las nanoestructuras. Los efectos esperados son: formación de una heterounión,

que cambia la ubicación de la banda del semiconductor o provee niveles de energía aptos para la inyección de cargas, efecto fotocatalítico y mayor eficiencia para reacciones de transferencia de carga.

Para la modificación con nanopartículas de metales nobles (Pt, Au, Ag, Pd), el mecanismo comprende la resonancia de plasmones superficiales de las partículas del metal por excitación bajo luz visible, lo que facilita tanto la excitación de los electrones superficiales, como su transferencia a través de la interfase. Algunos niveles energéticos pueden hacerse presentes en la banda prohibida del  $\text{TiO}_2$  (ver **Figura 3.9**). Además, las nanopartículas de los metales nobles actúan como trampas de electrones, lo que mejora la separación de los  $e^-$  y  $h^+$  fotogenerados<sup>[69-72]</sup>. Investigaciones anteriores han estudiado la influencia de la concentración de precursores metálicos utilizada durante la fotodeposición (0.05-0.5% en peso) sobre el tamaño de las nanopartículas metálicas formadas junto con la actividad UV y mediada por Pt, Pd, Ag o Au- $\text{TiO}_2$ , para un mejor logro de la fotodeposición, pero sin tomar en cuenta el carácter antibacterial <sup>[72]</sup>.

Para el caso de este estudio la depositación fotocatalítica, consistió en una solución con un soporte inorgánico (ZnO), con una sal de plata ( $\text{AgNO}_3$  o  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ) y en donde ocurre la reducción del ion de plata causada por el electrón generado en la superficie, así mismo se debe agregar un compuesto orgánico (Et-OH) a la mezcla, para atrapar los radicales  $\cdot\text{OH}$  que se forman en la solución acuosa y los  $h^+$  fotogenerados en la superficie del catalizador <sup>[73, 74]</sup>.



**Figura 3.9.** Proceso de la fotodepositación de metales nobles

\*Figura tomada de María C. Nevárez-Martínez, Patricio J. Espinoza-Montero, Francisco J. Quiroz-Chávez y Bunsho Ohtani. “Fotocatálisis: inicio, actualidad y perspectivas a través de TiO<sub>2</sub>”. *Avances en química*. 2017<sup>[69]</sup>.



### 3.4 Microorganismos probados

Una de las aplicaciones que se puede dar a los compositos, es en el envasado de alimentos o como filtro para el tratamiento de agua<sup>[75]</sup>. Por lo que se le han hecho pruebas con un hongo (*Fusarium oxysporum*), una bacteria (*E. coli*) y una levadura (*Saccharomyces cerevisiae*).

- ***Fusarium oxysporum***. Es un patógeno habitante del suelo que causa la marchitez de fusarium o fusariosis en un amplio rango de plantas<sup>[76]</sup>. Los principales mecanismos de dispersión del patógeno son los movimientos de suelo infectado, el agua de escorrentía y el uso de almácigo infectado. Este hongo tiene la capacidad de sobrevivir por largos periodos en el suelo, debido a sus estructuras de resistencia denominadas clamidosporas, lo que vuelve inefectiva la rotación de cultivos a corto plazo<sup>[77]</sup>.
- ***Escherichia coli***. Es un bacilo gram negativo, anaerobio facultativo de la familia *Enterobacteriaceae*, tribu *Escherichia*. Coloniza el intestino del hombre pocas horas después del nacimiento y se considera de flora normal, pero hay descritos seis grupos de *E. coli* productora de diarrea: enterotoxigénica (ETEC), enterohemorrágica (EHEC), enteroinvasiva (EIEC), enteropatógena (EPEC), enteroagregativa (EAEC) y de adherencia difusa (DAEC). La bacteria se puede aislar e identificar tradicionalmente con base en sus características bioquímicas o serológicas, pero también se pueden estudiar sus mecanismos de patogenicidad mediante ensayos en cultivos celulares<sup>[78]</sup>.
- ***Saccharomyces cerevisiae***. Levadura es un nombre genérico que agrupa a una variedad de organismos unicelulares, incluyendo especies patógenas para plantas y animales, así como especies no solamente inocuas sino de gran utilidad<sup>[79]</sup>. *Sacchararomyces*



*cerevisiae* es una levadura, un hongo unicelular, del grupo de los ascomicetos. Este grupo incluye a más de 60 000 especies, entre ellas las colmenillas o el *Penicillium*, el hongo que produce la penicilina, pero también a hongos patogénicos tanto de plantas como de animales, más conocido de los cuales es *Candida*<sup>[80]</sup>.

La *S. cerevisiae* es un microorganismo más ampliamente utilizado por el hombre a través del tiempo; en la elaboración de diversos alimentos como el pan o las bebidas alcohólicas, su nombre deriva del vocablo *Saccharo* (azúcar), *myces* (hongo) y *cerevisiae* (cerveza)<sup>[80]</sup>. Es una levadura heterótrofa, que obtiene la energía a partir de la glucosa y tiene una elevada capacidad fermentativa y puede aislarse con facilidad en plantas y tierra, así como del tracto gastrointestinal y genital humano<sup>[81, 82]</sup>.



## 4. Justificación

El CTS, es un material frágil y poco soluble, limitando su aplicación en diversas áreas productivas. La funcionalización del quitosano con GMA, le dará dureza para mejorar su facilidad de procesamiento. Así mismo con la incorporación de nanopartículas de plata soportadas en ZnO se reforzará el copolímero para aumentar las propiedades antisépticas y su estructura.



# 5. Planteamiento del problema

El quitosano es frágil y quebradizo, razón por la cual su durabilidad y procesamiento industrial se ve afectado, se requiere una matriz que sirva de soporte proporcionando una mayor dureza y mejor disponibilidad de contacto.



## 6. Hipótesis

La copolimerización del GMA con CTS, y reforzada con ZnO soportado con nanopartículas de Ag, mejorará algunas de las propiedades del CTS tal como su resistencia mecánica o el incremento de su carácter antibacterial, ampliando el uso que se le puede dar a este material, facilitando su termoprocesamiento (al aumentar su temperatura de descomposición) y aplicación; mediante la combinación de propiedades de cada uno de los componentes del composito.



## 7. Objetivo general

Sintetizar un nuevo material compuesto, conformado por una matriz de CTS-g-GMA y un refuerzo de nanopartículas de Ag soportadas en ZnO.



## 8. Objetivos particulares

- Funcionalizar el quitosano con GMA, y posteriormente polimerizarlo por FRP.
- Caracterizar la matriz polimérica funcionalizada con FT-IR, SEM y UV-Vis.
- Obtener nanopartículas de Ag y soportarlo en ZnO.
- Caracterizar el material resultante por las técnicas de FT-IR, SEM, UV-Vis y DLS.
- Incorporar las NPs de ZnO con Ag en la matriz polimérica de CTS-co-GMA.
- Llevar a cabo las pruebas antibacteriales correspondientes.



# 9. Metodología

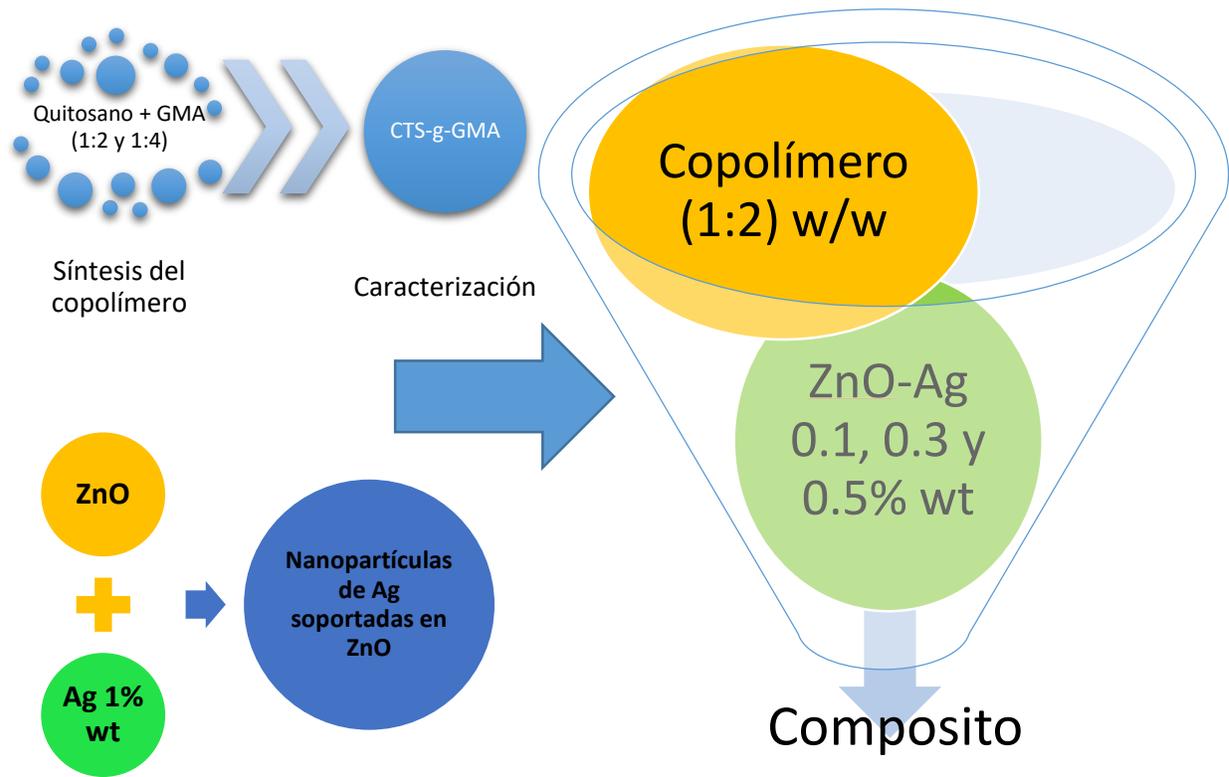
Los reactivos fueron adquiridos por Sigma-Aldrich Co. (a menos que se indique otra cosa).

Los reactivos utilizados tuvieron una pureza de al menos del 98% y fueron: hidróxido de sodio (NaOH de *Golden Bell*), hidróxido de potasio (KOH de *Golden Bell*), cloruro de sodio (NaCl), quitosano (CTS de *Nanobio and Tronics S.A de C.V*), metacrilato de glicidilo (GMA), hidroquinona, nitrato de plata ( $\text{AgNO}_3$  de *Reactivos Químicos Monterrey, S.A.*), sulfato de plata ( $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  de *J. F. Baker.*), óxido de zinc (ZnO de *Reactivos Químicos Monterrey, S.A.*). Agar bacteriológico (de *BD Bioxon*), dextrosa (de *BD Bioxon*), triptona.

Los disolventes empleados son de grado reactivo (adquiridos por Reactivos Químicos Meyer a menos que se indique otra cosa) y fueron: acetona, metanol, etanol, agua destilada (provisto por el Laboratorio de Ingeniería Química, DCNE), tetrahidrofurano (THF, de *Karal, S.A de C.V*), ácido acético (*Golden Bell*), acetonitrilo (*J. F. Baker*), agua desionizada. El disolvente deuterado para los estudios de resonancia magnética nuclear (RMN) fue adquirido por Sigma-Aldrich Co., utilizado tal como se recibió: cloroformo ( $\text{CDCl}_3$ ).

La **Figura 9.1** es la representación de un esquema general de la metodología que se siguió en el presente trabajo de investigación y que describe primero la funcionalización del quitosano (CTS) con metacrilato de glicidilo (GMA) para obtener el copolímero tipo injerto CTS-g-GMA<sup>[11]</sup>.

A la matriz polimérica, se le incorporó ZnO adornado con NPs de Ag, el refuerzo fue caracterizado con: DRS y DLS. Así como a los compositos resultantes, los cuales se analizaron por FT-IR y SEM.

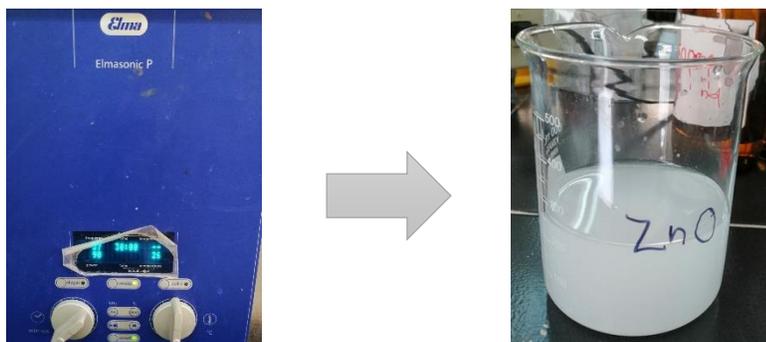


**Figura 9.1.** Esquema general de la metodología aplicada en esta tesis.

## 9.1 Obtención del refuerzo ZnO-Ag

Se realizaron dos síntesis con diferentes sales de plata ( $\text{AgNO}_3$  y  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ) y se usó ZnO con una pureza de 99.98%.

La preparación del refuerzo ZnO-AgNp's, se realizó por la reducción fotocatalítica de iones de Ag sobre el óxido semiconductor (ZnO), para llevar a cabo este proceso, primero se depositaron en un vaso de precipitado de vidrio 0.5 g de ZnO con 250 mL de agua desionizada. El vaso se colocó dentro de un baño ultrasónico (*Elmasonic P*) durante 30 min para formar una suspensión homogénea, posteriormente se añadieron 8 mL de etanol a 96°, el resultado de este procedimiento se muestra el **Figura 9.2.**



**Figura 9.2.** Resultado de la dispersión del ZnO en agua desionizada en el baño ultrasónico.

Esta dispersión se mantuvo en total oscuridad y con agitación a 340 rpm durante un espacio de 20 min con burbujeo de  $N_2$  como se muestra en la **Figura 9.3.**



**Figura 9.3.** ZnO con agua desionizada y etanol en oscuridad con burbujeo de  $N_2$

Transcurridos los 20 minutos, se adicionó el  $AgNO_3$  o  $Ag_2SO_4$  en una relación másica 100:1 (0.005 g) con respecto al soporte. El reactor de vidrio se colocó dentro de un fotoreactor, donde las lámparas colocadas emiten una longitud de onda 254 nm durante 6 h y agitación constante, como se observa en la **Figura 9.4.**



**Figura 9.4.** Una vez añadido el  $\text{AgNO}_3$  o  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$  se coloca en un foto-reactor con lámparas con longitud de onda de 254 nm.

La razón de la elección de longitud de onda para las lámparas es que en presencia de radiación UV, las reacciones que suceden en su superficie permiten generar especies reactivas como electrones ( $e^-$ ) y huecos ( $h^+$ ), que a su vez son capaces de provocar reacciones de reducción y oxidación, respectivamente en el medio circundante; ya que incidir fotones del rango UV ( $\lambda \leq 390$  nm) proporciona la energía necesaria para vencer la brecha energética (band gap) del óxido de Zinc que se encuentra aproximadamente en 3~4 eV<sup>[83]</sup> y provocar la fotoexcitación y generación de pares  $e^-$  y  $h^+$ <sup>[69, 84]</sup>.

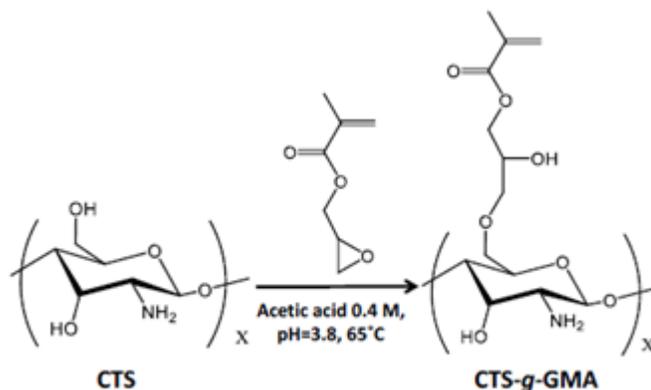
La recuperación del material se realizó por centrifugación a 6000 rpm por 20 min como se observa en la **Figura 9.5**, esta elección fue basada en el buen rendimiento, pues se recupera hasta un 26.56% más que por filtración a vacío, además evitaba la contaminación por la fibra del papel filtro.



**Figura 9.5** Recuperación del refuerzo ZnO-Ag por centrifugación.

## 9.2 Síntesis del copolímero injertado

El CTS se funcionalizó con GMA como se muestra en la **Figura 9.6**, las proporciones probadas fueron: 1:2 y 1:4 en una relación másica siguiendo los informes reportados en la literatura<sup>[11, 39, 85, 86]</sup>.



**Figura 9.6** Síntesis de CTS- g- GMA.

\*Figura tomada de O. García-Valdez, R. Champagne-Hartley, E. Saldivar-Guerra, P. Champagne, y M. F. Cunningham. "Modification of Chitosan with Polystyrene and Poly (n-butyl Acrylate) Via Nitroxide-Mediated Polymerization and Grafting from Approach in Homogeneous Media". *Polymer chemistry* 2013.

Se procedió a disolver 1 g de CTS en 100 mL de ácido acético 0.4 M en un matraz Erlenmeyer de 250 mL y se colocó en baño ultrasónico (*Elmasonic P*) por  $30 \pm 1$  min (ver **Figura 9.7**), posteriormente se agregaron 5 mL de KOH a 0.05 M con una solución de hidroquinona al  $9.09 \times 10^{-5}$  mol en 10 mL de  $H_2O$  a la mezcla de reacción.



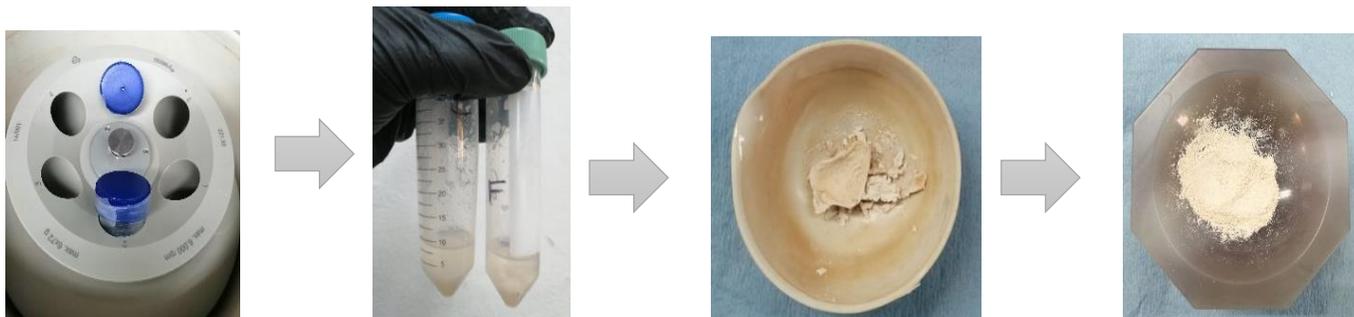
**Figura 9.7.** Disolución del quitosano en ácido acético en un baño ultrasónico

Efectuando esto, se añadió GMA (2 mL, 2.14 g/4 mL, 4.28 g según fuera el caso) al sistema gota a gota mientras se burbujeó con nitrógeno durante  $20 \pm 1$  min a una agitación magnética constante de 360 rpm. Terminando este tiempo, se dejó el sistema de reacción a  $65^\circ C$  por un periodo de 2 h, verificando que el pH final fuera de 4, dicho proceso se muestra en la **Figura 9.8**<sup>[11]</sup>.



**Figura 9.8.** Síntesis del copolimero injertado CTS-g-GMA.

Para la recuperación del copolímero injertado, éste se precipitó con 5 mL de acetonitrilo y se centrifugó a 6000 rpm por 15 min en un equipo *HERMLE Z 206 A*. Se realizaron dos lavados con 5 mL de THF y en cada lavado, se agito adecuadamente la solución y se volvió a centrifugar por 10 min a 6000 rpm. Finalmente se procedió a secar el copolímero a 55° C durante 12 h y se maceró en un mortero de Agata como se observa en la **Figura 9.9**.



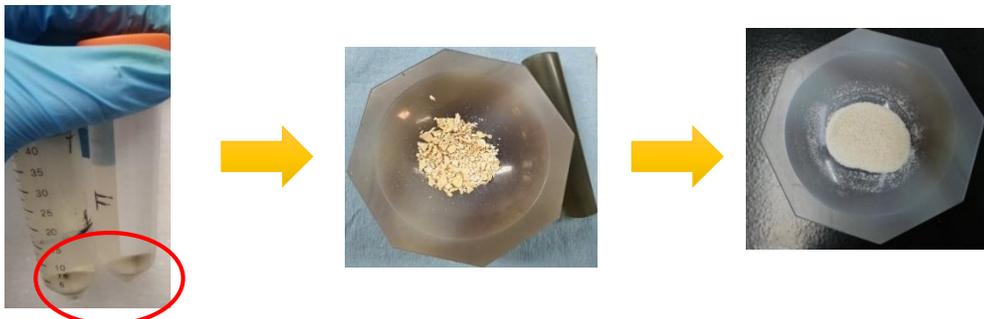
**Figura 9.9.** Recuperación del copolímero.

## 9.3 Síntesis de compositos

Después de obtener la matriz polimérica de CTS-*g*-GMA, así como las nanopartículas de Ag soportadas en ZnO, se procedió a la síntesis de los compositos.

Para llevar a cabo este procedimiento, se siguió la metodología descrita en la sección “9.2 Síntesis del copolímero injertado”, pero dispersando ZnO-Ag en el GMA (con una proporción másica de 0.1%, 0.3% y 0.5% con respecto al GMA) para obtener la matriz polimérica resultante *in situ*; para ello se, añadió gota a gota y con agitación constante a la solución del CTS. Para promover la polimerización, no se agregó hidroquinona. Al composito resultante se mandó a caracterizar por FT-IR, SEM y se aplicó en las correspondientes pruebas antibacteriales.

Es importante señalar que en el momento de la recuperación del composito, se observó que hay un cambio de coloración, dado que, por separado el ZnO-Ag después de la fotodepositación adquiere un color gris oscuro mientras que la matriz polimérica tiene una tonalidad beige. Al secarse el composito resultante, tiene una textura similar al copolímero injertado (ver **Figura 9.10**).



**Figura 9.10.** Etapas de la recuperación del composito



## 9.4 Metodología para pruebas antibacteriales

### 9.4.1 Preparación del medio de cultivo

Finalmente, se llevaron a cabo varias pruebas antibacteriales con el fin de probar la aplicación de las nanopartículas obtenidas.

El medio de cultivo empleado fue agar de papa-dextrosa, los materiales a emplear fueron:

- ✓ 100 g de papa
- ✓ 7.5 g de agar bacteriológico
- ✓ 0.5 L de agua destilada.
- ✓ 10 g de dextrosa

Las papas se picaron y se pusieron en ebullición con el agua destilada durante 20 min, después se midió el volumen del remanente. Por otra parte, se disolvió la dextrosa con el agar bacteriológico, y una vez hecho esto, se repone el agua evaporada con más agua destilada. Dentro de una campana se vació el medio de cultivo en cajas Petri previamente estériles, las cuales se dejaron enfriar y se colocaron dentro del refrigerador a 4°C listas para su conservación (ver **Figura 9.11**).

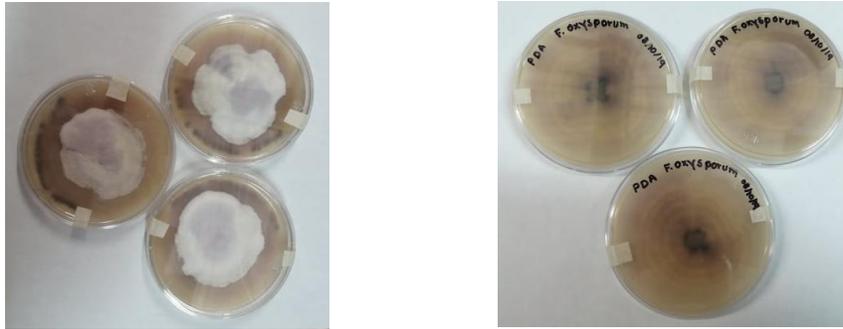


**Figura 9.11.** Preparación del medio de cultivo del hongo para la aplicación del compuesto.



### 9.4.2 Crecimiento del hongo *Fusarium oxysporum*:

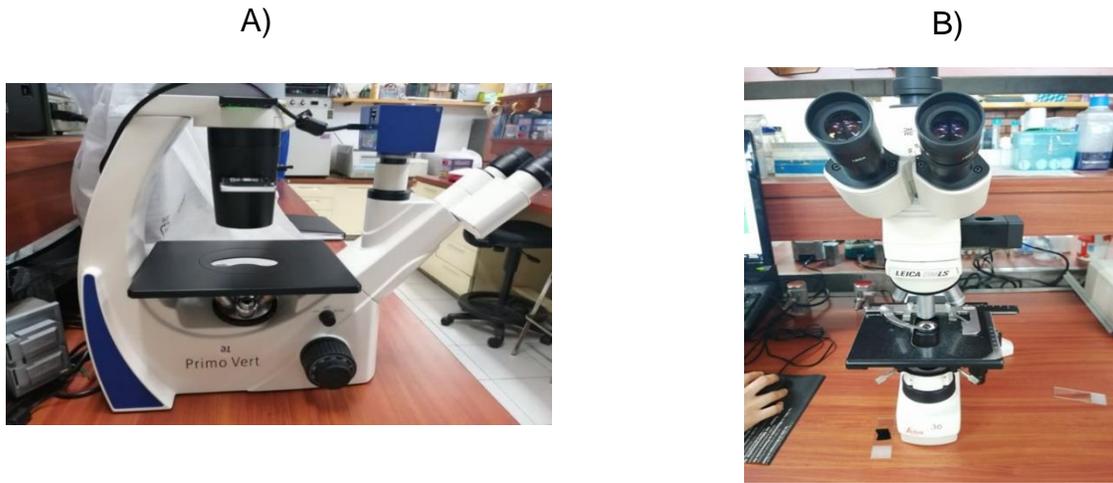
Al agar únicamente se le colocó encima un corte de 1x1 cm de otro agar con el hongo previamente cultivado y se depositó en una incubadora a condiciones óptimas de crecimiento por una semana. Como se observa en la **Figura 9.12**, el hongo en la zona de la base tiene una coloración morada y en la zona superior una tonalidad blanca con aspecto algodonosa, característico de la presencia del hongo.



**Figura 9.12.** Hongo *Fusarium Oxysporum*.

Después para obtener la espora, se colocó el asa bacteriológica al mechero hasta estar al rojo vivo para esterilizarla, después que disminuye su temperatura, se hizo un raspado al hongo, manteniéndose próximo al mechero para garantizar la esterilidad. El primer raspado obtenido se colocó en un porta objetos con una alícuota de 5  $\mu$ L de azul de algodón y el segundo raspado, con 10  $\mu$ L de azul de calcoflor. Posteriormente se observó al microscopio

Los microscopios que se utilizaron para observar el hongo, así como posteriormente la aplicación del compuesto fueron los que se muestran en la **Figura 9.13**:



**Figura 9.13** A) Microscopio Zeiss primo vert, B) un microscopio Lica DMLS con cámara Axio cam 1Ccc.

### 9.4.3 Conteo con la cámara de Neubauer:

La cámara de recuento, Neubauer, es un dispositivo de precisión hecho de vidrio óptico especial. Se utiliza para contar células, bacterias y esporas de hongos u otras partículas en suspensiones bajo el microscopio.

Se trata de un portaobjetos que tiene dos zonas ligeramente deprimidas en cuyo fondo se ha marcado con la ayuda de un diamante una cuadrícula de dimensiones conocidas. Se cubre la cámara con un cubreobjetos que se adhiere por simple tensión superficial, ya que se introduce por capilaridad entre la cámara y el cubreobjetos, el líquido con las células a contar, generalmente tras una dilución previa; la cámara tiene dos zonas lo que permite hacer dos recuentos simultáneamente. Se observa la retícula al microscopio con el aumento adecuado y se cuentan las células.



#### 9.4.4 Preparación de las pruebas antibacteriales:

➤ **En caja Petri**

Se realizó una dilución para tener 10 000 esporas en un mL de NaCl, después el mililitro se esparció en la caja Petri, de manera que se establezca una distribución uniforme y con el apoyo de un papel filtro humedecido de NaCl, se impregnaron los compositos.

➤ **En pocitos**

Posteriormente se realizó una prueba preliminar con el mismo hongo (*Fusarium oxysporum*) pero esta vez recolectando un bocado del hongo previamente cultivado, tratando que esté estuviera más en contacto con el medio, en el cual se disolvió el composito.

Al ser positivos los resultados de la prueba preliminar anterior, se planteó un nuevo ensayo para lograr un medio homogéneo con menos volumen y tomando en cuenta un control, así como concentraciones fijas de ZnO y CTS (de las distintas incorporaciones) para su validez. Por lo que se diseñó un experimento con el mismo medio de agar de papa dextrosa 2x para una concentración de óxido de zinc de 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y 101  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de quitosano basándonos en lo reportado por Ricardo Alvarado et al<sup>[62]</sup> y Rosero José Augusto<sup>[75]</sup>, así como en la disponibilidad del material sintetizado restante. Por lo mismo, se empleó una caja de 24 pozos con un diámetro de 2 cm aproximadamente, con factores de dilución 100,50 y 25 para:

1. ZnO
2. GMA+CTS
3. ZnO+Ag
4. ZnO+GMA+CTS



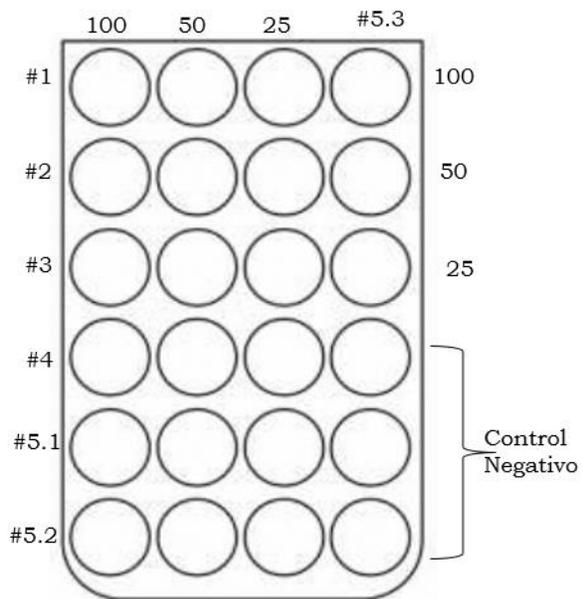
5. (ZnO+Ag)+GMA+CTS
  - 5.1 Con 0.3% de refuerzo
  - 5.2 Con 0.1% de refuerzo
  - 5.3 Con 0.5% de refuerzo

Nota: Todas las muestras diluidas en agua desionizada

Es decir, un total de 7 muestras y un control negativo (agar sin nada). Sin embargo, no se pudo obtener un medio homogéneo para validar el método (ver **Figura 9.14**).

Las diluciones con respecto al ZnO 200µg/mL:

- o 100 µg/mL: 0.25mL agar 2x+ 0.25 mL stock
- o 50 µg/mL: 0.25mL agar 2x+ 0.125 mL stock+ 0.125 mL H<sub>2</sub>O
- o 25 µg/mL: 0.25mL agar 2x+ 0.0625 mL stock+ 0.1875 mL H<sub>2</sub>O



**Figura 9.14** Caja Petri para prueba antifúngica.

➤ **En medio líquido**

Debido a la dificultad de homogenizar el medio sólido en los pocitos, se optó por hacerlo en medio líquido, realizando las mismas 7 pruebas anteriores pero en este caso para *E.coli* y *Saccharomyces cerevisiae* y a una concentración de 50 µg/mL de ZnO y 25 µg/mL de quitosano:

1. ZnO
2. GMA+CTS



3. ZnO+Ag
4. ZnO+GMA+CTS
5. (ZnO+Ag)+GMA+CTS
  - 5.1 Con 0.3% de refuerzo
  - 5.2 Con 0.1% de refuerzo
  - 5.3 Con 0.5% de refuerzo
6. Más una adicional con quitosano.

\*Nota: Diluidas en agua desionizada

Para la *E. coli* se utilizó el medio *Luria-Bertani* de *Cold Spring Harbor Protocols*

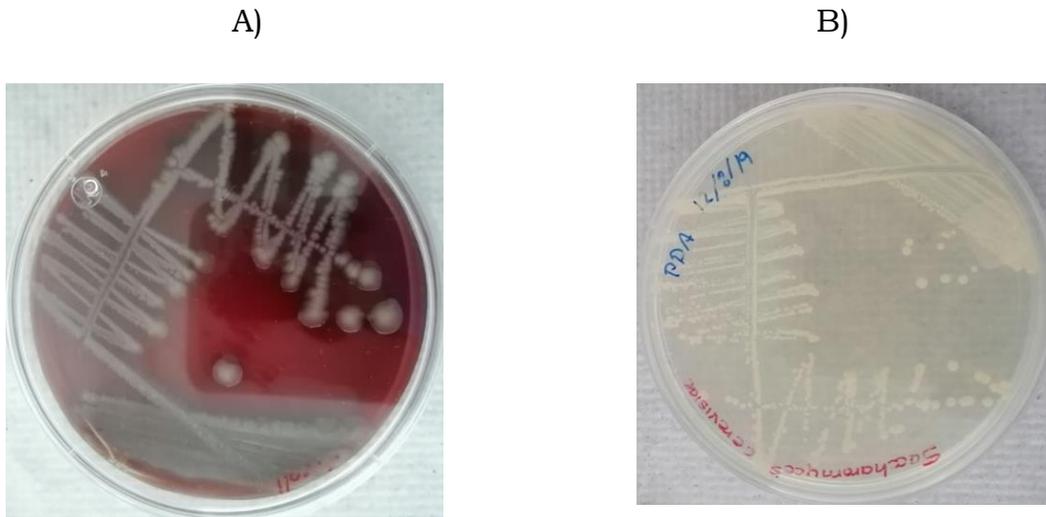
- ✓ Triptona 0.5g
- ✓ NaCl 0.5g
- ✓ Extracto de lavadura 0.25g
- ✓ Agua destilada 50 mL

Se ajustó a un pH de 7.0 con NaOH 5N (aproximadamente 10  $\mu$ L)

Para la *Saccharomyces cerevisiae* el medio fue YPG (*Yeast Peptone Glucose*, por sus siglas en inglés).

- ✓ Extracto de lavadura 0.3g
- ✓ Peptona de genatina 1g
- ✓ Glucosa 2g
- ✓ Agar 2g

Con el asa bacteriológica, puesta previamente al mechero hasta que se encontró al rojo vivo, se hizo un raspado de cada caja Petri con *E.coli* y *Saccharomyces cerevisiae* para poner en 1 mL de su respectivo medio cada cepa (ver **Figura 9.15**).



**Figura 9.15** A) Cultivo de *E.coli* B) y *Saccharomyces cerevisiae*

Posteriormente, se procedió a hacer un conteo en la cámara de Neubauer, los resultados fueron los siguientes:

❖ *Saccharomyces cerevisiae*

1° Cuadrante= 204

$$\frac{204 + 362}{2} = 283 \times 10\ 000 = 2\ 830\ 000 \text{ células/mL}$$

2° Cuadrante= 362

Para tener 10 000 células en un mL se necesita una alícuota de 3  $\mu\text{L}$

$$10\ 000 \text{ células} \times \frac{1 \text{ mL}}{2\ 830\ 000 \text{ células}} = 0.003 \text{ mL} = 3 \mu\text{L}$$

Para tener una concentración de 10 000 células/mL, se tomó 6  $\mu\text{L}$  para el volumen de 2 mL.

❖ *E.coli*

1° Cuadrante= 32

2° Cuadrante= 24

$$3^{\circ} \text{ Cuadrante} = 46 \quad \frac{32 + 24 + 46 + 28}{4} = 32.5 \times 10\,000 \times 100$$

$$= 32\,500\,000 \text{ células/mL}$$

4° Cuadrante= 28

Se tomó en cuenta que se hizo primero una dilución 100:1 tomando una alícuota de 10  $\mu\text{L}$  en 1 mL, por lo que es como si 32 500 000 no estuvieran ya en 1 mL si no en 100 mL, por lo tanto para tener 10 000 células en un mL se necesita una alícuota de 31  $\mu\text{L}$ :

$$10\,000 \text{ células} \times \frac{100 \text{ mL}}{32\,500\,000 \text{ células}} = 0.03 \text{ mL} = 31 \mu\text{L}$$

Para tener una concentración de 10 000 células/mL, se tomó 62  $\mu\text{L}$  para el volumen de 2 mL.

En una campana previamente esterilizada, se llevaron los medios Luria y YPG junto con puntas, pipetas, micro-espátula, tubos de ensayo con sus respectivas tapas (cabe mencionar que todo estuvo sellado con papel aluminio antes y después una vez de sacarlo del autoclave para mantener su esterilización) (ver **Figura 9.16**). Además de lo anterior, se ocuparon las diluciones con *E.coli* y *Saccharomyces cerevisiae* para tomar las alícuotas de 62 y 6  $\mu\text{L}$  respectivamente, por ultimo también se necesitó alcohol al 70% para fijar las bacterias de las puntas usadas.



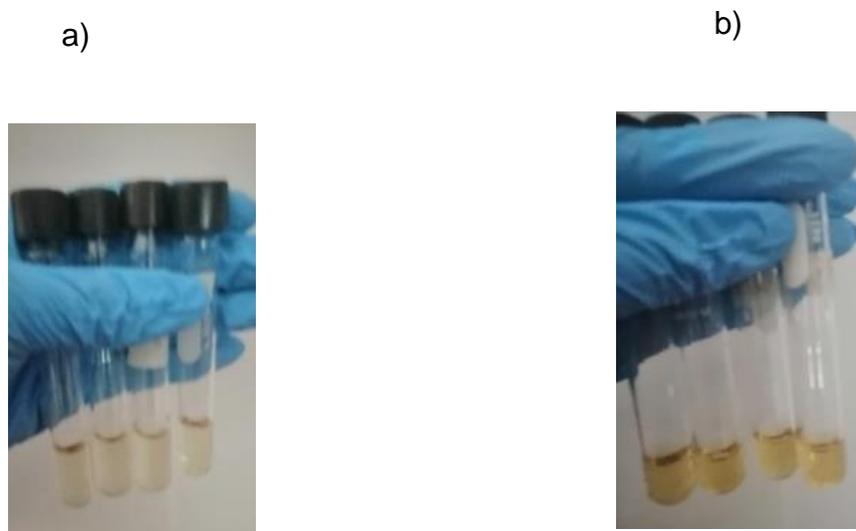
**Figura 9.16** Material empleado para pruebas antibacteriales



Como ya se mencionó, estos ensayos fueron realizados cada uno de 2 mL (1.5 mL de medio y 0.5 mL de composito) y con su respectivas alícuotas de cepas, cuyos volúmenes son despreciables. El composito tenía una concentración inicial de 200  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de ZnO y 101  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de CTS, por lo que diluidos en el volumen total de 2 mL, quedó una concentración final de 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y 25  $\mu\text{g}/\text{mL}$  respectivamente.

Del mismo modo, se hizo una prueba con los mismos medios para *E.coli* y *Saccharomyces cerevisiae* con solamente quitosano a un concentración de 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

En la **Figura 9.17** se muestran imágenes de dichas diluciones.



**Figura 9.17** a) Medio Luria para la *E. coli* y b) medio YPG para la levadura



# 10. Caracterización

Para la caracterización del refuerzo, se llevó a cabo una dispersión dinámica de luz (DLS) con el fin de conocer el tamaño de AgNP's, así como también se realizó una espectroscopia de "reflectancia difusa" (DRS) con el fin de conocer el band-gap del ZnO y del ZnO-AgNP's con los dos diferentes precursores empleados.

Mediante el FT-IR, se comprobó tanto la pureza como la presencia del ZnO y se realizó una comparación de los dos refuerzos obtenidos a partir de diferentes sales de plata, también se realizó un SEM para comprobar que la estructura estuviera soportada en el óxido metálico.

Para la caracterización de la matriz, se realizó un FT-IR del quitosano y de la funcionalización de este en las diferentes proporciones; una vez incorporado el refuerzo, también se caracterizaron con FT-IR a los diferentes porcentajes de incorporación y las diferentes relaciones másicas de CTS/GMA; se llevó a cabo un SEM para ver la distribución del refuerzo en la matriz y se realizaron pruebas antibacteriales para las siguientes combinaciones: CTS, ZnO, GMA-CTS, ZnO-Ag, ZnO-GMA-CTS, (ZnO-Ag)-GMA-CTS al 0.3%, 0.1% y 0.5%.

A modo de entender tanto el funcionamiento de las técnicas utilizadas en el presente trabajo de investigación, se explica de manera breve cada una de estas caracterizaciones.

**Dispersión Dinámica de Luz (DLS).** Para llevar a cabo esta técnica, fue con el equipo *Nano Zetasizer Malvern*, modelo ZEN 3600 (ver **Figura 10.1**), ubicada en el Centro de investigaciones en óptica (CIO) ubicada en León, Gto.

Las aplicaciones típicas de la dispersión de luz dinámica son la determinación del tamaño de partícula de proteínas, polímeros y dispersiones coloidales; así como emulsiones o moléculas que están dispersadas o disueltas en un líquido. El fundamento está enfocada en el movimiento Browniano de las partículas o moléculas en suspensión



haciendo que la luz láser se disperse con diferentes intensidades a diferentes ángulos. Del análisis de estas fluctuaciones de intensidad, se obtiene la velocidad del movimiento browniano y por lo tanto el tamaño de partícula utilizando la relación de Stokes-Einstein.



**Figura 10.1** Equipo *Zetasizer nanoseries* para la caracterización por DLS

Para este caso en estudio, se llevó a cabo únicamente para las NP's de Ag en una solución de agua desionizada a una concentración de 19  $\mu\text{g/mL}$ .

Algunas ventajas de esta caracterización son:

- Es una técnica no invasiva.
- Este bien establecido para medir el tamaño, distribución de tamaño de moléculas y partículas típicamente en la región submicrométrica
- Con la más reciente tecnología incluso puede medir tamaños inferiores a 1 nm.

**Espectroscopía de “Reflectancia Difusa” (DRS).** Se utilizó un espectrofotómetro UV-Vis marca Shimadzu modelo UV-2401 PC (ver **Figura 10.2**) para realizar las pruebas de caracterización de reflectancia difusa. Esta técnica de caracterización está basada en la espectroscopia ultravioleta-visible por reflectancia difusa (UV-Vis DRS) y proporciona información sobre el entorno de las especies metálicas y orgánicas presentes en el material, siempre que estén presentes transiciones entre niveles



moleculares separados por energías del orden de la región UV y/o visible de la radiación electromagnética, lo cual permite estudiar las contribuciones de los componentes orgánicos e inorgánicos de las muestras. Es una herramienta espectroscópica eficaz para determinar el *band gap* de los materiales microcristalinos y de pequeñas cantidades de muestra.



**Figura 10.2** Espectrómetro *UV-VIS-2401PC*

La teoría de Kubelka-Munk (KM) proporciona las descripciones teóricas de la espectroscopía de reflectancia difusa. Cuando la muestra en polvo se irradia con luz, una porción se refleja regularmente en la superficie y el resto ingresa y se difunde, a medida que es absorbida la luz a una longitud por la muestra, la medición de la luz reflejada difusa en diferentes longitudes de onda produce un espectro, llamado espectro de reflectancia difusa<sup>[87]</sup>.

En seguida se muestra la ecuación (9.1) de Kubelka Munk, en la cual se basan los cálculos para el cálculo del band gap:

$$\frac{k}{s} = \frac{(1-R_{\infty})^2}{2R_1} = f(R_1) \quad (10.1)$$

Algunas ventajas encontradas en esta caracterización son:

- Preparación mínima muestra.

- Posibilidad análisis mayoría materiales no reflectores, incluyendo materiales muy opacos o poco absorbentes.
- Análisis de superficies irregulares y materiales duros.
- Alta sensibilidad.

Además de los problemas de la reflexión en la superficie, tiene las siguientes desventajas:

- Está limitada principalmente a muestra en polvo.
- Si la muestra contiene agua y debido al calentamiento producido por el rayo de luz infrarrojo, ésta se puede evaporar dando lugar a vapor de agua que causa fuertes interferencias en el espectro.
- El llenado de la celda es poco reproducible sobre todo cuando se quiere trabajar en análisis cuantitativo<sup>[88]</sup>.

**Espectroscopia Infrarrojo por Transformada de Fourier (FT-IR).** Esta caracterización se realizó con equipo *Perkin Elmer Spectrum 100, FT-IR Spectrometer* (ver **Figura 10.3**). El principio básico detrás de la espectrometría molecular es que las moléculas absorben energía de la luz en longitudes de ondas específicas, conocidas como sus frecuencias de resonancia (vibración). La radiación infrarroja interacciona con los sistemas materiales modificando su energía vibracional lo que hace posible la caracterización de los principales grupos funcionales de la estructura molecular de un compuesto.

Por ejemplo, las moléculas de agua resuenan (vibran) alrededor de una frecuencia de  $3450\text{ cm}^{-1}$ , en la región infrarroja del espectro electromagnético. Un número de onda, representado por el símbolo  $\text{cm}^{-1}$ , es simplemente el inverso de la longitud de onda<sup>[89]</sup>.



**Figura 10.3** Espectrómetro *FT-IR Perkin Elmer Spectrum 100*

Un espectrómetro infrarrojo funciona con una pequeña muestra que es colocada en una celda infrarroja, donde es sometida a una fuente de luz infrarroja, la cual hace un barrido desde las longitudes de onda de 4000 hasta  $450\text{ cm}^{-1}$ . La intensidad de la luz transmitida a través de la muestra es medida en cada número de onda, lo que permite que la cantidad de luz absorbida por la muestra sea calculada por la diferencia entre la intensidad de la luz antes y después de pasar por la celda de muestra.

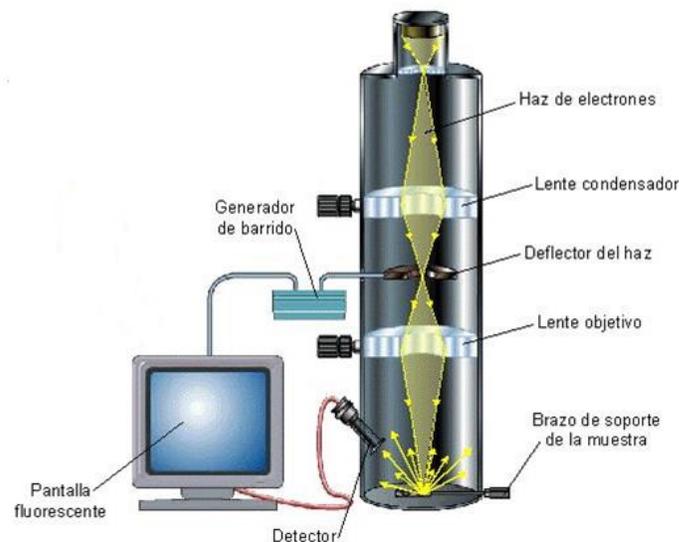
Esto se conoce como el espectro infrarrojo de la muestra. En un experimento con FTIR, siempre que se cumpla con la resonancia (vibración) de algunas de las moléculas que se encuentran en la muestra, la cantidad de luz absorbida se incrementará, o lo que es lo mismo, la luz transmitida a través de la muestra disminuirá.

Para este caso de estudio, se maceró una cantidad de la muestra, en este caso fue de: ZnO, NP's-Ag (a partir de  $\text{AgNO}_3$  y  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ), CTS, F 1:2, F 1:4, IN al 0.1%, 0.3% y 0.5% con relación de 1:2 y 1:4; con una sal (bromuro de potasio) finamente (para eliminar los efectos de dispersión de los cristales grandes). Esta mezcla de polvo se presionó luego en una prensa mecánica para formar un gránulo translúcido a través del cual puede pasar el haz del espectrómetro<sup>[89]</sup>.



**Microscopio Electrónico de Barrido (SEM).** Se realizó en un equipo ZEISS EVO 10 SEM en modo de presión variable. El principio del sistema SEM consiste en que si se hace incidir sobre la muestra, un haz de electrones finalmente enfocado, el cual emite una señal que puede registrarse en una pantalla mediante un tubo de rayos catódicos. Los componentes del SEM son: fuente de energía, portamuestras y el sistema de ampliación el cual recoge las señales y procesa la información procedente de la muestra.

Las imágenes que se obtienen en el SEM corresponden a electrones secundarios o electrones retrodispersados emitidos tras la interacción de un haz de luz incidente de entre 5 y 30 KeV. El haz de electrones se desplaza sobre la muestra realizando un barrido en las direcciones X e Y de tal modo que la posición en la que se encuentra el haz en cada momento coincide con la aparición de brillo, proporcionalmente a la señal emitida, en un determinado punto de la pantalla (ver **Figura 10.4**).



**Figura 10.4** Esquema de las partes del microscopio de barrido electrónico.

Para este caso de estudio, se trabajó con la muestra de refuerzo (ZnO-Ag) y otra del composito final (GMA-CTS-ZnO-Ag), con la proporción de la matriz 1:2 CTS/GMA.



Algunos beneficios de esta técnica son:

- ✓ Es una técnica de caracterización superficial, no destructiva que proporciona información morfológica y de composición química de los materiales.
- ✓ Es una herramienta ampliamente utilizada en campos como: biología, materiales, ciencias ambientales, geociencias, debido al detalle y rapidez en la adquisición de las micrografías de superficie.
- ✓ Esta técnica de análisis permite caracterizar una amplia variedad de materiales, algunos ejemplos son: materiales nano-estructurados, aleaciones metálicas, polímeros, minerales, fibras, películas delgadas, biomateriales y en algunos casos muestras con alto contenido en humedad e hidrogeles.
- ✓ Los materiales restrictivos para realizar análisis se refieren a aquellos con propiedades magnéticas, a menos, que se fijen apropiadamente en alguna matriz de contención<sup>[90]</sup>.

Con esto se espera caracterizar el material de manera que podamos conocer la sinergia entre los componentes, su estructura, así como también poder probar sus propiedades.

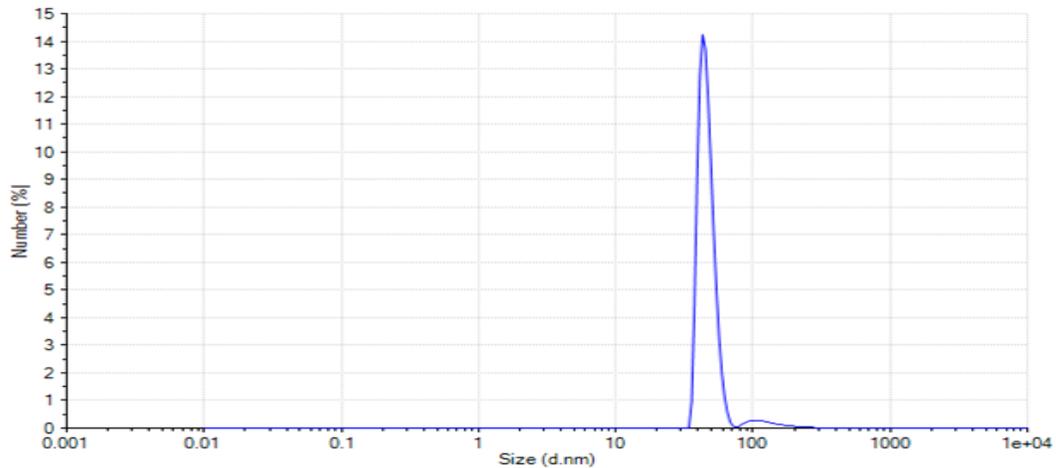


# 11. Resultados



## 11.1 DLS

Se llevó a cabo la caracterización por dispersión dinámica de luz de las nanopartículas de plata (ver **Figura 11.1**) con el fin de conocer el tamaño de partículas, de las cuales el 95.8% en promedio fueron con un diámetro de 45.89 nm y el restante 4.2% de 133 nm.

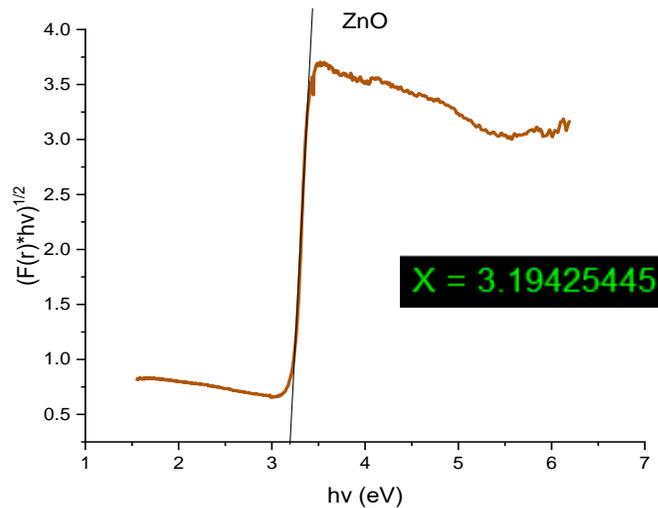


**Figura 11.1** Tamaño de partícula por DLS de la muestra de Ag.



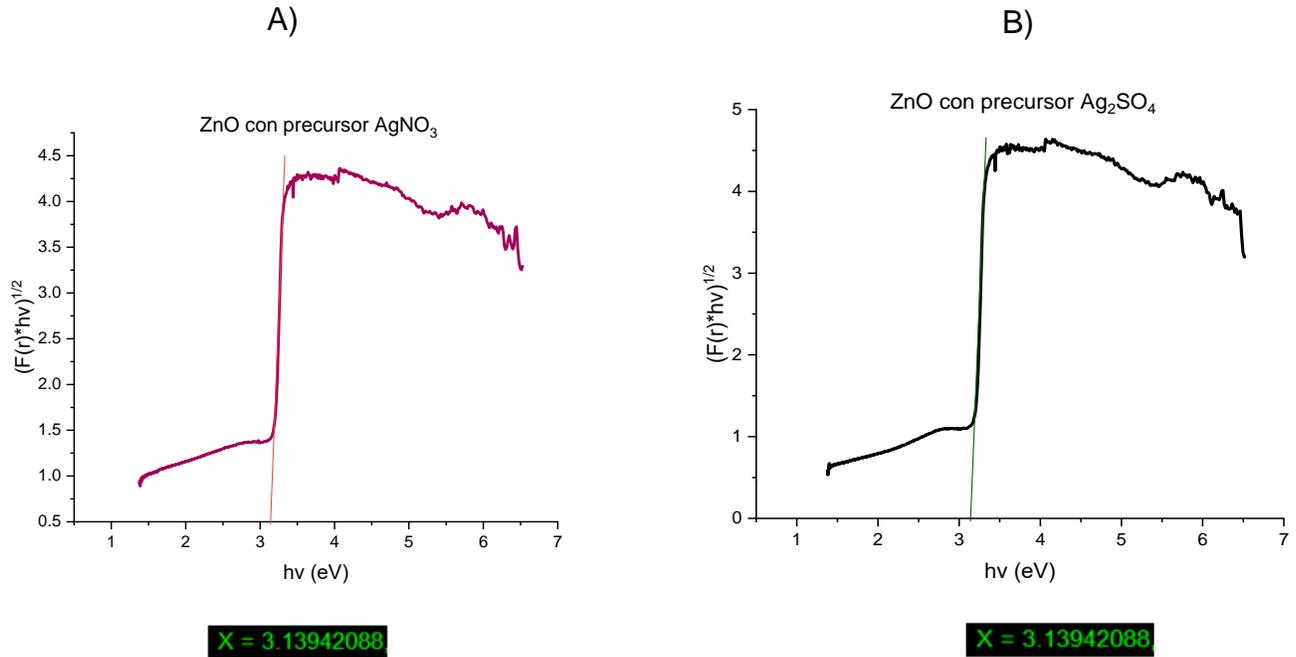
## 11.2 Reflectancia difusa

En la **Figura 11.2** se muestra el valor del *band gap* del ZnO en 3.1942 eV, el cual está en el intervalo reportado en la literatura, que es de 3~4 eV [83].



**Figura 11.2** *Band gap* experimental del ZnO

Mientras en la **Figura 11.3** se observa el valor del *band gap* para los refuerzos de ZnO-Ag, esto a partir de los dos precursores de plata ( $AgNO_3$  y  $Ag_2SO_4$ ). Se observó que se obtuvieron los mismos valores de banda prohibida, así como una protuberancia en la pendiente de ambos espectrogramas atribuida al plasmón de plata. El *band gap* obtenido para el refuerzo (3.1394 eV) es cercano al del ZnO puro (3.1942 eV).



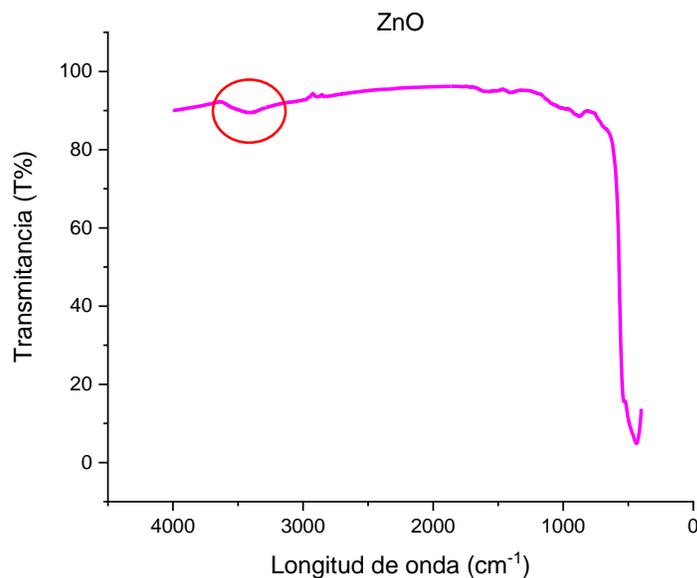
**Figura 11.3** Band gap de ZnO-Ag usando como precursor A)  $\text{AgNO}_3$  y usando como precursor B)  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ .

Confirmando que la utilización del precursor (ya sea  $\text{AgNO}_3$  o  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ ), no influye en las características finales de las nanopartículas de plata que se desean utilizar para el soporte en el ZnO, esto es debido a que se parte de sales inorgánicas y ambas son solubles en el mismo medio de reacción manteniendo similitudes en su reactividad química.



## 11.3 FT-IR

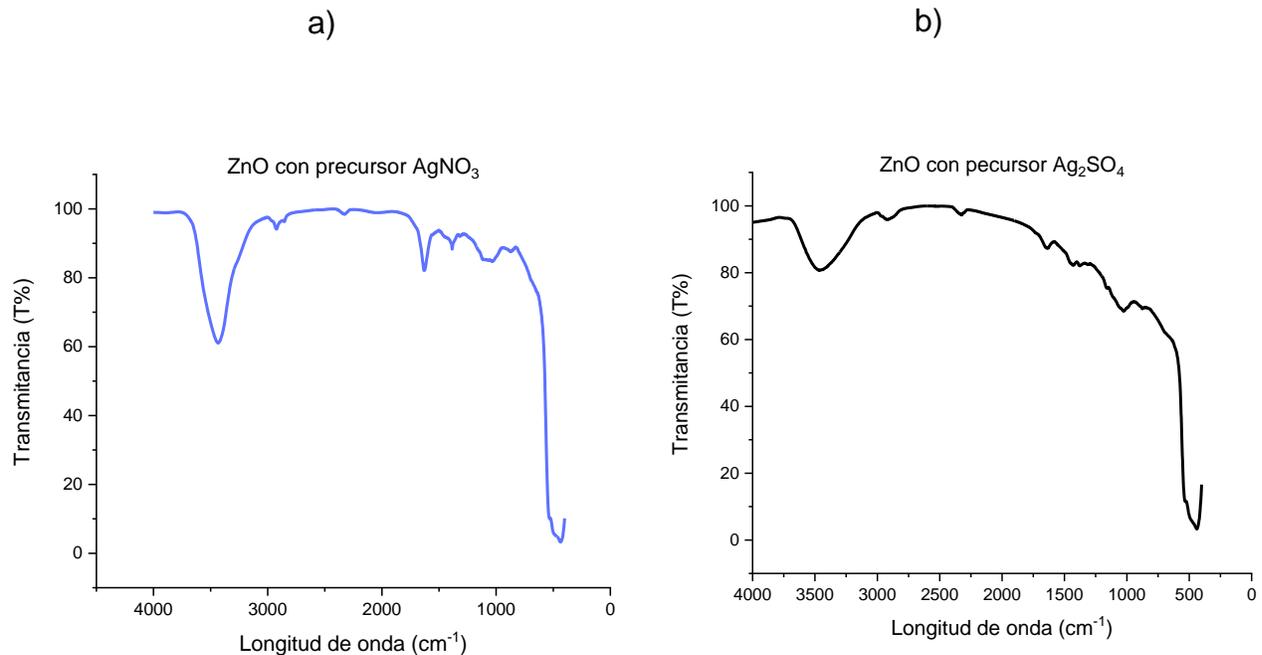
A continuación, se muestra el espectrograma del FT-IR del ZnO que se empleó para el refuerzo (ver **Figura 11.4**), observándose una ligera banda alrededor de  $3\ 500\text{ cm}^{-1}$  debido a la presencia de ZnOH pero con una cantidad mínima, comparando con el ZnO cuyo pico característico se localiza alrededor de  $400\text{ cm}^{-1}$  atribuido al estiramiento de Zn-O, confirmando que la muestra está libre de humedad y de contaminantes. No cambia la información del espectro, después de haber secado el material.



**Figura 11.4** FT-IR experimental del ZnO

En la **Figura 11.5** se muestran los espectrogramas de los FT-IR del refuerzo de ZnO usando como precursores del Ag el  $\text{AgNO}_3$  y  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ . En este caso (y como es de esperarse), se observan la presencia de más bandas; los picos en las longitudes de onda en  $3\ 500\text{ cm}^{-1}$  y  $1\ 600\text{ cm}^{-1}$  se atribuyen al grupo -OH debido a la humedad absorbida. La banda de absorción alrededor de  $480\text{ cm}^{-1}$  es debido al estiramiento del enlace Zn-O.

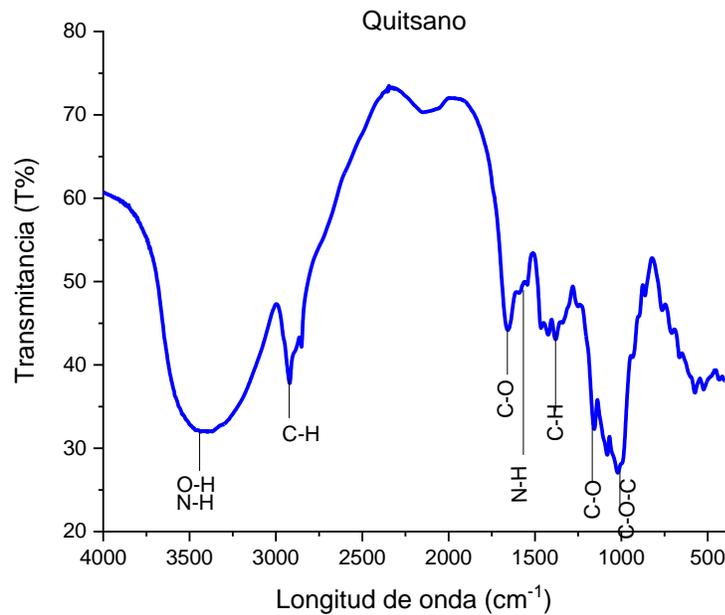
Cabe señalar, que el refuerzo obtenido con el nitrato de plata presenta un poco más de humedad y esto es de acuerdo a la presencia de las bandas de  $3\ 500\text{ cm}^{-1}$  y  $1\ 600\text{ cm}^{-1}$ .



**Figura 11.5** FT-IR de ZnO- AgNp's usando como precursor a)  $\text{AgNO}_3$  y b)  $\text{Ag}_2\text{SO}_4$ .

En el caso del quitosano (ver **Figura 11.6**), el cual se empleó para la síntesis de la matriz, se le calculó el grado de desacetilación.

Primero se analizaron las bandas características que presenta dicho biopolímero con el fin de tener bien identificado la presencia del material en su estado puro. Se encontró que en  $3\ 500\text{ cm}^{-1}$  aproximadamente, se atribuye al grupo  $-\text{OH}$  y  $-\text{N-H}$ , mientras que en  $2\ 800\text{ cm}^{-1}$  es debido al estiramiento del enlace  $\text{C-H}$  y también se pueden ver otras bandas en el intervalo de  $1\ 650$  a  $1\ 550\text{ cm}^{-1}$  que son característicos a los estiramientos  $\text{O-H}$  y  $\text{N-H}$ . En  $1\ 000\text{ cm}^{-1}$  se encuentra la banda correspondiente al enlace  $\text{C-O}$  y el ruido entre  $600\text{-}800\text{ cm}^{-1}$  se atribuye a cierre del anillo<sup>[5, 32]</sup>.



**Figura 11.6** FT-IR experimental del Quitosano

Como segundo paso, se procedió a obtener el grado de desacetilación, utilizándose la siguiente fórmula empleada por Escobar et al [21, 28].

$$\text{GradoN acetilación} = 31.92 \left( \frac{A_{1320}}{A_{1420}} \right) - 12.2 \quad (11.1)$$

$$\text{gradoN acetilación} = 31.92 \left( \frac{1.18497}{1.33079} \right) - 12.2 = 16.2224\%$$

Donde:

$A_{1320}$  = Área bajo la curva de la banda del espectro de infrarrojo en la longitud de onda de  $1320 \text{ cm}^{-1}$  = 1.18497

$A_{1420}$  = Área bajo la curva de la banda del espectro de infrarrojo en la longitud de onda de  $1420 \text{ cm}^{-1}$  = 1.33079

**Nota:** El cálculo del área bajo la curva se realizó con el programa de OriginPro2018.

Por lo tanto;

$DD$  = Grado de desacetilación (%)

$$DD(\%) = 100 - \text{Grado de acetilación}$$

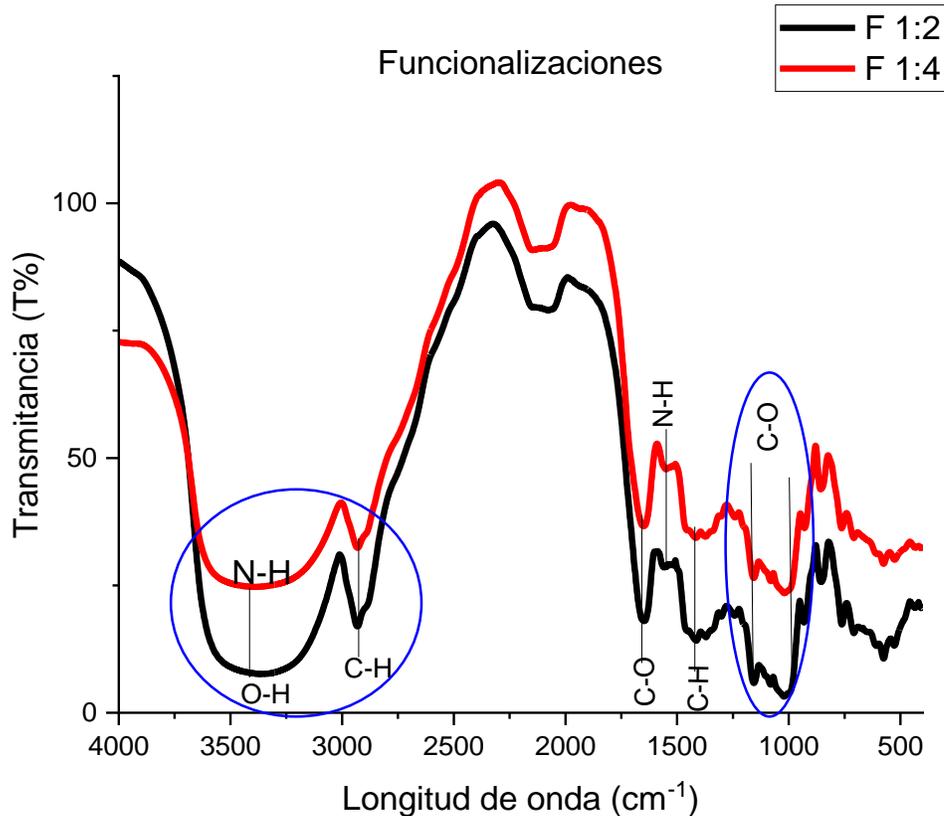
$$DD(\%) = 100 - 16.2224 = 83.7776\%$$

Obteniéndose un 83.78% de grado de desacetilación de la muestra del material que se utilizó en la parte experimental. Al estar con más de un 50% de  $DD$ , se garantiza que sea quitosano y no quitina del cual proviene originalmente.

El  $DD$  es uno de los parámetros más importantes en las características del CTS, pues determina las propiedades fisicoquímicas y biológicas de este biopolímero, ya que es un indicador indirecto de la cantidad del grupo amino en la estructura química, siendo el responsable de la naturaleza policatiónica del quitosano que interactúa con las cargas negativas de la pared celular de los microorganismos, en este caso de bacterias. Entre más grande sea el  $DD$ , más será su actividad antimicrobiana; y en este caso se obtuvo un 83.78% grado de desacetilación, que se considera bueno ya que en la bibliografía se ha probado con  $DD$  menores de 80, sin embargo, lo ideal es tener al menos un 90% para garantizar la efectividad antimicrobiana.

En seguida se observan los FT-IR (ver **Figura 11.7**) de las funcionalizaciones CTS/GMA en las diferentes proporciones de 1:2 y de 1:4. Entre ambos copolímeros no se observó una diferencia significativa en los picos, sin embargo, comparándolos con el CTS puro, se observa una disminución en el ensanchamiento de la banda en  $3500\text{ cm}^{-1}$  ( $-\text{OH}$ ), también se nota una reducción en la banda  $2800\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C-H}$ ), así como cambios entre los picos de  $1800\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C=O}$ ) y de  $1000\text{ cm}^{-1}$  ( $\text{C-O}$ ), atribuidos a la funcionalización con el GMA ya que en la longitud de  $1720\text{ cm}^{-1}$  se encuentra la tensión del carbonilo ( $\text{C=O}$ ) mientras que en la sección que corresponde al GMA, la

banda en  $1\ 636\ \text{cm}^{-1}$  es por la tensión del doble enlace ( $\text{CH}=\text{CH}$ ), en  $1\ 166\ \text{cm}^{-1}$  se encuentra la tensión del grupo éster ( $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ) y en  $909-945\ \text{cm}^{-1}$  la deformación del epóxido, todo esto propio del GMA.

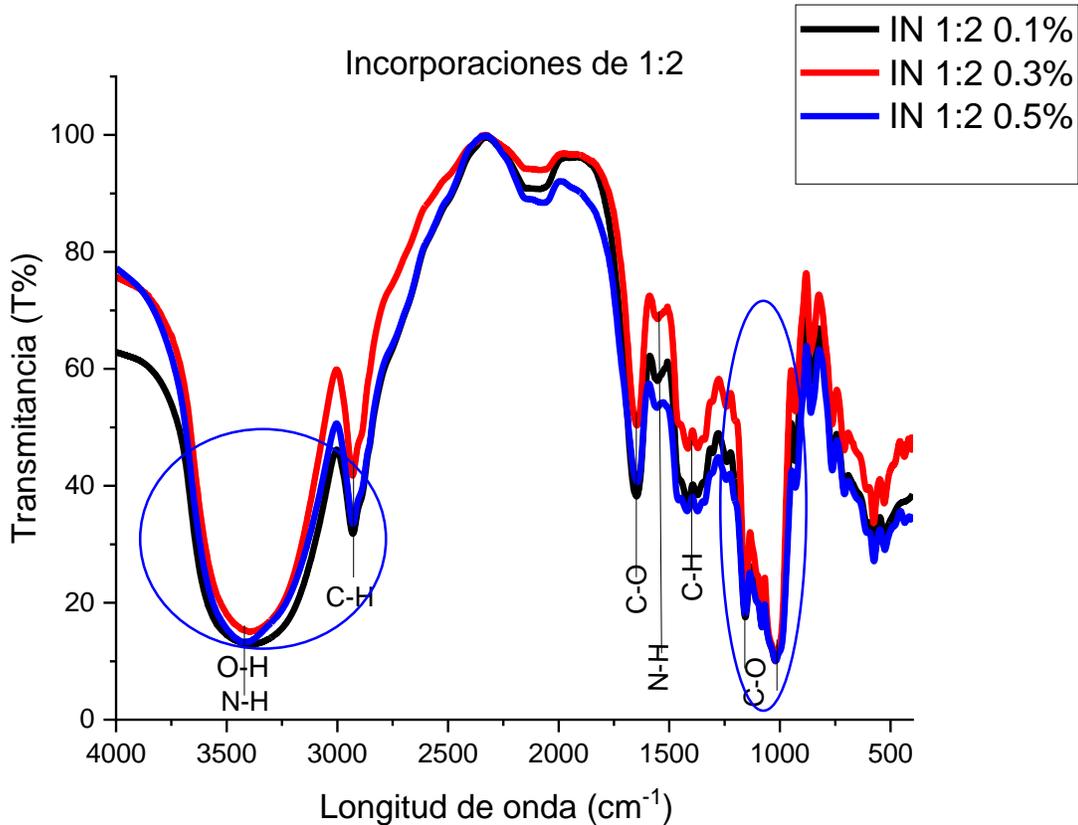


**Figura 11.7** FT-IR de las Funcionalizaciones con 1:2 y 1:4 de CTS/GMA

En la **Figura 11.8**, se muestran los FT-IR, de los composites en la razón de CTS/GMA de 1:2 en masa y con diferentes proporciones en masa con relación al GMA del refuerzo ZnO-Ag (al 0.1, 0.3, 0.5% respectivamente) entre los cuales no se encontró un cambio significativo; pero a diferencia de la funcionalización, aquí volvieron a incrementarse los picos en  $3\ 500\ \text{cm}^{-1}$  ( $-\text{OH}$ ) y en  $1\ 000\ \text{cm}^{-1}$  ( $\text{C}-\text{O}$ ).

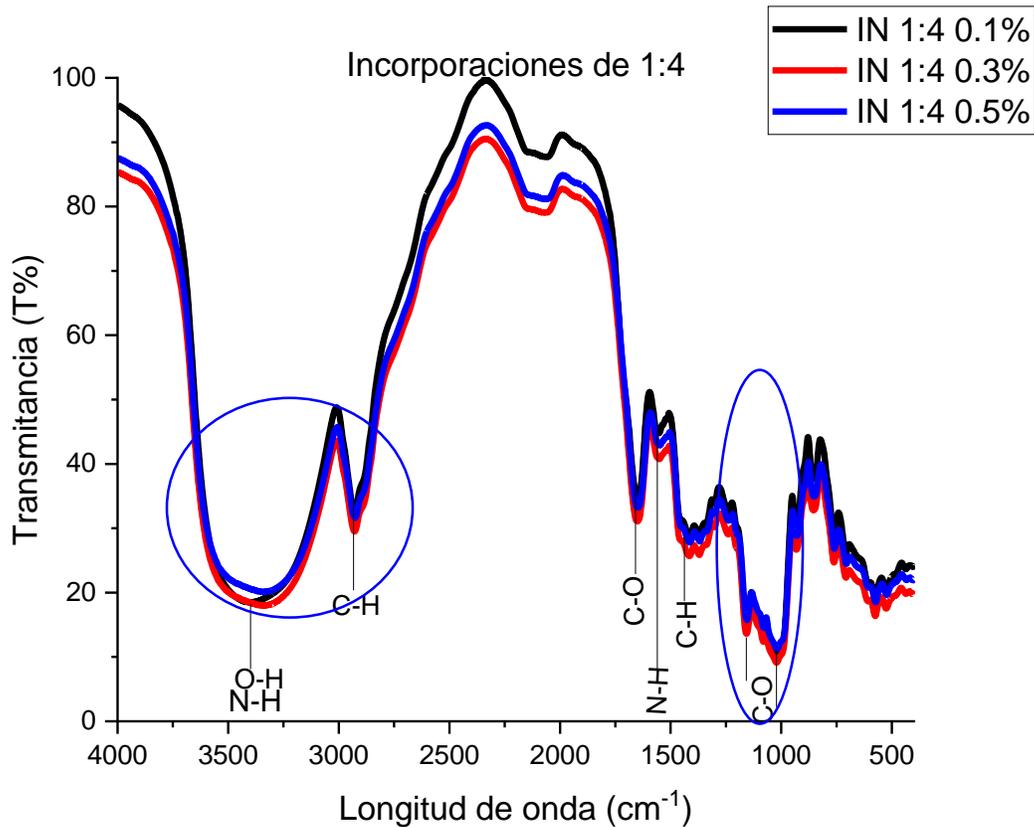
Comparándolo con la **Figura 11.7** los picos alrededor de  $1\ 200$  a  $1\ 000$  atribuidos al carbonilo para la funcionalización 1:2 van en el eje de las  $y$

(T%) de 30 a 25 aproximadamente, mientras que en la **Figura 11.8** rondan de los 50 a los 10, del mismo modo incrementa el pico en  $2800\text{ cm}^{-1}$  atribuido a la presencia de la cadena hidrocarbonada.



**Figura 11.8** FT-IR de las Incorporaciones 1:2 al 0.1%, 0.3% y 0.5% en la matriz de GMA/CTS (1:2).

En la **Figura 11.9**, se muestran los FT-IR en conjunto de los compositos en la razón de CTS/GMA de 1:4 en masa y con diferentes proporciones en masa con relación al GMA del refuerzo ZnO-Ag (al 0.1, 0.3, 0.5% respectivamente). Aquí se atenúan los picos de manera más notoria en  $1000\text{ cm}^{-1}$  (C-O), pero el patrón del espectro no cambia significativamente de la proporción 1:2.



**Figura 11.9** FT-IR de las incorporaciones al 0.1%, 0.3% y 0.5% en la matriz de GMA/CTS (1:4).

No se notan diferencias significativas en los FT-IR mostrados en la **Figura 11.9**; sin embargo, si existe una facilidad de procesamiento en el composito que tiene la composición de 1:2, debido a que resulta ser más blando para la preparación en polvo para las caracterizaciones posteriores.

Cabe aclarar que en las composiciones de 0.1, 0.3 y 0.5% del refuerzo ZnO-Ag, todo está enfocado con respecto al GMA. Basándonos en esto se realizó el cálculo de porcentaje en peso (w/w) del ZnO y Ag con respecto al composito en su totalidad; esto es, GMA+CTS. Los resultados se ejemplifican en las siguientes **Tablas 5** y **6** para ambas incorporaciones.

**Tabla 5.** Porcentaje de ZnO y Ag en el composito 1:2 de CTS/GMA

	<b>IN 1:2 al 0.1%</b>	<b>IN 1:2 al 0.3%</b>	<b>IN 1:2 al 0.5%</b>
<i>Ag</i>	0.00068%	0.002044%	0.0034%
<i>ZnO</i>	0.06747%	0.202%	0.3372%

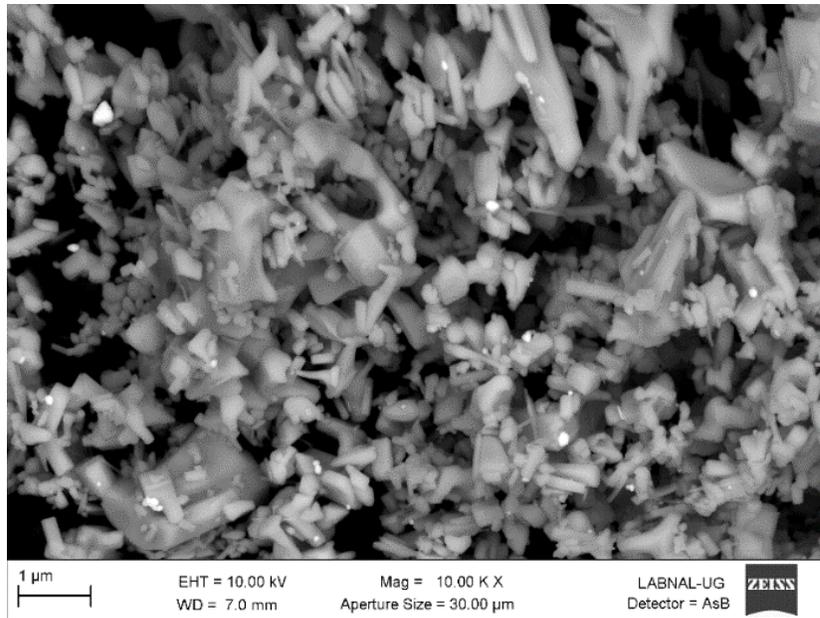
**Tabla 6.** Porcentaje de ZnO y Ag en el composito 1:4 de CTS/GMA

	<b>IN 1:4 al 0.1%</b>	<b>IN 1:4 al 0.3%</b>	<b>IN 1:4 al 0.5%</b>
<i>Ag</i>	0.008%	0.0024%	0.0039%
<i>ZnO</i>	0.0802%	0.2399%	0.4012%

Como se puede observar, no existe un cambio significativo en la concentración del refuerzo, pero la proporción 1:4 utilizaba el doble de reactivo del GMA y se dificultaba la preparación para caracterización y que es posible a la capacidad de absorber agua por parte del composito integrado. Por esta razón, se decidió acotar las pruebas antibacteriales únicamente a la relación 1:2.

## 11.4 SEM

A continuación, se muestra la imagen del refuerzo ZnO-Ag teniendo como precursor  $\text{AgNO}_3$  siendo la sal que se disocia con mayor facilidad, lo que puede influir en la pureza del material (ver **Figura 11.10**).



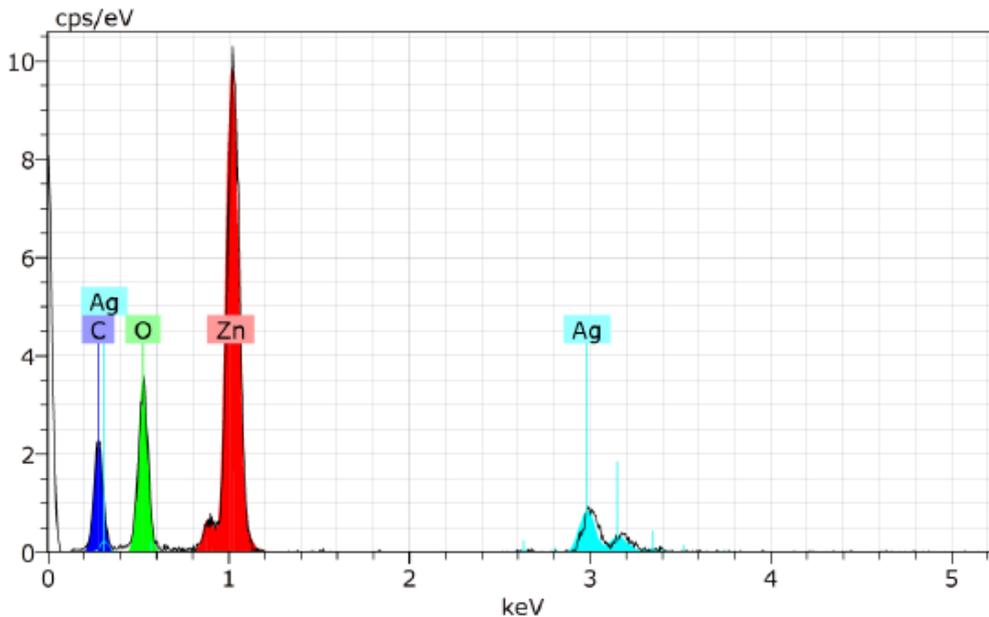
**Figura 11.10** SEM del refuerzo ZnO-AgNp's

Se puede apreciar que los puntos más pequeños y luminosos corresponden a las AgNp's que se encuentran adornando al ZnO. Es probable que esto llegue a influir en las pruebas antibacteriales, ya que el ZnO al no tener dimensiones de una nanopartícula, se tenga como resultado una disminución en el área de contacto con los microorganismos, conllevando a una reducción en su biodisponibilidad, limitando el acceso y acercamiento con los microorganismos. En la literatura se ha encontrado buena actividad antimicrobiana con nanopartículas ZnO y Ag:ZnO<sup>[11-13]</sup>; sin embargo, hay que comentarlo que si el ZnO fuera nanométrico, existe la posibilidad de que la decoración por parte de la plata en el ZnO sería menor, ya que se

necesitaría una técnica de síntesis para tener mayor control sobre ambas partículas garantizando que fuera una de menor tamaño que la otra.

Cabe mencionar que la fotodepositación fue seleccionada por sobre otras técnicas, debido a que: aprovecha la sinergia entre ambos materiales sin la necesidad de cubrir un material con el otro, su síntesis es rápida, fácil (con ZnO en *bulk*), económica, accesible, así como su compatibilidad con matrices poliméricas.

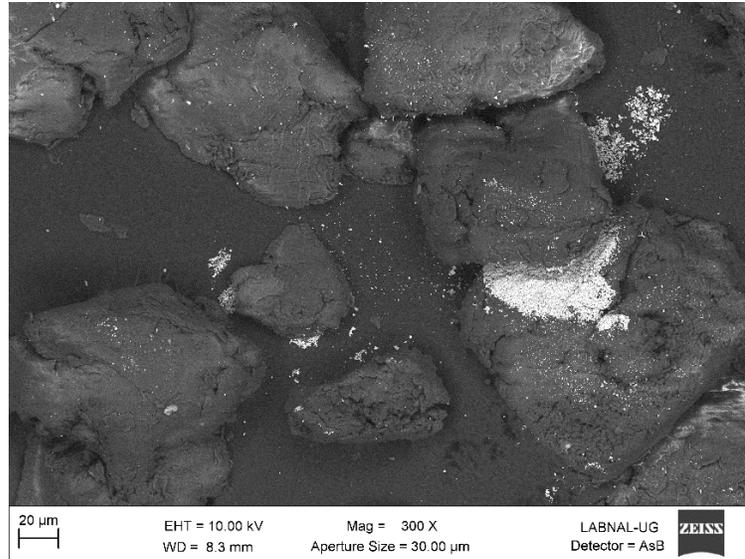
Se realizó un análisis cualitativo donde se comprueba la presencia del ZnO-Ag, así como de C y O propios del medio ambiente (ver **Figura 11.11**).



**Figura 11.11** Composición del refuerzo ZnO- AgNp's analizado por fotodepositación

En la **Figura 11.12** se observa que no existe una distribución homogénea del refuerzo en la matriz GMA-CTS, debido al encapsulamiento que realizó la misma sobre el refuerzo. Lo que puede traer consecuencias similares a las discutidas en párrafos anteriores con respecto al decorado de las nanopartículas de plata en la superficie del ZnO para el efecto en las

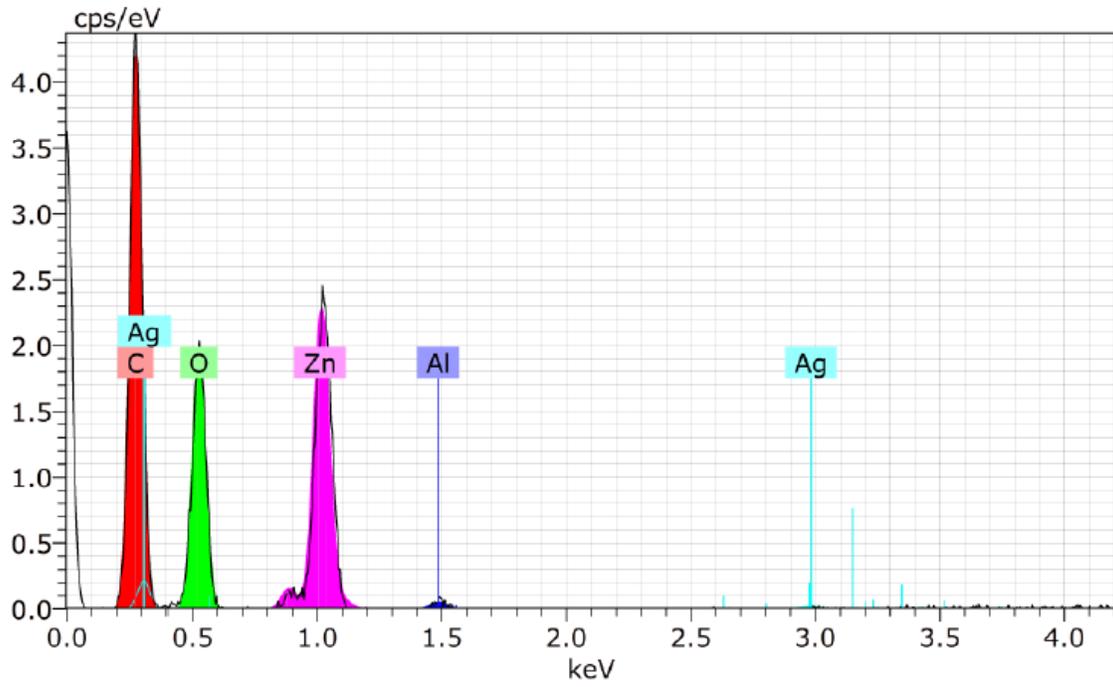
pruebas antibacteriales, dado que es muy probable que no permita el casi el contacto con las cepas y el refuerzo.



**Figura 11.12** SEM del composito GMA-CTS-ZnO- AgNp's

En la **Figura 11.13**, se observa un análisis cualitativo del composito, donde existe la presencia de: ZnO-Ag (proprios del refuerzo), C y O de la matriz GMA-CTS.

Estos valores varían según la zona analizada en el microscopio; sin embargo, se puede notar que no hay una distribución homogénea del refuerzo, por lo es una área de oportunidad de seguir probando una metodología de incorporación o una forma de recuperación diferentes.



**Figura 11.13** Composición del compuesto GMA-CTS-ZnO- AgNp's

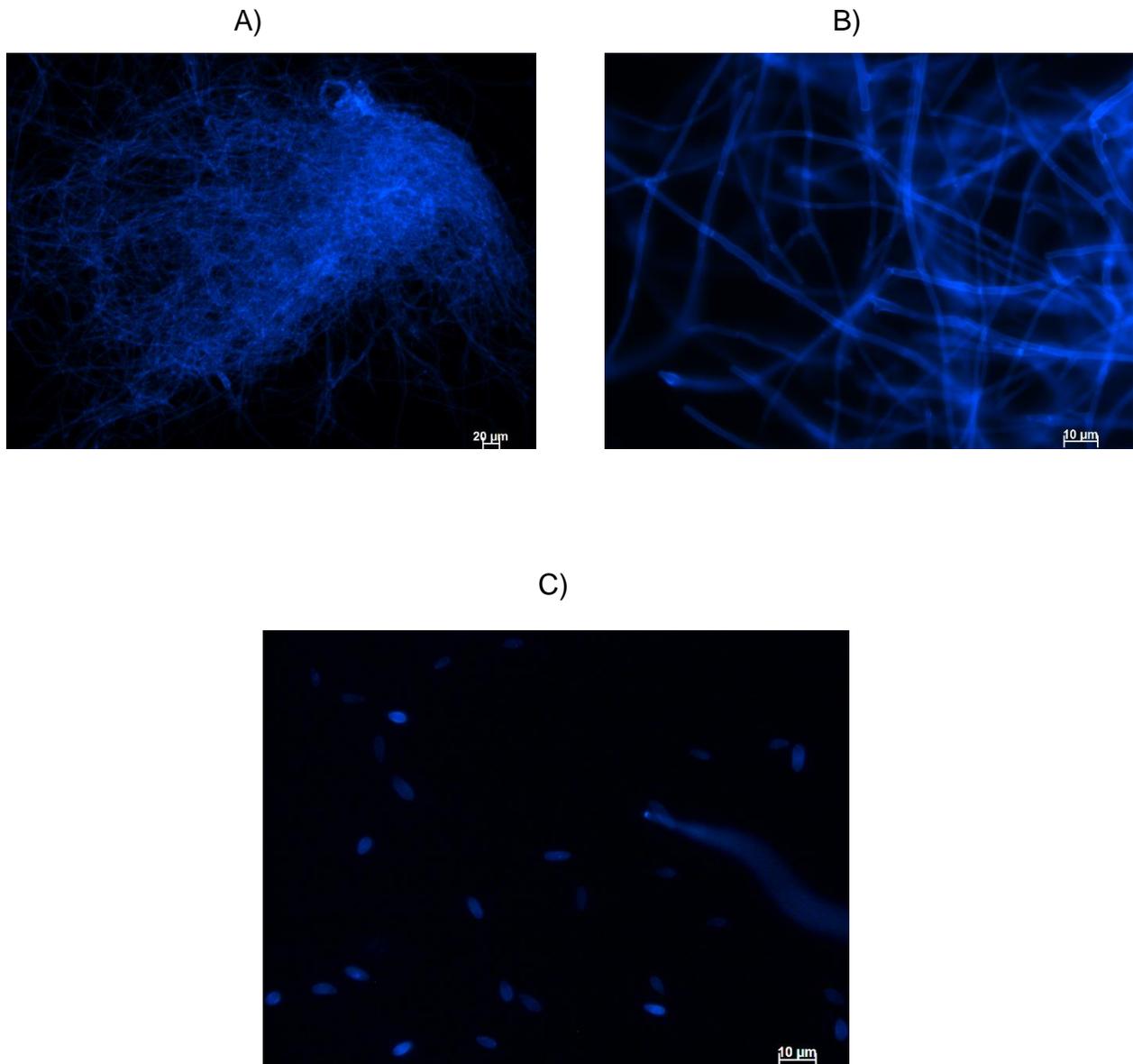


# 12. Pruebas antibacteriales



## 12.1 Vista el hongo con fluorescencia

Se empleó un microscopio *Lica DMLS* con cámara *Axio cam ICcc* a diferentes objetivos, para la observación de las ifas y esporas del hongo a emplear. Cabe mencionar que las esporas se desprenden al momento del raspado por el muestreo (ver **Figura 12.1**).



**Figura 12.1** *Fusarium Oxysporum* A) Con objetivo x20, B) Ifas con objetivo de x40 y C) Esporas con objetivo de x40



También se empleó la pigmentación para resaltar las ifas y esporas, lo cual se puede observar en las **Figuras 12.2** con el blanco de calcoflor y en la **12.3** con el azul de algodón, las dos muestran el crecimiento del hongo.



**Figura 12.2.** Usando blanco de calcoflor con objetivo de x40

En la siguiente imagen se observa la morfología del hongo

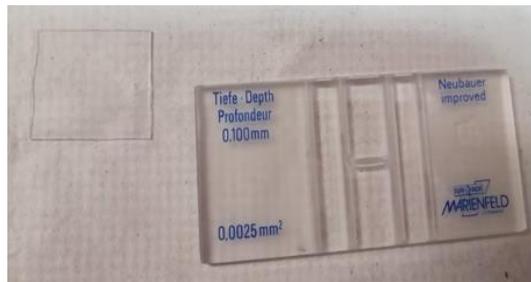


**Figura 12.3.** Usando azul de algodón con objetivo de x20



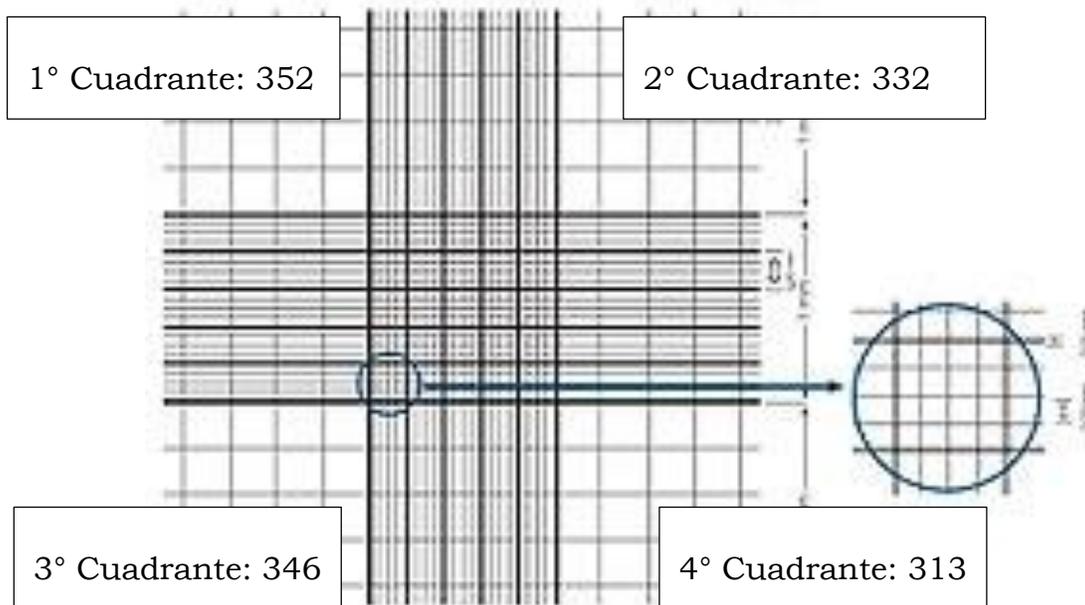
## 12.2 Conteo de esporas con la cámara de Neubauer

Se hizo un conteo de manera seccionada con la ayuda de una cámara de Neubauer. En la **Figura 12.4** se muestra la cámara de Cámara de Neubauer que se utilizó para llevar a cabo el conteo de esporas.



**Figura 12.4.** Cámara de Neubauer

Asimismo, las subdivisiones (cuadrantes) que se deben de analizar para llevar a cabo dicho conteo (ver **Figura 12.5**).



**Figura 12.5.** Conteo por cuadrante en la Cámara de Neubauer



Realizando lo anterior descrito, se tuvo experimentalmente un total de esporas en los cuatro cuadrantes de: 1 343

Por lo tanto;

$$\frac{1343}{4} \times 10\,000 = 3\,357\,500 \text{ esporas } \times \text{ mL}$$

El número 4 es por el número de cuadrantes contados.

El número 10 000 es por ajuste que se hace para saber el número de esporas en 1 mL, pues cuando colocamos la muestra bajo el cubreobjetos, la suspensión celular alcanza una altura de 0.1 mm y los lados del cuadrante con de 1 mm x 1 mm, por lo que el volumen resultante es de:

$$1 \times 1 \times 0.1 = 0.1 \text{ mm}^3 = 10^{-4} \text{ mL}$$

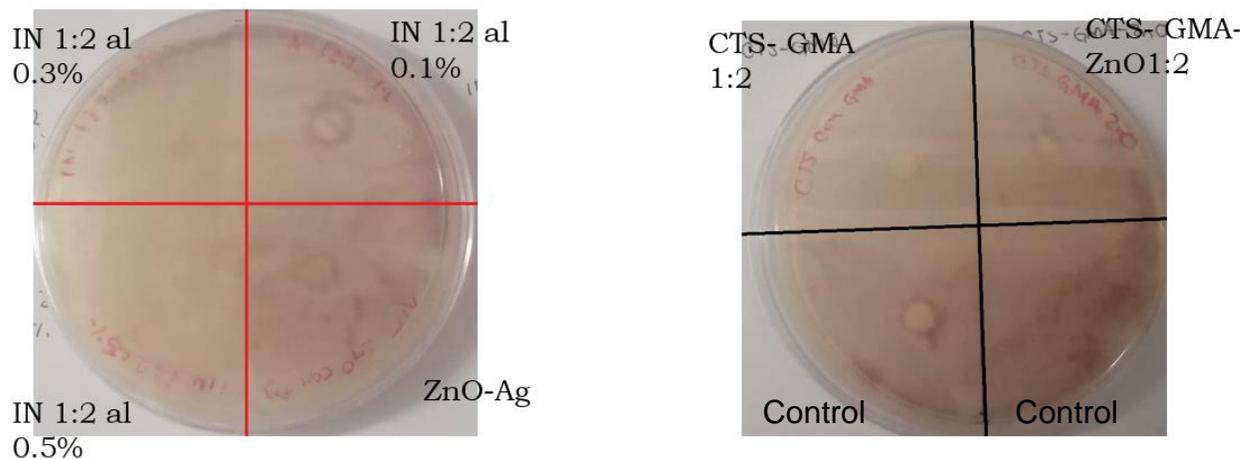
Si se hace una dilución a la muestra también hay que tomar en cuenta para multiplicar por el factor de dilución.

Nota: El número de esporas calculadas fue en 1 mL de NaCl.

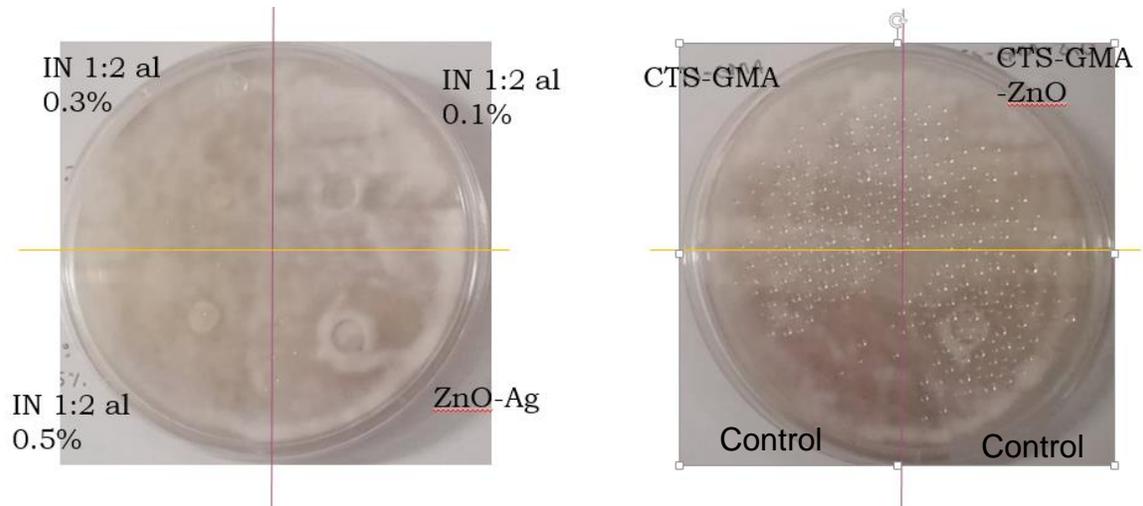
## 12.3 Preparación de las prueba antibacteriales:

### ➤ En caja Petri

No se notó propiedades de inhibición o bactericidas, por parte del composito atribuido a las bajas concentraciones de Ag y de ZnO así como a la poca biodisponibilidad del material, que como ya se mencionó es atribuida al encapsulamiento del refuerzo por la matriz, además de que la estructura aglomerada e intrincada del refuerzo muy probablemente limite la accesibilidad a los microorganismos. En seguida se muestran algunas imágenes de dicha prueba (ver **Figuras 12.6** y **12.7**). En donde en las incorporaciones 1:2 al 0.1%, 0.3% y 0.5% se muestra un ligero decremento en el crecimiento del hongo entre más aumenta el porcentaje del refuerzo, así como en la matriz 1:2 con y sin ZnO hubo una disminución en el crecimiento del hongo con respecto al control, pero como se mencionó no se visualizó un diámetro de inhibición.



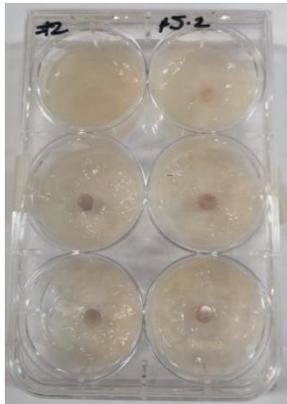
**Figura 12.6.** Parte posterior de la caja Petri en la prueba antifúngica de las incorporación con *Fusarium oxysporum*



**Figura 12.7.** Caja Petri en la prueba antifúngica de las incorporaciones con *Fusarium oxysporum*.

➤ **En pocitos**

Posteriormente, se efectuó una prueba preliminar con el mismo hongo (*Fusarium oxysporum*), con la finalidad de que el compuesto estuviera en más contacto con el hongo (ver **Figura 12.8**). Esta primera prueba fue favorable (a pesar de que no se logró un medio homogéneo), pues no se encontró que hubiera crecimiento del hongo en el transcurso de una semana a condiciones óptimas de crecimiento en la incubadora. El material sintetizado a utilizar fue: GMA+CTS y (ZnO+Ag) al 0.1% +GMA+CTS. Nota: (Cabe mencionar que esta prueba se realizó por triplicado).



**Figura 12.8.** Caja Petri en la prueba antifungica con GMA+CTS (columna izquierda) y (ZnO+Ag) al 0.1% +GMA+CTS (columna derecha)

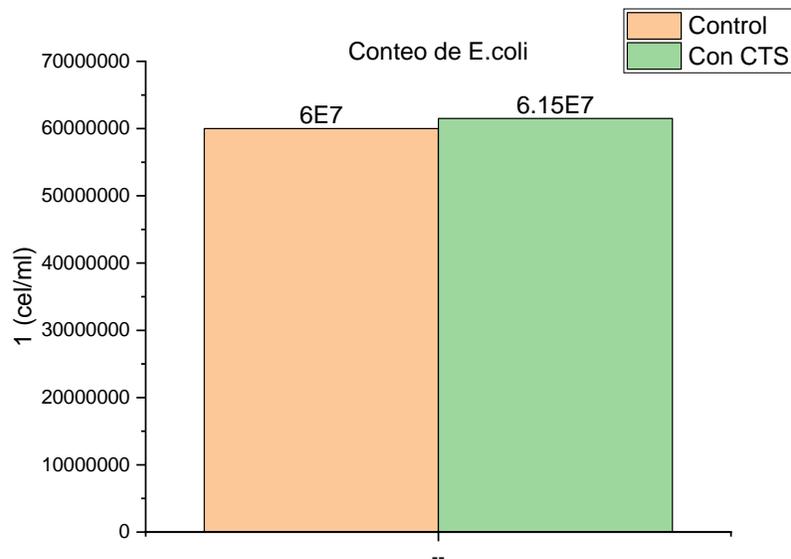
Al ser positivos los resultados preliminares, se diseñó una prueba con positos a menor volumen, para 7 muestras y tomado en cuenta un control para su validación, sin embargo, para el nuevo ensayo no se logró homogenizar el medio por lo que se descartó este método para validar la actividad antimicrobiana.

➤ **En medio líquido**

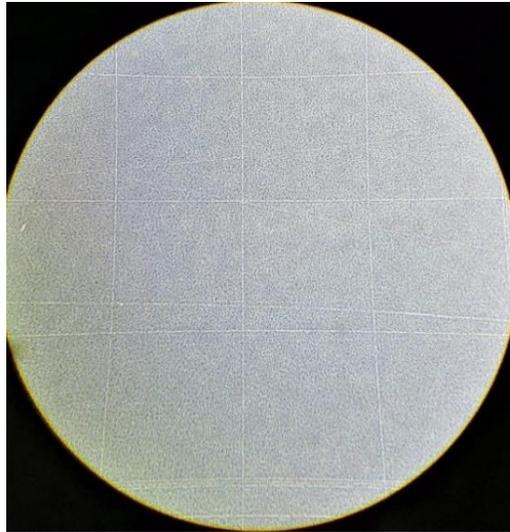
Debido a la dificultad de homogenizar el medio sólido con los pocitos, se optó por hacerlo en medio líquido, realizando las mismas 7 pruebas anteriores pero en este caso para *E.coli* y *Saccharomyces cerevisiae*:

1. ZnO
2. GMA+CTS
3. ZnO+Ag
4. ZnO+GMA+CTS
5. (ZnO+Ag)+GMA+CTS
  - 5.1 Con 0.3% de refuerzo
  - 5.2 Con 0.1% de refuerzo
  - 5.3 Con 0.5% de refuerzo
6. Más una adicional con quitosano.

En la **Figura 12.9** se muestran los resultados, en donde incluso se notó un crecimiento de la bacteria y por lo tanto se descarta el efecto inhibitorio del quitosano empleado para el *E.Coli* (**Figura 12.10**), atribuido al poco contacto del quitosano con el medio, a pesar de estar el medio líquido el quitosano, este no permanecía suspendido sino que precipitaba una vez que se agregaba al medio. Es posible que se deba a la baja interacción que tenía por los aglomerados que se mostraron en las caracterizaciones aunado a que muchos grupos -OH no podían mantener los puentes de hidrógeno que pudieran hacer el efecto deseado.



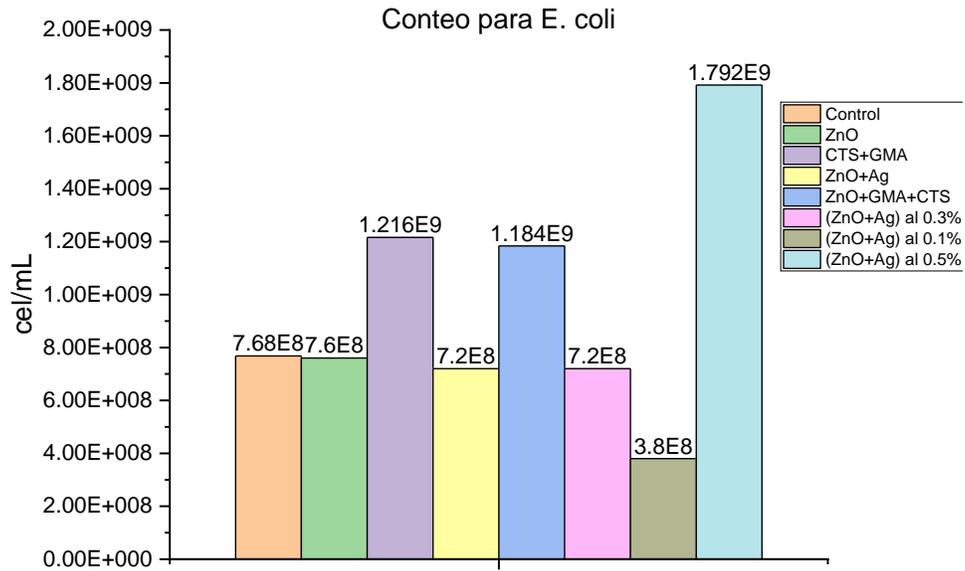
**Figura 12.9.** Cuento para el efecto inhibitorio del quitosano con *E.coli*.



**Figura 12.10** Presencia de *E. Coli* en la parte experimental

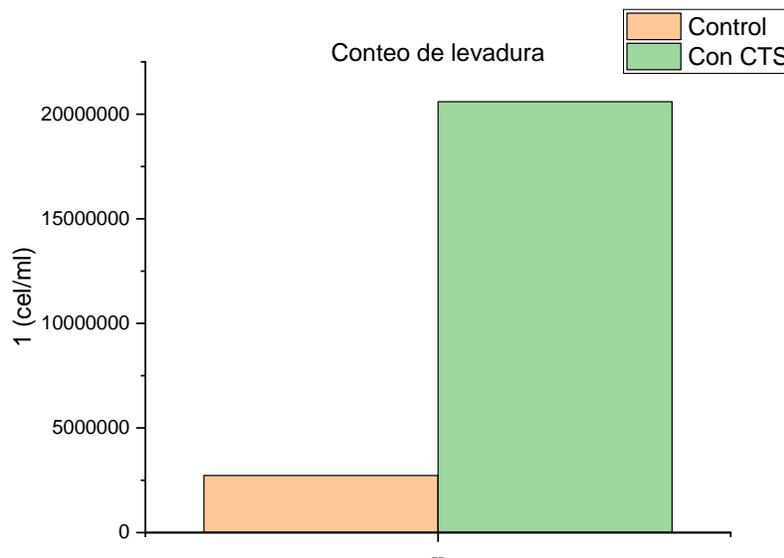
En la **Figura 12.11** se puede observar que se realizó un conteo de *E.coli* en ZnO, CTS+GMA, ZnO+Ag, ZnO+GMA+CTS al 0.3%, (ZnO+Ag)+GMA+CTS al (0.3, 0.1, 0.5%). En donde se percibe un incremento para el composito al 0.5%, esto se explica ya que aunque hay un mayor porcentaje de refuerzo, este no estuvo en contacto con la *E.coli* debido al encapsulamiento de la matriz, la cual tenía una mayor proporción del GMA (que no tiene ninguna propiedad antibacterial).

Es por eso ZnO con AgNp's no hubo tanto crecimiento ya que no hubo un encapsulamiento, mientras que las pruebas con los compositos hubo un aumento en el número de bacterias excepto con la incorporación al 0.1%, para verificar dicho resultado es necesario realizar más repeticiones a las mismas condiciones.

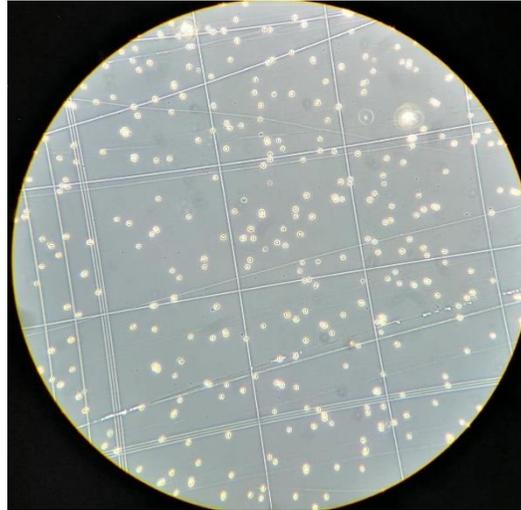


**Figura 12.11.** Conteo para la E. coli

Mientras que en la **Figura 12.12** se muestran los resultados en la prueba de levadura (*Saccharomyces cerevisiae*, **Figura 12.13**) con quitosano, donde hubo menos inhibición que con *E.Coli*.



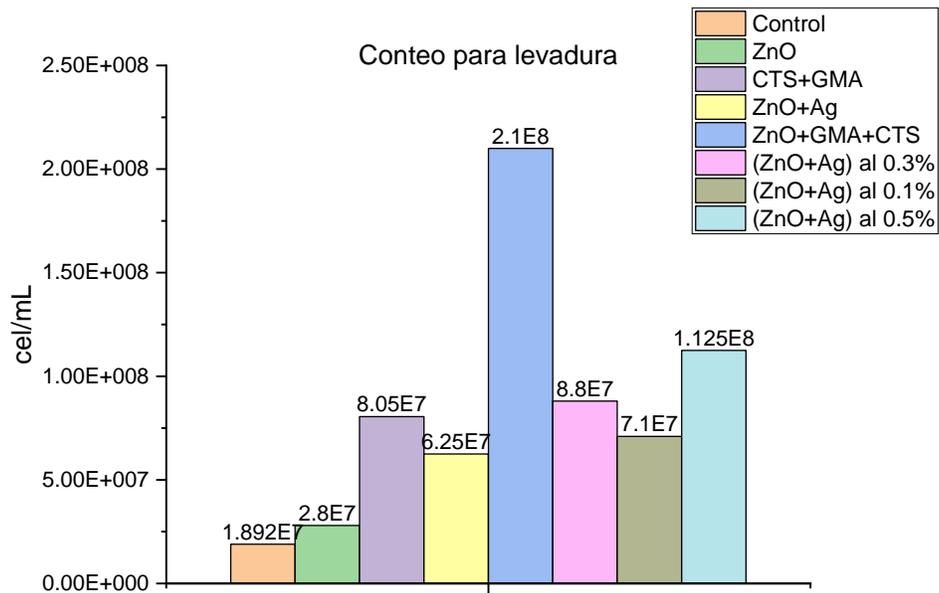
**Figura 12.12** Conteo para el efecto inhibitorio del quitosano con levadura.



**Figura 12.13** Presencia de Levadura en la parte experimental

En la **Figura 12.14** se puede observar que se realizó también un conteo de *Saccharomyces cerevisiae* en ZnO, CTS+GMA, ZnO+Ag, ZnO+GMA+CTS al 0.3%, (ZnO+Ag)+GMA+CTS al (0.3, 0.1, 0.5%).

A diferencia de la *E. coli*, aquí el incremento es más notorio para el composito con ZnO únicamente. Sin embargo, hay que notar que la levadura aumento con los medios que contenían los materiales probados, y menor el crecimiento en el medio de control, esto puede ser debido a las bajas concentraciones empleadas y en el caso de los compositos, la matriz que envuelve al refuerzo puede estar siendo una fuente de alimento para las levaduras, sin embargo es necesario repetir y diseñar nuevos ensayos, para comprobar dicha hipótesis.



**Figura 12.14** Conteo para la levadura

En el caso de la levadura, no hubo inhibición con los compuestos empleados, sino por el contrario hubo un incremento en el número de células. Mientras que para la *E.coli* el único retrainimiento importante fue para el composito con 0.1% del refuerzo reduciendo el crecimiento casi a la mitad. Sin embargo, para la verificar la veracidad de este resultado es necesario realizar al menos tres repeticiones.



# 13. Conclusiones



Se obtuvieron nanopartículas de plata a partir de dos sales precursoras, con un tamaño promedio de 50 nm, depositadas al mismo tiempo de la síntesis sobre ZnO y distribuidas uniformemente. Se descartó la idea de aumentar la proporción de ZnO-Ag, con base en la hipótesis que el ZnO y el CTS tendrían más peso en el carácter antibacterial, de dos sales precursoras se notó que el nitrato posee más de humedad mediante los FT-IR en donde el pico alrededor de  $3500\text{ cm}^{-1}$  es más pronunciado y lo que es debido al estiramiento y flexión del grupo O-H de la humedad absorbida, además que el band gap de ambos muestra la presencia del plasmón de Ag (a diferencia de cuando se tiene ZnO solo) de esta evidencia se deduce que se tiene una calidad muy similar de ambos refuerzos. Las micrografías SEM nos muestran la obtención de un material decorado y de una buena distribución de nanopartículas de plata sobre el óxido de zinc, sin cubrirlo por completo para así aprovechar las propiedades de ambos materiales.

Se obtuvo un grado de desacetilación para el CST bastante alto, de 83.7%, lo que nos provee un material con una mejor solubilidad que el original.

En referencia a las pruebas antibacteriales estas se realizaron con los métodos estándar, estos ensayos llevan tiempo y por el alcance de esta tesis no fue factible realizar más repeticiones o probar más cepas; por lo que no se pudo comprobar la inhibición del material, atribuido hasta el momento a las concentraciones que se manejaron y por la biodisponibilidad de material, sin embargo para la continuidad de proyecto se recomienda realizar pruebas más extensas y con la modificaciones ya sugeridas.

Por último es importante resaltar que este composito es nuevo, por lo que no hay una metodología establecida, lo que le da valía a este trabajo al sentar las bases a nuevas investigaciones al respecto.



# 14. Trabajo a futuro

- En base a estos resultados se propone realizar nuevas pruebas con aumento de concentración, así como la modificación en la metodología de recuperación o agregar un paso extra para mejorar la dispersión, también se sugiere el cambio en tamaño del CTS y ZnO para mejorar la bio-disponibilidad.
- Por lo que queda realizar una caracterización más exhaustiva o en su defecto modificar la metodología de síntesis, como por ejemplo utilizar Np's de ZnO para ver si obtenemos un refuerzo más homogéneo y se logra aumentar la biodisponibilidad.
- Utilizar con CTS con un mayor grado de desacetilación así mismo en forma de nanopartículas para mayor biodisponibilidad<sup>[21, 30, 47]</sup>.
- Modificar parámetros de síntesis, por ejemplo más concentración del refuerzo, así mismo sintetizar NP's de ZnO en lugar de ZnO en bulk<sup>[65]</sup>.
- Sintetizar nuevas NP's-Ag con tamaño de 7-9 nm<sup>[8]</sup>.
- Repetir pruebas con los cambios sugeridos.
- Probar la influencia de la radiación UV (especialmente por el refuerzo ZnO-Ag), para comprobar si hay una mejora en la actividad antibacterial.



# 15. Productos obtenidos

- Con el presente proyecto se pudo realizar una ponencia oral el en congreso internacional de CONIMI 2019.
- También se publicó el artículo enviado a CONIMI en el *Journal of Quantitative and Statistical Analysis*.
- Se presentó un cartel en el congreso de AMIDIQ 2019.





## 16. Anexo

Para el cálculo de la iniciación de copolimerización se realizó de la siguiente manera.

Para una bobilla de 60 watts, se tiene una  $\lambda=6000 \text{ \AA}$

La energía para la apertura del anillo se reporta de:  $334.72 \text{ KJ/mol}^{[37]}$

Se tiene que:

$$\nu = \frac{C}{\lambda} = \frac{2.998 \times 10^8 \text{ m/s}}{5000 \times 10^{-10} \text{ m}} = 5.996 \times 10^{14} \text{ Hz}$$

En donde

$\nu$  es la frecuencia de la radiación.

$C$  es la velocidad de la luz.

$\lambda$  es la longitud de onda.

Por la relación de relación de Planck-Einstein, se calcula la energía de cada fotón

$$E = h\nu = 6.558 \times 10^{-34} \text{ Js} \times 5.9968 \times 10^{14} \text{ s}^{-1} = 39.2748 \times 10^{-20} \text{ J}$$

En donde:

$E$  es la energía de cada fotón

$\nu$  es la frecuencia de la radiación.

$h$  es la constante de Planck

El número de fotones por unidad de tiempo es:

$$\frac{dN}{dt} = \frac{d E}{dt h\nu} = \frac{60 J/s}{39.2748 \times 10^{-20} J} = 1.5288 \times 10^{20} s^{-1}$$

$E$  es la potencia eléctrica del foco.

$h\nu$  es la energía de cada fotón.

Como se indica en la página 47 de esta tesis en la sección 9.2 “*Síntesis de copolímero injertado*”, se agregó gota a gota el GMA durante  $20 \pm 1$  min y después se dejó reaccionar durante 2 h (todo esto mientras el foco de la campana estaba encendido), por lo que el tiempo de reacción del GMA fue aproximadamente 8 400 s, por lo tanto la cantidad de emitida de fotones en ese periodo es:

$$1.5288 \times 10^{20} s^{-1} \times 8\,400\,s = 1.284 \times 10^{24} \text{ fotones}$$

Tomando en cuenta la energía emitida de cada fotón, la energía total es de:

$$1.284 \times 10^{24} \text{ fotones} \times 39.2748 \times 10^{-20} J = 504\,278\,J = 504.29\,KJ$$

Para calcular el número de moles, de 2 y 4g se empleó el peso molecular del monómero agregado (GMA), que fue de 142.1546 g/mol.

$$2g \times \frac{mol}{142.1546g} = 0.014\,mol$$

$$4g \times \frac{mol}{142.1546g} = 0.028\,mol$$

Por lo la energía para 2g fue de

$$\frac{504.29\,KJ}{0.014\,mol} = 36\,020\,KJ/mol$$

Por lo la energía para 4g fue de

$$\frac{504.29\,KJ}{0.028\,mol} = 18\,010\,KJ/mol$$



Ambos casos con suficiente energía para la ruptura del oxirano.

## 17. Bibliografía

1. V. Vlack. *Materiales para ingeniería C.E.C.S.A ed.1982*.pp 391-396
2. Y. Acikbasa R. Capanb, M. Erdoganb, L. Bulutc y C. Soykan. *Optical characterization and swelling behaviour ofLangmuir–Blodgett thin films of a novelpoly[(Styrene (ST)-co-Glycidyl Methacrylate (GMA)]. Sensors and Actuators*. 2017; 241:1111-1120.
3. D. Tirrell, N. Mark, C.G. Bikales, G. Overberger, G. Menges. *Encyclopedia of Polymers Sciences and Engineering*. New York:John Wiley & Sons, 1985. pp 4:192.
4. B. Jong, I. Jeon. *Nanocomposites Derived from Polymers and Inorganic Nanoparticles. Materials*. 2010. pp 3654-3674.
5. H. Hernández, E. Águila, O. Flores, E. Viveros, E. Ramos. *Obtención y caracterización de quitosano a partir de exoesqueletos de camarón*. Superficies y Vacío 2009. pp 57-60.
6. C. Hidalgo, Y. Suarez, M. FernadeZ. *Validación de una tecnica potenciométrica para determinar el grado de desacetilación de la quitosana*. Ars Pharm 2008. pp 245-257.
7. K. Gupta, M. Ravi. *Semi-Interpenetrating Polymer Network Beads of Crosslinked Chitosan–Glycine for Controlled Release of Chlorphenramine Maleate*. Journal of Applied Polymer Science 2000. pp 672-683.
8. P. Cardoso. *Nanopartículas de plata: obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud*. Hosp Niños 2016.ppp 19-28.

9. L. Hua, J. Cheng, H. Ren, Z. Ling, X. Ling. *Preparation, characterization and antimicrobial activities of chitosan/Ag/ZnO blend films*. Chemical Engineering Journal 2010. pp 378-382.
10. L. Hua, J. Cheng Deng, H. Ren, Z. Ling, X. Ling. *Synthesis and characterization of chitosan/ZnO nanoparticle composite membranes*. Carbohydrate Research 2010. pp 994-998.
11. O. García, R. Champagne, E. Saldívar, P. Champagne, and M. Cunningham. *Modification of chitosan with polystyrene and poly(nbutyl acrylate) via nitroxide-mediated polymerization and grafting from approach in homogeneous media*. Polymer Chemistry 2013. pp 1-10
12. R. Thaya, B. Malaikozhundan, S. Vijayakumar, J. Sivakamavalli, R. Jeyasekar, S. Shanthi, B. Vaseeharan, P. Ramasamy, A. Sonawane. *Chitosan coated Ag/ZnO nanocomposite and their antibiofilm, antifungal and cytotoxic effects on murine macrophages*. Microbial Pathogenesis 2016. pp 124-132.
13. A. Zaharia, V. Musat, V. Plescan, N. Baroiu. *Antimicrobial hybrid biocompatible materials based on acrylic copolymers modified with (Ag)ZnO/chitosan composite nanoparticles*. European Polymer Journal 2016. pp 550-564.
14. K. Karthikeyan, A. Nithyaa, K. Jothivenkatachalam. *Photocatalytic and antimicrobial activities of chitosan-TiO<sub>2</sub> nanocomposite*. International Journal of Biological Macromolecules 2017. pp1762–1773.
15. J. Balaji, M. Sethuraman. *Chitosan-doped-hybrid/TiO<sub>2</sub> nanocomposite based sol-gel coating for the corrosion resistance of aluminum metal in 3.5% NaCl medium*. International Journal of Biological Macromolecules 2017. pp 1730–1739.

16. D. Ramirez, F. Jaramillo. *Improved mechanical and antibacterial properties of thermoplastic polyurethanes by efficient double functionalization of silver nanoparticles*. Applied Polymer Science 2018. pp 135-143.
17. A. Gouthaman, J. Auslin, A. Gnanaprakasam, V. Sivakumar, M. Thirumarimurugan, M. Ahamed, R. Azarudeen. *Enhanced dye removal using polymeric nanocomposite through incorporation of Ag doped ZnO nanoparticles: Synthesis and characterization*. Journal of Hazardous Materials 2019. pp 2-33.
18. Q. Li, S. Chen, W. Jiang. *Durability of nano ZnO antibacterial cotton fabric to sweat*. Journal of Applied Polymer Science 2007. pp 412-416.
19. M. Saito. *Antibacterial, Deodorizing, and UV Absorbing Materials Obtained with Zinc Oxide (ZnO) Coated Fabrics*. Journal of Industrial Textiles 1993; 23:150.
20. F. Goycoolea, C. Remuñán, M. Alonso. *Nanopartículas a base de polisacáridos: quitosano* 2009. pp 103-131.
21. C. Ramírez, E. Delgado y J. A. Andrade. *Determinación del grado de desacetilación de quitosana mediante titulación potenciométrica, FTIR y Raman*. Journal CIM 2016. pp 769-776.
22. L. Mendoza, A. Galindo, L. López, P. Morones. *Nanomateriales poliméricos: Quitosán/ nanoestructuras de carbono*. Revista mexicana de ciencias farmacéuticas 2016. pp 7-14.
23. H. Ciapara, T. Guillén, F. Goycoolea. *Tendencias de la propiedad intelectual y orientación de mercado para la quitina y quitosán*. En: Argüelles-Monal W M, Campana S and Mada A, Proceedings of the IV Iberoamerican Chitin Symposium. Iberoamerican Chitin Society, Natal, Brasil.

24. Z. Mármol, G. Páez, M. Rincón, K. Araujo, C. Aiello, C. Chandler y E. Gutiérrez. *Quitina y quitosano polímeros amigables. Una revisión de sus aplicaciones.* Revista Tecnocientífica URU 2011. pp 53-28.
25. N. Schipper, K. Várnum, P. Artursson. *Chitosans as Absorption Enhancers for Poorly Absorbable Drugs. 1: Influence of Molecular Weight and Degree of Acetylation on Drug Transport Across Human Intestinal Epithelial (Caco-2) Cells.* Pharmaceutical Research 1996. pp 1686-1692.
26. M. Huang, C. Fong, E. Khor, L. Lim. *Transfection efficiency of chitosan vectors: Effect of polymer molecular weight and degree of deacetylation.* Journal of controlled release 2005. pp 391-406.
27. T. Trung, W. Han, N. Qui, C. How, W. Stevens. *Functional characteristics of shrimp chitosan and its membranes as affected by the degree of deacetylation.* Bioresource Technology 2006. pp 659-663.
28. D. Sierra, A. Ramírez, N. Castrillón. *Determining the Relation between the Proportion of the Amino Group and the Degree of Deacetylation of Chitosan.* Revista de Ciencias 2014. pp 73-88.
29. T. Minagawa, Y. Okamura, Y. Shigemasa, S. Minami, Y. Okamoto. *Effects of molecular weight and deacetylation degree of chitin/chitosan on wound healing.* Carbohydrate Polymers 2007. pp 640-644.
30. H. Zhou, X. Chen, C. Liu. *Preparation, characteristics and biocompatibility of chitosan-based thermosensitive hydrogels as drug delivery system.* Journal of Biotechnology 2008. pp 5421-5422.
31. L. Parada, G. Crespín, R. Miranda. *Caracterización de quitosano por viscosimetría capilar y valoración potenciométrica.* Revista Latinoamericana de Polímeros 2004. pp 1-5.

32. R. Macea, C. Flórez, Y. Montes, E. Fuentes y J. Rodríguez. *Síntesis y propiedades de filmes basados en quitosano/lactosuero*. Polímeros 2015. pp 58-69.
33. C. Peniche, W. Arguelles, A. Gallardo, C. Elvira, J. San Román. *Quitosano: Un Polisacárido Natural, Biodegradable y Biocompatible con Aplicaciones en Biotecnología y Biomedicina*. Revista de plásticos modernos 2001. pp 81-91.
34. A. Cordero, J. Sierra, J. Ruiz, I. Alvarez, Y. Alvarez y A. Carrascal. *Actividad antibacteriana de soluciones acidas de quitosano obtenido de exoesqueleto de camarón*. Revista Colombiana de Biotecnología 2014. pp 16.
35. V. Mourya, N. Inamdar. *Chitosan-modifications and applications: Opportunities galore*. Reactive and Functional Polymers 2008. pp 1013-1051.
36. R. Jayakumar, M. Prabakaran, R. L. Reis and J. F. Mano. *Properties of Chitosan*. Carbohydrate Polymers 2005. pp 142-158.
37. D. W. Jenkins y S. M. Hudson. *Free radical polymerization by ring opening*. Chemical Rev 2001. pp. 3245-3274.
38. E. Elizalde, G. Luna, S. R. Vásquez, G. Arámbula, B. García, J. G. Rutiaga, J. Hernández. *Synthesis and characterization of a hybrid (chitosan-g-glycidyl methacrylate)-xanthan hydrogel*. Journal of biomaterials science 2007. pp 3963-3969.
39. N. Ramírez, E. Peña, S. García, J. Hernández, A. Ruvalcaba, I. Sanchez, G. Luna, R. Gupta, *Characterization and degradation of functionalized chitosan with glycidyl methacrylate*. Journal Biomaterial Science. Polymer Edition 2005. pp 473-488.
40. J. Contreras, A. Del Valle, C. Torres. *Aspectos de la polimerización de glicidil metacrilato y sulfuro de propileno, usando difenilcinc como iniciador*. Avances en química 2010. pp 27-35.

41. S. Yoshikawa T. Takayama, N. Tsubokawa. *Grafting reaction of living polymer cations with amino groups on chitosan powder*. Journal Applied Polymer Science 1998. pp 1883-1889.
42. M. Tizzotti, A. Charlot, E. Fleury, M. Stenzel, J. Bernard. *Modification of Polysaccharides Through Controlled*. Macromolecular Rapid Communication 2010. pp 1751-1772.
43. K. Zhang, P. Zhuang, Z. Wang, Y. Li, Z. Jiang, Q. Hu, M. Liu and Q. Zhao. *Chitosan Derivatives: Introducing New Functionalities with a Controlled Molecular Architecture for Innovative Materials*. Polymers. pp 1515-1521.
44. M. Ignatova, N. Manolova, I. Rashkov. *Electrospun Antibacterial Chitosan-Based Fibers*. Macromolecular Bioscience 2013. pp :860-872.
45. A. Valencia G. *Efecto Antimicrobiano Del Quitosano: Una Revisión De La Literatura*. Scientia Agroalimentaria 2015. pp 32-38.
46. A.Habeeba, C. Reshmi, A. Sujith. *Chitosan Immobilized Cotton Fibres for Antibacterial Textile Materials*. Polymers from Renewable Resources 2017. pp 61-70.
47. Q. Lifeng, X. Zirong, X. Jiang, H. Caihong, Z. Xiangfei. *Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles*. Carbohydrate Research 2004. pp 2693-2700.
48. J. Kalal. *Some synthetic-polymers with functional-groups for biomedical applications*. Journal Polymer Science 1980. pp 193-194.
49. D. Tomalia, R. Yocum, E. Nyquist. *Functional Monomers*. Dekker 1974. pp 2.
50. S.B. Mteza, C.C. Hsu, D.W. Bacon. *A study of polyethylene-gr-2-tert-butylamino methacrylate-supported TiCl<sub>4</sub> catalyst for ethylene polymerization*. Journal of Polymer Science: part A Polymer Chemistry 1996. pp 1693-1702.

51. G.W. Hastings. *Structural considerations and new polymers for biomedical applications*. Polymer 1985. pp 1331-1335.
52. E. Guerra, E. Vivaldo. *Handbook of Polymer Synthesis, Characterization, and Processing*. Wiley 2013.
53. G. Moad, E. Rizzardo, H. Thang. *Toward Living Radical Polymerization. accounts of chemical research*. Accounts of chemical research 2008. pp 1133-1142.
54. G. Freelin. *Sistemas de desprendimiento de siliconas de curado por radiación*. EECF 2008. pp 1-6.
55. J. Clement, P. Jarrett. *Antibacterial Silver*. Metal Based Drugs 1994. pp 467-482
56. C. Ciobanu, F. Massuyeau, L. Constantin, D. Predoi. *Structural and physical properties of antibacterial Ag-doped nano-hydroxyapatite synthesized at 100°C*. Nanoscale Research Letters 2011. pp 613-621.
57. L. Daeyeon, R. Cohen, and M. Rubner. *Antibacterial Properties of Ag Nanoparticle Loaded Multilayers and Formation of Magnetically Directed Antibacterial Microparticles*. Langmuir 2005. pp 9651-9659.
58. S.P. Deshmukh, S.M. Patil, S.B. Mullani, S.D. Delekar. *Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review*. Material Science and Engineering 2019. pp 954-965.
59. D. Lupa, Z. Adamczyk, M. Oćwieja, D. Duraczyńska. *Formation, properties and stability of silver nanoparticle monolayers at PDADMAC modified polystyrene microparticles*. Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects 2018. pp 317–325.

60. D. Thang, S. Sabrina, C. Lee. *Silver deposited carboxymethyl chitosan-grafted magnetic nanoparticles as dual action deliverable antimicrobial materials*. Material Science and Engineering C. 2017. pp 544-551.
61. S. Kumar, E. Prokhorov, M. Iturriaga, Josué Mota, M. Lepe, Y. Kovalenko, I. Sanchez, G. Bárcenas. *Chitosan/silver nanocomposites: Synergistic antibacterial action of silver nanoparticles and silver ions*. European Polymer Journal 2015. pp 1-35.
62. R. Alvarado, F. Solera, J. Baudrit. *Síntesis Sonoquímica De Nanopartículas de Óxido de Cinc y de Plata Estabilizadas con Quitosano. Evaluación de su Actividad Antimicrobiana*. Revista Iberoamericana de polimeros 2014. pp 134-148.
63. K. Lee, C. Kim, S. Jeong, Y. Song, N. Bae, S. Lee, K. Lee. *Ultrasonic fabrication of flexible antibacterial ZnO nanopillar array film*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 2018. pp 20-44.
64. A.N. Kadam, D.P. Bhopate, V.V. Kondalkar, S.M. Majhi, C.D. Bathula, Anh-Vy Tran, S. Lee. *Facile synthesis of Ag-ZnO core-shell nanostructures with enhanced photocatalytic activity*. Journal of industrial and engineering chemistry 2017. pp 10-43.
65. A. Vázquez, A. Jiménez, B. Díaz. *Mechanosynthesis and antimicrobial effect of nanostructured metal oxides*. Mundo Nano 2018. pp 29-44.
66. J. Santhoshkumar, S. Kumar, S. Rajeshkumar. *Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen*. Resource-Efficient Technologie 2017. pp 459-465.
67. A. Król, P. Pomastowski, K. Rafińska, V. Railean, B. Buszewski. *Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity mechanism*. Advances in Colloid and Interface Science 2017. pp 37-52.

68. M. Béjar. *Química sostenible y fotocatalisis: nanopartículas metálicas como fotocatalizadores para la síntesis de compuestos orgánicos*. Analisis Quim 2018. pp 31-38.
69. M. Nevárez, P. Espinoza, F. Quiroz, B. Ohtani. *Fotocatalisis: inicio, actualidad y perspectivas a través del TiO<sub>2</sub>*. Avances en Química 2017. pp 12.
70. P. Roy, S. Berger, P. Schmuki. *TiO<sub>2</sub> nanotubes: synthesis and applications*. Angew Chem 2011. pp 2904-2939.
71. J. Huang, K. Zhang, Y. Lai. *Recent Advances in Synthesis, Modification and Applications of TiO<sub>2</sub> Nanotube Arrays by Electrochemical Anodization*. Handbook of Nanoelectrochemistry 2016: 1379-1416.
72. M. Diak, E. Grabowska, A. Zaleska. *Synthesis, characterization and photocatalytic activity of noble metal-modified TiO<sub>2</sub> nanosheets with exposed {001} facets*. Applied Surface Science 2015. pp 275-285.
73. M. Galindo. *Síntesis de catalizadores de plata soportados en TiO<sub>2</sub>, ZrO<sub>2</sub> y ZnO para su aplicación en el control de la contaminación ambiental*/Universidad Autónoma de San Luis Potosí 2009.
74. F. Zhang, N. Guan, Y. Li, Chen, X. Zhang, H. Zeng. *Control of morphology of silver clusters coated on Titanium dioxide using photocatalysis*. Langmuir ACS 2003. pp 8230-8234.
75. R. Augusto y S. Azucena. *Effect of the concentration of chitosan in the decrease of the solids suspended in the water entry of Bellavista treatment plant*. FIGEMPA: Investigación y Desarrollo 2019. pp 19-23.
76. F. Garcés. *Cómo Fusarium oxysporum infecta y coloniza los tejidos de las plantas*. In: VII Congreso Latinoamericano de agronomía 2015. pp. 28.



77. K. Retana, J. Ramírez, O. Castro, M. Meneses. *Caracterización Morfológica y Molecular de Fusarium Oxysporum F. Sp. Apii Asociado a la marchitez del apio en Costa Rica*. Agronomía Costarricense 2018; 42:115-126.
78. G. Rodríguez. *Principales características y diagnóstico de los grupos patógenos de Escherichia coli*. Salud Publica Mex 2002. pp 464-475.
79. A. González, L. Valenzuela. *La levadura Saccharomyces cerevisiae: un modelo de estudio desde hace más de cien años*. In: *Saccharomyces cerevisiae*. Edited by Romero. DEMR y JCM. Centro de Investigación sobre Fijación de Nitrógeno, UNAM. Cuerna-vaca, Mor; 2003.
80. D.R. Hernández. *Efecto de un cultivo de Saccharomyces cerevisiae en consumo, digestibilidad y variables ruminales en borregos alimentados con pasto ovilla (Dactylis glomerata) cosechado a dos intervalos de rebrote*. [Tesis de maestría en ciencias.]. Montecillo Méx: Colegio de Posgraduados.
81. C. Suárez, N. Carralero, C. Guevara. *Levadura Saccharomyces cerevisiae y la producción de alcohol. Revisión bibliográfica*. ICIDCA sobre los derivados de la caña de azúcar 2016. pp 20-28.
82. Querol A. *Molecular evolution in yeast of biotechnological interest*. Microbiology 2003. pp 20-28.
83. Ü. Özgür, Y. Alivov, I. Liu, A. Teke, M. Reshchikov, S. Dogan, V. Avrutin, S. Cho. *A comprehensive review of ZnO materials and devices*. Journal of Applied Physics 2005. pp 1-104.
84. S. Banerjee, S. Pillai, P. Falaras, K. O'Shea, J. Byrne, D. Dionysiou. *New Insights into the Mechanism of Visible Light Photocatalysis*. Journal of Physical Chemistry Letter 2014. pp 2543-2554.



85. G. Cai, H Jiang, K. Tu, L. Wang and K. Zhu. *A facile route for regioselective conjugation of organo-soluble polymers onto chitosan*. *Macromolecular Bioscience*, 2009. pp 256-261.
86. A. Morales, E. Mora, U. Pal. *Use of diffuse reflectance spectroscopy for optical characterization of un-supported nanostructures*. *Revista Mexicana de Física S* 2007. pp18-22.
88. R. Cubeddu, A. Pifferi, P. Taroni, C. Valero, M. Ruiz, A. Torricelli, G. Valentini. *Aplicación de la Espectroscopia de Reflectancia Difusa (Trr) Láser a La Medida De Parámetros de Calidad En Frutas*. In: VIII Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas. 1999. pp. 107-114.
89. L. Harwood; C.. Moody. *Experimental organic chemistry: Principles and Practice*. 1989. pp 778
90. S. Swapp. *Scanning Electron Microscopy (SEM)*. In. Annual Chemistry Congress of the University of Wyoming. 2019.