

# APLICACIÓN POTENCIAL DE NANOPARTÍCULAS PRODUCIDAS MEDIANTE MÉTODOS VERDES, EN LA RESOLUCIÓN DE PROBLEMAS INDUSTRIALES

Jesica de Jesús González Chávez (1), Ma. Guadalupe De la Rosa Álvarez (2)

1 [Licenciatura en Ingeniería Química Sustentable, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [Gonzalezcj2012@licifug.ugto.mx]

2 [Departamento de Ingeniería Química, Electrónica y Biomédica, División de Ciencias e Ingenierías, Campus León, Universidad de Guanajuato] | Dirección de correo electrónico: [gdelarosa@fisica.ugto.mx]

## Resumen

En el presente trabajo se estudió el efecto de las nanopartículas de plata y de titanio en hongos que se establecen en piel después del proceso del curtido. Para analizar esto se cultivó el hongo en un medio YPD, en cajas Petri anteriormente esterilizadas, y para sembrar las nanopartículas se utilizó el método de antibiograma por disco difusión. Se impregnaron discos de papel filtro con las diferentes concentraciones usadas para tratar el hongo (1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 500 ppm y 1000 ppm de plata; así como 200 ppm, 400 ppm, y 600 ppm de Titanio). Se realizaron 3 réplicas de cada concentración y se dejaron en el horno a 28°C, para tener condiciones óptimas de crecimiento durante dos días. Posterior a esto se observó el crecimiento del hongo y se verificó la efectividad de las nanopartículas. Se analizó el crecimiento del hongo y se utilizó en el equipo de fluorescencia de rayos X para verificar si el hongo absorbía las nanopartículas. De acuerdo a los resultados, a determinadas concentraciones el hongo absorbió las nanopartículas mientras que a altas concentraciones, parece ser que los nanomateriales son tóxicos.

## Abstract

In this paper, the effect of silver and titanium nanoparticles in leather established fungi was studied. For that, the disc diffusion method was used. To perform the experiments, discs of filter paper with different NPs concentrations were used (1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm, 500 ppm and 1000 ppm of silver and 200 ppm, 400 ppm and 600 ppm of titanium oxide). Three replicates were set up for each concentration and after seeding, petris were left in the oven at 28 ° C, for two days. After this time, fungal growth was observed and the effectiveness of nanoparticles against this fungus was analyzed. According to the results, moderate NPs concentrations were not toxic to the fungi; however, relative high concentrations inhibited fungal growth. X-ray fluorescence analysis indicated that fungi were able to absorb the NPs.

## Palabras Clave

Curtido; Nanopartículas de Plata; Nanopartículas de titanio; Antibacterial; Antibiograma

## INTRODUCCIÓN

### Nanopartículas de Plata

En recientes años se ha observado el rápido incremento de microorganismos que son resistentes a los antibióticos usados convencionalmente <sup>[1]</sup> es por eso que se han estado investigando nuevas técnicas para detener o si es posible eliminar el crecimiento de hongos y bacterias que afectan tanto a la salud como a los procesos de la industria.

Desde tiempo atrás se observó que la plata y sus compuestos eran efectivos agentes microbianos <sup>[2]</sup>

La plata ha sido utilizada por sus propiedades antimicrobianas por cientos de años. El primer artículo científico que describe el uso de la plata como antibacteriano fue atribuido a Credé para la prevención de infecciones oculares en los neonatos en 1881 y como antiséptico en 1901.

Los iones de plata han sido ampliamente conocidos por tener efectos inhibitorios, bactericidas y propiedades antimicrobianas de amplio espectro. Algunas sales de plata han demostrado ser efectivas contra quemaduras, osteomielitis crónica severa, infecciones del tracto urinario e infecciones por catéteres venoso centrales <sup>[3]</sup>

### Curtido

El curtido es el proceso químico mediante el cual se convierten los pellejos de animales en cuero. El término cuero designa la cubierta corporal de los grandes animales (por ejemplo, vacas o caballos), mientras que piel se aplica a la cubierta corporal de animales pequeños (por ejemplo, ovejas). Los cueros y pieles son en su mayor parte subproductos de mataderos, aunque también pueden proceder de animales fallecidos de muerte natural, cazados o atrapados en cepos. Las curtidorías están situadas generalmente cerca de las zonas de cría de ganado; sin embargo, los cueros y pieles pueden prepararse y transportarse

antes del curtido, por lo que la industria está muy distribuida en la ciudad.

El proceso de curtido consiste en reforzar la estructura proteica del cuero creando un enlace entre las cadenas de péptidos. El cuero consta de tres capas: epidermis, dermis y capa subcutánea. La dermis comprende aproximadamente un 30 a un 35 % de proteína, que en su mayor parte es colágeno, siendo el resto agua y grasa. La dermis se utiliza para fabricar la piel después de eliminar las demás capas con medios químicos y mecánicos. En el proceso de curtido se emplean ácidos, álcalis, sales, enzimas y agentes curtientes para disolver las grasas y las proteínas no fibrosas y para enlazar químicamente las fibras de colágeno entre sí. <sup>[4]</sup>

Dadas las propiedades de las nanopartículas de plata, como agente microbiano en la salud, en este trabajo se proba la efectividad de las nanopartículas para inhibir el crecimiento del hongo del curtido

## MATERIALES Y MÉTODOS

Las nanopartículas fueron obtenidas de la Universidad de Guanajuato. Sintetizadas mediante métodos verdes.

Para tener una buena homogeneidad de las soluciones de nanopartículas, estas se sonicaron durante 10 min en un sonicador Branson 1510

Se utilizó un medio YPD para la siembra de los hongos del curtido, cada concentración de nanopartículas se realizó por triplicado tanto de plata como de Dióxido de Titanio, además de tener un control, las concentraciones de nanopartículas que se utilizaron fueron: Plata (1, 5, 10, 20, 40, 80, 100, 500 y 1000 ppm) y de Dióxido de Titanio (200, 400 y 600 ppm)

Para sembrar los hongos se utilizó el método de disco difusión basada en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores, para determinar la sensibilidad de los hongos a las nanopartículas.

El método de disco difusión consiste en depositar en la superficie de una placa de agar MH previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel de filtro impregnados con las diferentes concentraciones de nanopartículas. Tan pronto el disco impregnado en nanopartículas se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y las nanopartículas se difunden por el agar, formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18 a 24 horas de incubación, a 28°C los discos pueden o no aparecer rodeados por una zona de inhibición de crecimiento bacteriano. [5]

Las cajas cultivadas se pusieron en incubación en un horno de secado marca Binder y todo el tiempo se mantuvieron a 28°C para tener un mejor crecimiento del hongo

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Al realizar los experimentos se observó que las concentraciones de nanopartículas de Plata de 1 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 40 ppm, 60 ppm, 80 ppm, 100 ppm y 500 ppm no fueron suficientes para poder detener el crecimiento del hongo, por lo que este seguía creciendo aun sobre los discos impregnados de nanopartículas.

Lo cual nos indica que la plata es un agente bactericida muy efectivo en bacterias, sin embargo, en el caso de este hongo, este resulta ser resistente al efecto de las nanopartículas.

Probándose también que el efecto que tienen las nanopartículas de dióxido de titanio sobre el hongo es el mismo que las bajas concentraciones de plata, es decir, el hongo sigue creciendo a pesar de los discos impregnados de nanopartículas.



Fig. 1 Hongo creciendo sobre las nanopartículas de dióxido de Titanio

En cuanto a la concentración de 1000 ppm de nanopartículas de plata, ésta resultó ser efectiva para detener el crecimiento del hongo, por lo que en la prueba se puede apreciar el halo de inhibición en el crecimiento del hongo, sin embargo el hongo creció aunque en menor cantidad que con las NPs de dióxido de titanio.



Fig. 2 Efecto bactericida de la plata sobre el hongo de curtidor.

**Fluorescencia de Rayos-X (XRP):**

Para determinar si el hongo está absorbiendo las nanopartículas, se tomaron muestras de las hifas que crecieron en la caja con concentración de 1000 ppm de NPs de plata, ya que aunque inhibía el crecimiento del hongo, si alcanzo a desarrollarse en las zonas donde no había NPs y los hongos crecidos en las cajas donde se cultivó con nanopartículas de titanio. Estas muestras se analizaron mediante espectroscopía de fluorescencia de rayos X.

El equipo utilizado fue el PANalytical Epsilon3<sup>XLE</sup>, se coloco la muestra en un aro ya caracterizado y se cubrio de papel Mylar ® y se introducio al equipo [por aprox. 15 minutos por muestra].

Para analizar estos datos se tomaron en cuenta las energías en KeV de cada uno de los elementos que se analizó (Ag y Ti); para la plata la energía es de 22.1 KeV y la del Titanio de 4.5 KeV

En primer lugar se detectaron las señales de los elementos en las muestras control para determinar si existe una cierta concentración de fondo en los hongos que no han sido tratados con las nanopartículas.

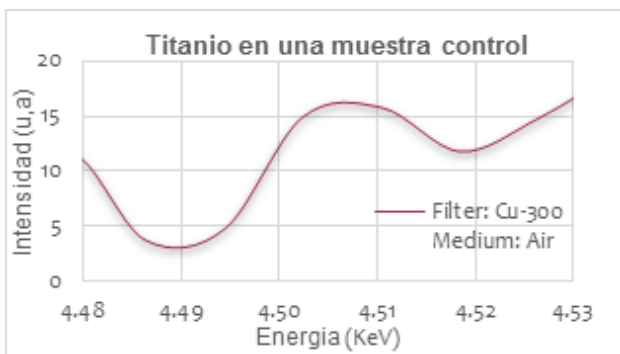


Gráfico 1. Espectro de Fluorescencia de rayos x, de una muestra control de hongo para detectar Titanio.

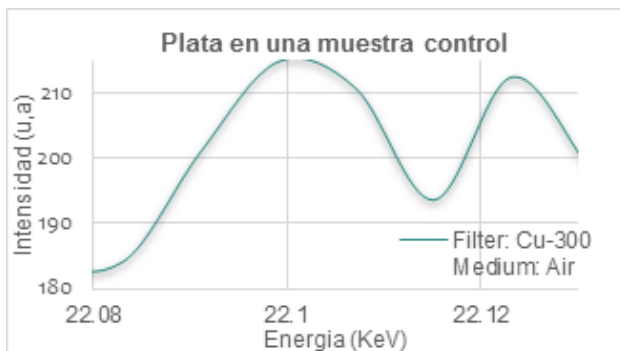


Gráfico 2. Espectro de fluorescencia de rayos x, de una muestra control para detectar plata.

Ahora analizando la muestra de 1000 ppm de Ag, para comparar con los controles que tenemos;

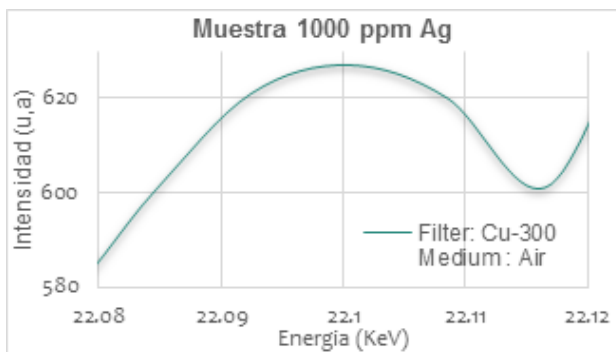


Gráfico 3. Espectro de fluorescencia de rayos x, de una muestra hongo tratado con 1000 ppm de nanopartículas de plata

Tabla 1. Comparación de la intensidad de señal del espectro de fluorescencia de control y de 1000 ppm.

Plata	Intensidad
Control	210.8145
1000 ppm	626.94727

Analizando las muestras de hongos tratados con nanopartículas de dióxido de Titanio:

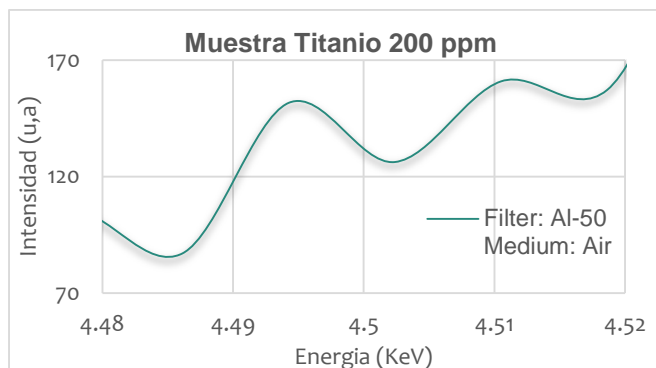


Gráfico 4. Espectro de fluorescencia de rayos x, de una muestra hongo tratado con 200 ppm de nanopartículas de dióxido de Titanio

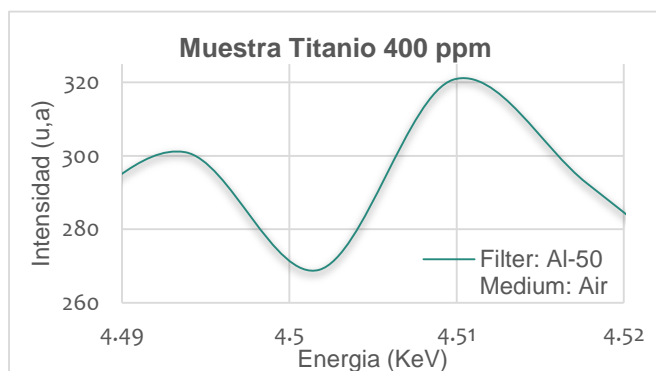


Gráfico 5. Espectro de fluorescencia de rayos x, de una muestra con 400 ppm de dióxido de Titanio.

Tabla 2. Comparación de la intensidad de la señal de cada espectro de fluorescencia de cada concentración de dióxido de Titanio.

Titanio	Intensidad
Control	15.8291
200 ppm	126.1953
400 ppm	268.929

Como se puede observar en los diferentes espectros presentados, la intensidad de las señales de dióxido de titanio y de plata fueron incrementando, respecto al control.

## CONCLUSIONES

Se demostró que el efecto que tienen las NPs de plata y de dióxido de titanio sobre el crecimiento del hongo, es diferente a lo esperado y registrado en investigaciones anteriores. Ya que el hongo sigue creciendo a pesar de que las NPs de plata son conocidas por su efecto bactericida.

Debido al método por el que fueron sintetizadas las NPs de plata, estas tienen extensiones que el hongo podría estar aprovechando como alimento y es por eso que sigue creciendo.

A altas concentraciones, las NPs de plata resultan ser tóxicas para el hongo y por eso deja de crecer.

## AGRADECIMIENTOS

A la Universidad de Guanajuato por apoyo al proyecto 403/2014 pero y a la Dra. Ma. Guadalupe de la Rosa Álvarez, por su apoyo y orientación durante la realización de este trabajo.

## REFERENCIAS

- [1]Goffeau, A. (2008). Drug resistance: the fight against fungi., 541-542. Nature. doi:10.1038/452541a
- [2]Silver, S. (2003). Bacterial silver resistance: Molecular biology, uses, and misuses of silver compounds. 341-353. FEMS Microbiol Rev. doi:10.1016/S0168-6445(03)00047-0
- [4] Caneva, G., & Nugari, M. P. (1994). La Biología de la Restauración. Sevilla: Nardini.
- [3]Feng, Q. L. (2000). A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on Escherichia coli and Staphylococcus aureus. J. Biomed Mater.
- [5]Taroco, R., Seija, V., & Vignoli, R. (s.f.). Métodos de estudio de la sensibilidad antibiótica. 665. España.
- [6]Gopinath V., MubarakAli D., Priyadarshini S. (2012) Biosynthesis of silver nanoparticles from Tribulus terrestris and its antimicrobial activity: A novel approach.
- [7] Jun Kim Keuk, Sang Sung Woo, Kyoung Suh Bo. (2009) Antifungal activity and mode of action of silver nano-particles on Candida albicans