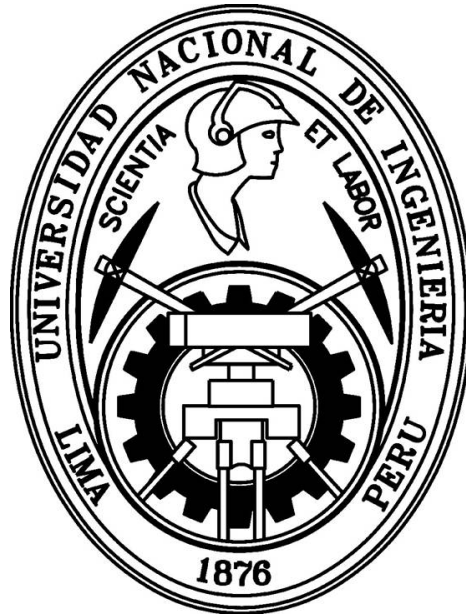


UNIVERSIDAD NACIONAL DE INGENIERÍA
FACULTAD DE CIENCIAS

SECCIÓN DE POSGRADO Y SEGUNDA
ESPECIALIZACIÓN PROFESIONAL



TÉSIS PARA OPTAR EL GRADO ACADÉMICO DE MAESTRO EN
CIENCIAS CON MENCIÓN EN ENERGÍA NUCLEAR

TITULO

**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE NANO Y
MICROFIBRAS DE PVA/PLATA FABRICADOS POR LA
TÉCNICA DE ELECTROSPINNING PARA LA
DESCONTAMINACIÓN DE AGUA.**

POR

EFRAIN HUAMANI RIVERA

LIMA-PERÚ

2011

Dedicatoria

Dedico esta Tesis a toda mi familia.

Para mis padres Alejandro y Maria, y de manera muy especial quisiera dedicarle esta tesis a mi tía Demetria por su apoyo, comprensión y ayuda en momentos difíciles. Me han enseñado a encarar las adversidades sin perder nunca la dignidad ni desfallecer en el intento. Me han dado todo lo que soy como persona, mis valores, mis principios, mi perseverancia y mi empeño, y todo ello con una gran dosis de amor y sin pedir nunca nada a cambio.

AGRADECIMIENTOS

Primero y antes que nada, dar gracias a **Dios**, por estar conmigo en cada paso que doy, por fortalecer mi corazón e iluminar mi mente y por haber puesto en mi camino a aquellas personas que han sido mi soporte y compañía durante todo este tiempo.

Esta tesis, no hubiese sido posible su finalización sin la cooperación desinteresada de todas y cada uno de los Doctores que a continuación citaré: Dr. Walter Estrada, Dr. Juan Rodríguez, Dr. Alcides López, por brindarme su apoyo, ánimo y colaboración en todo momento y sobre todo cuando más necesitaba de ellos, sin poner nunca peros o darme negativas, sino todo lo contrario.

Y de manera muy especial quisiera agradecer a mis compañeros de Grupo de Laboratorio de Películas Delgadas y de la maestría, por brindarme su amistad y apoyo incondicional en todo momento para la realización de esta tesis.

A todos ellos, muchas gracias de todo corazón.

RESUMEN

En este trabajo se han establecido las condiciones óptimas de síntesis para la obtención de nanomateriales en forma de nanofibras poliméricas, las cuales están compuestas de nanopartículas de plata en una matriz polimérica y fabricadas por la técnica “Electrospinning”.

Se contemplaron las modificaciones obtenidas de las nanofibras conteniendo nanopartículas de plata por radiación gamma, así como los efectos de las variables principales de ésta técnica, tales como son: el potencial eléctrico aplicado, distancia de trabajo, viscosidad de la solución polimérica y diámetro de la aguja del inyector, que son de gran importancia para la estabilidad, uniformidad y dimensiones de las fibras.

Se ha obtenido exitosamente un nuevo tipo de fibras poliméricas (con diámetro en el rango nanométrico), conteniendo nanopartículas de plata, este último, con el objetivo de tener membranas nanométricas incrustadas con nanopartículas metálicas de modo que se comporten como filtros desinfectantes de agua contra las bacterias. Para tal fin, se irradió la solución de nitrato de plata con una fuente radiactiva de cobalto 60, logrando mediante el proceso de radiólisis del agua, la reducción de los cationes de plata, a plata cero (Ag^{+1} a Ag^0), posteriormente se mezcló con el polímero (PVA, poliestireno, nylon, etc) para su modelamiento como nanofibra, en el sistema Electrospinning recientemente desarrollado e implementado.

Las nanopartículas de plata y las nanofibras del compuesto PVA/Plata antes mencionado, se han caracterizado por medio del Microscopio Electrónico de Transmisión (MET), Microscopio Electrónico de Barrido (MEB), Microscopio de Fuerza Atómica (MFA) y Espectroscopía UV-Visible.

En este trabajo reportamos la síntesis de nano y microfibras compuestas de nanopartículas de plata sobre una matriz polimérica de alcohol polivinílico (PVA), fabricados por la técnica Electrospinning. Se ha analizado el diámetro y la morfología de las fibras, debido a que éstas dependen del potencial eléctrico, la concentración de la solución polimérica, la distancia entre los electrodos, presión en el inyector y las dimensiones de la aguja hipodérmica; así como modificaciones morfológicas obtenidas luego de someterlas a diferentes dosis de radiación gamma. Finalmente se probó la actividad antibacteriana de las nanofibras con plata en la bacteria *Escherichia coli* (*E-coli*).

INDICE

DEDICATORIA.....	i
AGRADECIMIENTOS.....	ii
RESUMEN.....	iii
ÍNDICE.....	iv
1. INTRODUCCIÓN.....	1
1.1 Objetivos.....	2
2. FUNDAMENTO TEÓRICO	3
2.1 Interacción de la Radiación con la Materia.	3
2.1.1 Interacción de Partículas Cargadas con la Materia	3
2.1.2 Interacción de la radiación electromagnética con la materia.....	4
2.2 Radiólisis del Agua.	7
2.3 Definiciones y Unidades de Magnitud Dosimétricas	10
2.4 Fuentes de Radiaciones Ionizantes.....	10
2.5 Los Polímeros.....	11
2.6 Nanofibras	12
2.6.1 Mecanismos de Obtención de Nanofibras	12
2.7 La Técnica Electrospinning	14
2.7.1 Aspectos Fundamentales de Electrospinning:	15
2.7.2 Parámetros de la técnica Electrospinning:	16
2.7.3 Electrospinning de Nanofibras Metálicas.	18
2.7.4 Mecanismos de Entrecruzamiento entre las Cadenas Poliméricas de las Nanofibras Inducido por Radiación Gamma.....	19
2.7.5 Ventajas de la Tecnología de Radiación comparada con los Métodos Convencionales.	20
2.8 Las Nanopartículas y el Método de Síntesis.....	20

3. DESCRIPCIÓN EXPERIMENTAL	23
3.1 Diseño y construcción del sistema de Electrospinning.....	23
3.2 Obtención de Nanofibras de Alcohol Polivinílico (PVA)	24
3.3 Síntesis Radiolítica de Nanopartículas de Plata utilizando PVA como Estabilizador.	26
3.4 Preparación del Compósito PVA / Plata.	27
3.5 Obtención de las Nanofibras del Compósito PVA/ Plata.....	27
3.6 Evaluación de las Propiedades de las Nanofibras Irradiadas.	27
3.6.1 Irradiación de las Nanofibras en el Hall del Reactor.	27
3.6.2 Irradiación de las Nanofibras en el Gammacell.	29
3.7 Evaluación de la Actividad Antibacteriana de las Nanofibras con Plata... 29	29
3.7.1 Degradación de la Bacteria Escherichia Coli (<i>E-coli</i>) en Agua.....	29
3.7.2 Pruebas de Sensibilidad Bacteriana In Vitro por el Método de Difusión en Agar de las Nanofibras con Plata.....	31
3.8 Técnicas de Caracterización.....	31
3.8.1 Espectroscopía Ultravioleta y Visible (UV-Vis).....	31
3.8.2 Microscopio Electrónico de Transmisión (MET).....	34
3.8.3 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).....	36
3.8.4 Microscopía de Fuerza Atómica (MFA).....	37
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	41
4.1 Fabricación de las Nanopartículas empleando al PVA como Estabilizador de Plata.	41
4.1.1 Caracterización del Coloide de Plata por Microscopía UV-Visible.....	41
4.1.2 Caracterización del Coloide de Plata por Microscopía Electrónica de Transmisión.....	43
4.1.3 Distribución de Diámetros de las Nanopartículas de Plata fabricadas con Diferentes Dosis de radiación Gamma.	45
4.2 Fabricación de las Nanofibras de PVA y del Compósito PVA/Plata.....	46
4.2.1 Caracterización de las Nanofibras de PVA y PVA / Plata por Microscopio Electrónico de Transmisión.....	47
4.2.2 Caracterización de las Nanofibras de Alcohol Polivinílico Conteniendo Nanopartículas de Plata por Microscopía Electrónica de Barrido.....	49
4.2.3 Caracterización de las Nanofibras de Alcohol Polivinílico por Microscopía de Fuerza Atómica (MFA).....	52

4.3 Distribución de Diámetros de las Fibras de PVA y PVA / Plata irradiadas a diferentes Dosis de Radiación Gamma.	53
4.4 Efecto de la Dosis de Irradiación Gamma en la Formación de Nanopartículas de Plata.	55
4.5 Efecto de Dosis de Irradiación Gamma en la Formación de las Nanofibras.	56
4.5.1 Efecto de la Dosis de Irradiación Gamma sobre las Nanofibras en el Hall del Reactor Nuclear.	56
4.5.2 Efecto de la Dosis de irradiación Gamma sobre las Nanofibras en el Gammacell.	56
4.6 Evaluación de la Actividad Antibacteriana de las Nanofibras PVA/ Plata.	58
5. OBSERVACIONES Y CONCLUSIONES.	60
6. ANEXOS	62
7. BIBLIOGRAFÍA.	66

1. INTRODUCCIÓN

Las nanopartículas metálicas, particularmente, las nanopartículas de plata son de gran interés debido a sus propiedades ópticas, antimicrobianas, entre otras. Los compuestos basados en plata son altamente tóxicos para 12 especies de bacterias incluyendo *Escherichia Coli*. La actividad antibacteriana de los coloides de plata está influenciada por sus dimensiones, donde las partículas más pequeñas muestran un mayor efecto bactericida, por lo tanto, en la elección del método de síntesis, uno debe tomar en cuenta el control en el tamaño de las nanopartículas. El método más común para la síntesis de las nanopartículas de plata, es la reducción química, en la cual se emplean diversos agentes reductores químicos. Para la síntesis de nanopartículas de plata en este trabajo hemos empleado el método radiolítico, utilizando una fuente de cobalto 60, la cual emite dos rayos gamma con energías de 1,17 MeV y 1,33 MeV.

Este método de síntesis radiolítico, así mismo, las concentraciones de los reactivos utilizados para la fabricación de las nanopartículas de plata para el presente trabajo, están basados en una parte de los resultados obtenidos de un trabajo anteriormente realizado [1]. En la cual, se han obtenido nanopartículas de plata esféricas, con distribución de tamaño homogénea (alrededor de 25 nm de diámetro), cuando se utilizan dosis de radiación gamma mayores a 5 kGy. Para nuestro trabajo hemos sintetizado estas nanopartículas con la finalidad de poderlas incrustar dentro de las nanofibras poliméricas fabricas por una técnica llamada “Electrospinning”, posteriormente se modeló como filtros de nanofibras con plata para aplicaciones ambientales.

“Electrospinning” es una técnica de procesamiento de polímeros que permite la fácil creación de microfibras y nanofibras que son recolectadas para formar estructuras no tejidas, las cuales pueden ser utilizadas para fabricar muchas estructuras con diferentes aplicaciones, incluyendo vendajes, ropa, medios de filtración, fotocatalisis, etc [2]. En esta técnica, un potencial eléctrico de decenas de kilovoltios es aplicado en una gota de polímero suspendida en la punta de una aguja hueca de metal, estirándola y originando una emisión de la solución polimérica eléctricamente cargada. La solución eyectada desde la punta de la aguja viaja a través del aire hasta un blanco y se acumula desordenadamente formando tramados de fibras no tejidas. El cambio en el diámetro de la fibra proporciona la oportunidad para poner a punto la porosidad de la membrana, que también depende de su espesor [3].

En la filtración de fluidos sometidos a presiones hidráulicas se requiere que los poros en la estructura no tejida (espacios vacíos intersticiales), estén altamente interconectados como por ejemplo las membranas que se obtienen con el uso de esta técnica. Para la filtración líquida, los poros de membranas poliméricas hechas por métodos convencionales tienen limitaciones, como por ejemplo, bajo flujo y alto desgaste, debido a la estructura geométrica de poros y la correspondiente distribución del tamaño del poro. Las membranas de las nanofibras producidas por la técnica Electrospinning pueden vencer estas limitaciones [3,4].

La baja resistencia a altas temperaturas y a esfuerzos elevados de ciertos polímeros (*PVA*, *PE*, entre otros), ha conducido a la investigación de nuevos métodos para superar estas desventajas. La interacción de la radiación gamma con los polímeros permite producir nuevos materiales con mejores propiedades que los obtenidos por los métodos químicos. La radiación genera una alta energía de ionización, que a su vez genera radicales poliméricos, estos se unen entre sí produciendo la reticulación, la polimerización, la copolimerización y la generación de entrecruzamiento entre las diferentes cadenas [5,6].

La caracterización morfológica fue complementada usando las técnicas de Microscopía Electrónica de Transmisión TEM 400 Philips del Instituto Peruano de Energía nuclear, y Microscopía electrónica de barrido EM 300 Philips de la Universidad Nacional de Ingeniería. La irradiación con gamma se efectuó con un equipo *GAMMACELL-220* con una fuente de Co-60 del Instituto Peruano de Energía Nuclear.

1.1 Objetivos

- Sintetizar por la técnica radiolítica las nanopartículas de plata.
- Fabricar y caracterizar nanofibras poliméricas por la técnica Electrospinning e incorporar las nanopartículas de plata en las fibras poliméricas.
- Entrecruzar las cadenas poliméricas de las nanofibras por medio de la radiación gamma.
- Evaluar la actividad antibacteriana de las nanofibras PVA/ plata en agua.

2. FUNDAMENTO TEÓRICO

2.1 Interacción de la Radiación con la Materia.

Se conoce como interacción de la radiación con la materia, a las interacciones producidas por los fotones y partículas cargadas o neutras (agrupados bajo la denominación común de radiación) cuando inciden sobre la materia e interactúan con los núcleos o con los electrones atómicos.

Las radiaciones que más interesan son las constituidas por neutrones y fotones (neutros eléctricamente) y las constituidas por partículas cargadas (electrones, protones, partículas alfa, etc.). La diferenciación de ambos grupos es muy importante, pues los mecanismos de interacción son completamente diferentes. Las radiaciones de neutrones y fotones, debido a la gran variedad de interacciones que producen y a su capacidad de penetración en la materia, son las de mayor interés.

Las partículas neutras (fotones y neutrones) presentan la propiedad de interactuar con los electrones atómicos y con los núcleos en un solo proceso, desapareciendo luego del haz original. Las partículas cargadas, en cambio, lo hacen básicamente vía interacción coulombiana tanto con electrones como con núcleos atómicos, en procesos de múltiples etapas.

2.1.1 Interacción de Partículas Cargadas con la Materia

La interacción de partículas cargadas con la materia tiene lugar a través de colisiones elásticas o inelásticas con núcleos atómicos, con electrones orbitales o con cargas libres. Se dice que se tiene una colisión elástica cuando la energía cinética total del sistema, o sea del conjunto de partículas que intervienen, se mantiene constante.

En cambio la interacción es inelástica cuando esa energía no se conserva; o sea cuando parte de la misma se transforma en algún otro tipo de energía. En términos generales las partículas cargadas interaccionan con la materia por una de las cuatro alternativas siguientes: Colisión elástica con electrones atómicos, colisión elástica con núcleos, colisión inelástica con electrones atómicos, colisión inelástica con núcleos.

Cuando una partícula cargada atraviesa un medio se dan, con distintas probabilidades, algunos de los cuatro procesos indicados. En todos ellos la partícula pierde energía cinética ya sea cediéndola como tal a los electrones o al núcleo con el que

interacciona y transformándola en energía de excitación, o convirtiéndola en radiación electromagnética (radiación de frenado).

En general el principal proceso por el cual una partícula cargada pierde energía al atravesar la materia es la interacción con los electrones atómicos.

2.1.2 Interacción de la radiación electromagnética con la materia

La radiación electromagnética que nos interesa desde el punto de vista de su interacción con la materia, es básicamente la radiación gamma y los rayos X. Ambas denominaciones abarcan a fotones con longitudes de onda menores que 1 \AA , aunque este límite es muy elástico. La radiación X es de naturaleza esencialmente idéntica a la radiación gamma, diferenciándose exclusivamente por su origen, mientras la radiación gamma procede de cambios energéticos ocurridos en el interior del núcleo atómico, la radiación X se origina por procesos atómicos exteriores al núcleo.

La única forma de interpretar adecuadamente la interacción de la radiación electromagnética con la materia es a través de su comportamiento corpuscular.

Radiación gamma: La radiación gamma, es una radiación electromagnética emitida por un núcleo. El número de protones y neutrones del núcleo no varía en estas transiciones. El núcleo puede haber quedado en el estado de más baja energía después de una desintegración anterior alfa o beta. Es decir, los rayos gamma son emitidos a menudo inmediatamente después de una desintegración alfa o beta. Los rayos gamma también pueden ser el resultado de la captura de un neutrón y de la dispersión inelástica de partículas subatómicas por núcleos.

En la figura 1, se representa el esquema de la desintegración del cobalto 60 (^{60}Co), la cual muestra una cascada de dos rayos gamma emitidos para transformarse en níquel 60 (^{60}Ni), con energías de 1,17 MeV y 1,33 MeV, después de la desintegración beta del ^{60}Co . Mientras que las partículas alfa y beta tienen alcances definidos en la materia, los rayos gamma experimentan una atenuación exponencial (si se pasa por alto la acumulación que resulta de la dispersión dentro de un material), a medida que atraviesa la materia.

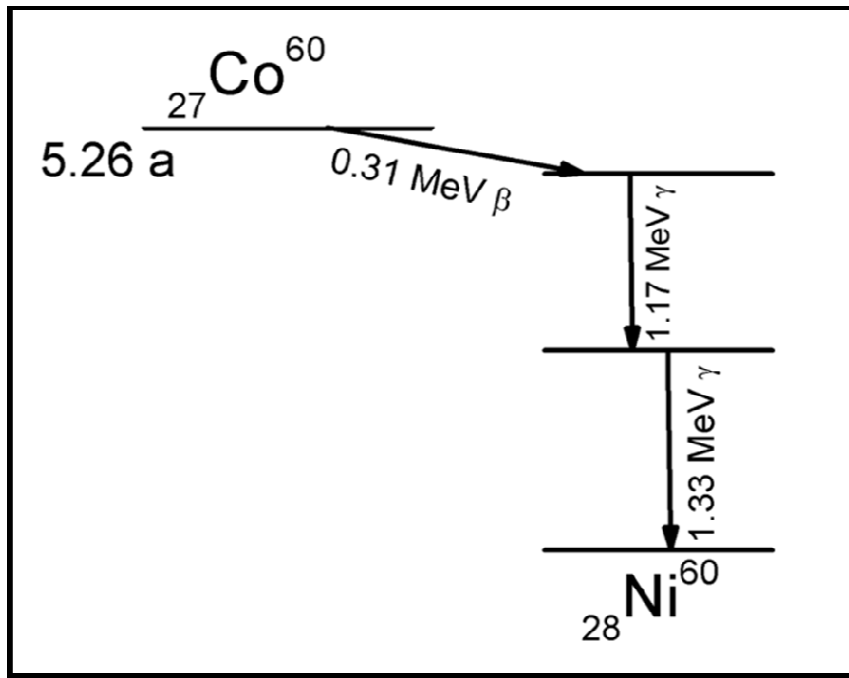


Figura 1. Esquema de la Desintegración Radiactiva del ^{60}Co .

Existen tres mecanismos principales de absorción de la radiación electromagnética por la materia

- Absorción o efecto fotoeléctrico
- Dispersión Compton
- Producción de pares

Cada uno de ellos puede caracterizarse por un coeficiente de absorción o por una sección eficaz. El coeficiente de absorción total, es la suma de los coeficientes correspondientes a los tres procesos. Cada uno de los tres mecanismos predomina, para un material dado, en determinado rango de energía de la radiación incidente. La figura 2 muestra la importancia relativa de estos procesos en función de la energía de los rayos gamma y del número atómico del absorbente [7].

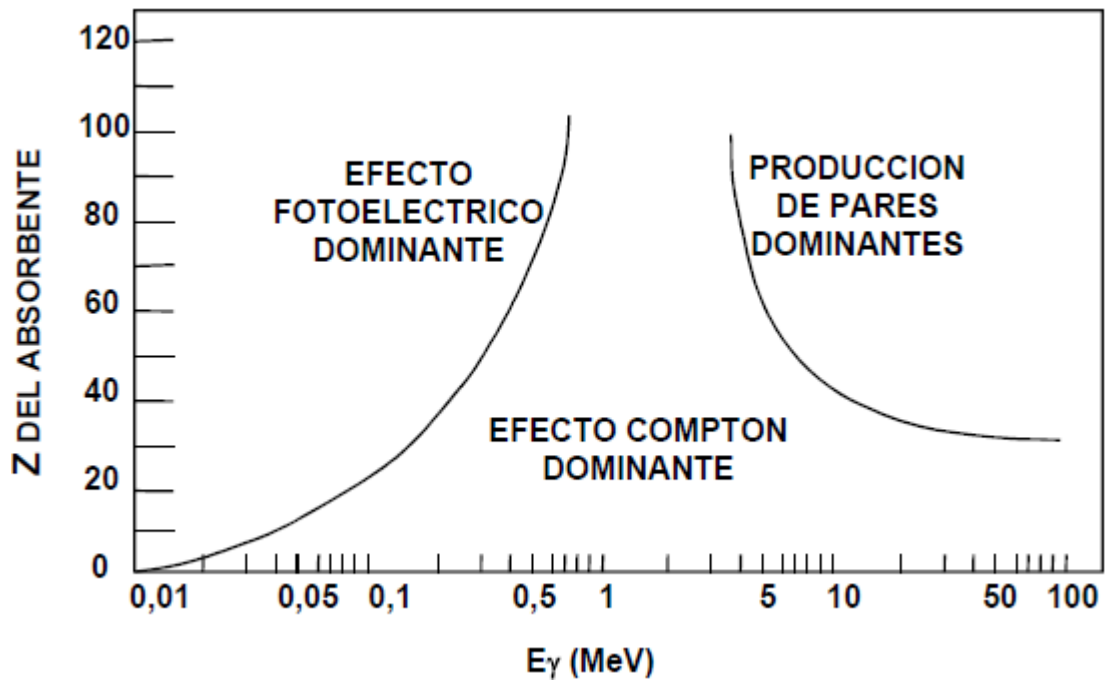


Figura 2. Muestra la importancia relativa de las tres interacciones de los fotones con la materia

Efecto Fotoeléctrico: En el proceso fotoeléctrico toda la energía del fotón incidente, $h\nu$, es cedida a un electrón de un átomo que resulta expulsado del mismo con una energía cinética:

$$T = h\nu - W \quad \dots\dots\dots(1)$$

donde h es la constante de Plank, ν es la frecuencia del fotón, y W es el potencial de ionización del electrón y T es la energía cinética del electrón. Este electrón puede así salir del absorbente o más probablemente, ser reabsorbido casi de inmediato, debido al corto alcance de los electrones en un sólido.

Este mecanismo de interacción de fotones con la materia es el dominante, cuando la energía de los rayos gamma es baja, (inferior a los 50 keV para el aluminio e inferior a los 500 keV para el plomo). La sección eficaz de absorción fotoeléctrica resulta ser proporcional en primera aproximación a Z^5 , o sea es fuertemente dependiente del número atómico del absorbente. En resumen el efecto fotoeléctrico es sumamente importante en la absorción de radiación gamma de baja energía para los materiales pesados.

Efecto Compton: A medida que la energía de la radiación incidente aumenta, su longitud de onda decrece y hay una mayor tendencia a interactuar con los electrones individuales y no con el átomo en su conjunto como en el caso del efecto fotoeléctrico. Los fotones muy energéticos ven a los electrones orbitales exteriores (débilmente ligados), prácticamente como partículas libres y la interacción puede considerarse como una colisión elástica entre un fotón y un electrón libre. Por lo explicado anteriormente, el fotón no puede absorberse totalmente existiendo por lo tanto un fotón dispersado que se mueve en dirección distinta a la del fotón original con una energía y una cantidad de movimiento también diferente. Este proceso, conocido como efecto Compton, constituye el mecanismo de absorción más importante para las radiaciones con energías entre los 0,5 y los 10 MeV. Una característica destacada del mismo es que, la radiación difundida tiene una longitud de onda que depende del ángulo de difusión y que es mayor que la del haz incidente.

La energía del fotón dispersado es:

$$h\nu = \frac{h\nu_0}{1 + \frac{h\nu_0}{m_0c^2}(1 - \cos\theta)} \dots\dots\dots (2)$$

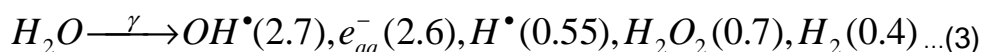
Creación de Pares: Este tercer mecanismo de absorción de la radiación electromagnética por la materia aparece cuando la energía de los fotones incidentes alcanza el doble de la energía en reposo de los electrones (es decir $h\nu = 1,022 \text{ MeV}$).

A partir de ese valor crece su importancia, al aumentar la energía de la radiación gamma. Esta origina la creación de un par electrón-positrón a partir de un fotón que desaparece en la interacción. Este proceso debe tener lugar en el campo eléctrico existente en la vecindad de un núcleo al que se le entrega cierta energía de retroceso y cierta cantidad de movimiento de forma tal que se cumplan los respectivos principios de conservación.

2.2 Radiólisis del Agua.

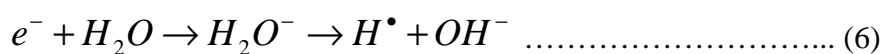
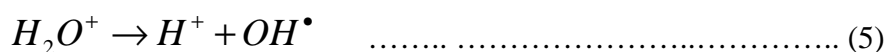
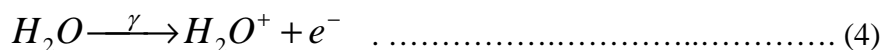
Producto de la interacción de los fotones con la materia (materiales biológicos y no biológicos) ocurren eventos fisicoquímicos, en particular, la radiólisis del agua, es la interacción de la radiación gamma con el agua, como resultado de esta interacción se

producen electrones altamente reactivos y radicales altamente reactivos; según la ecuación (3). Los valores mostrados en paréntesis son los valores G, el cual se define como el número de moléculas o especies formadas por cada 100 eV de energía absorbida. Puesto que las condiciones en las que se desarrollan el presente trabajo, es en presencia de agua, básicamente, el proceso inicial durante la irradiación será la radiólisis del agua, por lo que es importante describir para poder comprender los mecanismos que se desarrollarán al interactuar la radiación gamma con nuestro sistema.



La radiólisis del agua, produce casi igual número de poderosos radicales primarios oxidantes y reductores. Aunque la acción de la radiación sobre el agua o radiólisis del agua es una suma de procesos complejos, puede simplificarse resumiéndose en dos casos: La descomposición molecular del agua y la formación de radicales libres.

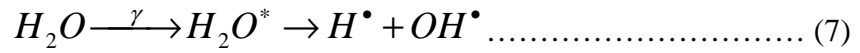
En primer lugar, la radiación incidente sobre las moléculas de agua puede ionizarlas de tal manera que deja un ión H_2O^+ y un electrón libre de acuerdo a la ecuación (4). El ión H_2O^+ es muy inestable y rápidamente se descompone en un H^+ y en un radical OH^\bullet , ecuación (5). El electrón acuoso, puede reaccionar con otras moléculas orgánicas o con una segunda molécula de agua produciendo radicales H^\bullet e iones hidroxilo OH^- , ecuación (6).



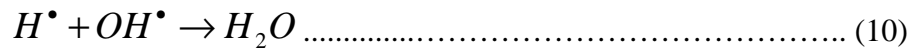
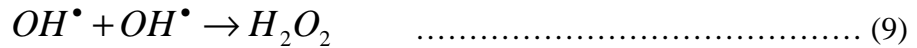
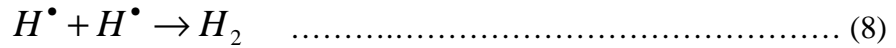
Los radicales H^\bullet y OH^\bullet son moléculas neutras con gran reactividad química pues tienen un electrón desapareado que con muy poco esfuerzo tenderá a crear enlaces. Los iones hidroxilo y los protones libres al ser partículas con cargas opuestas no son peligrosos pues tenderán a atraerse neutralizándose y formando de nuevo agua.

Existe también la posibilidad más directa de formar los radicales libres con la sola excitación inducida a partir de la radiación de una molécula de agua de acuerdo a la ecuación (7). Los fenómenos que se producen al excitarse la molécula de agua, no son bien conocidos, pero teóricamente es posible la disociación de esta en radicales H^\bullet y

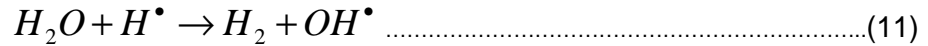
OH^\bullet . De una manera u otra se forman radicales que no poseen electrones apareados, lo que los hace altamente reactivos.



Los radicales se distribuyen de forma heterogénea a lo largo de la trayectoria de la radiación, dependiendo de la transferencia lineal de energía de radiación (LET en inglés). Una buena parte de ellos se pierden en reacciones neutralizadoras combinándose de acuerdo a las ecuaciones (8) a (10).



Pero otros se propagan pudiendo llegar a desencadenar nuevas reacciones como se muestra en la ecuación (11).



En la figura 4 se muestra los tipos principales de interacción de la radiación gamma con el agua, estas son: Ionización del electrón libre y la Ruptura Homolítica del enlace.

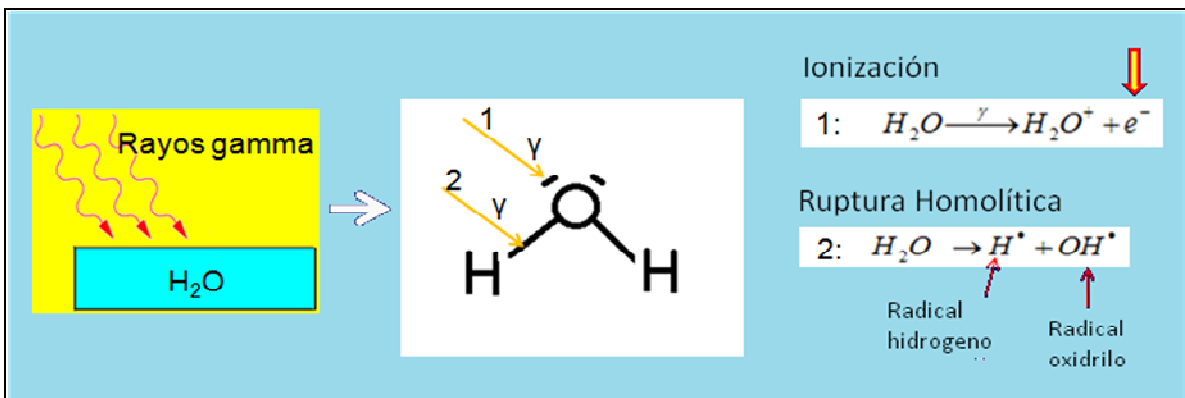


Figura 4. Representación esquemática de la interacción de la radiación gamma con el agua.

2.3 Definiciones y Unidades de Magnitud Dosimétricas

Dosis absorbida: Es la cantidad dosimétrica fundamental de la radiación ionizante. En esencia, es la energía que la radiación ionizante imparte a la materia por unidad de masa. Se expresa por:

$$D = \frac{d\mathcal{E}}{dm} \dots\dots\dots (12)$$

Donde D es la dosis absorbida, $d\mathcal{E}$ es la energía media impartida a la materia de masa dm . La unidad de dosis absorbida es el joule por kilogramo (J/kg). A esta unidad, en el sistema internacional, se le da el nombre de Gray (Gy). Equivalente a la absorción de la energía de 1 joule por kilogramo de sustancia irradiada. La tradicional es el Rad, que a su vez equivale a la absorción de 100 ergios de energía por gramo de sustancia irradiada. $1 \text{ kGy} = 1 \text{ J/kg} = 10^4 \text{ erg/g} = 100 \text{ rads}$.

Tasa de dosis absorbida: La tasa de dosis de radiación es la dosis de radiación por unidad de tiempo, expresada como:

$$\dot{D} = \frac{dD}{dt} \dots\dots\dots (13)$$

Donde \dot{D} es la tasa de dosis; dD es el incremento de la dosis absorbida en el intervalo de tiempo dt y sus unidades son J/kg.s o Gy/s.

2.4 Fuentes de Radiaciones Ionizantes

Normalmente se definen como fuentes radiactivas o de radiación a aquellas fuentes encapsuladas y selladas utilizadas en radioterapia, radiografía o en varios tipos de medidas industriales.

Diversos tipos de radiaciones están disponibles: Rayos gamma a partir del radioisótopo ^{60}Co , haces de iones y electrones generados por aceleradores de partículas y neutrones a partir de reactores, aceleradores o radioisótopos.

El diseño de los irradiadores se ha dado en función de las necesidades. Así, por ejemplo, los hay móviles para que se pueden desplazar hacia los campos de cultivo agrícola, otros son relativamente pequeños y con autoblandaje, conocidos como los "Gammacell", con peso aproximado de cinco toneladas, que se utilizan comúnmente en laboratorios de investigación de las áreas de medicina, química, farmacéutica, física,

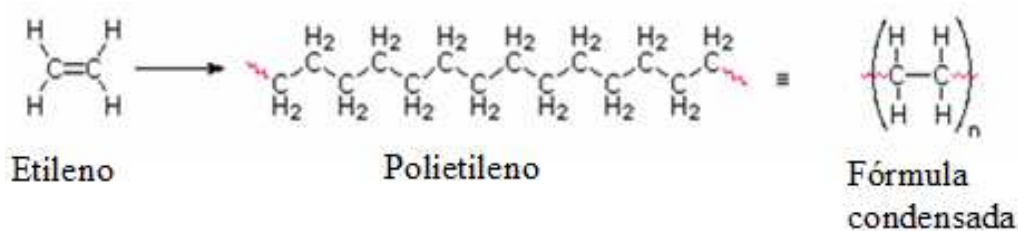
etcétera, hasta los de tipo semi-industrial e industrial con capacidades de trabajo diario de varias toneladas en el procesamiento de productos orgánicos e inorgánicos.

Otras de las facilidades de irradiación mas empleadas son las denominadas tipo “piscina”, en estas el material radiactivo (^{60}Co generalmente) está ensamblado en barras de acero inoxidable sellado, que evita el contacto directo con el blindaje biológico (agua des-ionizada) y con las muestras de laboratorio o los productos industriales. El manejo de las barras se opera de manera remota a través de una consola y una llave clave de acceso. Los productos o muestras a irradiar pueden colocarse por tiempos predeterminados con el fin de alcanzar la dosis deseada, y pueden obtenerse dosis variables seleccionando el número de fuentes, sus posiciones o alturas respecto del piso o distancia respecto al centro de las mismas.

El Centro Nuclear RACSO del Instituto Peruano de Energía Nuclear (IPEN) cuenta con el reactor RP-10, un reactor tipo piscina con una potencia térmica de 10 MW generado por un combustible tipo MRT conteniendo (U_3O_8) enriquecido al 20% en ^{235}U , empleado principalmente para la producción de radioisótopos, y un equipo de irradiación Gammacell.

2.5 Los Polímeros.

Los polímeros consisten en una larga cadena de moléculas con unidades repetitivas llamadas monómeros que presentan en su mayoría enlaces covalentes. El polímero más simple es el polietileno el cual consiste de unidades repetitivas de etileno $[-\text{CH}_2\text{CH}_2-]_n$, siendo esta unidad más conocida como monómero.



El monómero puede tener cualquier grupo funcional reactivo tales como grupos amino ($-\text{NH}_2$) o enlaces dobles los cuales pueden reaccionar bajo condiciones adecuadas y establecer enlaces covalentes entre las unidades repetitivas. Tales enlaces forman la columna vertebral de la cadena polimérica. Los polímeros presentan diversas

propiedades que los convierten en materiales ideales para múltiples aplicaciones. La mayoría de los polímeros son de bajo costo y relativamente fáciles de fabricar.

La mayoría de polímeros no están formados de moléculas idénticas y la longitud de sus cadenas carbonadas puede variar por miles de unidades monoméricas dando lugar a una variedad de polímeros con distintas densidades y pesos moleculares.

El alcohol polivinílico (PVA) es un polímero obtenido por hidrólisis ácida o básica del acetato de polivinilo. A pesar de su origen sintético es un polímero biodegradable y biocompatible. Sus propiedades dependen de su peso molecular y de su grado de hidrólisis. El PVA es un polímero sintético soluble en agua, su reactividad y degradabilidad hacen de él un material potencialmente útil en biomedicina, agricultura, áreas de tratamiento de aguas (Eliminación de iones metálicos) y excipiente en sistemas para liberación de fármacos. Este polímero forma fácilmente fibras por métodos físicos por ser un polímero viscoelástico y es muy utilizado en la preparación de biomateriales [8].

2.6 Nanofibras

2.6.1 Mecanismos de Obtención de Nanofibras

Las nanofibras poliméricas pueden ser procesados por un número de técnicas tales como son: Drawing, Síntesis por molde, Separación de fase, Auto ensamblaje y Electrospinning [9].

“Drawing”: Las nanofibras pueden ser fabricadas a través del proceso de “drawing”. En esta una micropipeta con un diámetro de unos pocos micrómetros es sumergida dentro de una gota cerca de la línea de contacto usando un micromanipulador tal como se muestra en la figura 5. La micropipeta es retirada del líquido y movida a una velocidad de $1 \times 10^{-4} \text{ m.s}^{-1}$ aproximadamente, dando como resultado unas fibras cuyo diámetro se encuentra en el orden nanométrico.

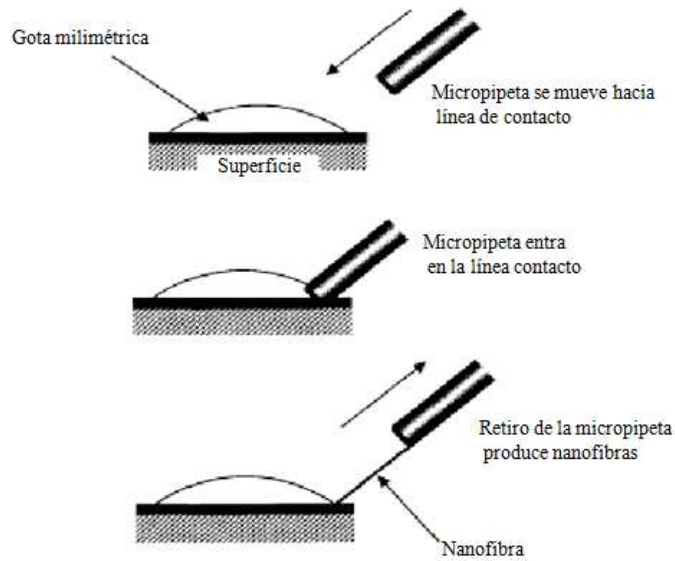


Figura 5. Obtención de nanofibras por Drawing.

Síntesis por molde: Este método implica el uso de un molde o plantilla para obtener un material o estructura deseada. Para la fabricación de nanofibras, se utiliza una membrana de óxido metálico con unos poros cuyo diámetro esta en el rango nanométrico. La presión del agua aplicada sobre un lado de la membrana causa extrusión o moldeamiento del polímero, el cual, da origen a las nanofibras cuyos diámetros están determinados por los poros de la membrana.

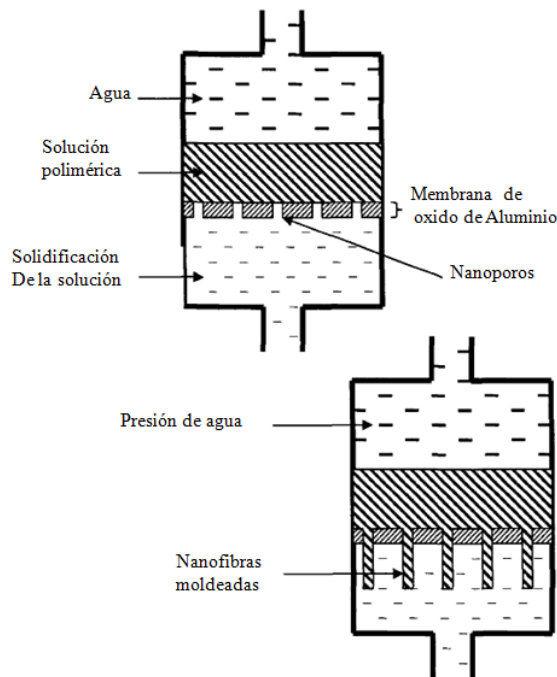


Figura 6. Obtención de nanofibras mediante la síntesis por molde.

Separación de fase: En esta técnica un polímero es mezclado con un solvente antes de que experimente la gelificación. El principal mecanismo de este proceso es como su nombre lo sugiere, la separación de fase debido a la incompatibilidad física. El solvente es extraído dejando la otra fase restante. El procedimiento consiste principalmente en las siguientes etapas:

- (i) Disolución del polímero, (ii) Gelificación y (iii) Extracción del solvente.

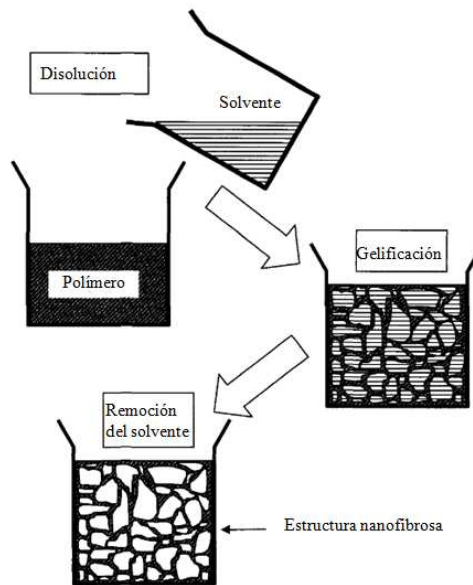


Figura 7. Representación esquemática de la técnica de Separación de fase para la obtención de estructuras nanofibrosas.

Auto ensamblaje: Se refiere a la construcción de nanofibras usando moléculas pequeñas como componente básico. El principal mecanismo para un auto ensamblaje son las fuerzas intermoleculares que mantienen juntas las pequeñas unidades.

2.7 La Técnica Electrospinning

El término Electrospinning es derivado técnicamente de “Electrostatic Spinning” que significa “hilado electrostático”, en el que las cargas eléctricas son empleadas en el proceso para producir fibras. El concepto básico de la técnica electrospinning puede ser citado desde los años 30 del siglo pasado, en el que Formals obtuvo una serie de patentes, en donde presentó una serie de experimentos para la producción de fibras poliméricas de varios polímeros usando fuerzas electrostáticas. En 1969, Taylor [9] estudió fundamentalmente la forma de la pequeña gota polimérica en la punta de la

aguja y demostró que esta tenía la forma de un cono en el que el chorro de polímero era expulsado desde el vértice del cono referido como el “cono de Taylor”. En los años siguientes la mayoría de los investigadores enfocaron su estudio sobre la morfología estructural y caracterización de las fibras. Por ejemplo en 1971 Baumgarten produjo fibras acrílicas por Electrospinning con diámetros en el rango de 500-1100nm. Él reportó que el diámetro de las fibras era dependiente de la viscosidad de la solución (PAN/DMF), y el diámetro del chorro polimérico se hacía más grande cuando se incrementaba el campo eléctrico. Larrondo y Manley [9], estudiaron la relación entre el diámetro de las fibras y la temperatura de fusión del polietileno (PE) y polipropileno (PP) en el estado fundido. Ellos encontraron que el diámetro decreció cuando se incrementó la temperatura. También mostraron que el diámetro de las fibras se redujo al 50%, cuando el voltaje aplicado fue incrementado dos veces.

Desde 1980 y especialmente en años recientes, un gran esfuerzo ha sido concentrado sobre la técnica Electrospinning debido a su mayor interés en la nanotecnología con potenciales aplicaciones de las nanofibras en diferentes áreas tales como son membranas para filtraciones, trajes protectores, soporte para catálisis y materiales adsorbentes.

2.7.1 Aspectos Fundamentales de Electrospinning:

Electrospinning es reconocido como un proceso fácil y rápido para fabricar fibras continuas de tamaño micro y nanométrico, comparado con otros métodos convencionales tales como “drawing”, la síntesis por molde, la separación de fase y el auto ensamblaje, que ya se ha descrito anteriormente. El proceso “drawing” requiere un material viscoelástico que es útil para altas tensiones y deformaciones durante el jalado en una sola hebra larga. En la síntesis por molde, una membrana nanoporosa es utilizada como una plantilla para hacer nanofibras en cualquiera de las formas, ya sea tubular (hueca), o fibrilla (sólida). Sin embargo, este método de fabricación no puede producir fibras continuas en forma de una sola hebra. La separación de fase, toma un largo periodo de tiempo para obtener fibras nanoporosas ya que este involucra muchos pasos como disolución, gelación, extracción, refrigeración y secado para completar el proceso. Similarmente el autoensamblaje, es una técnica que requiere tiempo en procesar nanofibras.

Las características básicas de la técnica Electrospinning son descritas en la figura 8, en la que un electrodo es insertado en la solución polimérica y el otro electrodo al colector,

el cual a su vez es conectado a tierra. Cuando un alto voltaje es aplicado, la repulsión de cargas en la superficie del fluido causa fuerza directamente opuesta a la tensión superficial del fluido. Cuando el campo eléctrico es incrementado, la superficie semiesférica del fluido en la punta de la aguja del inyector se elonga hasta llegar a la forma cónica llamado “cono de Taylor”. Un chorro de fluido cargado es expulsado desde la punta del cono de Taylor, cuando la fuerza electrostática vence la tensión superficial en un valor crítico del campo eléctrico. Una característica observada durante este proceso es la salida aleatoria del chorro polimérico conocida como “flagelación”. La evaporación del solvente toma lugar desde las fibras poliméricas cargadas hasta el camino al colector produciendo sobre el colector una estera de fibras no tejidas.

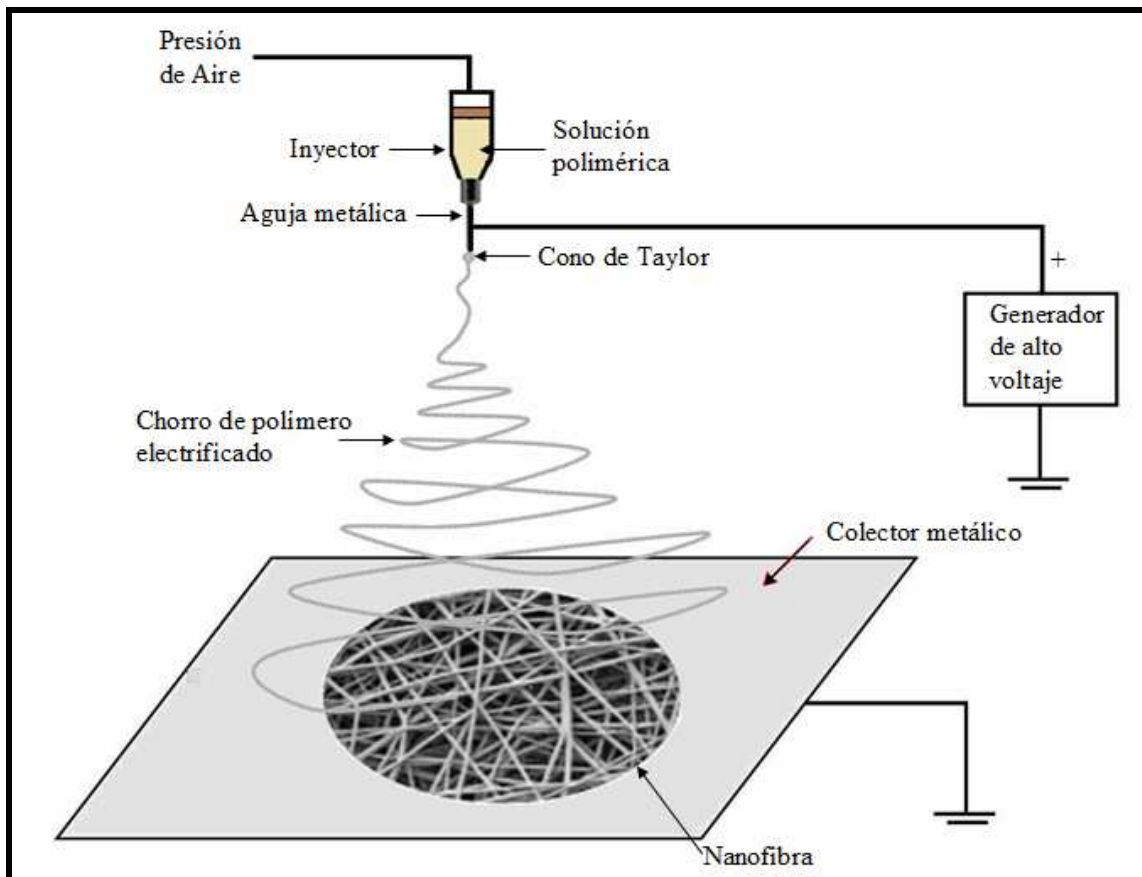


Figura 8. Representación esquemática del Sistema de Electrospinning [9]

2.7.2 Parámetros de la técnica Electrospinning:

Aunque la mayoría de las fibras que son producidas a través de esta técnica son filamentos sólidos de forma circular; hay ocasiones en las que estructuras tipo tubos,

cintas, alambres, o tipo gotas son generados. Hay muchos factores que afectan la producción de nanofibras en la técnica Electrospinning:

- (a) Las propiedades de la solución polimérica, tales como: la concentración de la solución, la elasticidad, la conductividad y la tensión superficial.
- (b) Parámetros del proceso, tales como: el intervalo de separación entre la punta de la aguja del inyector y el colector, el voltaje aplicado y la presión hidrostática en el contenedor de la solución; y
- (c) El efecto del medio ambiente, tales como: la temperatura, humedad y el flujo de aire.

Parámetros Referentes a la Solución:

Concentración: La formación de fibras por Electrospinning es ante todo basado en la concentración y tensión superficial de la solución polimérica. Diferentes polímeros requieren diferentes concentraciones de solución para ser electro hilado. Uno de los más importantes parámetros que debemos controlar en Electrospinning es el diámetro de las fibras. Un problema encontrado en esta técnica es la formación de defectos en las fibras tales como “gotas” y poros. Se ha encontrado que la concentración de polímero también afecta la formación de los defectos [9].

Conductividad: Los iones cargados en la solución polimérica influyen grandemente a la formación de fibras. Cuando las cargas llevadas por el chorro se incrementan, el campo eléctrico genera mayor fuerza de elongación sobre chorro de polímero cargado dando como resultado fibras con diámetros más finos y una notable disminución de los defectos.

Evaporación del solvente: La presión de vapor del solvente juega un rol muy importante en la rapidez de evaporación, tiempo de secado, la morfología de las fibras.

Parámetros referentes a la técnica Electrospinning

Alto voltaje: En la técnica Electrospinning, el alto voltaje eléctrico aplicado afecta la estabilidad del chorro y a la morfología de las fibras de manera notoria. En general, un incremento en el voltaje aplicado causa una tasa de fabricación mayor debido al incremento del flujo de la masa polimérica desde la punta de la aguja del inyector.

Distancia del inyector al colector: La distancia de separación entre la punta del inyector y el colector influye en el tiempo de fabricación de las fibras, la tasa de evaporación e intervalo de inestabilidad, los cuales afectan las características de las fibras. Una solución polimérica acuosa necesita ciertos intervalos de distancia para evaporarse en contraposición de un solvente altamente volátil.

Condiciones ambientales: Las condiciones ambientales como son: la velocidad del aire, la humedad relativa (HR), condiciones de vacío, afectan la morfología y estructura de las fibras.

Las nanofibras poseen propiedades mecánicas y térmicas, únicas y significativas, comparadas con las fibras normales, debido a su gran área superficial y morfología superficial. Recientemente se han realizado grandes esfuerzos sobre los posibles usos de las nanofibras, debido a sus notables propiedades; por su gran área superficial específica y estructura nanoporosa. Tiene potenciales aplicaciones, en particular en áreas como son: la catálisis, la filtración, los nanocompuestos, el sistema liberador de drogas y tejidos de protección.

2.7.3 Electrospinning de Nanofibras Metálicas.

Las nanopartículas metálicas son de gran interés en términos de sus potenciales aplicaciones en muchos campos, tales como: dispositivos biomédicos, electrónicos y ópticos. La incorporación de nanopartículas metálicas en las matrices poliméricas ha ganado gran importancia debido a sus posibles aplicaciones en el campo de la ingeniería de los materiales. Tradicionalmente, los compuestos son fabricados mezclando las nanopartículas metálicas en las matrices poliméricas disueltas. Esto frecuentemente da una dispersión no homogénea de las nanopartículas. Muy recientemente, una considerable atención ha sido puesta a la síntesis de nanopartículas metálicas en matrices poliméricas [9]. En dicha síntesis, las sales metálicas disueltas son reducidas por medio de radiaciones UV/Gamma y por procesos térmicos. Entre los numerosos métodos para la preparación de compuestos metal-polímero, el método radiolítico es el más popular debido a su fácil preparación y distribución de tamaño de partícula bastante estrecha.

2.7.4 Mecanismos de Entrecruzamiento entre las Cadenas Poliméricas de las Nanofibras Inducido por Radiación Gamma.

El procesamiento de polímeros por radiación gamma permite producir nuevos materiales con mejores propiedades que los obtenidos por los métodos químicos. La radiación puede producir un acortamiento de la cadena, promover la polimerización, y generar entrecruzamiento entre las diferentes cadenas, esto va a depender del tipo de polímero empleado [10-13]. El entrecruzamiento puede ser generado por métodos físicos en la que las cadenas entrecruzadas están unidas por interacciones de Van Der Waals, mientras que en los métodos químicos se encuentran unidas firmemente por enlaces covalentes. Estos pueden prepararse por radiación (rayos gamma, electrones, UV) o con la ayuda de agentes de entrecruzamiento químicos.

El entrecruzamiento covalente liga las cadenas poliméricas, convirtiéndose estas en una estructura de la red o un gel. Cuando están entrecruzados a un grado designado llamado "punto gel", todas las cadenas del polímero en la muestra se ligan y el polímero es en efecto una sola macromolécula gigante. En los niveles de entrecruzamiento debajo del punto gel el sistema es esencialmente un polímero altamente ramificado. Las redes del polímero se caracterizan generalmente en términos de su densidad de entrecruzamiento (número de entrecruzamientos por unidad de volumen) y de la funcionalidad media en los sitios de entrecruzamiento. En las nanofibras, el entrecruzamiento es importante por las siguientes razones:

1. El entrecruzamiento hace que las nanofibras sean insolubles en todos los solventes. Cuando una malla entrecruzada de fibras se coloca en un buen solvente, absorbe el solvente y se hincha en lugar de disolverse en ella. Para su uso en filtros, sensores, y usos biológicos tal insolubilidad puede ser deseable [14].
2. Las propiedades mecánicas de las nanofibras aumentan significativamente después del entrecruzamiento por radiación gamma en comparación a aquellas que no han sido entrecruzadas. También, el entrecruzamiento conduce a un mejoramiento de la estabilidad de la nanofibra, así como su morfología fibrinosa que ayudará a conservarse mejor. [14]

2.7.5 Ventajas de la Tecnología de Radiación comparada con los Métodos Convencionales.

El uso de la radiación para la formación de nanopartículas de plata y la modificación de las nanofibras poliméricas tiene algunas ventajas generales como:

- Permite resolver el problema de esterilización, ya que se puede obtener un producto completamente estéril.
- Permite obtener productos puros, no contaminados como los que se producen con residuos de iniciadores tóxicos.
- Es flexible, por ejemplo puede adaptarse a varias escalas y métodos (batch, continuo).
- Permite el entrecruzamiento (para el caso de polímeros) entre las cadenas haciendo que estas sean insolubles en agua.

Debido a estas ventajas y otras, como la cualidad de modificar las propiedades mecánicas de las nanofibras en ciertas condiciones obtenidos por técnicas radiolíticas, es que se desarrollan diversas investigaciones en este campo.

2.8 Las Nanopartículas y el Método de Síntesis.

A lo largo de los años se ha ido generando evidencias experimentales de que los materiales se pueden estructurar a escala nanométrica de modo que estos muestren nuevas propiedades. Estas evidencias empíricas se basan en que la materia tiene longitudes características y, si se produce un trozo de materia de dimensiones menores que estas longitudes características (al menos en una dimensión), las propiedades de este trozo de materia nanoestructurado son muy diferentes a la del mismo material en dimensiones grandes.

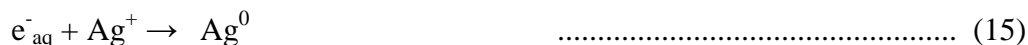
Puesto que muchas de las nanopartículas son obtenidas en medios coloidales, se hace necesario buscar estrategias que permitan incorporar estas partículas a sistemas que permitan su mejor manipulación y aprovechamiento. Ya que el presente trabajo está enfocado en la utilización de matrices poliméricas para la fabricación de nanofibras como soporte de las nanopartículas metálicas, nos concentraremos en la descripción de aquellas estrategias, en las que se hace uso de polímeros como matrices para contener nanopartículas [15].

Se han reportado numerosas técnicas para la preparación de nanopartículas de plata, tales como: reducción química, fotoquímica, electroquímica, sonoquímica y radiolítica.

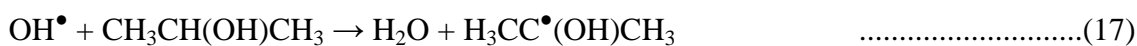
De éstas, la síntesis radiolítica es bastante promisoría debido a que posee algunas importantes ventajas comparado con los métodos químicos y fotoquímicos convencionales como son:

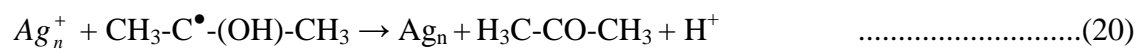
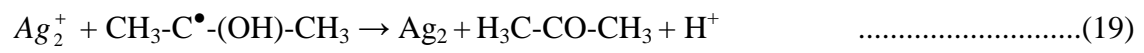
- (i) El proceso es simple y limpio
- (ii) La irradiación con rayos gamma es segura e inofensiva
- (iii) La reducción controlada de iones metálicos puede llevarse a cabo sin usar excesivo agente reductor o generar productos de oxidación indeseados.
- (iv) El método puede proporcionar nanopartículas metálicas completamente reducidas y de alta pureza y estabilidad.
- (v) Este método proporciona nanopartículas de alta concentración y distribución de tamaño estrecha comparado con aquellos obtenidos por métodos químicos [16].

En el método de reducción radiolítica, las soluciones acuosas son expuestas a la radiación gamma y reaccionan de acuerdo a la ecuación (14), creando electrones solvatados (e^-_{aq}), los cuales reducen los iones metálicos, de acuerdo a la ecuación (15). Los átomos metálicos se unen formando partículas que coalescen para formar aglomerados como se muestra en la ecuación (16).



En este trabajo se presentan los resultados de la obtención de nanopartículas de plata por radiación gamma, a partir de soluciones acuosas de nitrato de plata ($AgNO_3$), con PVA como estabilizadores del coloide y adicionando isopropanol como neutralizador de radicales OH^\bullet y H^\bullet . El alcohol juega un rol importante ya que con la remoción de radicales OH^\bullet y H^\bullet se impide la oxidación de la plata. Alguno de los alcoholes usados para este fin son: metanol, etanol, isopropanol e isobutanol, pero el isopropanol es mayormente empleado debido a su eficiencia como removedor de radicales y acción reductora, de acuerdo a las ecuaciones 17 a 20.





Los resultados obtenidos nos permitieron incluir estas nanopartículas en las nanofibras poliméricas por medio de la técnica Electrospinning.

3. DESCRIPCIÓN EXPERIMENTAL

Los reactivos empleados fueron: El alcohol polivinílico (PVA), proveniente de Fluka ($M_w = 61000$, $n = 1400$, grado de hidrólisis 98 – 98,8 %), isopropanol $\text{CH}_3\text{CH}(\text{CH})\text{CH}_3$ (Merk) y AgNO_3 (Movilab). Todos de grado analítico y usado sin ninguna purificación posterior. Todas las concentraciones citadas corresponden a porcentaje en peso.

Para los trabajos de irradiación se utilizó el equipo gammacell 220 Excel del Centro Nuclear de Huarangal, que cuenta con una fuente gamma de ^{60}Co . Se utilizaron dosis entre 1 y 100 kGy, manteniendo constante la tasa de dosis en 8 kGy/h.

3.1 Diseño y construcción del sistema de Electrospinning.

En la figura 9 se muestra el diagrama esquemático del sistema de Electrospinning diseñado e implementado para la producción de nanofibras poliméricas compuestas con nanopartículas de plata.

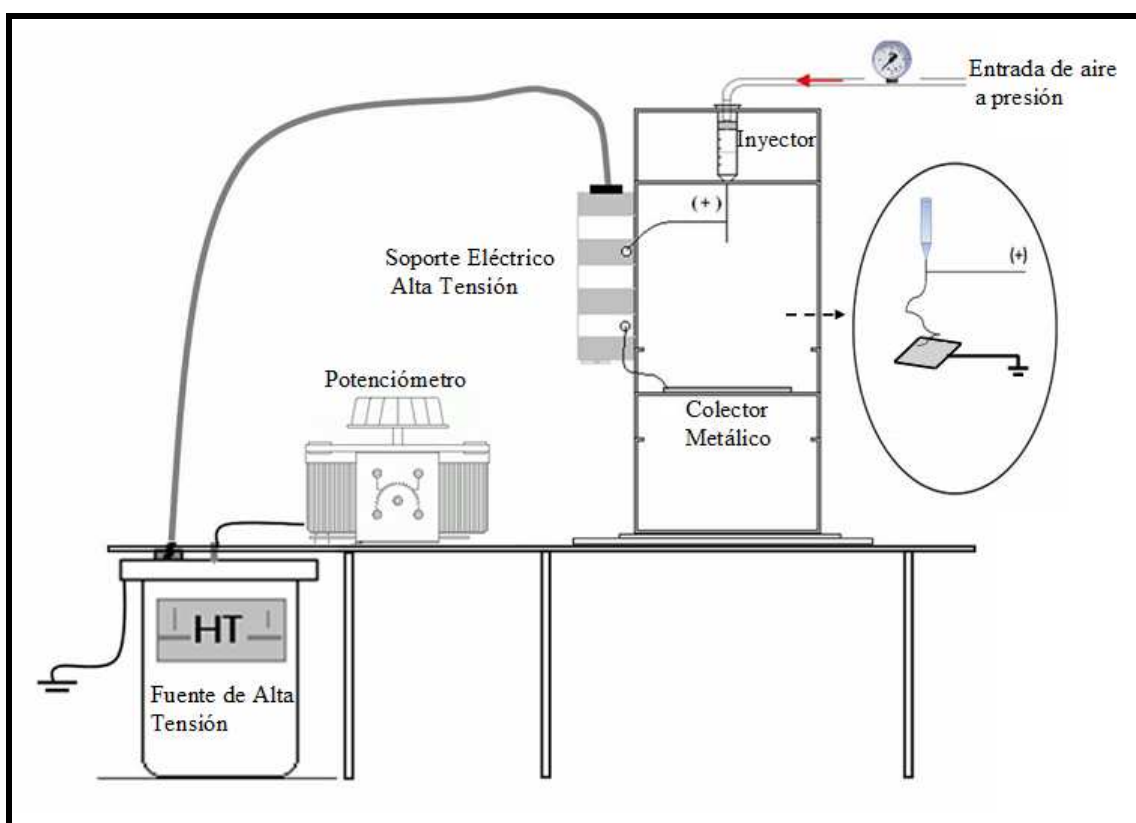


Figura 9. Representación esquemática del sistema Electrospinning.

Para la implementación de este equipo, se utilizó una fuente de alta tensión, de un microscopio electrónico de transmisión en desuso y para variar el voltaje aplicado al sistema se instaló un potenciómetro. El electrodo positivo de la fuente de alta tensión fue conectado a la aguja metálica del inyector, ubicado a una cierta distancia de un colector de aluminio, el cual, fue conectado a tierra. Colectores con geometrías variables (planas cuadradas, planas circulares y cilindros de rotación) fueron ubicados a distancias variables y la presión en el inyector fue regulada con un barómetro regulador de aire fino (0–200PSI). Las mediciones de temperatura T y humedad relativa HR , se realizaron con un termohigrómetro de pared (*OAKON 20 a 100%HR, -10 a 50°C*).

3.2 Obtención de Nanofibras de Alcohol Polivinílico (PVA)

Se prepararon soluciones acuosas de PVA al 10% en peso. Esto se hizo, disolviendo 10 g de PVA en 90 g de agua destilada, para lo cual, se colocó en baño maría a una temperatura de 80°C, bajo agitación magnética durante 1 h, obteniéndose una matriz de PVA homogénea, de manera similar, se prepararon para las concentraciones de 13% y 15% en peso.

Una vez preparada las soluciones poliméricas, se fabricaron las nanofibras por la técnica Electrospinning, para lo cual, se agregaron 5 ml de la solución polimérica al 10, 13 y 15% en peso dentro de un inyector con aguja hipodérmica de 0,5 mm de diámetro. La aguja fue conectada al terminal positivo del generador de alta tensión y el colector de las fibras (colector rectangular) fue conectado a tierra, cuya separación fue de 27,5 cm opuesta a la aguja, tal como se muestra en la figura 10.

Para la fabricación de las nanofibras se han realizado una serie de pruebas preliminares, con la finalidad de encontrar las condiciones adecuadas de variables críticas que intervienen en el proceso de fabricación, tales como: el voltaje aplicado, la distancia “ d ” de la aguja al colector metálico, la concentración de la solución polimérica, consiguiendo así las condiciones óptimas para la fabricación de las nanofibras libres de defectos.

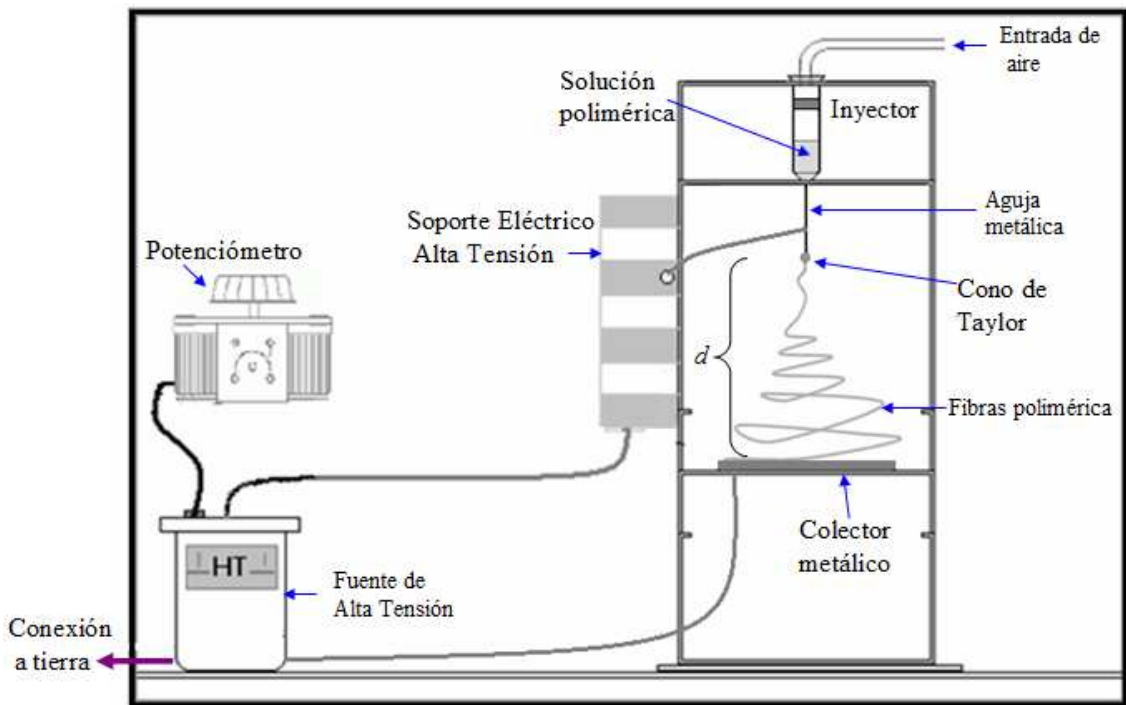


Figura 10. Esquema del sistema Electrospinning para la obtención de las nanofibras poliméricas.

Las nanofibras se recolectaron sobre un sustrato de vidrio y sobre las rejillas del TEM a diferentes tiempos. Posteriormente las nanofibras fueron irradiadas con radiación gamma con una dosis de 15 kGy con el objetivo de entrecruzar las cadenas poliméricas.

Influencia de la distancia entre la aguja y el colector: En varios casos, el tiempo de vuelo, así como la fuerza del campo eléctrico afectó el proceso de Electrospinning y a las fibras resultantes. La variación de la distancia entre la punta de la aguja y el colector tuvo una influencia directa en el tiempo de vuelo y en la fuerza del campo eléctrico generado debido al alto voltaje. Para llegar a la condición óptima, se hicieron una serie de pruebas preliminares para diferentes distancias. La distancia entre la punta de la aguja y el colector elegido fue de 27,5 cm.

Los efectos del potencial eléctrico:

Un elemento crucial en Electrospinning es la aplicación de un alto voltaje para poder inducir cargas sobre la solución polimérica. Cuando la fuerza electrostática generada por el alto voltaje supera la tensión superficial de la solución, se inicia la producción de nanofibras.

Para un cierto valor de voltaje llamado “voltaje crítico”, manteniendo los otros parámetros constantes (como la concentración y la distancia aguja-colector) la gota de la solución polimérica en la extremidad de la aguja se deforma adquiriendo la forma de un cono llamado “cono de Taylor”. Dependiendo de la concentración de la solución polimérica, se puede regular el voltaje de modo que el cono de Taylor formado sea estable para el estiramiento de la solución polimérica viscoelástica.

Para voltaje de alta tensión entre 34 kV y 41 kV, satisfactoriamente se han fabricado las nanofibras de PVA, con predominio diametral en el orden nanométrico y libre de defectos.

3.3 Síntesis Radiolítica de Nanopartículas de Plata utilizando PVA como Estabilizador.

Las nanopartículas de plata fueron obtenidos mediante la síntesis inducida por radiación gamma, a partir de soluciones acuosas de nitrato de plata (AgNO_3), en presencia del isopropanol como neutralizador de radicales y del alcohol polivinílico (PVA) como estabilizador de la plata. Se prepararon soluciones acuosas de AgNO_3 – PVA – isopropanol. Para las mezclas ternarias, se utilizaron concentraciones de PVA al 0,5% en peso, isopropanol 0,2 M y AgNO_3 2×10^{-2} M, estas fueron contenidas en envases de vidrio, y burbujeadas con N_2 e irradiadas con una dosis de 5, 10, 15, 20, 25 y 30 kGy de radiación gamma. La figura 11 muestra un esquema del procedimiento para la síntesis de nanopartículas de plata con la técnica radiolítica.

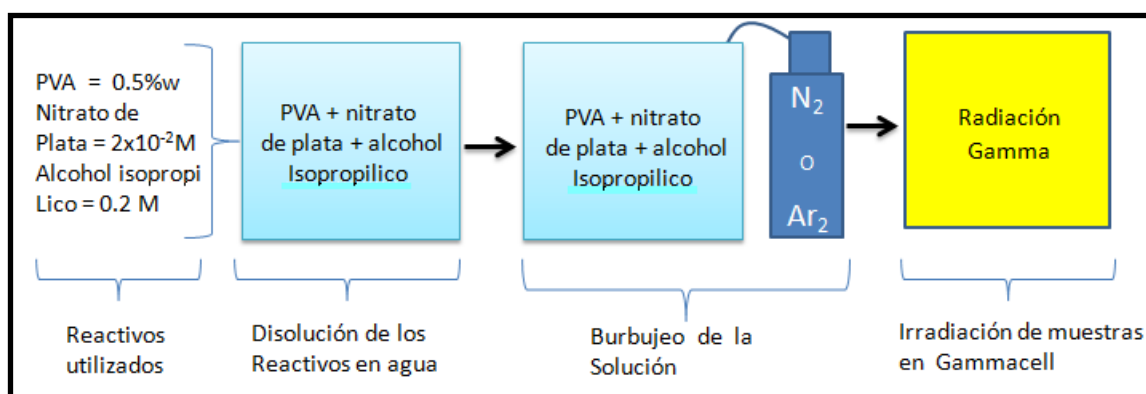


Figura 11. Esquema del procedimiento de preparación de nanopartículas de plata con la técnica radiolítica.

3.4 Preparación del Compósito PVA / Plata.

Una vez obtenidas las nanopartículas de plata se procedió a preparar el compósito PVA / coloide de plata para luego fabricar las nanofibras con la técnica Electrospinning; para lo cual, primero se disolvió 16 g de PVA en 84 g de agua destilada, se colocó en baño maría a una temperatura de 80°C bajo agitación magnética durante 1 h, obteniéndose una matriz de PVA homogénea al 16% en peso.

Posteriormente se agregó 5 ml del coloide de nanopartículas de plata en 20 g de la solución polimérica (PVA), bajo agitación magnética durante 1 h a temperatura ambiente, hasta obtener una buena dispersión homogénea, para finalmente obtener el nanocompuesto PVA / plata con la concentración adecuada para la fabricación de nanofibras.

3.5 Obtención de las Nanofibras del Compósito PVA/ Plata.

Para la obtención de las nanofibras conteniendo nanopartículas de plata, se utilizó la técnica Electrospinning. Para lo cual, se agregó 5 ml del compósito PVA / plata, en un inyector de 10 ml con aguja hipodérmica de 0,5 mm de diámetro. La aguja fue conectada al terminal positivo del generador de alta tensión y el terminal negativo fue conectado al colector de las fibras (colector rectangular) cuya separación fue de 27,5 cm opuesto a la aguja. Las fibras se recolectaron sobre un sustrato de vidrio. Una vez recolectadas las nanofibras, estas, fueron irradiadas en el Gammacell con una dosis de 15 kGy de radiación gamma

3.6 Evaluación de las Propiedades de las Nanofibras Irradiadas.

Se realizaron dos pruebas de irradiación, una en el hall del reactor y la otra en el Gammacell.

3.6.1 Irradiación de las Nanofibras en el Hall del Reactor.

Con el objetivo de realizar las experiencias in situ, es decir, para la fabricación y la irradiación de las nanofibras al mismo tiempo; se trasladó todo el sistema Electrospinning hacia el hall del reactor, particularmente a la zona de emisión de radiación, ya que la radiación gamma es indispensable para generar el entrecruzamiento de las cadenas poliméricas de las nanofibras y así, se puede obtener un material mucho más resistente a la disolución de las nanofibras en agua. Las figuras 12 muestra el

diagrama esquemático para la fabricación y irradiación de las nanofibras con radiación gamma en forma simultánea en el hall del reactor nuclear y la figura 13 muestra las fotos del sistema Electrospinning construido y ubicado en el hall del reactor.

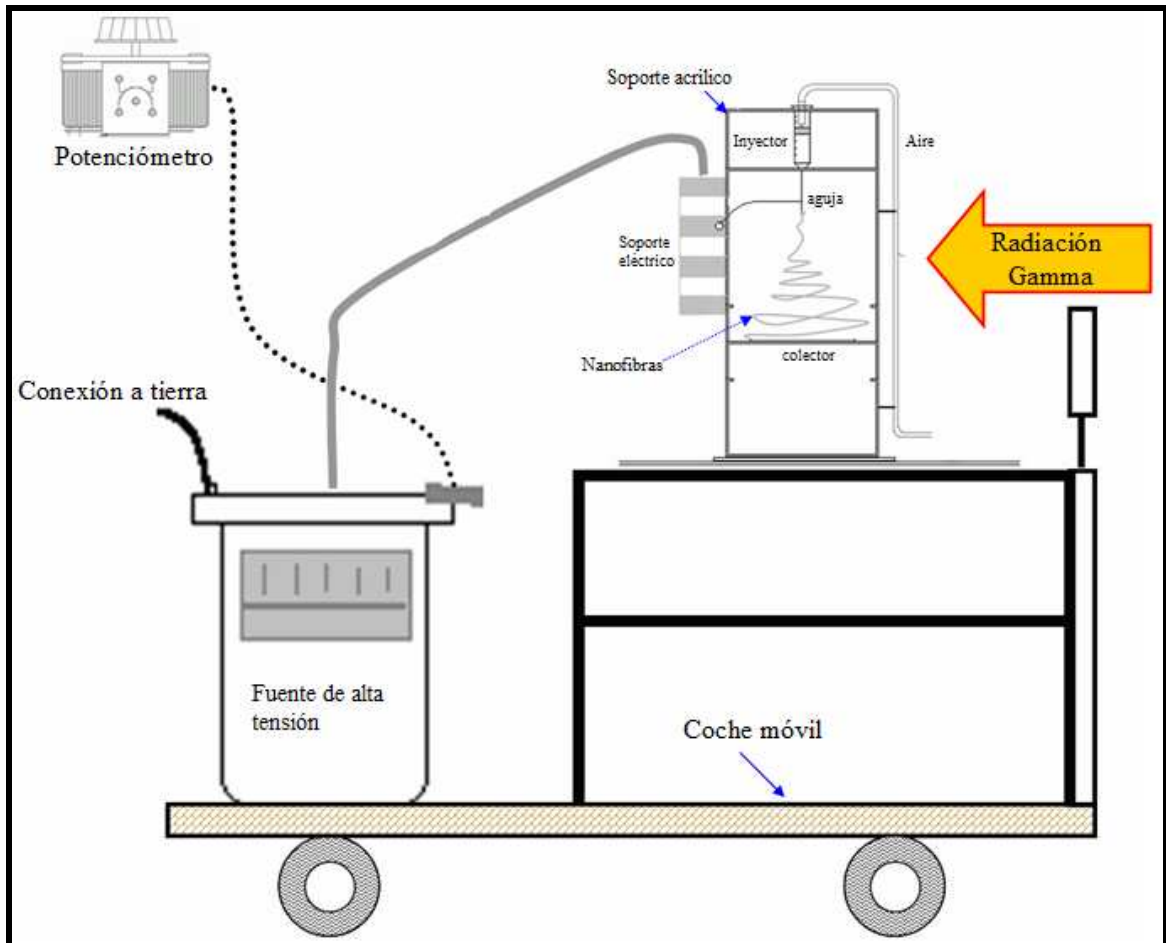


Figura 12. Diagrama esquemático del sistema Electrospinning para irradiación in situ en el hall del reactor.

Las Figuras 13A, 13B y 13C muestran la disposición del equipo en el hall del reactor RP-10 trabajando a una potencia de 300 kW y la red de fibras que fueron recolectadas sobre una lámina de vinifán adheridas al cilindro de aluminio. En la Figura 13C, podemos observar la formación de las fibras en el colector adoptando una forma de membrana de color blanco.



Figura 13. Fotografía del sistema Electrospinning para la irradiación con radiación gamma in situ de las nanofibras en el hall del reactor.

3.6.2 Irradiación de las Nanofibras en el Gammacell.

Una vez obtenidas las nanofibras por la técnica Electrospinning, estas fueron llevadas al Gammacell y se irradiaron con una dosis de 15 kGy. Luego se evaluó el efecto de la dosis de irradiación en la solubilidad de las nanofibras de PVA en agua. Para ello se intentó disolver una cierta cantidad de la nanofibra irradiada en baño maría a una temperatura de 75 °C, durante 3 h. Esta prueba se hizo con la finalidad de probar la existencia del entrecruzamiento entre las cadenas poliméricas.

3.7 Evaluación de la Actividad Antibacteriana de las Nanofibras con Plata.

3.7.1 Degradación de la Bacteria Escherichia Coli (*E-coli*) en Agua.

En la figura 14 se muestra un esquema del procedimiento para la degradación de la bacteria en agua. En la figura 14A las nanofibras con plata sin ninguna irradiación son colocadas dentro del recipiente que contiene agua con una concentración de

aproximadamente de $1250 \times 10^4 UFC$ de bacteria. En la figura 14B de manera similar las nanofibras con plata previamente irradiadas a 15 kGy se colocaron dentro del recipiente que contiene agua con bacteria con la misma concentración. El tipo de bacteria que se utilizó para esta prueba fue: *Escherichia coli* ATCC 10536. Las unidades de concentración empleadas están en UFC (Unidad formadora de colonia).

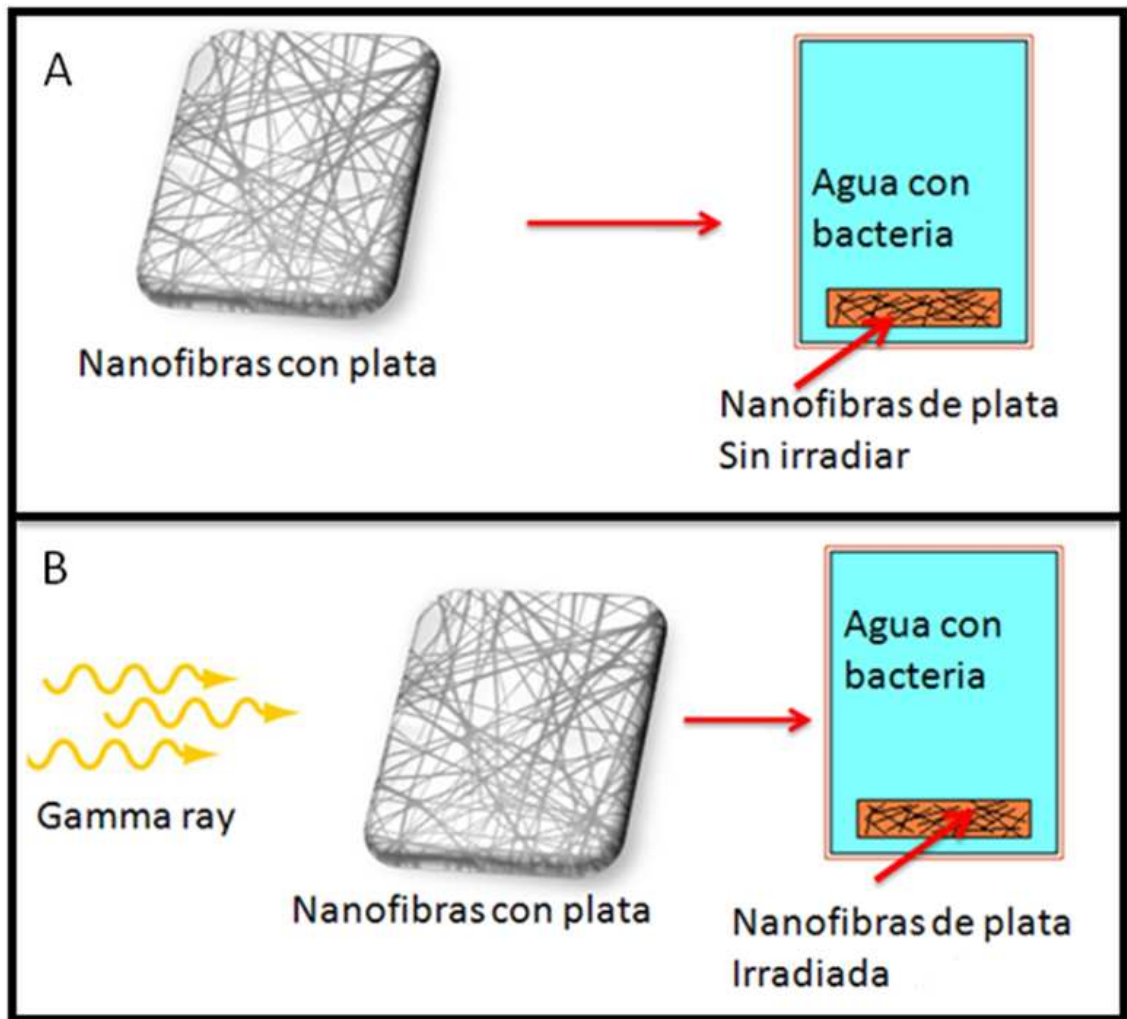


Figura 14. Esquema que representa el procedimiento para la degradación de las bacterias *Escherichia coli* en agua A) cuando se utiliza nanofibras de PVA con plata sin irradiación y B) nanofibras de PVA con plata previamente irradiado a 15 kGy.

3.7.2 Pruebas de Sensibilidad Bacteriana In Vitro por el Método de Difusión en Agar de las Nanofibras con Plata.

Se evaluó la actividad antibacteriana frente a la bacteria Gram negativa, *Escherichia coli*. El método se fundamenta en la inhibición del crecimiento microbiano, mediante la difusión del principio activo en un medio de cultivo sólido, que se evidencia en la formación de un halo de inhibición.

Este método consiste en colocar en la superficie de una placa de agar previamente inoculada con el microorganismo, las nanofibras con plata en forma de discos, haciendo un contacto con la superficie húmeda del agar.

3.8 Técnicas de Caracterización.

3.8.1 Espectroscopía Ultravioleta y Visible (UV-Vis)

La espectroscopia ultravioleta-visible (UV-Vis) es una espectroscopía de fotones. Utiliza radiación electromagnética (luz) de las regiones visible, ultravioleta cercano (UV) e infrarroja cercana (NIR) del espectro electromagnético. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas. Se utiliza para identificar algunos grupos funcionales de moléculas, y además, para determinar el contenido de una sustancia. Así mismo, se utiliza de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de materiales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados.

El principio de la espectroscopia ultravioleta-visible involucra la absorción de radiación ultravioleta-visible por una molécula, promoviendo un electrón de un estado basal a un estado excitado, liberándose el exceso de energía en forma de calor.

La longitud de onda (λ) comprende entre 190 nm y 800 nm. La luz visible o UV es absorbida por los electrones de valencia, estos son promovidos a estados excitados. Al absorber la radiación electromagnética de una frecuencia correcta, ocurre una transición del electrón de uno de estos orbitales a un orbital vacío. Las diferencias entre energías varían entre los diversos orbitales. Algunos enlaces, como los dobles, provocan coloración en las moléculas ya que absorben energía en el visible así como en el UV.

Cuando un haz de radiación UV-Visible atraviesa una disolución conteniendo un analito absorbente, la intensidad incidente del haz (I_0) es atenuada hasta I . esta fracción de radiación que ha logrado pasar la muestra se denomina transmitancia (T) ($T = I/ I_0$). Para aspectos prácticos, se utiliza la absorbancia (A) en lugar de la transmitancia ($A = -\text{Log}T$), por estar relacionado linealmente con la concentración de la especie absorbente según la Ley de Lambert-Beer:

$$A = \epsilon.L.C \dots\dots\dots (21)$$

Donde:

ϵ = Coeficiente de absorción molar mol/g.cm.

L = Camino óptico, expresada en cm.

C = Concentración de la especie absorbente g/mol.

Un espectro UV-Visible es esencialmente un gráfico de la absorbancia en función de la longitud de onda ubicadas en el rango de la región ultravioleta o visible. Para una sustancia dada ocurre una longitud de onda en la cual la absorción es máxima; la cual es llamada lambda máxima, λ_{max} .

Las fuentes de radiación usadas, son generalmente una lámpara de hidrógeno o deuterio para las medidas en la región ultravioleta (UV); y una lámpara de tungsteno para las medidas en la región visible. El esquema de un espectrofotómetro convencional se muestra en la figura 15.

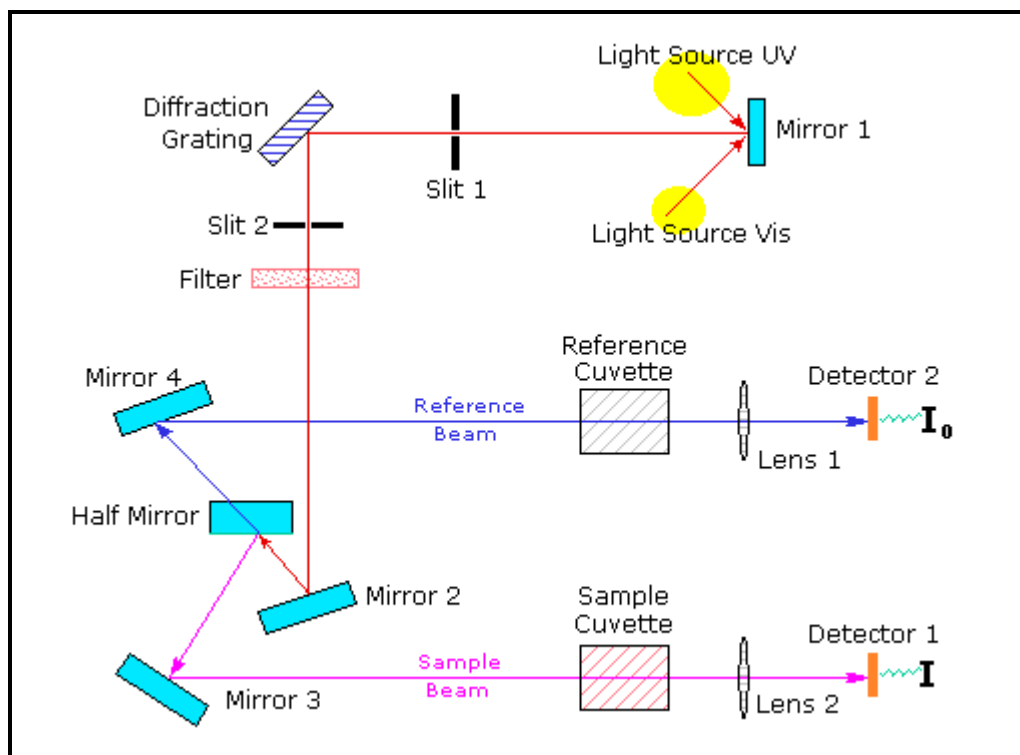


Figura 15. Diagrama esquemático de un Espectrofotómetro de UV-Visible

La espectroscopía UV-Visible es también una herramienta muy importante para la caracterización de sistemas nanoscópicos. En el presente trabajo los coloides de plata fueron caracterizados por espectroscopía UV-Visible, ya que, usualmente el tamaño nanométrico de los aglomerados metálicos presentan propiedades ópticas únicas con una absorción intensa alrededor de 410 nm, debido a la resonancia del plasmón superficial; los cuales son oscilaciones colectivas de los electrones de conducción en el metal. Por lo cual, para este caso son de especial interés las bandas de absorción del espectro UV-Visible generadas alrededor de esta longitud de onda. Así mismo, las características del plasmón superficial dependen del tamaño y la forma de las nanopartículas, así como de la constante dieléctrica del medio. Las bandas de absorción pueden proporcionar información acerca del tamaño, homogeneidad y forma de las nanopartículas estudiando la posición de los picos (corrimiento de las bandas) [17, 18, 19, 20].

Los espectros ópticos fueron tomados con el espectrómetro UV-Visible Biochrom modelo Libra S22 que usa una lámpara de Xenón. Para los cuales los coloides de nanopartículas de plata fueron adecuadamente diluidos.

3.8.2 Microscopio Electrónico de Transmisión (MET)

El Microscopio Electrónico de Transmisión, es un instrumento que permite obtener una imagen aumentada de la muestra utilizando los electrones primarios que la atraviesan. Debido a la posibilidad de lograr grandes ampliaciones en las imágenes de la muestra, el microscopio electrónico de transmisión, es uno de los instrumentos más importantes de caracterización microestructural de los materiales sólidos. En él, un haz electrónico es generado termoiónicamente desde un cañón y es acelerado con energías alrededor de los 100 keV, el haz se colima y se concentra mediante lentes magnéticas (lentes condensadores), pasando a través de la muestra. Los procesos dispersivos experimentados por los electrones durante su tránsito a través de la muestra determina la información del material. Las colisiones elásticas entre los electrones del haz con el campo potencial de los apantallamientos iónicos producen los patrones de difracción electrónicos. Colisiones inelásticas entre los electrones del haz y la matriz de electrones y heterogeneidades, dan absorciones complejas y efectos dispersivos, produciendo variaciones espaciales en la intensidad del haz transmitido.

Los electrones transmitidos y los electrones difractados se hacen pasar por un arreglo de lentes magnéticas, semejante en principio a las de un microscopio de luz, como se muestra en la figura 16.

Existen dos modos de operación del microscopio electrónico de transmisión, que dependen de como son utilizados los planos focales de la lente objetiva luego de que los electrones pasen por la muestra.

Modo difracción: El plano focal de la lente objetiva actúa como el plano objetivo de la lente difractora (intermedia en la figura 16).

Modo Imagen: El plano imagen de la lente objetiva es el plano objeto de la lente intermedia.

La alta magnificación lograda en estos instrumentos es el resultado de que los electrones tengan una longitud de onda pequeña, la misma que puede calcularse mediante la ecuación de Broglie.

$$\lambda = \frac{h}{(2mqV)^{\frac{1}{2}}} \dots\dots\dots (22)$$

Donde: m y q son la masa y la carga del electrón, h la constante de Planck y V es el potencial eléctrico usado para la aceleración de los electrones, por ejemplo para electrones acelerados con $V = 100 \text{ kV}$ (voltaje típico de operación) la longitud de onda

asociada es de aproximadamente $0,04 \text{ \AA}$ la cual es mucho más pequeña que el diámetro de un átomo y adecuado para obtener un poder de resolución comparable con las distancias interatómicas. [21].

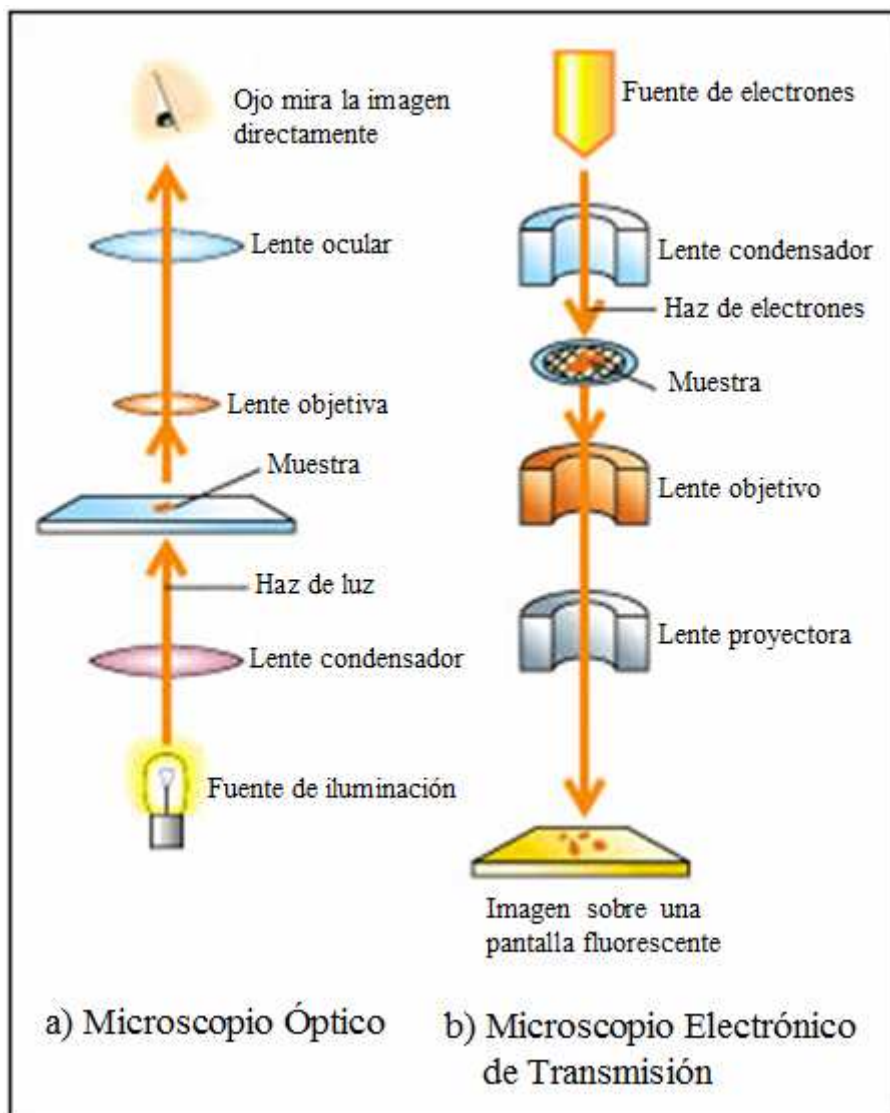


Figura 16. Representación esquemática del Microscopio Electrónico de Transmisión (MET).

Los tamaños, forma y fases de las nanopartículas fueron analizados usando un Microscopio Electrónico de Transmisión (MET) Philips EM 400 operando a 80 kV en los modos de imagen y difracción de electrones. Para su análisis, los coloides de plata fueron diluidos en agua destilada.

3.8.3 Microscopía Electrónica de Barrido (MEB).

El Microscopio Electrónico de Barrido (MEB) es usado comúnmente para obtener imágenes morfológicas de la superficie de una muestra. Una de las principales ventajas del uso del MEB sobre un microscopio óptico es, que el MEB tiene mayor resolución y profundidad de campo, además, nos da una apariencia de tener la imagen en tres dimensiones e intuitivamente pueden ser fáciles de interpretar. El esquema de un microscopio electrónico de barrido se muestra en la figura 17.

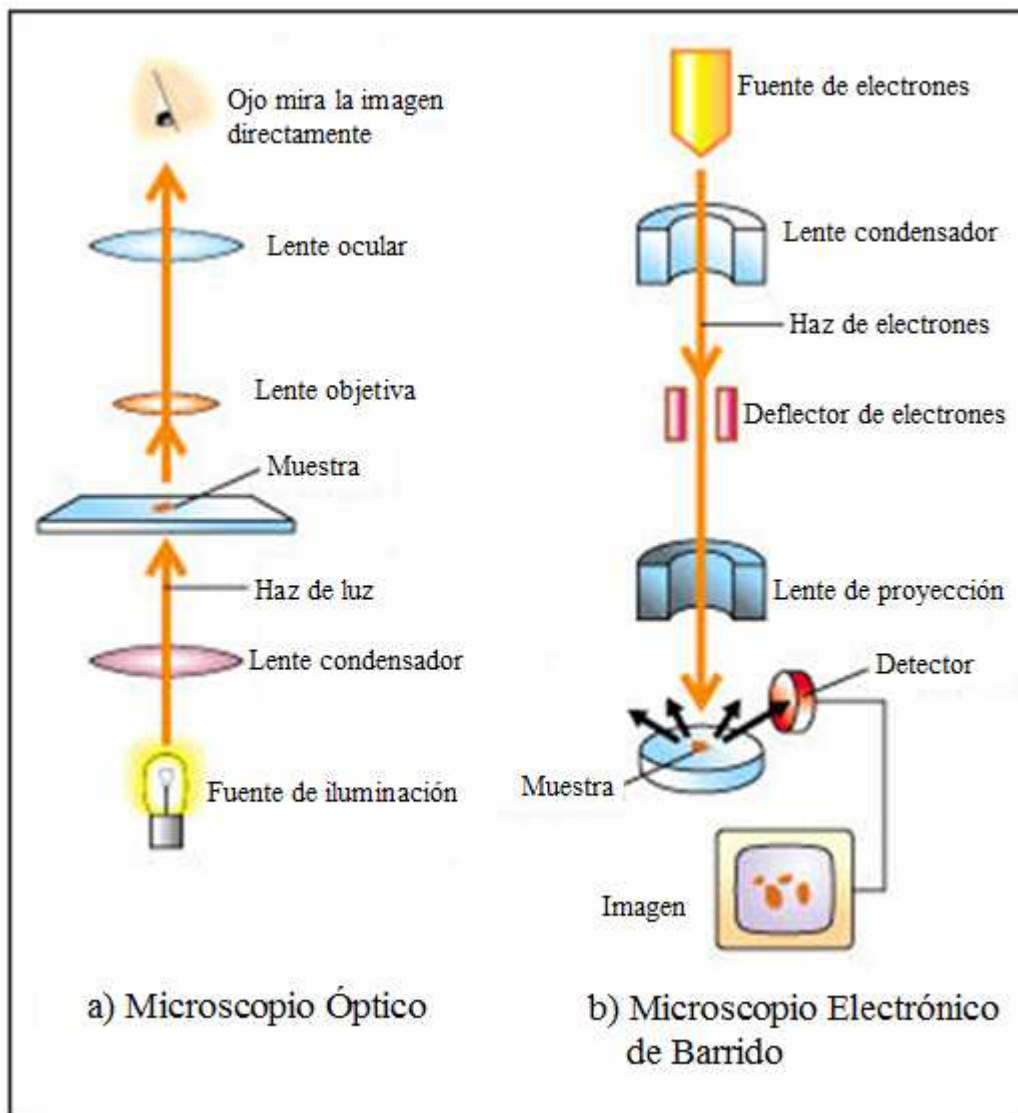


Figura 17. Esquema de un Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)

Esta técnica se basa en el hecho de barrer una muestra con un haz electrónico de sección transversal pequeña, y de alta energía, el cual al interactuar con dicha muestra genera una imagen, punto a punto en una pantalla de rayos catódicos.

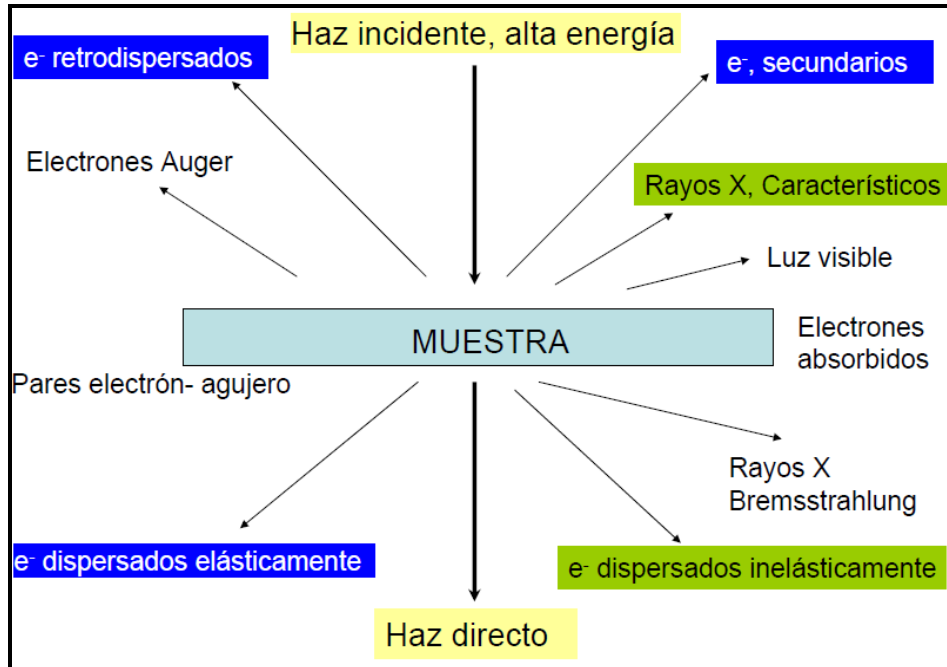


Figura 18. Esquema de las Principales Interacciones entre el haz electrónico y la muestra.

La incidencia del haz electrónico sobre el sólido puede generar varios procesos, los mismos que podemos observar esquemáticamente en la figura 18, todas estas señales pueden ser detectados y amplificados convenientemente con dispositivos adecuados en cada caso, provee de información importante acerca del material en estudio. La manera en que se forman las imágenes consiste en enfocar el haz sobre un área muy reducida de la muestra, y rastrear la superficie de la misma moviendo el haz. El generador de barrido hace lo mismo con el haz que se ve en la pantalla de rayos catódicos. Al detectar una intensidad promedio en cada punto, da una imagen de la muestra en la pantalla

3.8.4 Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

El éxito de la MFA es debido a su capacidad para alcanzar resolución atómica y simultáneamente medir la topografía y otras propiedades de los materiales. La MFA puede también ser usada en una enorme variedad de muestras, las cuales no necesitan

ser eléctricamente conductoras y pueden usarse en diferentes medios (gaseosos, líquidos y en el vacío).

El principio es muy simple. La imagen se obtiene a partir del registro de la deflexión de una punta metálica, debido a la repulsión de la nube electrónica entre el átomo en la punta de la sonda y los átomos de la superficie de estudio. De esta manera, este método puede generar una imagen de la topografía de materiales no conductores y componentes biológicos (células, tejidos, proteínas, etc.), así como brindar información acerca de la heterogeneidad química superficial. La resolución a escala atómica puede lograrse en un medio líquido o gaseoso tanto como en el vacío. Esto es de suma importancia para el análisis de sistemas biológicos en medios fisiológicos reproducibles, así también para el estudio de fenómenos de cristalización, disolución o corrosión de procesos previos de recubrimiento, teñidos, etc.

Las imágenes por MFA no producen daño a las muestras por radiación tal como se observa en el caso de análisis MEB de polímeros, los cuales sufren entrecruzamiento o corte de cadenas. Además esta técnica permite manipular las superficies, para crear estructuras moviendo átomo por átomo.

Independientemente de la interacción entre la punta metálica y la muestra, un Microscopio de Fuerza Atómica consiste básicamente de cinco componentes esenciales, tal como se puede apreciar en la figura 19.

- (i) Un sensor de fuerza, el cual es básicamente una punta delgadísima (menor a 10 nm de radio) montada sobre una viga muy sensible.
- (ii) Un sistema, el cual se encarga de mover la muestra o el sensor para analizar la superficie de la muestra.
- (iii) Un sensor, el cual detecta la deflexión de la viga; por ejemplo un sistema láser de deflexión o un sistema piezoresistivo.
- (iv) Un sistema de retroalimentación, el cual regula las fuerzas de interacción.
- (v) Controladores electrónicos, los cuales registran movimientos, controlan los circuitos de retroalimentación, y envían los datos de medidas al software de una computadora personal.

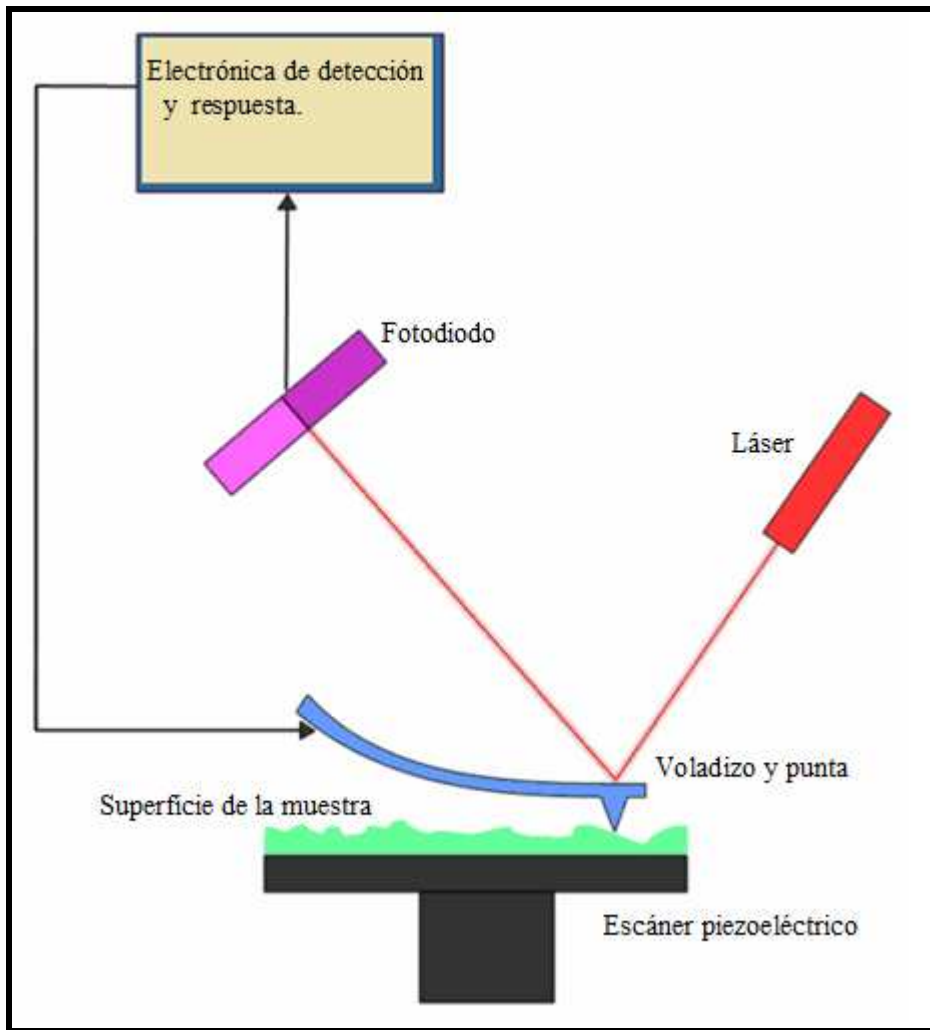


Figura 19. Esquema de un Microscopio de Fuerza Atómica (MFA)

El Microscopio de Fuerza Atómica puede operar en diferentes modos. Esto depende de la muestra y de la información que uno desee adquirir. La composición, geometría, química, elasticidad y topografía de la punta influenciará la medida en cada modo operacional. La magnitud de la fuerza depende de la geometría de la sonda, y es típicamente del orden de 100 nN, esta fuerza puede producir daño en muestras blandas. Las fuerzas que se detectan tienen una sensibilidad en el orden del piconewton ($1 \text{ pN} = 10^{-12} \text{ N}$). Los modos más comunes son: modo contacto, no contacto y modo dinámico.

El modo contacto, es el modo más básico. La punta está siempre en contacto con la muestra mientras escanea la muestra. Por lo tanto la deflexión de la viga y así la fuerza de integración es impuesta por el usuario (set point). El regulador de retroalimentación mantiene su “set point” moviendo el escáner en dirección vertical

a la muestra. Este movimiento generado por la regulación es luego plotada como topografía de la muestra.

El modo no contacto, en el cual la viga está oscilando a alta frecuencia (100 kHz – 1 Mhz) y a amplitud pequeña (menor a 1 nm). La punta es entonces escaneada a unos nanómetros sobre la superficie e idealmente nunca toca la superficie. Esta oscilación aumenta la sensibilidad de tal modo que aun la pequeña fuerza atractiva de Van der Waals puede ser detectada.

El modo dinámico, es probablemente el modo más usado en estos días. Al igual que en el modo contacto la viga se encuentra oscilando, pero con una amplitud mucho mayor. Aquí la punta toca la superficie periódicamente. El contacto con la superficie atenúa la amplitud de oscilación.

Como en el modo contacto, la meta es mantener la interacción tan pequeña como sea posible para evitar el daño o contaminación de la punta. La amplitud de oscilación es también un importante parámetro. Generalmente la amplitud de oscilación ha de estar en el orden de las características que han de ser observados. La resolución alcanzable en modo dinámico es comparable con el modo contacto con la muestra y la punta se daña menos.

El análisis morfológico superficial o topográfico de las nanofibras con plata obtenidos por la técnica Electrospinning fueron estudiados usando el equipo Nanosurf easyscan 2, a temperatura ambiente y presión atmosférica normal. La preparación de las muestras se hizo soportando las nanofibras polimericas sobre un sustrato de vidrio.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Fabricación de las Nanopartículas empleando al PVA como Estabilizador de Plata.

La solución transparente mostrada en la figura 20, corresponde a la solución acuosa de nitrato de plata antes de ser irradiada; y las demás corresponden a las mismas muestras después de ser irradiadas con diferentes dosis de radiación gamma. Las dosis respectivas (de izquierda a derecha), fueron: 5, 10, 15, 20, 25 y 30 kGy. Se observó un cambio en la coloración de las soluciones en función de la dosis de irradiación gamma. Inicialmente era transparente (sin ninguna irradiación), pasando por una coloración amarillo pálido (5 kGy) hasta un color marrón claro (30 kGy) [22, 23].



Figura 20. Fotografía de las soluciones coloidales de PVA/ plata fabricadas con diferentes Dosis de Radiación Gamma.

4.1.1 Caracterización del Coloide de Plata por Microscopía UV-Visible

Se evaluó los coloides de plata obtenidos utilizando una solución de nitrato de plata (AgNO_3) con concentración de 2×10^{-2} M, 0,5% en peso de PVA e isopropanol con una concentración de 0,2 M. Luego estas fueron sometidas a diferentes dosis de radiación gamma como parte del proceso radiolítico para fabricación de las nanopartículas de plata. Todas las muestras fueron diluidas de manera adecuada y a una misma razón, por lo que al observar los espectros UV-Visible obtenidos; podemos afirmar que la absorbancia de las nanopartículas aumenta con la dosis de irradiación gamma. Los análisis por Espectroscopía UV-Visible mostraron picos máximos de

absorción alrededor de 410 nm de longitud de onda [22] [24], tal como se muestra en la figura 21.

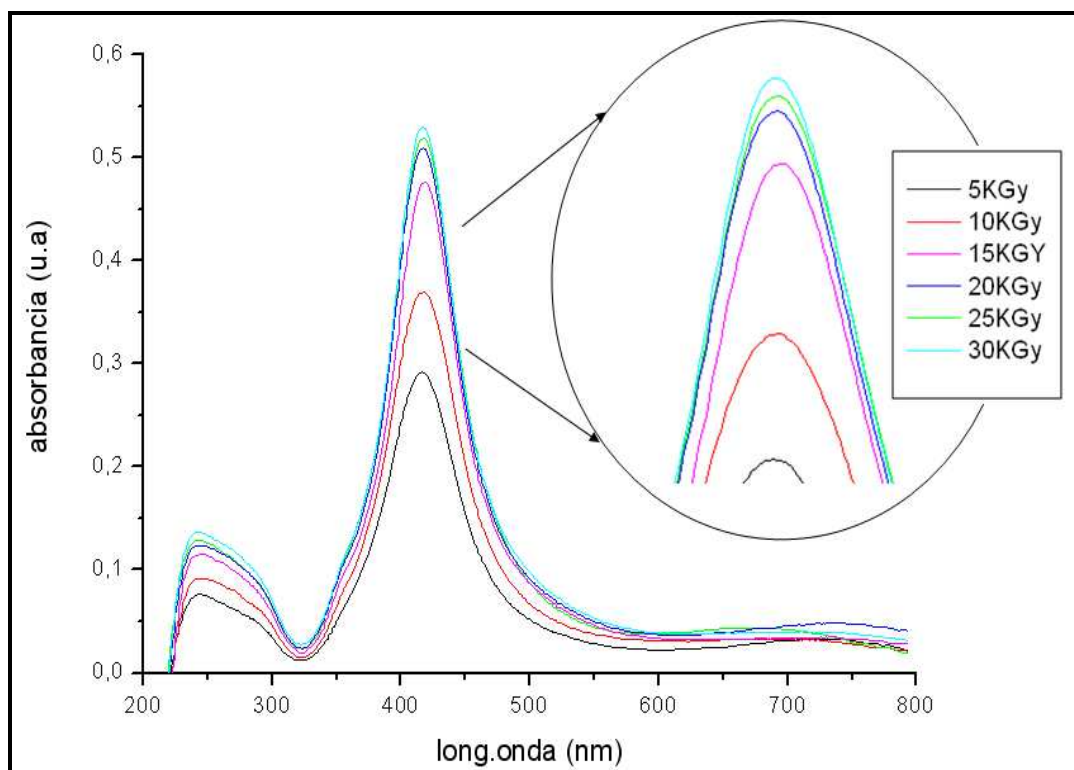


Figura 21. Espectroscopía Uv-visible de los coloides de plata fabricados por la técnica radiolítica a diferentes Dosis de Radiación Gamma, con una concentración de nitrato de plata de $2 \times 10^{-2} M$ y 0,5% en peso de PVA.

En la figura 22 se tiene una gráfica que muestra el comportamiento de la absorbancia de las nanopartículas de plata en función de la dosis de irradiación gamma. Se puede observar que conforme uno aumenta la dosis de irradiación gamma la absorbancia también aumenta. El aumento en la absorbancia es significativo hasta llegar a la dosis de 20 kGy de irradiación gamma, para dosis mayores a este valor el incremento en la absorbancia es mínimo. El aumento en la absorbancia está relacionado al aumento de la concentración de las nanopartículas de plata cuando se incrementa la dosis de radiación gamma según la Ley de Lambert-Beer.

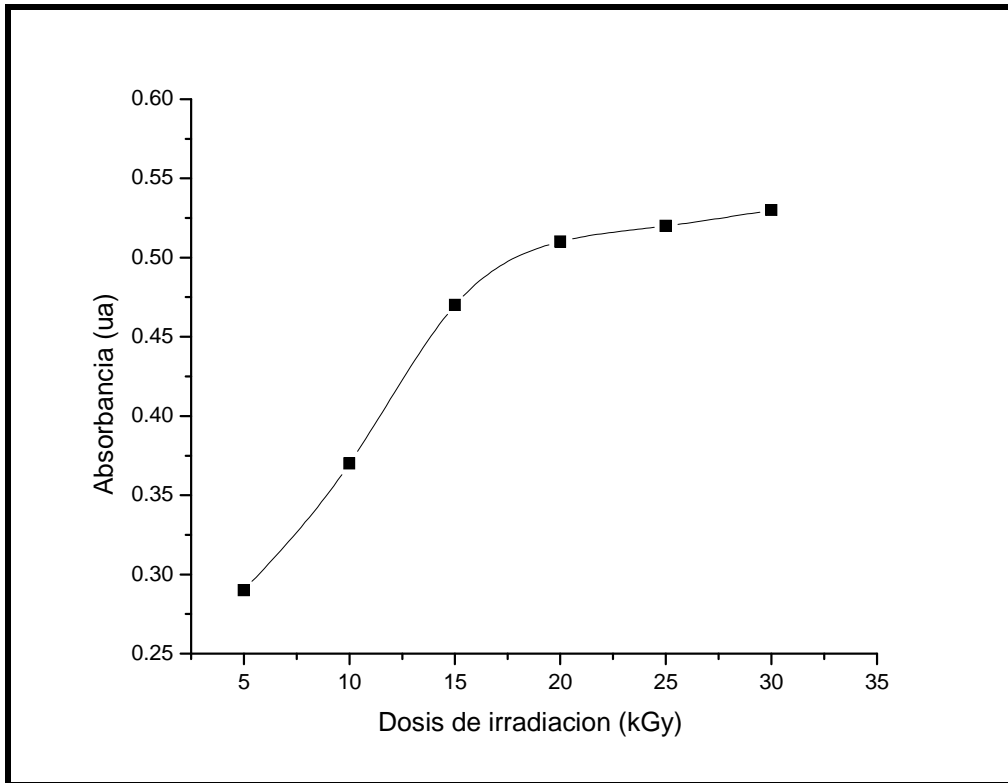


Figura 22. Absorbancia máxima del coloide de plata (aprox. $\lambda = 410$ nm), en función de la Dosis de irradiación.

4.1.2 Caracterización del Coloide de Plata por Microscopía Electrónica de Transmisión.

La caracterización de las nanopartículas de plata se llevó a cabo utilizando un Microscopio Electrónico de Transmisión. En las figuras 23, 24 y 25 se muestran las micrografías MET de las nanopartículas fabricadas con 5, 15 y 25 kGy de dosis de irradiación gamma respectivamente, en la que se puede apreciar que las dimensiones de las nanopartículas están en el rango nanométrico, mayoritariamente con una geometría esférica.

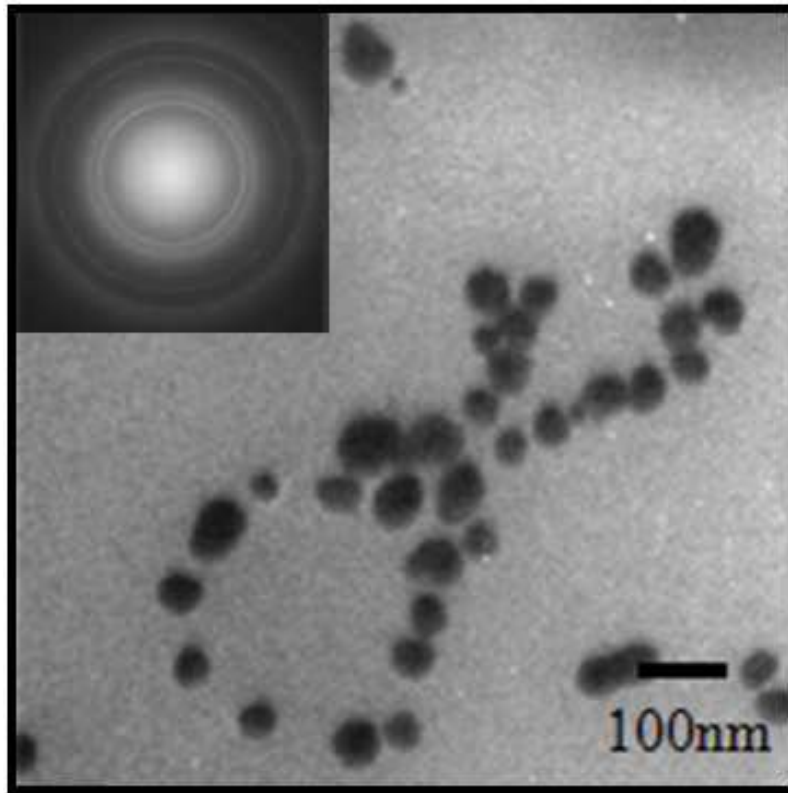


Figura 23. Micrografías MET y difracción de electrones de Nanopartículas de plata irradiadas con una dosis de 5 kGy.

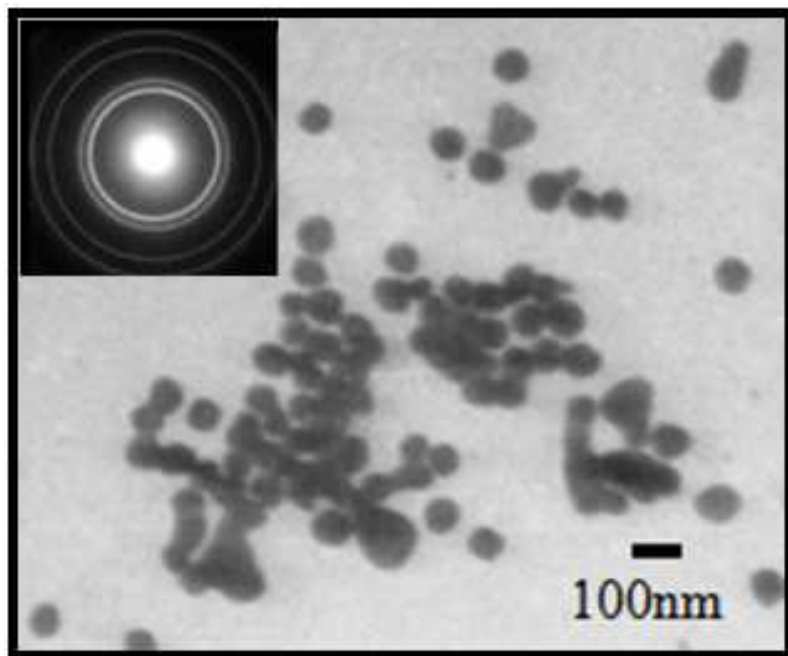


Figura 24. Micrografías MET y difracción de electrones de Nanopartículas de plata irradiadas con una dosis de 15 kGy.

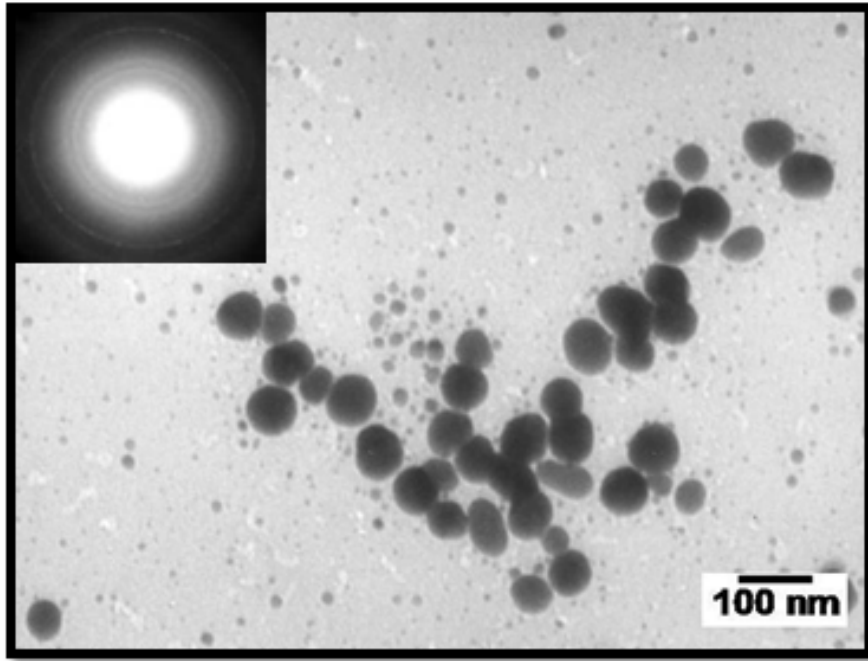


Figura 25. Micrografías MET y difracción de electrones de Nanopartículas de plata irradiadas con una dosis de 25 kGy.

4.1.3 Distribución de Diámetros de las Nanopartículas de Plata fabricadas con Diferentes Dosis de radiación Gamma.

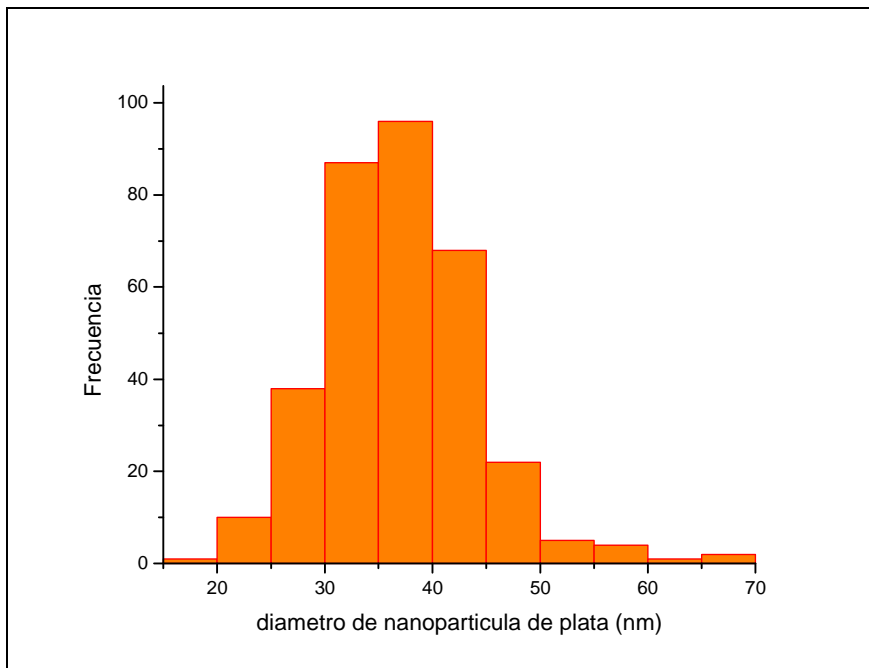


Figura 26. Histograma de distribución de diámetros de las nanopartículas de plata fabricadas con una dosis de 5 kGy.

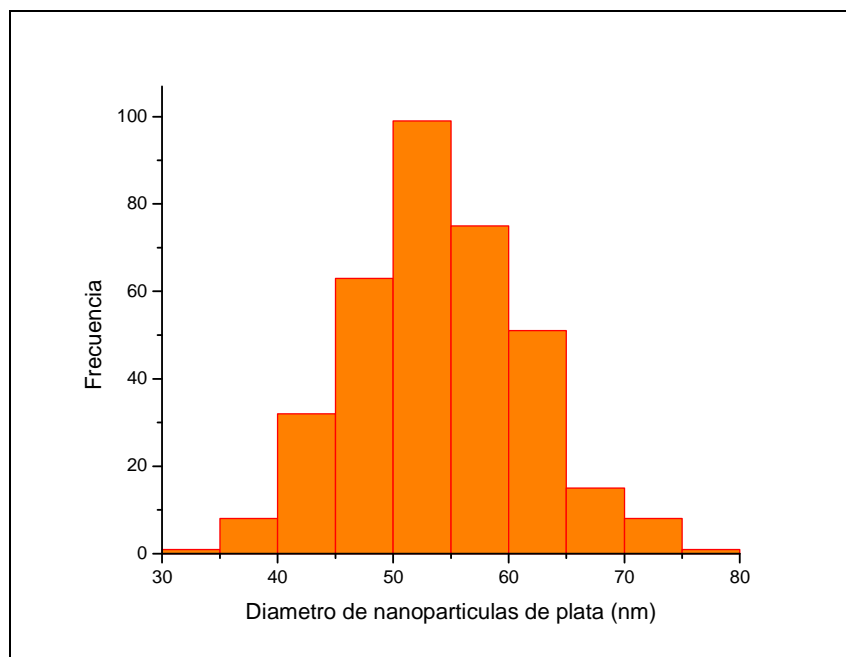


Figura 27. Histograma de distribución de diámetros de las nanopartículas de plata fabricadas con una dosis de 20 kGy.

Al comparar los dos histogramas de las figuras 26 y 27 se puede apreciar que hay una tendencia al aumento del diámetro promedio de las nanopartículas de plata cuando se incrementa la dosis de irradiación gamma, observándose que para una dosis de 5 kGy el diámetro oscila alrededor de 35 nm y para una dosis de 20 kGy el diámetro oscila alrededor de 50 nm.

4.2 Fabricación de las Nanofibras de PVA y del Compósito PVA/Plata.

Se fabricaron las nanofibras de PVA y PVA / plata por la técnica Electrospinning, depositándose estas nanofibras sobre diferentes sustratos para su posterior caracterización. En la figura 28, se muestra una fotografía de las nanofibras recolectadas sobre sustratos de vidrio, el lado izquierdo representa las fibras de PVA (blanco), y el lado derecho representa las fibras de PVA/ Plata (color amarillo).

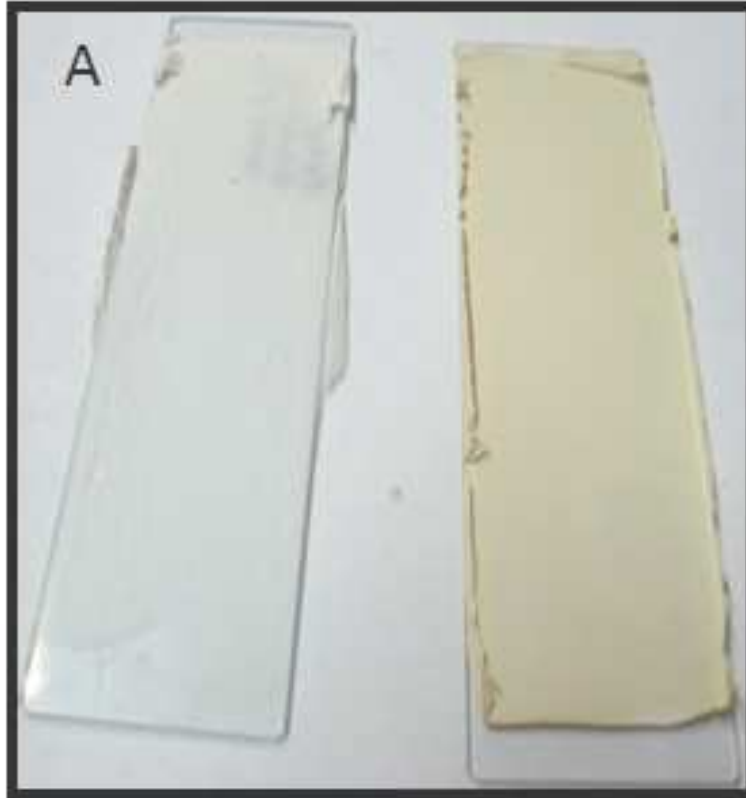


Figura 28. Fotografía de las nanofibras de PVA sin plata (blanco) y PVA/ plata (amarillo), depositadas sobre sustratos de vidrio.

4.2.1 Caracterización de las Nanofibras de PVA y PVA / Plata por Microscopio Electrónico de Transmisión.

Las fibras de PVA y PVA/ Plata, se recolectaron sobre las rejillas de cobre del Microscopio Electrónico de Transmisión (TEM), colocándolas a una cierta distancia sobre el colector metálico, manteniendo los otros parámetros constantes como son: la presión, el alto voltaje y concentración de la solución. En la figura 29, se muestran las micrografías TEM de las nanofibras de Alcohol Polivinílico (PVA) para una concentración de 10% en peso. Se puede apreciar los defectos en las fibras (beads) debido a que la concentración del polímero no es la adecuada para la fabricación de las fibras libre de defectos.

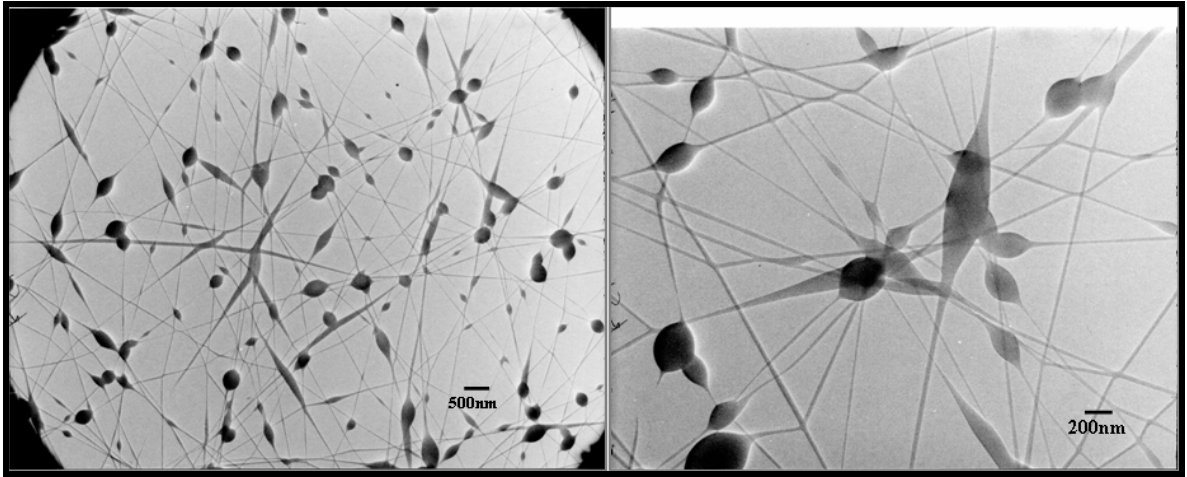


Figura 29. Micrografías TEM de las Nanofibras de PVA fabricadas por la técnica Electrospinning para valores de concentración alrededor de 10% en peso.

La figura 30, muestra las micrografías TEM de las nanofibras poliméricas obtenidas variando la concentración del polímero desde 10 % en peso hasta 15 % en peso. Se puede apreciar que hubo una disminución de los defectos en las fibras conforme se aumentó la concentración de la solución polimérica.

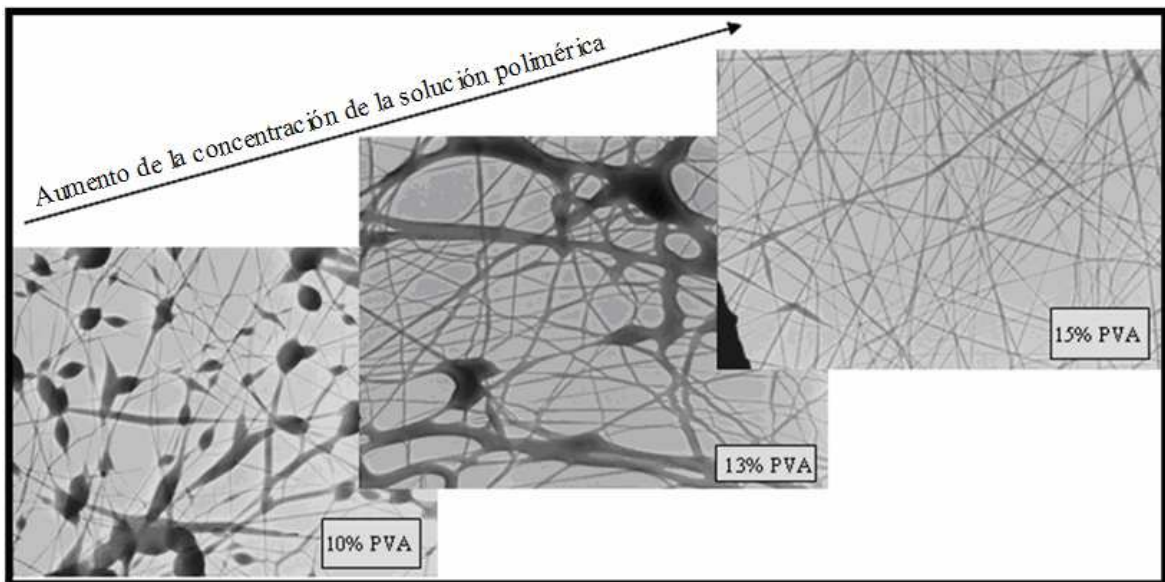


Figura 30. Micrografía TEM de las nanofibras de PVA variando la concentración de la solución polimérica.

La figura 31, muestra las micrografías TEM de las fibras de PVA y PVA/ plata fabricadas con una dosis de 25 kGy. Se puede apreciar que las fibras de compuesto PVA/ plata tienen menor diámetro que las fibras de PVA.

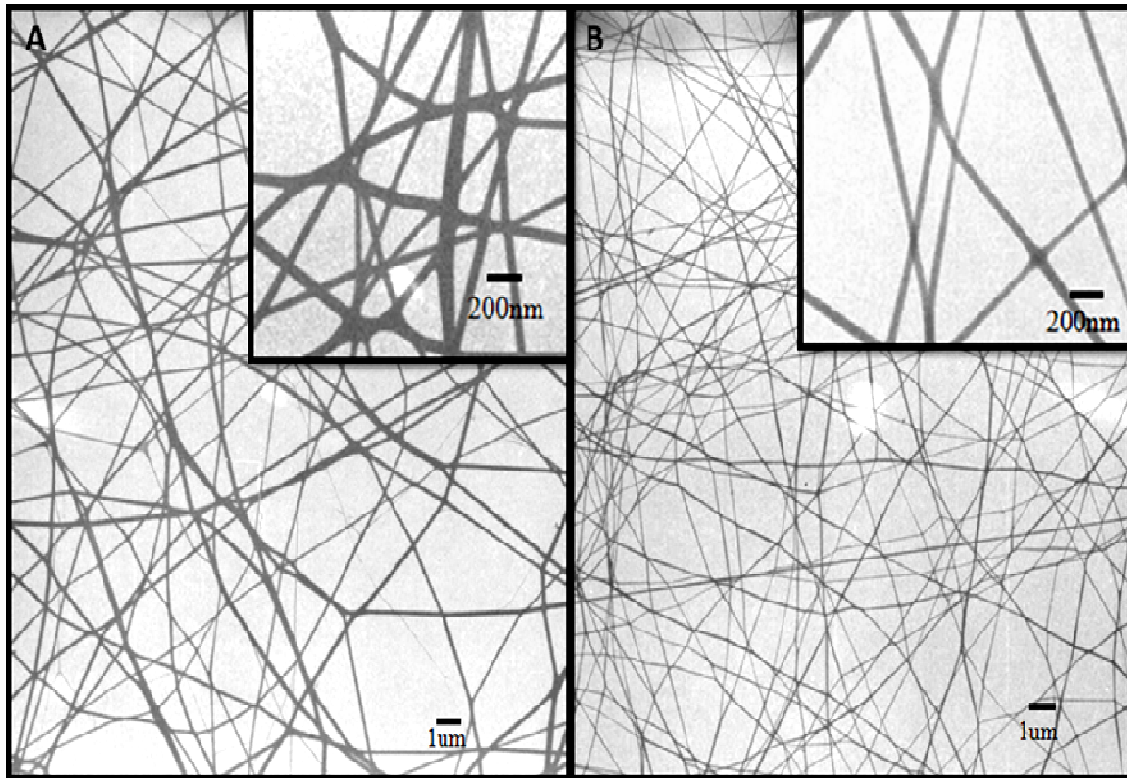


Figura 31. Micrografías TEM de nanofibras. A) PVA puro y B) Compósito PVA/ plata irradiado a 25KGy, ambas fabricadas por la técnica Electrospinning.

4.2.2 Caracterización de las Nanofibras de Alcohol Polivinílico Conteniendo Nanopartículas de Plata por Microscopía Electrónica de Barrido.

La figura 32, muestra las micrografías MEB de las nanofibras de PVA fabricadas por la técnica Electrospinning, en la que se aprecia la morfología superficial y dimensiones de las mismas. La concentración utilizada fue de 16% en peso y se observa que las fibras no presentan defectos y las dimensiones (diámetro) se encuentra en el rango nanométrico.

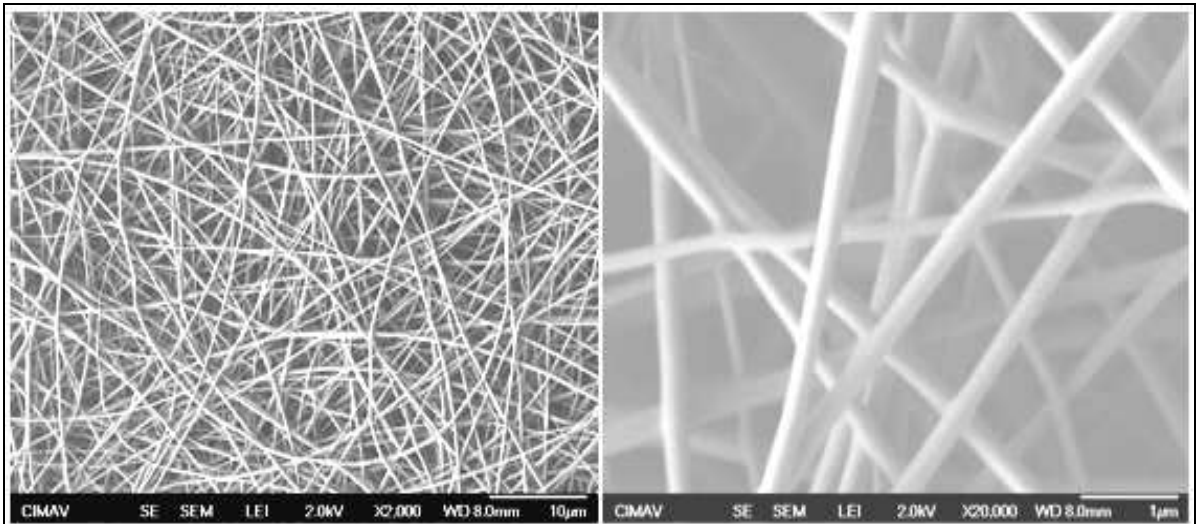


Figura 32. Micrografías MEB de las nanofibras de Alcohol Polivinílico conteniendo nanopartículas de plata.

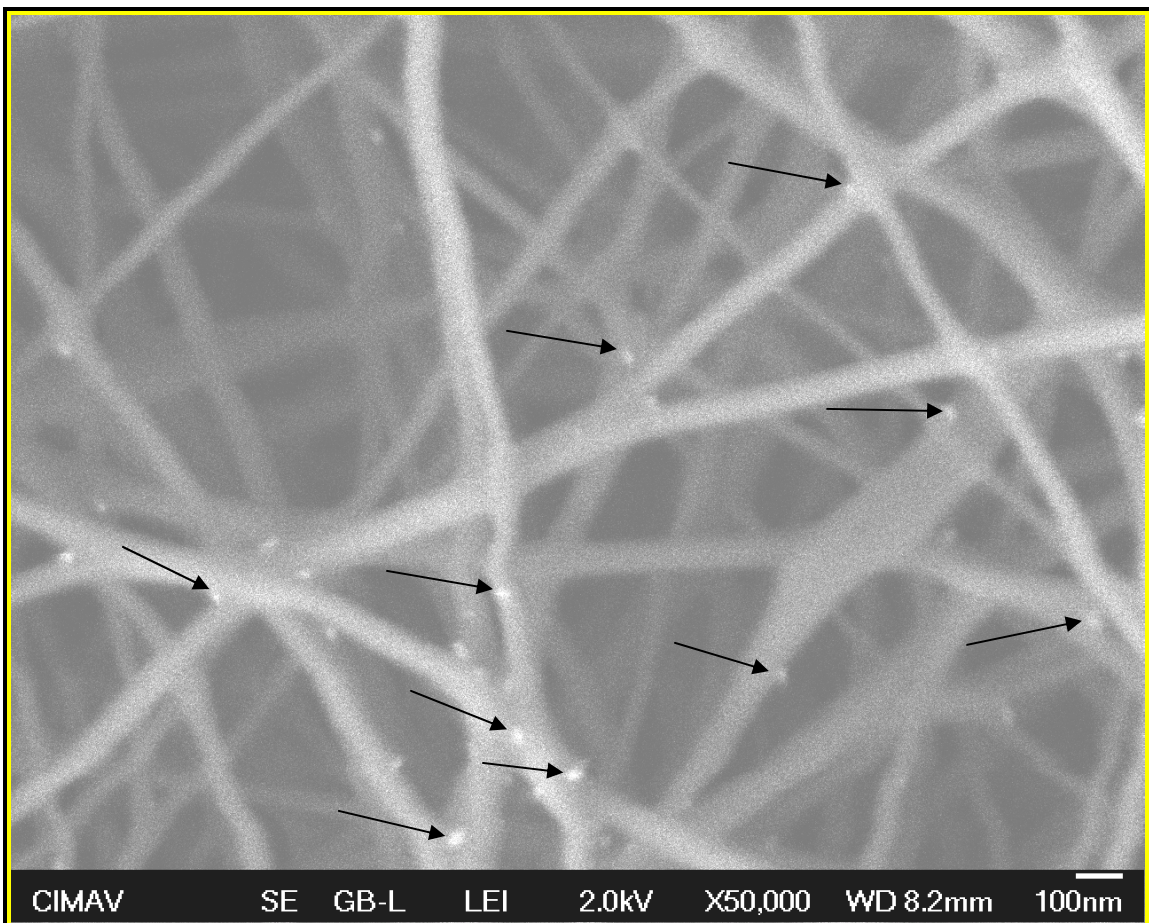


Figura 33. Micrografías MEB de nanofibras de la solución polimérica (PVA) conteniendo nanopartículas de plata.

La figura 33, muestra las micrografías MEB de las nanofibras con plata, se puede apreciar que las nanopartículas de plata están incrustadas en las fibras poliméricas (puntos blancos) de manera aleatoria en todo el volumen de la muestra seleccionada, asimismo se puede apreciar que el tamaño de estas nanopartículas presentes en las nanofibras han disminuido en comparación con el diámetro de las nanopartículas coloidales obtenidas directamente por el método radiolítico.

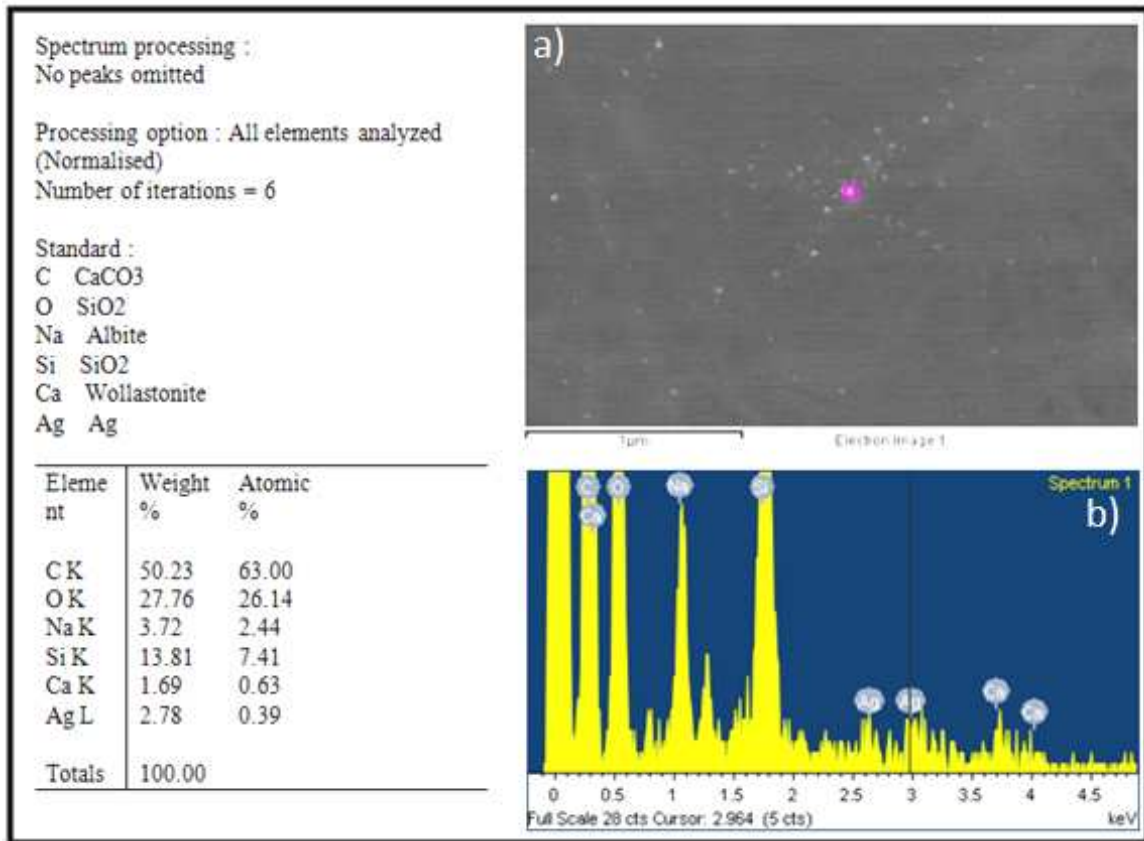


Figura 34. Micrografías MEB y análisis EDS de las nanofibras de PVA conteniendo nanopartículas de plata.

La figura 34 muestra las micrografías MEB y análisis EDS (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy) para la identificación de los elementos presentes en la muestra (nanofibra). Como resultado de este análisis se encontró que las fibras poliméricas contienen nanopartículas de plata.

4.2.3 Caracterización de las Nanofibras de Alcohol Polivinílico por Microscopía de Fuerza Atómica (MFA)

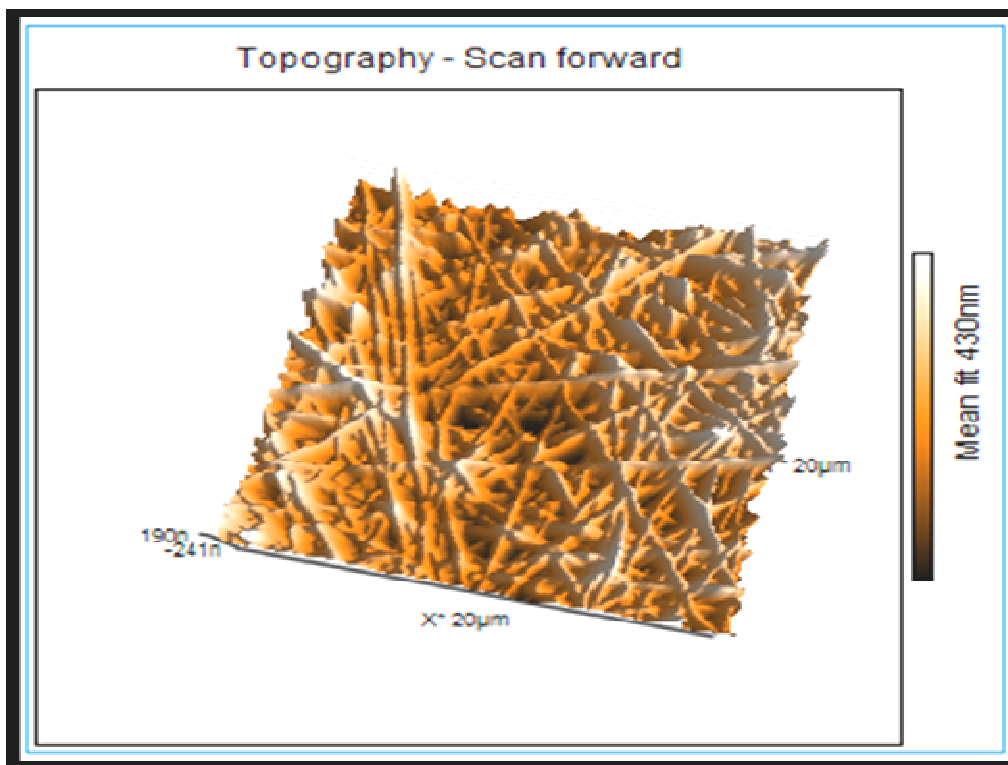
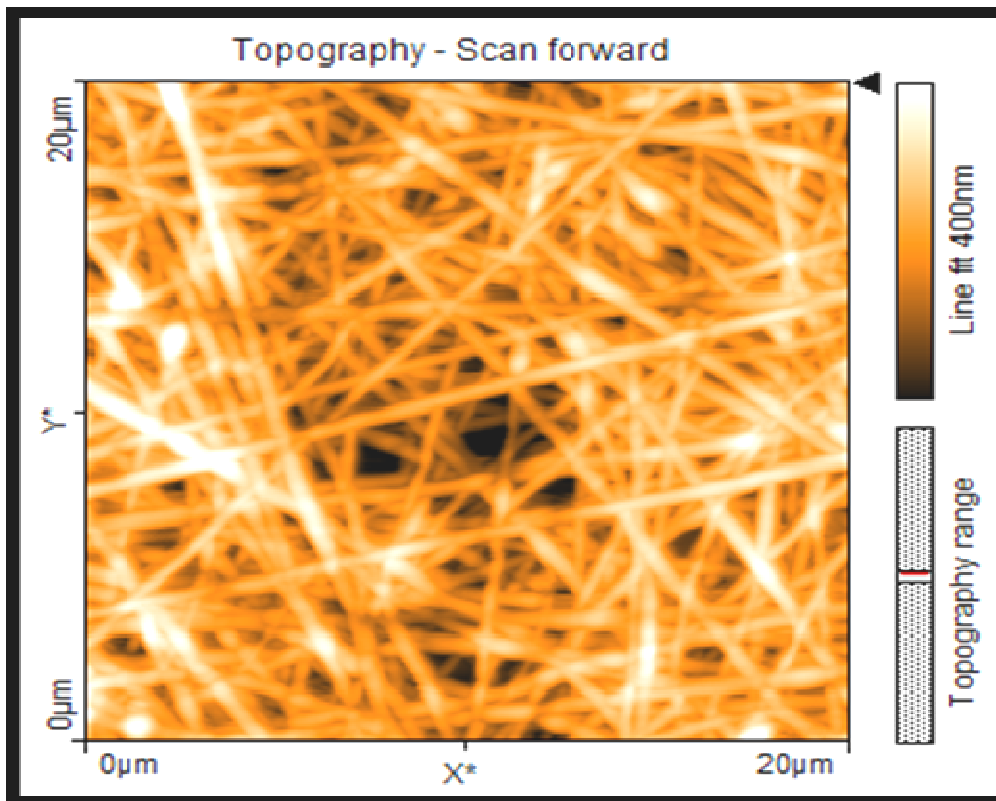


Figura 35. Micrografías AFM de las nanofibras poliméricas fabricadas por Electrospinning.

4.3 Distribución de Diámetros de las Fibras de PVA y PVA / Plata irradiadas a diferentes Dosis de Radiación Gamma.

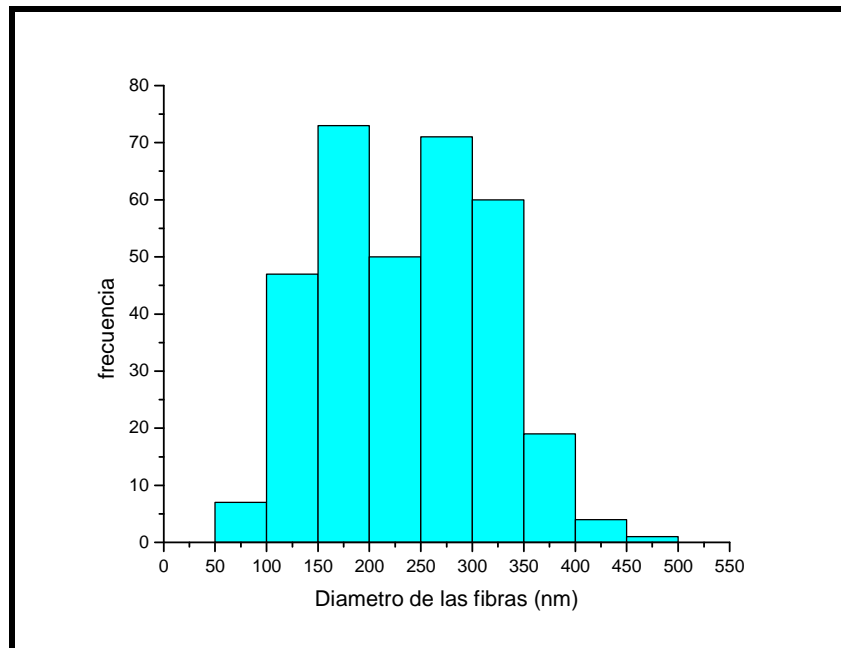


Figura 36. Histograma de distribución de diámetros de nanofibras de PVA sin plata a 0 kGy.

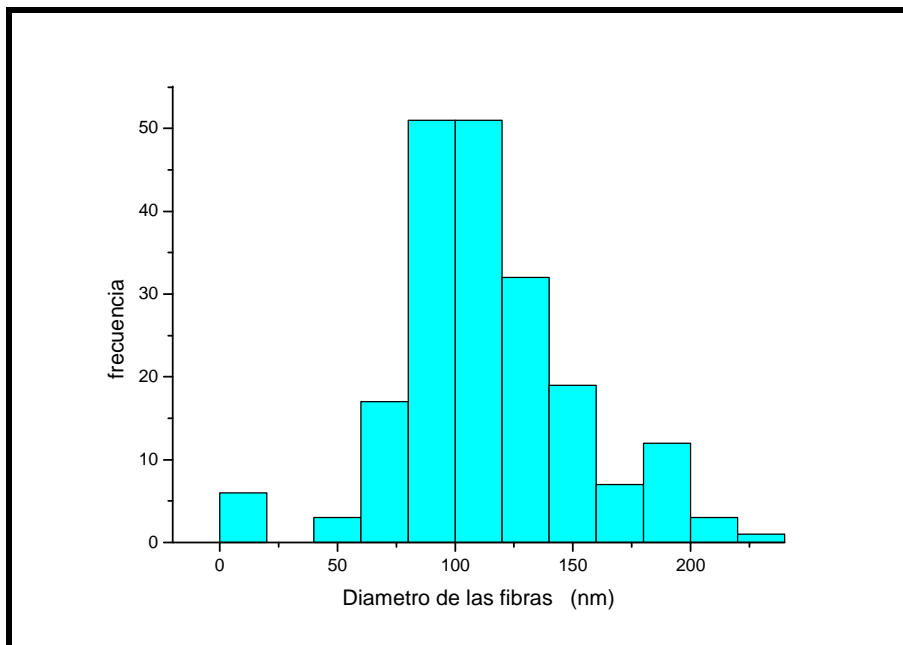


Figura 37. Histograma de distribución de diámetros de nanofibras de PVA/ plata fabricadas con una dosis de 10 kGy de radiación gamma.

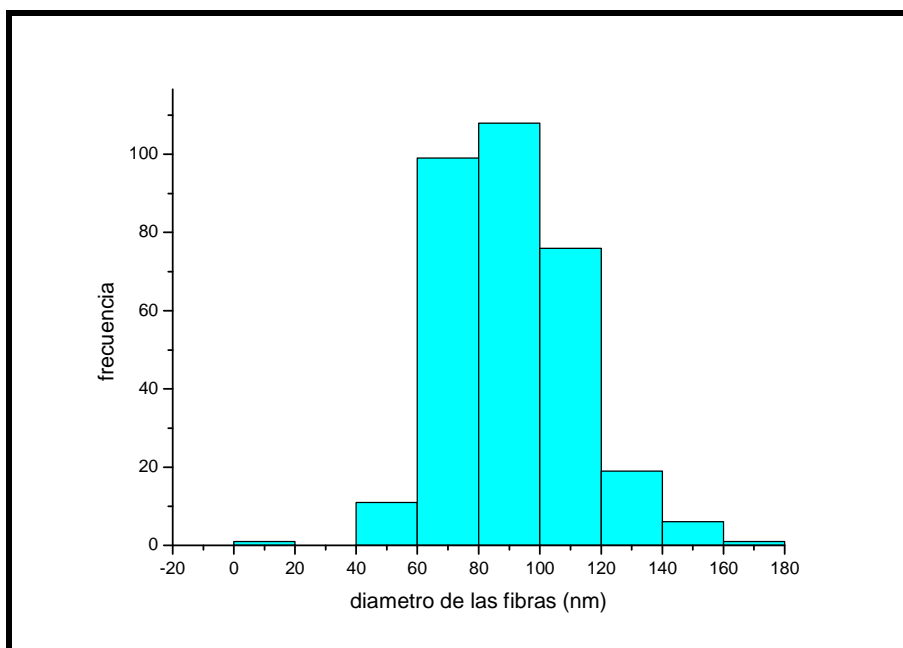


Figura 38. Histograma de distribución de diámetros de nanofibras de PVA/ plata fabricadas con una dosis de 20 kGy de radiación gamma.

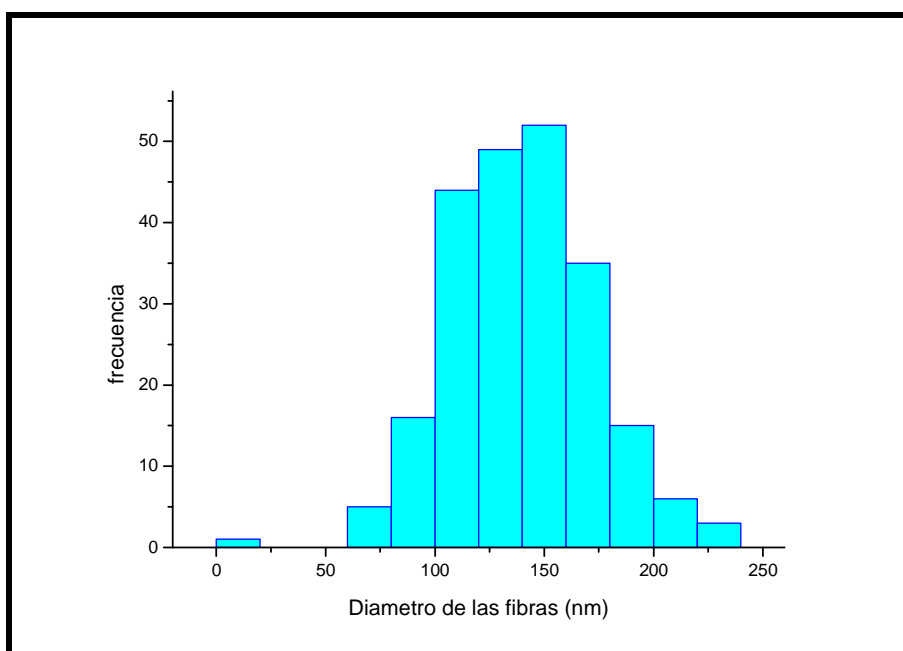


Figura 39. Histograma de distribución de diámetros de nanofibras de PVA/ plata fabricadas con una dosis de 30 kGy de radiación gamma.

Las figuras 36, 37, 38 y 39, muestran los histogramas de las distribuciones de los diámetros de las nanofibras para las dosis de 0, 10, 20 y 30 kGy de radiación gamma.

En la figura 40 se tiene una grafica que muestra el comportamiento del diámetro de la fibra en función de la dosis de irradiación gamma, en ella se observa que el diámetro promedio de las fibras, disminuye desde 240 nm (0 kGy) hasta 80 nm (20 kGy), luego del cual aumenta.

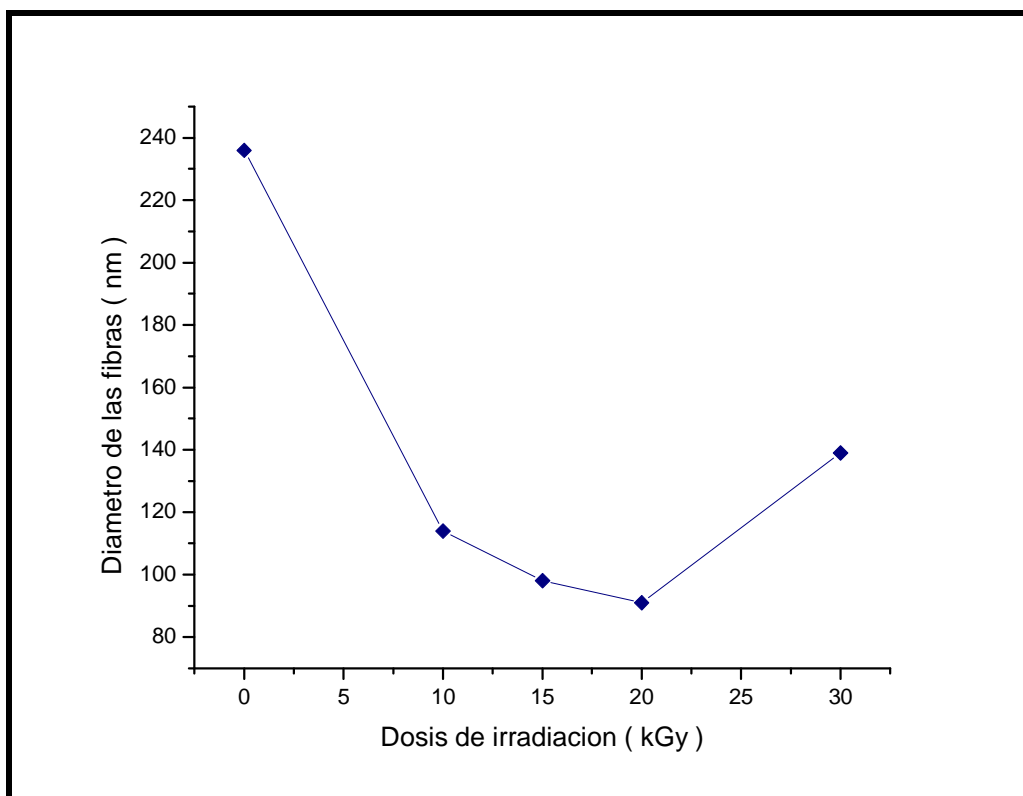


Figura 40. Gráfico del diámetro de las fibras en función de la Dosis de irradiación gamma.

4.4 Efecto de la Dosis de Irradiación Gamma en la Formación de Nanopartículas de Plata.

El tamaño y la concentración de las nanopartículas de plata resultaron ser dependientes de la dosis de irradiación gamma, así mismo, se observaron que los picos máximos de absorción oscilan alrededor de 410 nm para todas las dosis de irradiación gamma (no se observaron corrimientos de los picos de absorción). Al observar los espectros UV-visible obtenidos para los coloides de plata, y teniendo en cuenta la ecuación de Lambert-Beer, la cual relaciona la concentración con la absorbancia y vemos que son directamente proporcionales, y teniendo en cuenta el espectro UV-visible de los

coloides de plata se puede deducir que la concentración de las nanopartículas es directamente proporcional a la absorbancia. Las imágenes MET de las nanopartículas obtenidas, muestran partículas de tamaños muy dispersos, oscilando en tamaño desde 30 nm a 80 nm aproximadamente, y en su mayoría, estas nanopartículas tienen forma esférica.

4.5 Efecto de Dosis de Irradiación Gamma en la Formación de las Nanofibras.

En esta parte se estudiaron dos casos, una en el hall del reactor nuclear y la otra en el Gammacell.

4.5.1 Efecto de la Dosis de Irradiación Gamma sobre las Nanofibras en el Hall del Reactor Nuclear.

Las pruebas de entrecruzamiento de las fibras de PVA hechas en el hall del reactor RP-10 mostraron una ligera resistencia al agua a temperatura ambiente, pero fueron fácilmente disueltas en agua a una temperatura de 40°C. No se obtuvo un entrecruzamiento óptimo entre las cadenas poliméricas de las nanofibras, las razones principales son: la baja dosis de exposición gamma y además debido a la presencia de los neutrones térmicos que interaccionan con el polímero, haciendo que estas se degraden. La dosis que produce el reactor cuando trabaja a una potencia de 300 kW es demasiado baja como para producir el entrecruzamiento entre las cadenas de alcohol polivinílico, ya que en base a experiencias reportadas con anterioridad [6], podemos indicar que el entrecruzamiento de las nanofibras ocurre para dosis mayores a 5 kGy.

4.5.2 Efecto de la Dosis de irradiación Gamma sobre las Nanofibras en el Gammacell.

Se probó la existencia del entrecruzamiento entre las cadenas poliméricas de las nanofibras de PVA en el Gammacell. Este entrecruzamiento resulto ser más eficiente en comparación con las nanofibras de PVA irradiadas en el hall del reactor. Estas fibras ofrecieron una mayor resistencia a la disolución en el agua, a un rango de temperatura entre 20 °C y 65 °C, llegando a disolverse completamente en el agua a una temperatura de 75 °C, en un tiempo de 3 h tal como se puede observar en la figura 41.



Figura 41. Fibras de PVA irradiadas en Gammacell.

En la figura 42 se muestra dos micrografías TEM, en donde se puede observar que hubo un cambio en la morfología de las nanofibras cuando estas fueron irradiadas con una alta dosis de radiación gamma (100 kGy).

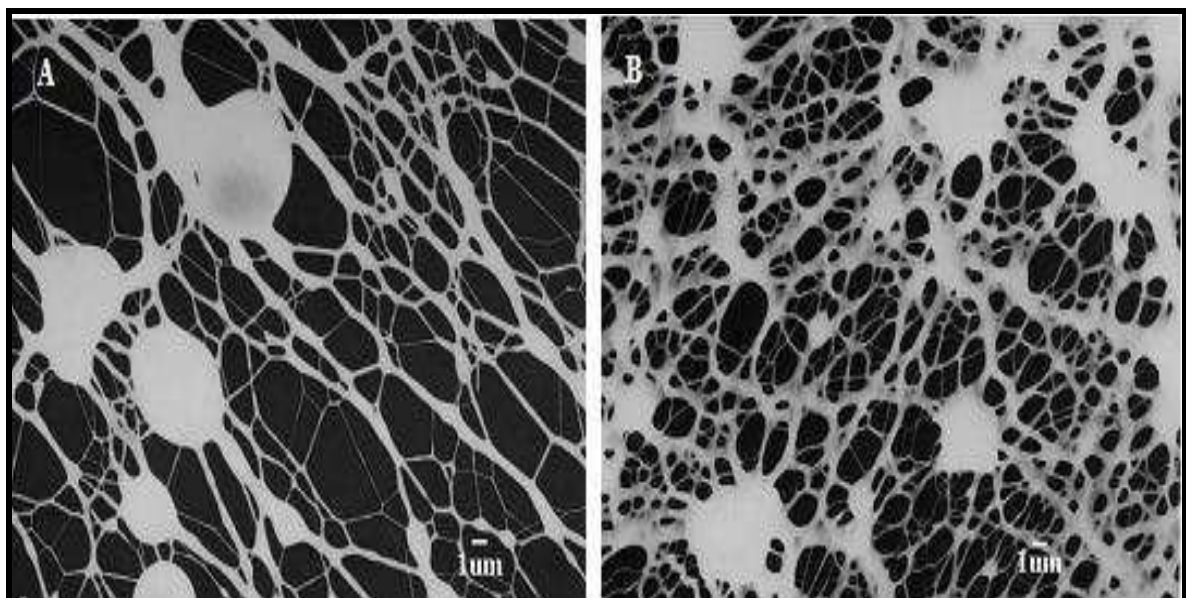


Figura 42. Micrografías TEM de las nanofibras del compuesto PVA/ plata irradiado con gamma con una dosis de 100 kGy.

4.6 Evaluación de la Actividad Antibacteriana de las Nanofibras PVA/ Plata.

En la figura 43, se muestra la actividad antibacteriana de las fibras de PVA con plata sin ninguna irradiación y las fibras PVA con plata, luego de ser irradiado en el Gammacell con una dosis de 15 kGy. En esta gráfica, se observa que las nanofibras con plata irradiadas, tienen una mayor eficiencia en la eliminación de bacterias, en comparación con las nanofibras con plata sin ninguna irradiación.

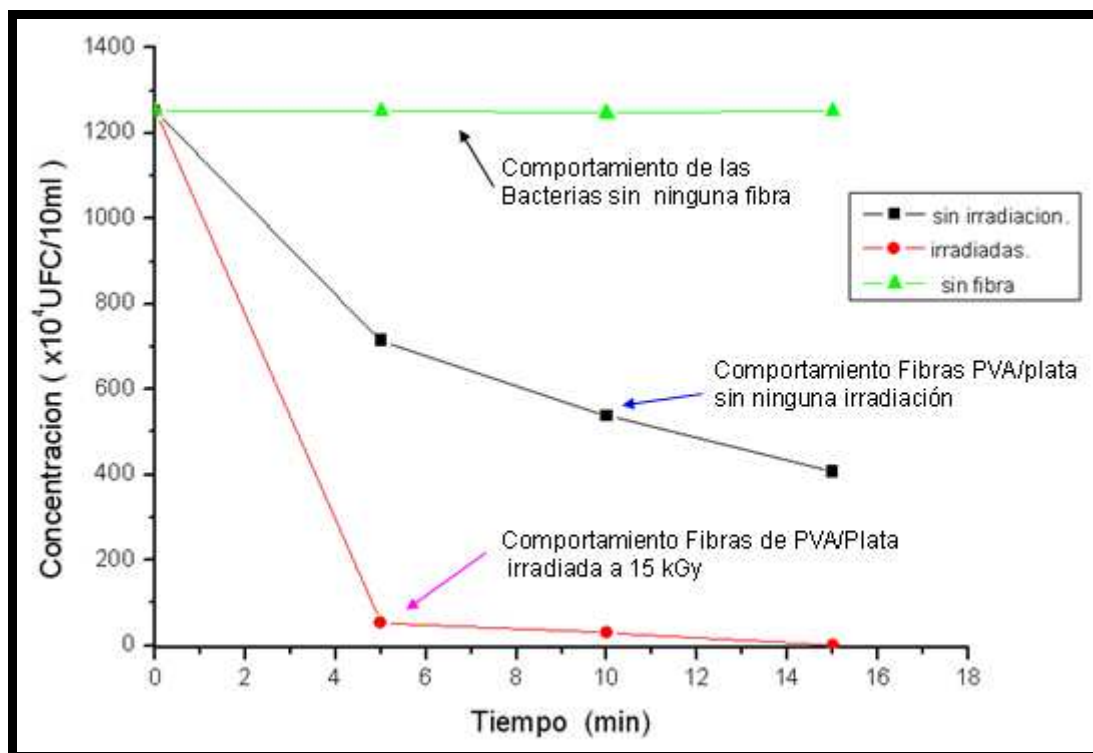


Figura 43. Gráfica de la concentración versus el tiempo del efecto bactericida de las fibras de plata.

En la figura 44, se muestra una fotografía de la actividad antibacteriana por el Método de Difusión en Agar de las nanofibras de PVA con plata, en la cual, se observa que el halo de inhibición de las fibras con plata irradiadas “figura c” tiene mayor radio que las fibras con plata sin radiación “figura b” y esta a su vez tiene mayor radio que la del halo del coloide de plata sin fibra “figura a” [25] [28].

Para las nanofibras poliméricas con plata se observa que la dosis de irradiación gamma mejora las propiedades antibacterianas [25, 26, 27].

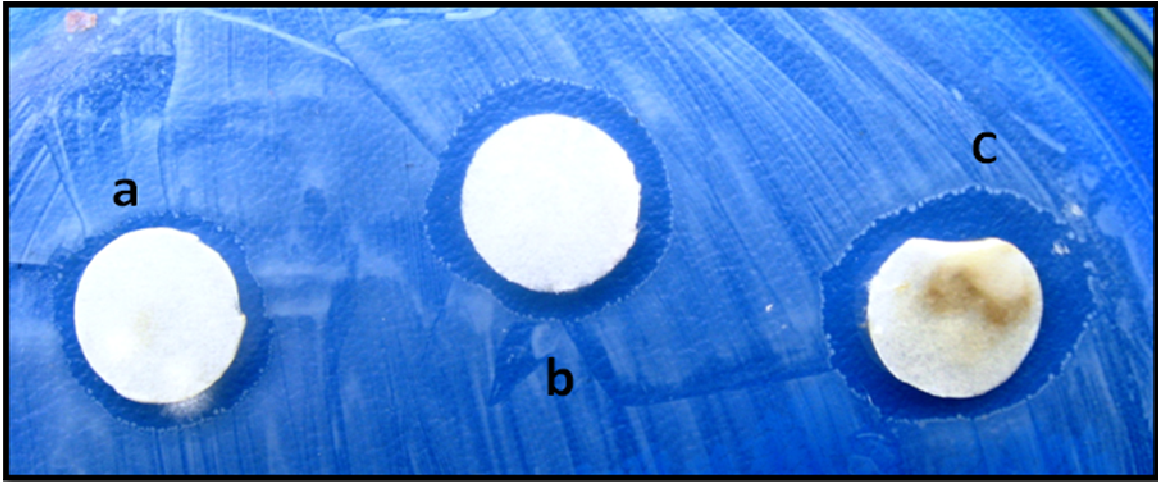


Figura 44. Fotografía de la actividad antibacteriana por el Método de Difusión en Agar. a) Nanofibras con plata sin radiación, b) coloide de plata y c) nanofibras con plata irradiadas con radiación gamma con una dosis de 15 kGy.

5. OBSERVACIONES Y CONCLUSIONES

Las nanopartículas de plata fabricadas con la técnica Radiolítica resultaron tener tamaños en el rango nanométrico (menores a 100 nm), tal como se muestra en el histograma de diámetros. Estas nanopartículas variaron su diámetro promedio según la dosis de radiación gamma; para una dosis de 5 kGy el tamaño promedio de la nanopartícula resultó alrededor de 35 nm y para una dosis de 20 kGy el tamaño resultó alrededor de 50 nm.

Hubo un cambio en la coloración de los coloides de plata en función de la dosis irradiación gamma, partiendo inicialmente de incoloro (sin irradiar), seguido de amarillo pálido hasta alcanzar un color marrón claro. Asimismo, Analizando los espectros UV-visible del coloide de plata se verificó que, un incremento en la dosis de radiación gamma, da como resultado un incremento en la concentración de las nanopartículas de plata de manera significativa, pero hasta un cierto valor de la dosis de radiación (20 kGy aproximadamente) y para mayores dosis de radiación gamma el incremento de la concentración de las nanopartículas resultó ser pequeño.

Se comprobó que la concentración de la solución polimérica es un parámetro importante a ser controlado, debido a que, solo en ciertos intervalos de concentración se pudo fabricar las nanofibras poliméricas libre de defectos.

EL Gammacell resultó tener mayor eficiencia en el entrecruzamiento de las cadenas poliméricas de las nanofibras por ende una mayor resistencia a la disolución en agua, en comparación con el hall del reactor.

Por medio del microscopio electrónico de transmisión se verificó que las nanopartículas de plata están incrustadas en las fibras poliméricas. Asimismo, por la técnica EDS se identificó la plata presente en las nanofibras.

En la degradación de la bacteria E.coli en agua, se comprobó que las nanofibras con plata irradiadas a 15 kGy tienen un mayor efecto bactericida que las mismas nanofibras sin ninguna irradiación, esto parece estar relacionado con la reducción del diámetro de las fibras observadas, cuando estas son irradiadas con gamma. Probablemente se deba a una mayor población de nanopartículas de plata en la superficie de las nanofibras.

Las nanofibras con plata previamente irradiadas con gamma, resultaron ser más eficientes en la degradación de bacterias, eliminando el 100% de las bacterias en 15 min; mientras que, las nanofibras con plata sin irradiación eliminaron casi el 70% de la concentración inicial de bacterias en el mismo tiempo.

La prueba de sensibilidad bacteriana de difusión en Agar mostró que el diámetro del halo fue mayor para las nanofibras con plata que han sido irradiadas con gamma, con respecto a las mismas muestras sin ninguna irradiación, comprobando que las nanofibras de plata irradiadas con radiación gamma tienen un mayor efecto bactericida. Y finalmente podemos manifestar que se han fabricado nanopartículas de plata por el método radiolítico, y se ha insertado las mismas en las nanofibras de PVA por la técnica Electrospinning. Por último, se ha demostrado que estas fibras con plata presentan un efecto bactericida.

6. ANEXOS

Anexo 1 Micrografías MEB correspondientes a los histogramas de las nanofibras.

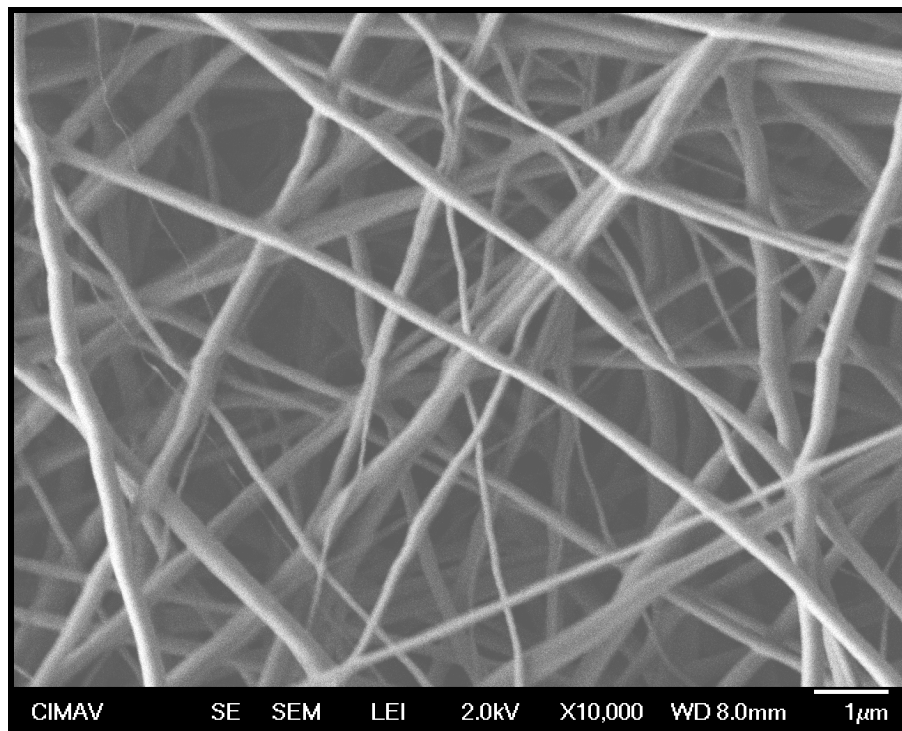


Figura 44. Micrografías MEB de las fibras de PVA sin plata y sin irradiación gamma

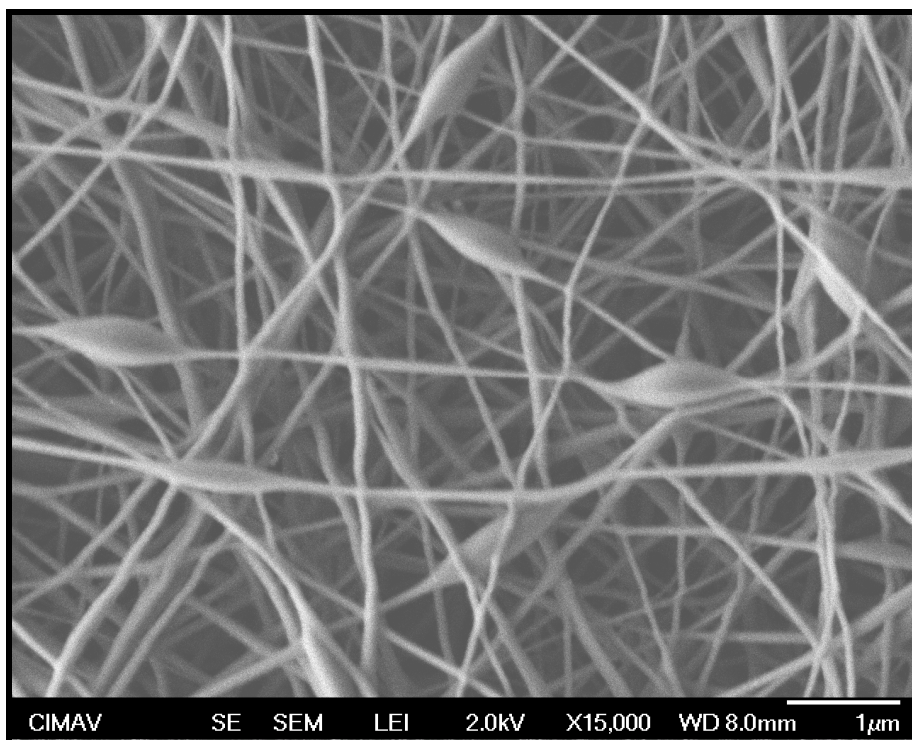


Figura 45. Micrografías MEB de las nanofibras de PVA con plata fabricada a una dosis de 10 kGy

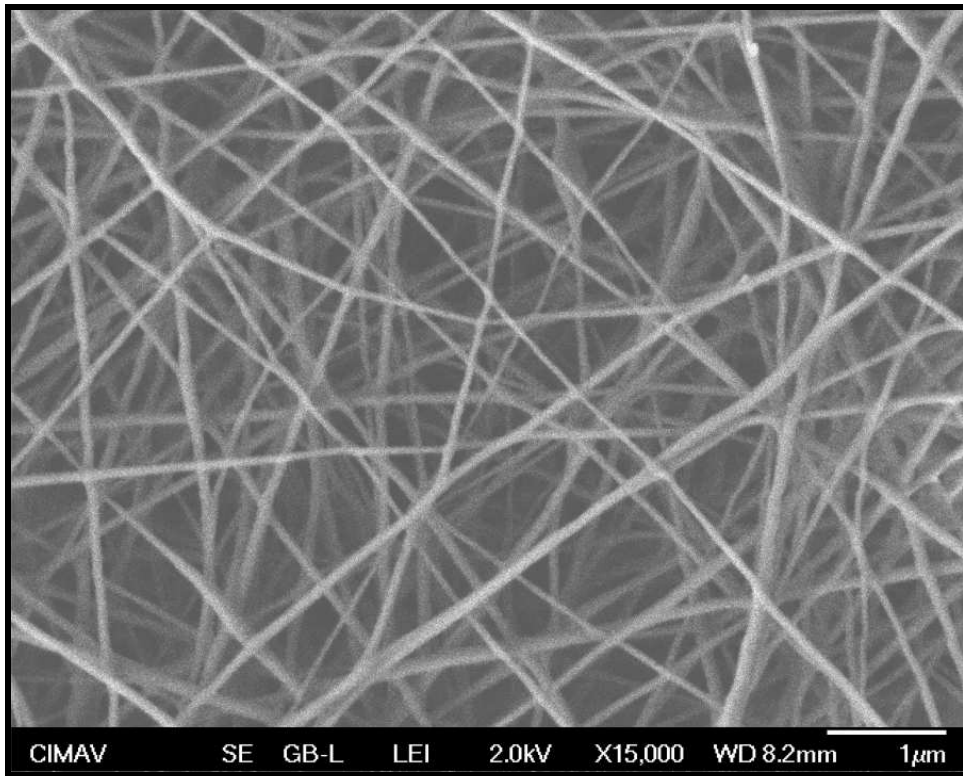


Figura 46. Micrografías MEB de las nanofibras de PVA con plata fabricada a una dosis de 20 kGy

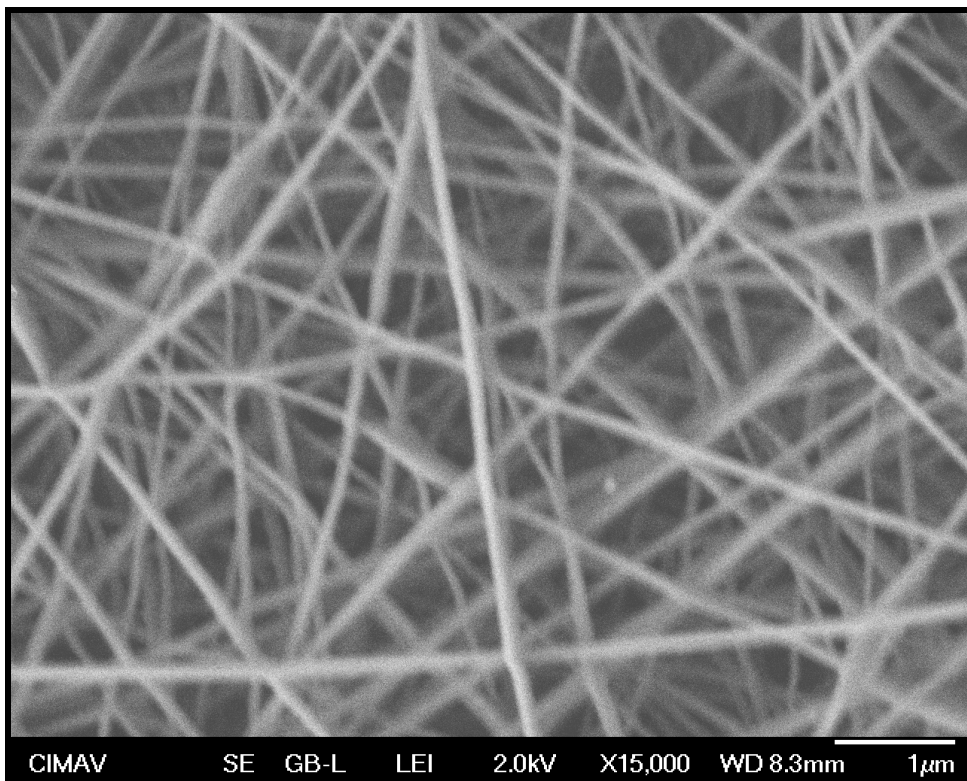


Figura 47. Micrografías MEB de las nanofibras de PVA con plata fabricada a una dosis de 30 kGy

Anexo 2 Micrografías MET correspondientes a los histogramas de las nanopartículas.

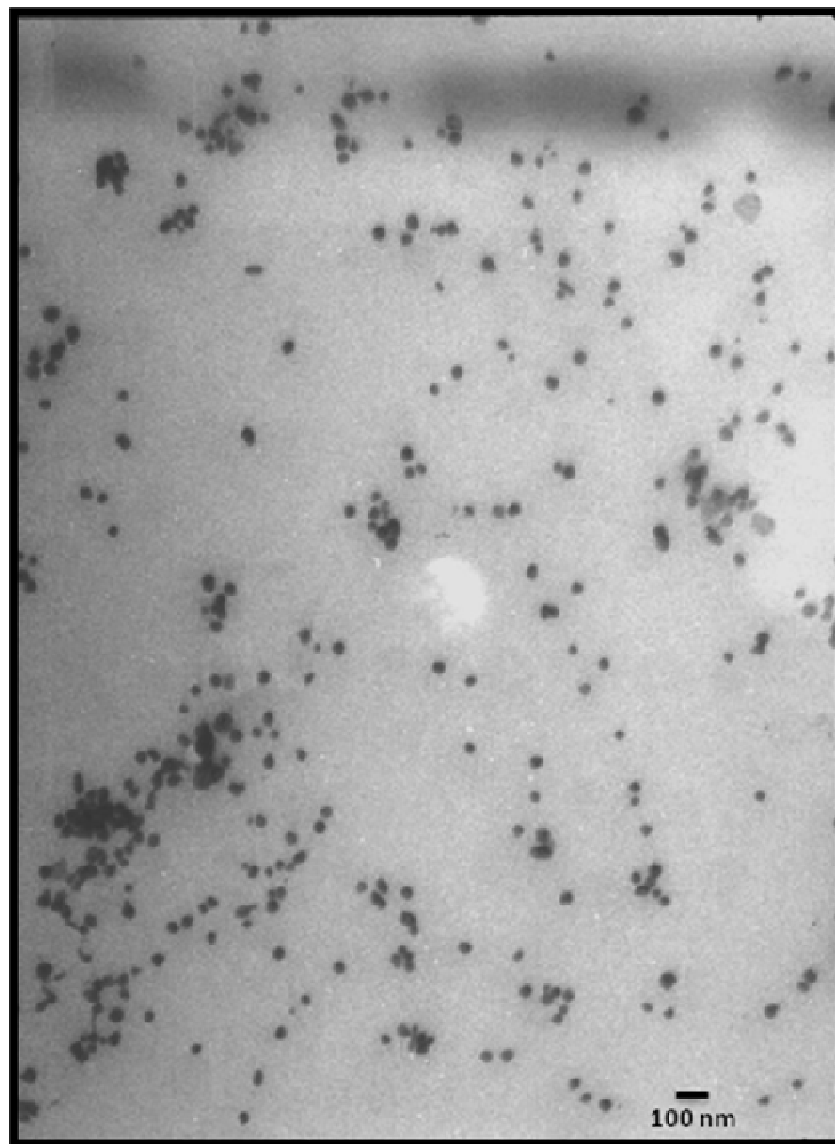


Figura 48. Micrografías MET del coloide de plata fabricada a una dosis de 5 kGy

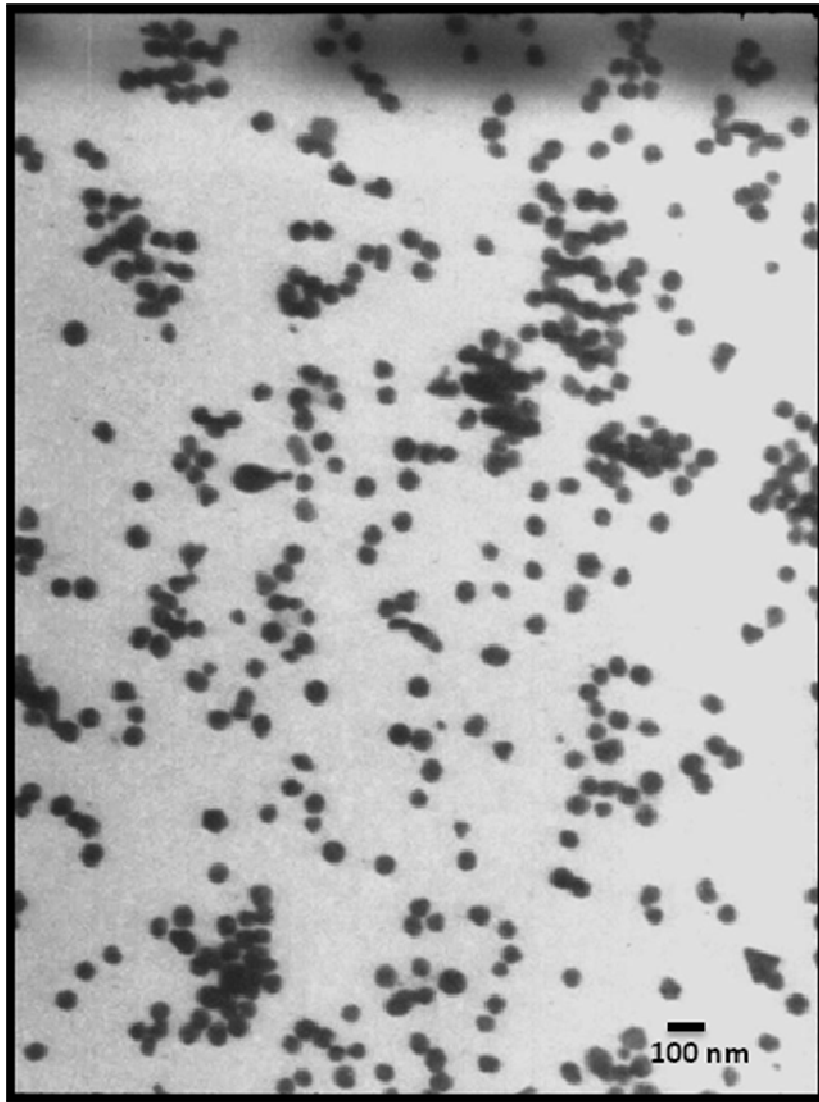


Figura 49. Micrografías MET del coloide de plata fabricada a una dosis de 20 kGy

7. BIBLIOGRAFÍA.

- [1] Julieta Cabrera Sotelo “*Hidrogeles de PVA- PVP conteniendo nanopartículas de plata obtenidos por radiación gamma*”. Tesis para optar el grado académico de maestro en Ciencias con mención en energía nuclear. Universidad Nacional de Ingeniería, Facultad de Ciencias. Sección de Posgrado y Segunda Especialización. (2009)
- [2] S.A. Theron, E. Zussman, A.L.. Yarin. ” *Experimental investigation of the governing parameters in the electrospinning of polymer solutions*”. Polymer. Elsevier (2008).
- [3] Zheng-Ming Huang, Y. Z. Zhang, M. Kotaki, S. Ramakrishna. “*A review on polymer nanofibers by Electrospinning and their applications in nanocomposites*”. Composites Science and Technology 63 (2003) 2223–2253
- [4] Kyunghwan Y, Kwangsok K, Xuefen W, Dufei F, Benjamín S.Hsiao, Benjamín Chu. “*High flux ultrafiltration membranes based on electrospun nanofibrous PAN scaffolds and chitosan coating*”. Polymer 47 (2006) 2434-2441.
- [5] A. G. Chmielewski and M. Haji-Saeid “*Polymer irradiation: past, present and future*”, Radiation Phys. Chem. Volumen 71. (2004) 17-21
- [6] Wilson Carhuapoma Bernabé y Julio Santiago Contreras. “*Caracterización de Hidrogeles de Quitosano-Alcohol Polivinílico Obtenidos por Radiación Gamma*” Revista Iberoamericana de Polímeros. Volumen 6(4), Diciembre (2005)
- [7] Pedro Sánchez Galiano. “*Introducción a la Física de la Radioterapia*”. Unidad de Radiofísica. Hospital Central de Asturias. (2005)
- [8] Hassan, N. Peppas “*Structure and applications of poly(vinyl alcohol) hydrogels produced by conventional crosslinking or by freeze/thawing methods*” en Advances in Polymer Science, Vol. **153**, 37 (2000)
- [9] Seeram Ramakrishna, Kazutoshi Fijihara. “*An introduction to electrospinning and nanofibers*”. National University of Singapore. World Scientific (2005).

- [10] Güven, M. Sen, E. Karadag, D. Saraydin “*A review on the radiation synthesis of copolymeric hydrogels for adsorption and separation purposes*”, Radiation Phys. Chem., 56, 381 (1999)
- [11] Chapiro “*Encyclopedia of Materials: Science and Technology*”, Amsterdam, Elsevier Ltd. (2004).
- [12] Chapiro “*Polymer irradiation: past, present and future*”, Radiation Phys. Chem., 63, 207 (2002)
- [13] F. Yoshii en “*Radiation processing of polysaccharides*”, IAEA-TECDOC 1422, Viena (2004)
- [14] Anthony L. Andrade. “*Science and technology of polymer nanofibers*”. Research Triangle Institute (2008) 277 - 281 .
- [15] Haruta, M. “*Size and support dependency in the catalysis of gold*”, Catalysis Today, 36, 153 (1997).
- [16] Taihua Li , Hyun Gyu Park , Seong-Ho Choi. “*Irradiation-induced preparation of Ag and Au nanoparticles and their characterizations*”. Materials Chemistry and Physics 105 (2007) 325–330.
- [17] Yu H., Xu X., Chen X., Ly T., Zhang P., Jing X., “*Preparation and antibacterial effects of PVA- PVP hydrogels containing silver nanoparticles*”, Journal of applied polymer science. (2007). 103: 125-133
- [18] Krkljes A. Marinovic – Cincovic M., Kacarevic-Popovic Z. “*Radiolytic Synthesis and characterization of Ag-PVA nanocomposites*”, European polymer journal (2007). 43: 2171- 2176
- [19] Temgire M., Joshi S., “*Optical and structural studies of silver nanoparticles*”, Rad. Phys. Chem.. (2004). 71: 1039-1044
- [20] Taihua Li, Hyun Gyu Park, Seong-Ho- choi, “*Gamma irradiation induced preparation of Ag and Au nanoparticles and their characterizations*”, Materials chemistry. (1995). 46: 169-174

- [21] Ian M. Watt. *“The principles and practice of E. M”*. Second Edition. Cambridge University Press (1997)
- [22] M.Z. Kassaei , A. Akhavan , N. Sheikh , R. Beteshobabrud *“ γ -Ray synthesis of starch-stabilized silver nanoparticles with antibacterial activities”*. Radiation Physics and Chemistry. Elsevier. (2008).
- [23] Fu-Ken Liu a, Ya-Chuan Hsu , Ming-Huei Tsai , Tieh-Chi Chu Using *“ γ -irradiation to synthesize Ag nanoparticles”*. Materials letters Elsevier (2006).
- [24] Wen-Ji Jin , Hyun Jeong Jeon , Jung Hyun Kimb, Ji Ho Youk. *“A study on the preparation of poly(vinyl alcohol) nanofibers Containing silver nanoparticles”*. Synthetic metal. Elsevier. (2007).
- [25] Won Keun Son , Ji Ho Youk , Won Ho Park. *“Antimicrobial cellulose acetate nanofibers containing silver Nanoparticles”*. Carbohydrate polymers. Elsevier. (2006)
- [26] Jun Sung Kim, DVM, PhD, Eunye Kuk, MS, Kyeong Nam Yu. *“Antimicrobial effects of silver nanoparticles”*. Nanomedicine . Elsevier. (2006)
- [27] Won Keun Son, Ji Ho Youk, Won Ho Park. *“Antimicrobial cellulose acetate nanofibers containing silver nanoparticles”* Carbohydrate Polymers 65 (2006) 430–434
- [28] Virender K. Sharma , Ria A. Yngard, Yekaterina Lin *“Silver nanoparticles: Green synthesis and their antimicrobial activities”*. Advances in Colloid and Interface Science. Elsevier. (2008).