

Síntesis de hidrogeles de quitosano cargados con ZnO y su aplicación como apósitos antimicrobianos

Sofía Elena Esparza Herrera¹, Miguel Ángel Becerril Solano¹, María Cristina Ibarra Alonso^{2*},
Rodolfo Ramos Gonzalez².

1. Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, 25280 Coahuila, México

2. CONAHCYT, Facultad de Ciencias Químicas, Universidad Autónoma de Coahuila, 25280 Coahuila, México.

*Ibarra.cristina@uadec.edu.mx

Resumen: En la actualidad, se ha implementado el uso de apósitos biomédicos en el proceso de cicatrización con la finalidad de acelerar la recuperación de manera antiséptica. Esta tendencia ha impulsado mejoras continuas en la fabricación de estos dispositivos basados en biomateriales. En este estudio, se elaboraron hidrogeles de quitosano (CS), cargados con nanopartículas de óxido de zinc (NP ZnO) y se describe su caracterización mediante diversas técnicas. Se empleó el método hidrotermal para la producción de nanopartículas con un tamaño de 165.8 nm, según la técnica de DLS. La técnica de FTIR-ATR, mostró los espectros característicos del quitosano y del óxido. La prueba antimicrobiana, se realizó con cultivos de bacterias (en este caso *S. aureus* y *E. coli*), los resultados indicaron la presencia de un halo de inhibición. Se concluye que el uso de hidrogeles quitosano/óxido de zinc, son una herramienta prometedora para utilizarse como material eficiente como apósitos de heridas.

Palabras clave: Hidrogeles, Hidrotermal, Quitosano, Óxido de zinc

Introducción

Un desafío inherente a los métodos convencionales en la síntesis de hidrogeles es la liberación de un fármaco, de manera gradual y sostenida, así como mejorar las propiedades ha sido el principal motivo de investigar distintas alternativas. Un hidrogel es un polímero tridimensional, hidrófilo, generalmente biocompatible, biodegradable, flexible y sensible a la temperatura. Los hidrogeles se perfilan como un material prometedor en el ámbito biomédico gracias a sus propiedades atrayentes, como su capacidad de expansión para la liberación controlada de fármacos, garantizando así un efecto terapéutico adecuado.

Se ha informado en investigaciones que algunos óxidos metálicos como el óxido de zinc (ZnO), óxido de magnesio (MgO), el óxido de titanio (TiO₂), óxido cúprico (CuO), la magnetita (Fe₃O₄), óxido de bismuto (Bi₂O₃) presentan importantes propiedades antimicrobianas, las cuales dependen en gran medida de su forma, tamaño y composición química. Cuando se reduce el tamaño de estos materiales a escala nano, se aumenta la relación entre la superficie y el volumen de las nanopartículas. Esto puede favorecer su capacidad para interactuar con biomoléculas presentes en microorganismos. En este caso se utilizaron NP ZnO las cuales reducen la viabilidad de microbios en

superficies biomédicas.

Los hidrogeles a base de cerámico/polímero son materiales potenciales para ser utilizados como apósitos de heridas, debido a que presentan diversas propiedades, por ejemplo, son biocompatibles y bio-activos, sumado a esto las NP ZnO poseen propiedades antimicrobianas, lo que resulta sumamente beneficioso, especialmente en heridas expuestas que podrían infectarse con diversas bacterias, las más comunes son: *S. Aureus* y *E. Coli*, por lo que los hidrogeles a base de quitosano/óxido de zinc (CS/ZnO), además de la posibilidad de dosificar algún fármaco, con el contenido de NP ZnO, aumenta la efectividad del mismo y evita proliferación de microorganismos patógenos.

En este trabajo se desarrollaron y evaluaron hidrogeles de CS/ZnO como apósitos antimicrobianos. Con este propósito, en primer lugar, se sintetizaron NPs de ZnO por el método de hidrotermal y se utilizaron posteriormente para sintetizar hidrogeles quitosano con NPs de ZnO incorporadas en la matriz.

Parte experimental.

Materiales.

Para la síntesis de NP de óxido de zinc (ZnO) se utilizó: hidróxido de sodio (NaOH), etilenglicol (C₂H₆O₂), Bromuro de cetiltrimetilamonio (CTAB) como estabilizante

y el precursor Acetato de Zinc Dihidratado ($Zn(CH_3COO)_2 \cdot 2H_2O$). Para síntesis del hidrogel se utilizó: quitosano (CS) de alto peso molecular, ácido acético glacial (CH_3COOH) e hidróxido de sodio (NaOH). Estos reactivos se adquieren de sigma-aldrich y no se les realizó algún tratamiento adicional.

La síntesis de las NP de ZnO, consistió en mezclar cierta cantidad del precursor con 5 mL de NaOH (1M) y 25 mL de $C_2H_6O_2$ y finalmente 0.59 g del estabilizante, la mezcla se agitó por 30 min, posteriormente se agregó a un reactor metálico y se sometió a 150 °C por 24 horas, posterior al tiempo de calentamiento, las NP de ZnO se lavaron con suficiente agua destilada y se almacenaron en medio etanólico para su posterior uso. Para la obtención de hidrogeles se utilizó 3% de quitosano, disueltos en ácido acético glacial al 3%, se mantuvo en agitación por 20 min a una temperatura de 60- 70°C y se le agregó una solución de etanol que contenía ZnO dispersado, posteriormente se ajustó el pH a 7 con NaOH 1 M para su solidificación y se dejaron reposar por 24 horas a 36 °C, concluido este tiempo los hidrogeles se lavaron con agua destilada y se almacenaron para su posterior uso.

Instrumentación.

Los hidrogeles de quitosano y óxido de zinc se analizaron por medio de los espectros FTIR-ATR presentados, se realizaron en un equipo Thermo Scientific Nicolet iS10 en un rango de 600 a 4000 cm^{-1} con 60 escaneos y una resolución de 0.4 cm^{-1} .

El tamaño hidrodinámico de las NP de ZnO se evaluaron en un Dispersor de luz dinámica láser (DLS) marca Microtrac modelo NanoFlex. Las muestras se analizaron en suspensión de etanol y se leyeron por triplicado.

Pruebas antimicrobianas. Se realizó un ensayo cualitativo, utilizando el método de inhibición por formación de halo. Se eligieron dos cepas bacterianas patógenas clínicas, una gram+ (*Staphylococcus aureus*) y una gram- (*Escherichia coli*). Estas cepas fueron proporcionadas por el laboratorio de microbiología de la Universidad Autónoma de Coahuila. Se preparó caldo nutritivo para la activación de las bacterias. El medio preparado se esterilizó en autoclave a una

temperatura de 120 °C durante 15 min. La manifestación de crecimiento bacteriano se observa por la turbidez del medio de cultivo, en comparación con un medio de cultivo sin inocular.

Se realizaron diluciones seriadas para disminuir la concentración de la cepa bacteriana, para esto se tomó 1 mL de la solución madre y se inoculó en un primer tubo con 9 mL de agua destilada previamente esterilizada (10^{-1}), y se agitó con vortex. Nuevamente se tomó 1 mL de la solución del primer tubo y se repitió el procedimiento con el tubo número 2 (10^{-2}). Se tomó 1 mL del tubo 2 y se agregó al tubo 3 (10^{-3}). Se eligió el tercer tubo (10^{-3}), para sembrar la bacteria en cajas Petri.

Se inocularon 200 μL de la dilución 3 en las cajas con agar nutritivo, se sembraron de manera uniforme, posteriormente se colocaron dos hidrogeles por caja, previamente esterilizados mediante irradiación con luz ultravioleta durante 20 min., cada hidrogel tenía una medida de 7 mm de diámetro, mientras que las películas medían 7 mm por lado. Se incubaron las cajas por 24 h a una temperatura de 37 °C. Transcurrido el tiempo de incubación se pudieron observar los halos de inhibición formados.

Resultados y discusión.

Dispersión de luz dinámica (DLS) de las NP ZnO.

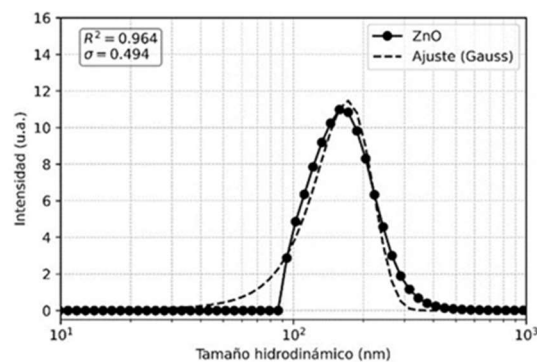


Figura 1. Intensidad vs. Tamaño Hidrodinámico de las NP de ZnO obtenidas.

En la Figura 1, se muestran los resultados obtenidos del análisis DLS y la distribución de la intensidad versus tamaño hidrodinámico, para la síntesis de NP de ZnO mediante el método hidrotermal, los resultados obtenidos

muestran un tamaño promedio en número de 165.8 nm para las NP ZnO.

Ensayo cualitativo antimicrobiano de los hidrogeles.

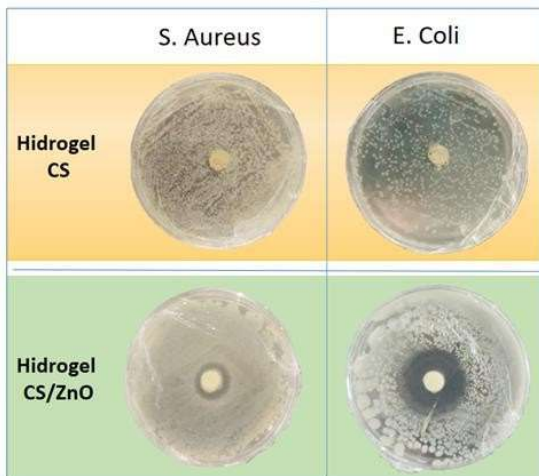


Figura 2. Actividad antimicrobiana de los hidrogeles de CS e hidrogeles CS/ZnO.

Las propiedades antimicrobianas de los hidrogeles se determinaron, utilizando el método de inhibición por formación de halo. Se eligieron *S. Aureus* y *E. Coli*. La manifestación de crecimiento bacteriano se observa por la turbidez del medio de cultivo, en comparación con un medio de cultivo sin inocular. Los resultados presentados en la Figura 2, mostraron un aumento en la inhibición abundante contra las dos cepas evaluadas, para los hidrogeles que contenían NP ZnO, comparados con los hidrogeles sin NP de este cerámico (hidrogeles de CS).

Las NP ZnO han reportado un efecto inhibitorio en una amplia gama de bacterias que incluyen patógenos tales como; *K. pneumoniae*, *S. aureus*, *S. epidermidis* y *E. coli*. En estudios sobre la actividad bacteriana de las Np ZnO se informa que actúan principalmente a través de dos vías letales, la primera el daño a la membrana, interrupción del potencial e integridad y la segunda la producción de especies reactivas de oxígeno.¹ En varias investigaciones sobre el uso de hidrogeles como liberadores de fármacos, se ha reportado que la liberación de la droga depende simultáneamente de la velocidad de migración de agua al dispositivo, hidratación y relajación de la cadena polimérica, seguida de la disolución de la droga y la difusión al

exterior del gel hinchado.²

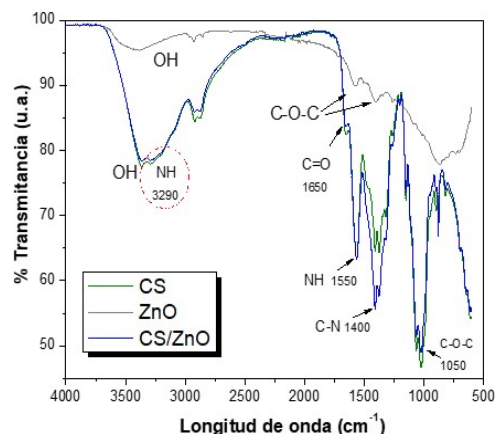


Figura 3. Espectro FTIR de hidrogeles CS/ZnO.

El espectro FTIR del óxido de zinc (ZnO), Quitosano (CS) y quitosano/ZnO (CS/ZnO) se observan en la Figura 3.

Tabla 1. Señales observadas en el espectro FTIR

Longitud de onda (λ)	Grupo Funcional
463 cm^{-1}	Zn-O
545- 1040 cm^{-1}	ZnO
1615- 1420 cm^{-1}	O-C-O
3200- 3500 cm^{-1}	O-H y N-H
1650- 1600 cm^{-1}	C=O
1590- 1550 cm^{-1}	N-H
1375- 1320 cm^{-1}	C-N

En la tabla 1 se presentan las señales observadas en el espectro FTIR, respecto al óxido zinc presenta una señal característica alrededor de 463 cm^{-1} que se atribuyeron a las vibraciones de estiramiento de Zn-O, sin embargo, nuestro espectro de FTIR, por condiciones del equipo solo se analizó hasta 600 cm^{-1} . Las bandas que se encuentran entre 545 y 1040 cm^{-1} pueden atribuirse a la vibración de estiramiento del óxido metálico y Las bandas a 1615 y 1420 cm^{-1} se relacionan con vibraciones asimétricas y simétricas de O-C-O. Respecto a los hidrogeles de CS se observan una señal alrededor de 3200-3500 cm^{-1} , correspondiente a las vibraciones de estiramiento de los enlaces O-H de los grupos

hidroxilo y N-H de los grupos amino, a 1650-1600 cm^{-1} banda correspondiente a la vibración de estiramiento del enlace C=O del grupo amida, y a 1590-1550 cm^{-1} se observa una banda correspondiente a la vibración de flexión del enlace N-H del grupo amida y finalmente la banda a 1375-1320 cm^{-1} correspondiente a la vibración de flexión del enlace C-N del grupo amida.

Este espectro FTIR, coincide con el espectro presentado en una investigación similar en la que se sintetizaron hidrogeles de quitosano cargados de igual manera con NP de ZnO; ya que de también presentan las señales características mencionadas anteriormente en el espectro FTIR obtenido.³

Conclusiones.

Para finalizar, se pudieron comprobar las propiedades antimicrobianas que presenta el óxido de zinc, por lo que su uso en la cicatrización de heridas será efectivo, en cuanto a los hidrogeles de quitosano cargados con NP ZnO; resultará de gran utilidad al momento de usarlos para curar heridas, debido a que el hidrogel se encargará de liberar poco a poco las propiedades del óxido de zinc, permitiendo así una efectiva regeneración de los tejidos dañados, siendo esta más rápida que al utilizar métodos de curación tradicionales.

Por estos motivos, es de gran importancia seguir investigando acerca de los posibles usos que tienen los hidrogeles de quitosano cargados con NP de óxido de zinc.

Agradecimientos.

A la Facultad de Ciencias Químicas de la Universidad Autónoma de Coahuila.

Referencias.

[1] Sánchez Albores, R. M.; Reyes Vallejo, O.; Montejó López, W. Los óxidos metálicos y su actividad bactericida. *Divulg. Cienc. Educ.* 2024, 2 (1), 13–16.

[2] Rios, K. Actividad antibacterial de nanopartículas de óxido de zinc sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. *Cuerpo Médico Hosp. Nac. Aguinaga Asenjo*.

[3] Ratner, L. L. and Y. Cui. *Biomaterials Science. An Introduction to Materials in Medicine*. Third Edition, Elsevier, 2013, ISBN 978-0-12-374626.