

## OPTIMIZACIÓN DE PARÁMETROS DE FORMACIÓN DE POLÍMERO ANTIBACTERIANO

*Cristian Miranda<sup>1\*</sup>, Carolina Arango<sup>2</sup>, Johanna Castaño<sup>1</sup>, Saddys Rodríguez<sup>2</sup>, Álvaro Maldonado<sup>1</sup>, María A. Mondaca<sup>3</sup>*

1: Dr. © Ciencias m/ Química, Unidad de Desarrollo Tecnológico, Universidad de Concepción. Coronel, Chile

2: Centro de Investigación de Polímeros Avanzados (CIPA), Concepción, Chile

3: Laboratorio de Microbiología Medioambiental, Departamento de Microbiología, Universidad de Concepción, Concepción, Chile

\*Contacto: c.miranda@udt.cl

### RESUMEN

Usando diseño factorial de experimentos, se determinaron los parámetros de procesamiento de preparación de un material polimérico antibacteriano en base a PVC y nanopartículas de Cu. Se estudió como variables el porcentaje de nanopartículas y la velocidad de mezclado, obteniendo como respuesta la capacidad antibacteriana y la migración de cobre hacia el medio. La muestra preparada a 4000 rpm con 0,5% de nanopartículas fue la que mostró la mejor respuesta alcanzando un 13,8% de migración de cobre, lo que se traduce en una eficaz capacidad antibacteriana.

**Palabras Clave:** *PVC, Nanopartículas, Polímero antibacteriano*

### ABSTRACT

Factorial design of experiments was used to determine the processing parameters of preparing an antibacterial polymer material based on PVC and Cu nanoparticles. Variables like percentage of nanoparticles and the mixing speed were studied; response variable was the antibacterial capacity and copper migration towards the middle. The sample prepared at 4000 rpm with 0.5% of nanoparticles showed a better response, reaching a 13.8% copper migration, this results correspond to an effective antibacterial capability.

**Keywords:** *PVC, Nanoparticles, Antibacterial polymer*

### 1 INTRODUCCIÓN

Las propiedades biocidas del cobre y sus óxidos se utilizan en el diseño de materiales de polímero antibacteriano [1], bactericida en textiles [2] y pinturas anti-incrustantes [3], entre otros. Por lo tanto, polímeros que tienen cobre incorporado como elemento activo es una opción atractiva en el desarrollo de materiales para los dispositivos médicos. Sin embargo, la preparación de compuestos polímero/metal convencional por mezcla en estado fundido, ha mostrado una mala dispersión de la partículas metálicas [4]. La dispersión de metal antimicrobiano en polímero es crítico para el desarrollo de un nuevo material con propiedades antibacterianas. Por otro lado,

también existe un riesgo de que el metal quede completamente cubierto por el polímero, evitando que el cobre cumpla su papel como agente biocida [4].

El objetivo de este trabajo consiste en el uso de un diseño factorial de experimentos para la optimización de los parámetros preparación de un material polimérico antibacteriano, que evite y/o reduzca la formación de biopelículas en su superficie. El material polimérico base será el PVC y a éste se le incorporarán nanopartículas de cobre. Las variables estudiadas son el porcentaje de cobre en el material, la velocidad y temperatura de mezclado. Obteniendo como respuesta el porcentaje antibacteriano y la migración de cobre hacia el medio.

## **2 METODOLOGÍA**

### **2.1 Preparación de PVC con nanopartículas de cobre**

La resina de PVC, los aditivos de procesamiento y las nanopartículas de cobre en los diferentes porcentajes estudiados, se mezclaron en seco en un mezclador de alta velocidad Cool Mixer, entre 3500 y 4000 rpm, hasta alcanzar los 120 °C. A continuación, el polvo obtenido es mezclado en estado fundido en un reómetro de torque a 145 °C. Posteriormente, de acuerdo a los requerimientos, las muestras se moldean por compresión en una prensa a 175 °C durante 10 min, a una presión de 80 bar, seguido de enfriamiento a temperatura ambiente. Por otro lado, para los ensayos mecánicos se fabrican probetas en un equipo minijet (Thermo Scientific, modelo Haake Minijet II) con los siguientes parámetros: temperatura cilindro: 175 °C; temperatura molde: 60 °C; Presión inyección: 180 bar; Tiempo: 20 seg; Post presión: 80 bar; tiempo post presión 20 seg; tiempo precalentamiento 10 min.

### **2.2 Caracterización del Material**

Las muestras obtenidas fueron caracterizadas mediante ensayos mecánicos, reológicos y ópticos. La viscosidad aparente fue determinada mediante reología capilar a diferentes temperaturas, que corresponden a las temperatura de procesamiento industrial en extrusora. Por otro lado, las probetas se sometieron a ensayos de fuerza de tracción, donde se determinó el módulo de elasticidad o módulo de Young y el esfuerzo máximo en la rotura del material. El grado de dispersión y distribución de las nanopartículas de cobre en la matriz polimérica fue determinada a través un mapeo mediante espectroscopia de energía dispersa de rayos X utilizando microscopía electrónica de barrido (SEM-EDS).

### **2.3 Capacidad Antibacteriana**

La capacidad antibacteriana se determinó mediante un análisis cualitativo, correspondiente a la metodología del halo de inhibición, por incubación de la población de la cepa de *Escherichia coli* y *Staphylococcus Aureous*, las cepas se cultivaron en caldo de tripticasa e incubadas a 25 °C durante 24 horas, para ser utilizado como inóculo en los ensayos de adhesión [3,4].

### **2.4 Migración de Cobre**

Como la adición de cobre es la que otorga el carácter antibacteriano a los materiales preparados, el contacto de éste con las bacterias y/o el medio, tiene directa relación con la capacidad

antibacteriana del polímero. Por lo anterior, fue medido el porcentaje de migración de cobre desde el material polimérico al medio acuoso, con el objetivo de determinar el porcentaje óptimo de cobre con el cual se deben fabricar los materiales. Las muestras se sumergieron por 24 horas en 50 mL de agua desionizada. Posteriormente, las soluciones acuosas fueron leídas directamente por espectroscopía de emisión óptica con plasma de acoplamiento inductivo (ICP-OES) para la determinación de Cu, con un límite de detección (LD) de 0,032 mg/L y un límite de cuantificación (LC) de 0,106 mg/L.

## 2.5 Optimización Multivariable

La optimización de las variables, concentración de cobre y velocidad de procesamiento, se llevó a cabo usando el diseño experimental y metodología de superficie de respuesta. Un diseño circunscrito central compuesto (CCC), que consiste en un modelo factorial, puntos estrella y tres puntos centrales replicados, necesarios para dar la validez estadística al modelo, se realizó mediante el uso del programa Modde 7.0. Se evaluó la velocidad de procesamiento en el intervalo entre 3500 – 4000 rpm y la cantidad o porcentaje de cobre utilizado en las muestras entre 0,5 y 2,0 PHR. Teniendo en cuenta el total de variables  $n$ , el número total de experimentos corresponde a  $2n + 3$ . En consecuencia, después de 7 experimentos, para  $n = 2$ , se pueden obtener los valores óptimos de las variables para el máximo porcentaje de migración de cobre a un medio acuoso (pH 7), el cual está directamente relacionado con la capacidad antibacteriana del material. Además, se consigue un polinomio que describe el peso de las variables, la sinergia y el antagonismo entre las variables y una superficie de respuesta con un nivel de confianza del 95%. La Tabla 1, muestra la lista de experimentos, los nombres y porcentajes de Cu presentes en cada una de los experimentos y correspondientes muestras para la optimización multivariada.

**Tabla 1.** Experimentos y porcentajes de nano-Cu en las muestras para la optimización multivariable.

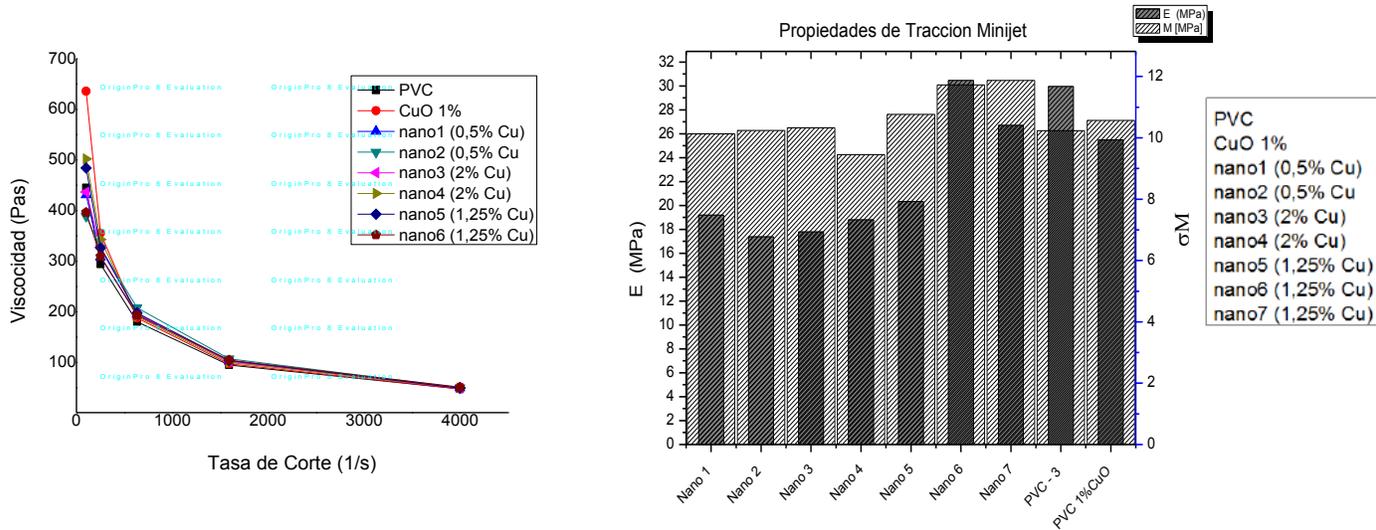
Muestra	Vel. Agitación (rpm)	% nano-Cu
Nano 1	3500	0.5
Nano 2	4000	0.5
Nano 3	3500	2.0
Nano 4	4000	2.0
Nano 5	3750	1.25
Nano 6	3750	1.25
Nano 7	3750	1.25

## 3 RESULTADOS

### 3.1 Reología Capilar y Propiedades Mecánicas

La Figura 2.a muestra la gráfica correspondiente a la viscosidad aparente de los diferentes materiales a 145 °C. La gráfica muestra que en todas las muestras preparadas, la viscosidad aparente es prácticamente la misma a bajas velocidades de corte, hasta los 1500 s<sup>-1</sup>

aproximadamente. Esto demuestra, que las nanopartículas de cobre (dentro del rango estudiado) no generan ninguna incidencia a la fluidez del material.

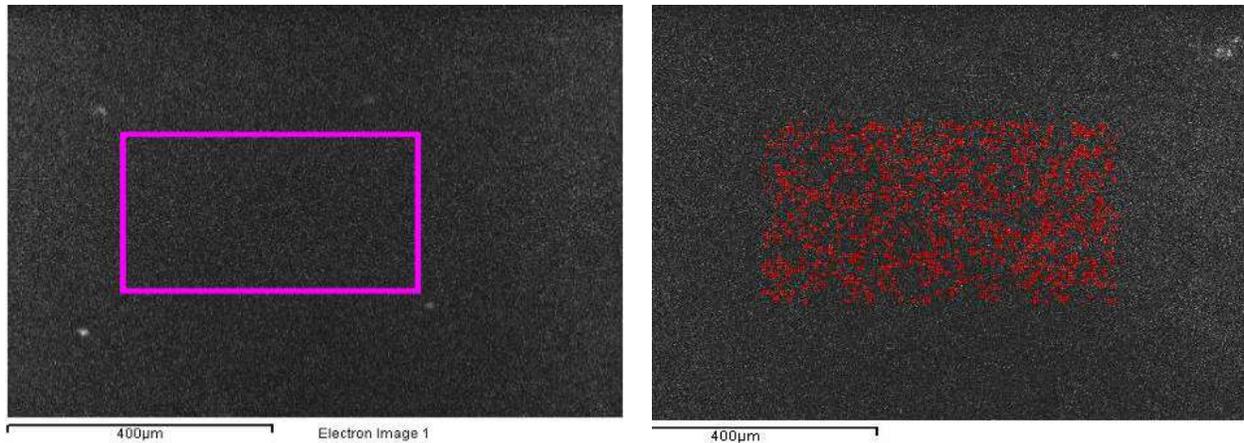


**Figura 2.a.** Viscosidad aparente de los diferentes materiales compuestos a 145 °C. **2.b.** Propiedades Mecánicas de las muestras de PVC-nanoCu

Figura 2.b muestra las propiedades mecánicas correspondientes al módulo de elasticidad y esfuerzo máximo de rotura para todos los materiales preparados en base a PVC con nanopartículas de cobre. De acuerdo a la gráfica, se obtiene que el módulo de elasticidad E, muestra un decaimiento de la elasticidad (barra oscura) del material a menores velocidades de agitación (nano1), esto puede ser indicativo de que a menores velocidad de agitación, la dispersión de cobre puede ser menor o insuficiente con respecto al resto de las muestras, disminuyendo la elasticidad de los materiales. Por otro lado, las diferentes formulaciones (velocidad de agitación y % de Cu) no presentan mayor efecto sobre la resistencia  $\sigma$ , ya que se observa una rotura similar al PVC para todas las formulaciones.

### 3.2 Microscopía Electrónica

Mediante SEM-EDS se observó la dispersión de las nanopartículas de cobre, los cuales se observan como pequeños puntos rojos en el área analizada del material. La figura 3 muestra la distribución del material que contiene un 1% de nanopartículas de cobre, en ella es posible apreciar que éstas están distribuidas de manera uniforme, lo que sugiere una homogénea dispersión, favoreciendo las propiedades del material. En la muestra de PVC, no se detectó la presencia de cobre.



**Figura 3.** Mapeo EDS de PVC (izquierda) y el compuesto con un 1% de nanopartículas de cobre (derecha).

### 3.3 Migración de Cobre y Capacidad Antibacteriana

La determinación de la migración de cobre al medio se midió mediante ICP-OES. La Tabla 2, muestra los resultados obtenidos de todas las muestras de PVC preparadas con nanopartículas de Cu luego de 24 horas sumergidas en agua desionizada.

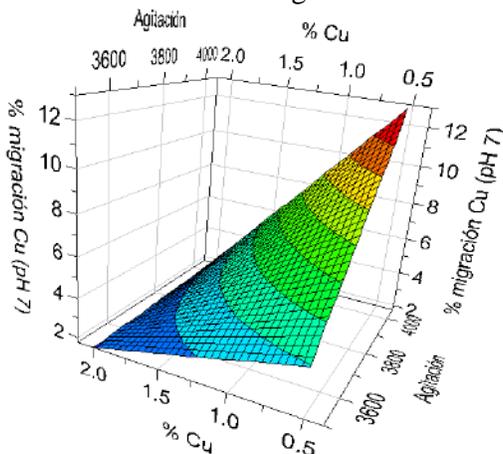
**Tabla 2.** Valores de concentración y % de migración de Cu en agua desionizada luego de 24 horas.

Muestra	Vel. Agitación (rpm)	% Cu	Masa muestra	Cu / mg L <sup>-1</sup>	% Migración Cu
PVC	---	---	0.2365	< LC	0.0
Nano 1	3500	0.5	0.4421	0.11 ± 0.01	5.0
Nano 2	4000	0.5	0.4188	0.29 ± 0.02	13.8
Nano 3	3500	2.0	0.8618	0.45 ± 0.02	2.6
Nano 4	4000	2.0	0.7692	0.45 ± 0.02	2.9
Nano 5	3750	1.25	0.5546	0.22 ± 0.01	3.2
Nano 6	3750	1.25	0.6649	0.39 ± 0.02	4.7
Nano 7	3750	1.25	0.5600	0.31 ± 0.02	4.4

La muestra nano 2 (0,5% Cu; 4000 rpm) es la que presenta un mayor porcentaje de migración de cobre al medio acuoso con un 13,8%. Es posible concluir que esto se debe a que a mayor velocidad de agitación, las nanopartículas de cobre quedan principalmente en la superficie del material, teniendo la oportunidad de desprenderse y pasando a la fase acuosa. En todas las muestras analizadas, se observó que poseen capacidad antibacteriana, aunque esta es sólo de contacto, es decir, sólo aquellas bacterias que tienen contacto con la placa no proliferan o mueren, producto de la acción antibacteriana.

### 3.4 Optimización Multivariable

La Figura 4, muestra la representación 3D y su correspondiente polinomio de respuesta para la migración de cobre a pH 7. Se observa que la migración de cobre presenta un aumento constante hacia bajas concentraciones de nanopartículas y elevados porcentajes de agitación sin alcanzar un máximo. Considerando que la velocidad máxima de operación del Cool Mixer es de 4000 rpm, este valor se consideró como el óptimo para alcanzar un porcentaje de migración de cobre al medio acuoso, que permita al material poseer una capacidad antibacteriana positiva. Por otro lado, a medida que aumenta la velocidad de agitación en la preparación del material, aumenta la migración de cobre al medio, esto debido a que a mayor agitación, se produce una mayor homogeneidad en la dispersión del cobre en el material, y por lo tanto una mayor cantidad de cobre en la superficie del material favoreciendo su migración.



**Figura 4.** Superficie de respuesta de migración de cobre al medio acuoso a pH 7.

El polinomio de respuesta (ec. 1), muestra que la variable más importante es el porcentaje de cobre en las muestras y tiene una incidencia negativa sobre el porcentaje de migración del cobre al medio acuoso. Las variables presentan antagonismo, otorgada principalmente por el cobre, indicado por el signo negativo del coeficiente de interacción, ya que a mayor porcentaje de cobre es mayor la cantidad que queda ocluido en el PVC sin poder migrar al medio. La ausencia de factores cuadráticos, indica la ausencia de un máximo en las variables en el rango estudiado. Entre paréntesis se muestra la desviación estándar correspondiente a cada coeficiente codificado.

$$Y(\% \text{ migración de Cu}) = 5.2 (\pm 0.6) + 2.3 \text{rpm} (\pm 0.8) - 3.3 \% \text{Cu} (\pm 0.8) - 2.1 \text{rpm} * \% \text{Cu} (\pm 0.8) \text{ (ec. 1)}$$

## 4 CONCLUSIONES

Mediante diseño factorial de experimentos, fue posible determinar las condiciones óptimas para la preparación de un polímero con características antibacterianas. Se determinó que los valores óptimos de preparación son 4000 rpm de agitación y 0.5% de nanopartículas de Cu, obteniendo una respuesta de un 13,8 % en la migración de Cu al medio acuoso a pH 7. Todas las muestras presentan una buena dispersión de las nanopartículas de cobre, presentando inhibición del crecimiento bacteriano al contacto con las cepas *Escherichia coli* y *Staphylococcus Aureous*.

## 5 AGRADECIMIENTOS

Los autores agradecen el financiamiento otorgado al proyecto FONDEF D11i1210.

## 6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Rodríguez-Llamazares, S., Mondaca, M.A., Badilla, C., Maldonado, A. "Preparation of poly(vinyl chloride)/cooper nanocomposite films with reduced bacterial adhesión" Journal of the Chilean Chemical Society, 58, 1163, 2012.
2. Torres, A., Ruales, C., Pulgarin, C., Aimable, A., Bowen, P., Sarria, V., Kiwi, J. "Innovative High-Surface-Area CuO prepared cotton effective in bacterial inactivation under visible-light" ACS Applied Materials & Interfaces, 2, 2547, 2010.
3. Heuser, M., Rivera, C., Nuñez, C., Cárdenas, G., "PVC/Cooper Oxide Composites and their effect on bacterial adherence" Journal of the Chilean Chemical Society. 54, 448, 2009.
4. Gelves, G.A., Lin, B., Haber, J.A., Sundararaj, U. "Enhancing dispersion of copper nanowires in melt-mixed polystyrene composites" Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics. 46, 2064, 2008.