

Síntesis asistida por microondas de micropartículas de cobre para su potencial aplicación como agente antimicrobiano y fotocatalizador

J.J. Tenorio Rodríguez^a, M.A. Morales Sánchez^a, R. Agustín Serrano^b,

M. Cárdenas García^c, A. Montes Pérez^b, y A. Luna Flores^a

^aFacultad de Ingeniería Química, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,

Av. San Claudio y 18 sur, Jardines de San Manuel, 72570 Puebla, Pue.

^bFacultad de Ciencias Físico Matemáticas, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,

Av. San Claudio y Río Verde, Jardines de San Manuel, 72570 Puebla, Pue.

^cFacultad de Medicina, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla,

13 sur 2702, Los Volcanes, 72420 Puebla, Pue.

e-mail: josphat4@gmail.com; spinor70@yahoo.com.mx; ricardo.agustin@correo.buap.mx;

maura.cardenas@correo.buap.mx; arelimp@fcfm.buap.mx; lunaf86@gmail.com

Received 19 June 2019; accepted 28 August 2019

Se llevó a cabo la síntesis de micropartículas de cobre (CuMP) por el método de reducción química asistida por microondas y se caracterizaron con las técnicas de SEM, XRD y EDS. Las CuMP obtenidas por este método presentaron morfologías poliédricas muy definidas (cubos, icosaedros y prismas hexagonales), y el tamaño de partícula fue del orden micrométrico ($\leq 10 \mu\text{m}$). Estas propiedades le confieren una prometedora aplicación como agente antimicrobiano y fueron evaluadas con una sepa de bacterias Gram positivo (*S. Aureus*). Las partículas se soportaron sobre una membrana polimérica biodegradable a base de poli-ácido láctico (PLA) y poli-vinilalcohol (PVA) suspendiendo las CuMP's en uno de los polímeros. Las membranas fueron hechas mediante la técnica de electro-hilado y caracterizadas por las técnicas de SEM y EDS.

Descriptores: Síntesis por microondas; micropartículas de cobre; fotocatalítico; actividad antimicrobiana.

A microwave-assisted synthesis by chemical reduction method of copper microparticles (CuMP's) powder was performed. These microparticles were characterized by the techniques SEM, XRD and EDS. The CuMP's obtained showed well defined polyedric forms (cubes, icosahedrons and hexagonal prisms), and its size was of micrometric order ($\leq 10 \mu\text{m}$). These properties gave to the material antimicrobial activity and were evaluated in contact with one Gram-positive bacteria (*S. Aureus*). The particles were supported over a biodegradable polymeric membrane made of polylactic acid (PLA) and polyvinil alcohol (PVA) by the suspension of the particles in one of the polymers. The membranes were made by electrospinning technic and characterized by SEM and EDS.

Keywords: Microwave-assisted synthesis; copper microparticles; photocatalytic; antimicrobial activity.

PACS: 01.30.Bb; 82.50.-m; 84.40.-x

DOI: <https://doi.org/10.31349/SuplRevMexFis.1.8>

1. Introducción

A lo largo de la historia, el ser humano ha ido dominando el manejo de diferentes materiales conforme a sus necesidades y comprensión de su entorno. Así, conforme fueron dominando y mejorando las técnicas utilizadas en piedras y -cerámicos empezaron a utilizar nuevos materiales minerales con cierta composición metálica para mejorar su vida. Es en la era del cobre donde el ser humano comienza a utilizar este metal a su favor, primero utilizándolo en su estado nativo y después utilizando las técnicas de fundido, que es cuando comienza su verdadera explotación, ya sea solo o en aleación con otros metales [1]. Actualmente se está trabajando con posibles aplicaciones del cobre para mejorar la calidad de vida del ser humano y del ambiente. De todos los metales de transición estudiados para estos propósitos como el platino, la plata y el oro; el cobre es el menos costoso comparado con los anteriores y presenta propiedades catalíticas, ópticas, magnéticas, de transferencia de calor, fotodegradador, potencial antimicrobiano, entre otras [2]. Existe una variedad de métodos disponibles y bien estudiados para obtener nanopartículas de

cobre, tanto químicos como físicos. De estos métodos, los que se consideran con mayor potencial y mejor reproducibilidad para la obtención de micropartículas de cobre son el método de reducción química y el método por microondas. En el método de reducción química, una sal de cobre precipita a cobre metálico utilizando un agente reductor como borohidruro de cobre, ácido ascórbico, hidracina, etc. Este método es el más popular debido a su bajo costo y relativa sencillez. Mientras que el método de síntesis por microondas permite incrementar la eficiencia del material debido a que provee un calentamiento rápido y un tiempo de reacción corto [3,4].

Existen estudios donde se investiga la degradación de colorantes orgánicos utilizando partículas metálicas. La mayoría de los colorantes orgánicos utilizados en la industria textil no son biodegradables y por tanto son nocivos para el medio ambiente, generando un problema de contaminación severa al incrementar la demanda química de oxígeno (COD, por sus siglas en inglés) en las aguas residuales. A pesar de que ya se utilizan diferentes métodos fisicoquímicos para tratar de solucionar este problema, estos aún no lo resuelven por completo; en ocasiones generan costos elevados o productos secundar-

ios que requieren de un posterior tratamiento. La reducción catalítica de colorantes usando metales es un método que se prefiere, no solo debido a su eficiencia y bajo costo sino también a la formación de productos finales biodegradables [5].

Por otra parte, en 2008 la Agencia para la protección del ambiente de Estados Unidos (US EPA, por sus siglas en inglés) reconoció al cobre como el primer metal antimicrobiano, ya que pruebas *in vitro* en superficies sólidas del mismo eliminaron hasta el 99.9% de los microorganismos. Esta actividad antimicrobiana del cobre es atribuida principalmente a la liberación de iones, los cuales son genotóxicos, además, afectan la integridad de la membrana celular generando estrés oxidativo intracelular provocando así la muerte del microorganismo [6].

Por lo anterior, el objetivo del presente trabajo es sintetizar micropartículas de cobre (CuMP) con un método que sea eficiente y de bajo costo. Además, se busca estudiar el material obtenido para estudiar sus posibles propiedades fotocatalíticas y antimicrobianas. Al mismo tiempo se busca establecer una metodología de procesamiento por electrohilado [7] de estas partículas de cobre en membranas poliméricas biodegradables que se puedan utilizar como apósitos activos.

2. Metodología experimental

Los reactivos utilizados para la síntesis de las micropartículas, sulfato de cobre pentahidratado y ácido ascórbico, fueron de grado comercial. Todos los demás reactivos fueron de grado analítico obtenidos de J.T. Baker.

2.1. Síntesis de micropartículas de cobre

La síntesis de las micropartículas de cobre se llevó a cabo con una síntesis novedosa y simple de reducción química asistida por microondas. Se prepararon dos soluciones por separado, para la primera solución se agregaron 3 g de sulfato de cobre

pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en 30 ml de agua destilada. La segunda solución se preparó con 2.7 g de ácido ascórbico en 20 ml de agua destilada. Ambas soluciones fueron filtradas y se mezclaron en un matraz bola. El matraz se colocó dentro del horno de microondas con un sistema de reflujo. Se irradió la solución durante cinco minutos. Terminado el tiempo, se retiró el matraz del sistema y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Se obtuvo un precipitado color café rojizo. Se centrifugó el contenido del matraz y se eliminó el sobrenadante. Se lavó el precipitado dos veces más con agua destilada. El material obtenido se seca en un horno a 80°C por una hora.

2.2. Caracterización de micropartículas de cobre y membranas poliméricas

Para observar la morfología de las CuMP se utilizó microscopía de barrido electrónico (SEM; JEOL, JSM 6610LV) y el análisis químico elemental por espectrometría de energía de dispersión de rayos X (EDS, Oxford, INCA). Para el análisis de cristalinidad se utilizó espectrometría de difracción de rayos X (XRD; Bruker, D8-Discover) utilizando radiación de $\text{CuK}\alpha$ ($\lambda = 1.5418 \text{ \AA}$). Para la observación de las membranas PLA/PVA/CuMP en un medio de cultivo inoculado con bacterias fue empleado un microscopio óptico compuesto de 1000x.

2.3. Determinación de actividad fotocatalítica

La actividad fotocatalítica del material se determinó por degradación oxidativa utilizando reactores fotocatalíticos experimentales. Se utilizaron 100 ml de una solución de azul de metileno a 10 ppm. Se agregó 0.1 g de micropartículas de cobre a la solución de azul de metileno. La solución y las micropartículas se introdujeron en un reactor de aireación, acondicionado con luz visible y ultravioleta. Se dejó reaccionar el sistema por 2 horas obteniendo alícuotas a intervalos regulares.

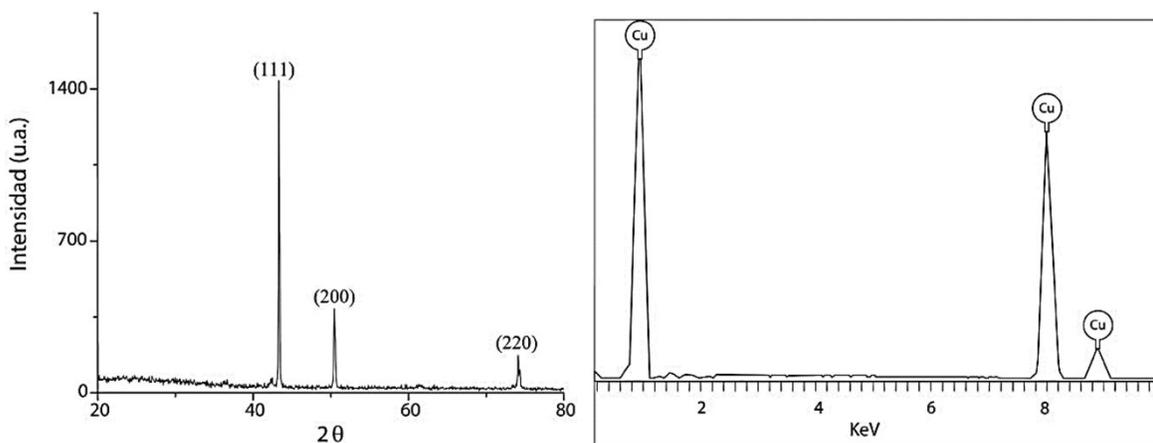


FIGURE 1. a) Espectro XRD de micropartículas de cobre sintetizadas. b) Patrón obtenido por EDS de las partículas de cobre sintetizadas.

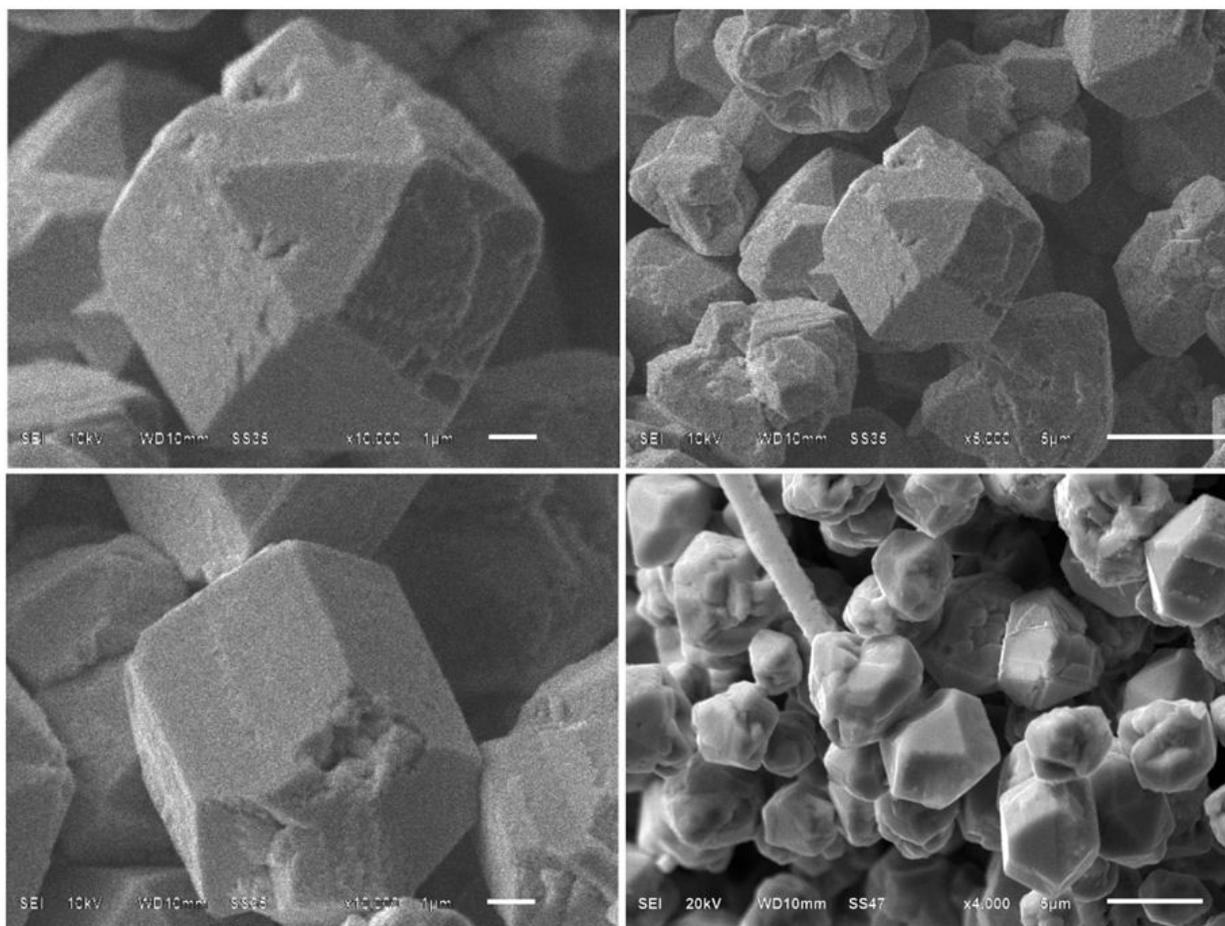


FIGURE 2. Imágenes SEM de las partículas de cobre sintetizadas.

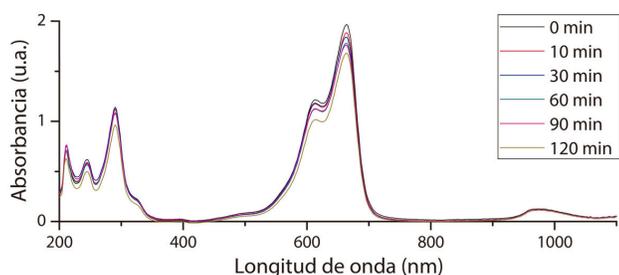


FIGURE 3. Espectro UV-Vis de solución de azul de metileno degradada con CuMP's.

2.4. Determinación actividad antimicrobiana

Para la determinación de la actividad antimicrobiana se siguió el método de difusión de discos descrito en la Ref. [8]. En resumen, se prepararon medios de cultivo estándar de L-B agar en cajas Petri estériles y discos de papel filtro con diferentes concentraciones de CuMP's, 0.1 mg, 0.5 mg, 1 mg, 5 mg, 10 mg y 20 mg. Se colocaron los discos sobre la superficie del medio y se inocularon con la sepa de *S. Aureus*. Se dejaron en crecimiento por 72 horas a 37°C. Se realizó un

experimento de control en ausencia de CuMP y todos los experimentos se realizaron por triplicado.

2.5. Electro-hilado de membranas

La fabricación de las membranas con partículas de cobre se llevó a cabo en un prototipo de electro-hilador empleado en una investigación reciente [7]. Se prepararon dos soluciones de polímeros biodegradables, poliácido láctico (PLA) y polivinil alcohol (PVA). En la solución de PLA, se agregó 0.1 g de CuMP's y se dispersaron con ultrasonido. Se cargan las soluciones en los inyectores y se utilizaron 20 kV para el proceso. Se dejó el hilado por 30 minutos.

3. Resultados y discusión

3.1. Síntesis y caracterización de micropartículas de cobre

En la síntesis de las micropartículas de cobre mediante el método asistido por microondas y utilizando como agente reductor el ácido ascórbico se presenta la formación de partículas metálicas de cobre como es de esperarse por la transfer-

encia de electrones del agente reductor a los iones metálicos del sulfato de cobre, produciendo la precipitación del cobre metálico. El uso de la radiación de microondas reduce el tiempo de síntesis y favorece la formación de morfologías poliédricas. El análisis de las CuMP's por XRD establece su estructura cristalina, ya que el patrón de difracción (ver Fig. 1) muestra la presencia de la fase cristalina pura de cobre con estructura cúbica centrada en las caras (FCC) con sus picos característicos en (111), (200) y (220) en sus respectivos valores de 2θ de 43.3° , 50.5° y 74.1° , siendo un buen ajuste con el patrón JCPDS (JCPDS 04-0836). De igual manera se confirma la pureza de las partículas obtenidas con EDS, (ver Fig. 1b), mostrando los picos característicos del cobre en $L\alpha$ con un valor de 0.92 KeV y en 8.04 KeV correspondiente al $K\alpha$, propios del cobre metálico. La morfología de las micropartículas se obtuvo con SEM a diferentes ampliificaciones (Fig. 2). Las imágenes muestran estructuras en el orden de micras, menores o iguales a $10\ \mu\text{m}$, con morfologías poliédricas diversas tal como se esperaba.

3.2. Actividad fotocatalítica

Se realizaron los experimentos descritos en la sección de métodos utilizando la concentración de cobre y colorante orgánicos descritos. El porcentaje de degradación fue de 15 % en un periodo de 120 minutos, (ver Fig. 3). Esta degradación puede no estar relacionada al fotocatalizador si no a una degradación del mismo colorante por acción de la luz incidente sobre la muestra. Los resultados obtenidos no fueron concluyentes debido a que no existió una degradación significativa a esa concentración de partículas de cobre. Se debe realizar un diseño de experimentos a fin de encontrar la concentración en que el material comienza a degradar de forma significativa.

3.3. Actividad antimicrobiana

Se observó que a las diferentes concentraciones de cobre existe un halo de inhibición de crecimiento bacterial debido a la presencia de las partículas de cobre, (ver Fig. 4). Esta inhibición es atribuida a la liberación de iones de cobre al medio. Para el caso de las concentraciones más bajas se observa que el halo está mejor definido que las concentraciones que

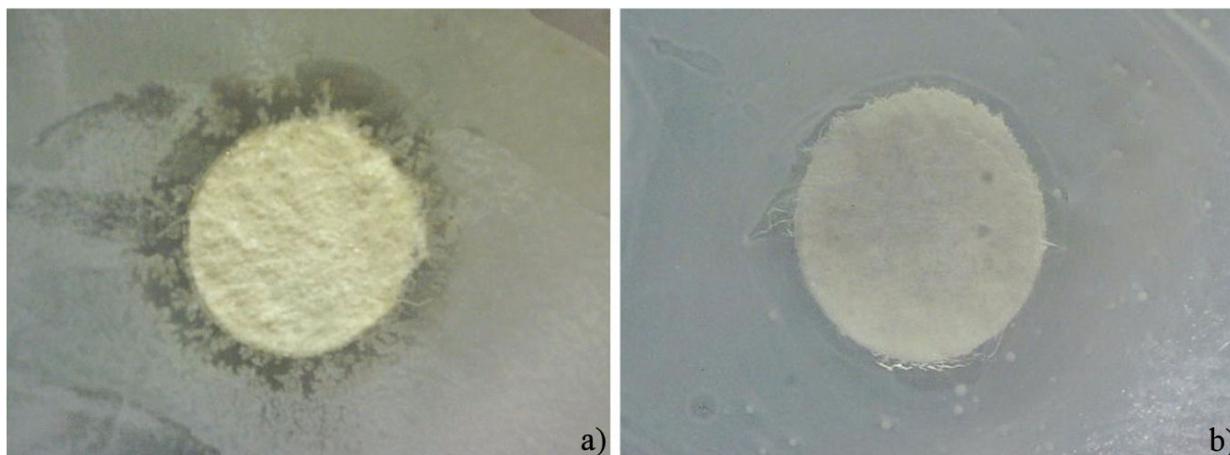


FIGURE 4. Presencia de halo de inhibición de crecimiento de *S. Aureus* a concentración de 0.1 mg a) y 0.5 mg b).

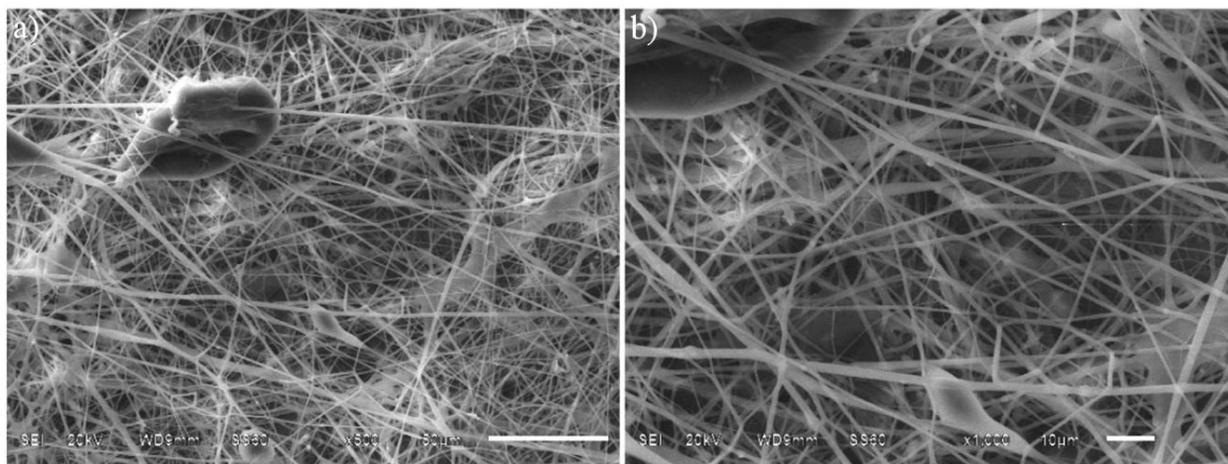


FIGURE 5. Imágenes SEM de membrana electro-hilada PLA/PVA/CuMP.

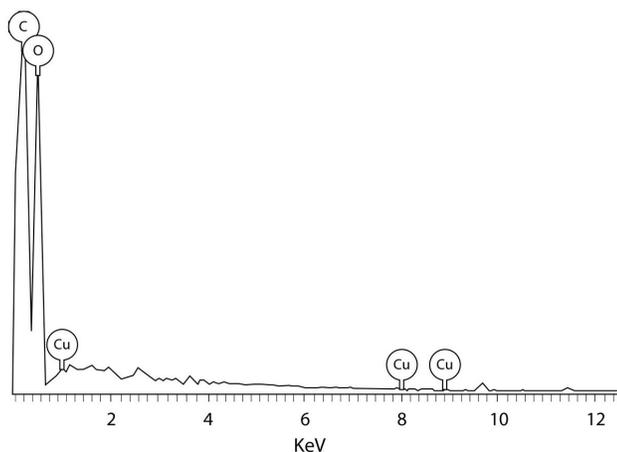


FIGURE 6. Patrón obtenido por EDS de membrana electro-hilada polimérica con cobre.

tienen una cantidad mayor del material. Adicionalmente se observa que las concentraciones más altas se oxidan notoriamente por la presencia de humedad en el medio. En este experimento solo se determinó la actividad antimicrobiana del material y no las concentraciones tóxicas mínimas y máximas.

3.4. Membranas poliméricas funcionalizadas con cobre

En el electro-hilador se obtuvo una membrana polimérica biodegradable formada de PLA y PVA a la cual se le incrustaron partículas de cobre sintetizadas. En la caracterización con SEM se observa el entretrejido de hilos poliméricos, así como partículas de cobre sobre la superficie de los filamentos de la membrana, ver Fig. 5. Estas partículas son del orden menor a 10 micras, lo que sugiere que las partícu-

las más ligeras del material son los que lograron proyectarse en el proceso de electro-hilado mientras que las más grandes se sedimentan dentro de los inyectores. Así mismo, los hilos de polímeros tienen un grosor de una micra a 500 nm. Se caracteriza de igual forma su composición elemental con EDS, ver Fig. 6, el cual muestra la presencia del cobre en una proporción de 0.14 % y el resto carbón y oxígeno. También se muestra una señal de sodio, el cual se explica por el uso del agua utilizada que contenía sodio, quedando en la membrana en una proporción del 12 %. Se tiene que hacer un estudio mayor de la disposición de las partículas para conocer su porcentaje de disponibilidad en la membrana, motivo de estudios futuros.

4. Conclusiones

Se obtuvieron partículas de cobre del orden micrométrico con morfologías poliédricas y una alta cristalinidad por medio de un novedoso método de reducción química asistido por microondas, el cual reduce el tiempo de reacción, disminuye costos y mejora la reproducibilidad del método. De los posibles usos propuestos para el polvo de CuMP, el que fue comprobado fue el estudio de actividad antimicrobiana, ya que sí existió un halo de inhibición en las pruebas desarrolladas con las dos bacterias utilizadas. Además, se elaboró una membrana polimérica biodegradable a base de PLA y PVA con partículas de cobre en su composición (PLA/PVA/CuMP). El método de elaboración de la membrana debe ser revisado para aumentar la cantidad de cobre en la misma, así como realizar un estudio futuro de disposición del cobre en la membrana para conocer qué cantidad de CuMP está disponible para realizar su función antimicrobiana.

1. G. Delibes y M. Fernández-Miranda, *Los orígenes de la civilización. El Calcolítico en el Viejo Mundo*. Primera edición. (España, Madrid: Síntesis, 1993).
2. P.K. Khanna, S. Gaikwad, P.V. Adhyapak, N. Singh, R. Marimuthu. *Mater. Lett.* **61** (2007) 4711.
3. A. Khan, A. Rashid, R. Younas, y R. Chong, *Int Nano Lett.* **6** (2016) 21.
4. N. Sreeju, A. Rufus, y D. J. Philip, *Mol. Liq.* **221** (2016) 1008.
5. J.B. Fathima, A. Pugazhendhi, M. Oves, *Venis, Rose. J. Mol. Liq.* **260** (2018) 1.
6. D. Montero, C. Arellano, M. Pardo, R. Vera, *Antimicrobial Resistance and Infection Control.* **8:3** (2019).
7. M.A. Morales Sanchez *et al.*, *Russian Journal of Biological Physics and Chemistry*, **3** (4) (2018).
8. E. A. Tendencia, *Disk diffusion method. In Laboratory manual of standardized methods for antimicrobial sensitivity tests for bacteria isolated from aquatic animals and environment* (2004) 13-29. Tigbauan, Iloilo, Philippines: Aquaculture Department, Southeast Asian Fisheries Development Center.