



**UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE  
TABASCO**

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



**BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC  
MEDIANTE ACTINOBACTERIAS: ESTRATEGIA PARA EL  
CONTROL DE HONGOS EN EDIFICIOS MODERNOS**

**TESIS**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

**LICENCIADA EN BIOLOGÍA**

PRESENTA:

**TANIA CAROLINA SÁNCHEZ GARCÍA**

DIRECTORA:

**DRA. SUSANA DEL CARMEN DE LA ROSA GARCÍA**

CODIRECTORA:

**MTRA. STEPHANIA GUADALUPE LÁZARO MASS**

Villahermosa, Tabasco. Junio 2024



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**2024**  
**Felipe Carrillo  
PUERTO**  
RECTOR DE LA UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO  
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA  
ESTADOS UNIDOS MEXICANOS

**DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN**

Villahermosa, Tab., a 21 de Mayo de 2024


**ASUNTO:** Autorización de Modalidad de Titulación

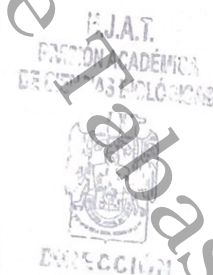
**C. LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON  
JEFE DEL DEPTO. DE CERTIFICACIÓN Y TITULACION  
DIRECCIÓN DE SERVICIOS ESCOLARES  
P R E S E N T E**

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado, informo a usted, que en base al reglamento de titulación vigente en esta Universidad, ésta Dirección a mi cargo, autoriza a la **C. TANIA CAROLINA SÁNCHEZ GARCÍA** egresada de la Lic. en **BIOLOGIA** de la División Académica de **CIENCIAS BIOLÓGICAS** la opción de titularse bajo la modalidad de Tesis denominado: "**BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC MEDIANTE ACTINOBACTERIAS: ESTRATEGIA PARA EL CONTROL DE HONGOS EN EDIFICIOS MODERNOS**".

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para saludarle afectuosamente.

**A T E N T A M E N T E**

  
**DR. ARTURO GARRIDO MORA  
DIRECTOR DE LA DIVISIÓN ACADÉMICA  
DE CIENCIAS BIOLÓGICAS**



C.c.p.- Expediente Alumno de la División Académica  
C.c.p.- Interesado



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



2024  
Felipe Carrillo  
PUERTO  
ARRIBA EL PROLETARIADO  
ABOLIMOS LOS SEÑORES  
DEL NARANJO  
CON FIANZA DE  
MÉXICO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN

MAYO 21 DE 2024

**C. TANIA CAROLINA SÁNCHEZ GARCÍA  
PAS. DE LA LIC. EN BIOLOGIA  
PRESENTE**

En virtud de haber cumplido con lo establecido en los Arts. 80 al 85 del Cap. III del Reglamento de titulación de esta Universidad, tengo a bien comunicarle que se le autoriza la impresión de su Trabajo Recepcional, en la Modalidad de Tesis denominado: **"BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC MEDIANTE ACTINOBACTERIAS: ESTRATEGIA PARA EL CONTROL DE HONGOS EN EDIFICIOS MODERNOS"**, asesorado por la Dra. Susana del Carmen la Rosa García y Mtra. Stephania Guadalupe Lázaro Mass, sobre el cual sustentará su Examen Profesional, cuyo jurado está integrado por la Dra. Erika Escalante Espinosa, Dr. Gabriel Núñez Nogueira, Dra. Susana del Carmen la Rosa García, Dr. Rosendo López González y Dr. José Edmundo Rosique Gil.

**ATENTAMENTE  
ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE**

**DR. ARTURO GARRIDO MORA  
DIRECTOR**

C.c.p.- Expediente del Alumno.  
Archivo.



**UNIVERSIDAD JUÁREZ  
AUTÓNOMA DE TABASCO**

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



**2024**  
**Felipe Carrillo  
PUERTO**  
FUNDADOR DEL PARTIDO  
REVOLUCIONARIO  
MEXICANO

DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS BIOLÓGICAS  
DIRECCIÓN

21 de mayo de 2024

**C. Tania Carolina Sánchez García**  
**Pasante de la Lic. en Biología.**  
**PRESENTE**

En cumplimiento de los lineamientos de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, se implementó la revisión del trabajo recepcional (**Tesis**), a través de la plataforma Turnitin iThenticate para evitar el plagio e incrementar la calidad en los procesos académicos y de investigación en esta División Académica. Esta revisión se realizó en correspondencia con el Código de Ética de la Universidad y el Código Institucional de Ética para la Investigación.

Por este conducto, hago de su conocimiento las observaciones, el índice de similitud y el reporte de originalidad obtenido a través de la revisión en la plataforma iThenticate de su documento de tesis "**Biosíntesis de nanopartículas de óxido de zinc mediante actinobacterias: estrategia para el control de hongos en edificios modernos**".

OBSERVACIONES:

Se excluyeron citas, bibliografía y se limitó el número de coincidencias a 15 palabras.

<b>RESULTADO DE SIMILITUD</b>	<b>0 %</b>
	<b>13358 palabras, &lt;15 coincidencias, &lt;10% fuentes</b>

Finalmente, se le solicita al **C. Tania Carolina Sánchez García** integrar en la versión final del trabajo recepcional (tesis), este oficio y el informe de originalidad con el porcentaje de similitud de Turnitin iThenticate.

Sin otro particular al cual referirme, aprovecho la oportunidad para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE  
"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"

**DR. ARTURO GARRIDO MORA**  
**DIRECTOR**

C.c.p. Dra. Susana del Carmen de la Rosa García. Directora de tesis.  
C.c.p. Archivo

## CARTA AUTORIZACIÓN


El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la modalidad de Tesis de Licenciatura denominado: **"BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC MEDIANTE ACTINOBACTERIAS: ESTRATEGIA PARA EL CONTROL DE HONGOS EN EDIFICIOS MODERNOS"**, de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco el Trabajo Recepcional antes mencionada, será única y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro; autorización que se hace de manera enunciativa más no limitativa para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID) y a cualquier otra red académica con las que la Universidad tenga relación institucional.

Por lo antes manifestado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco el Día 21 de Mayo de Dos Mil Veinticuatro.

AUTORIZO



---

TANIA CAROLINA SÁNCHEZ GARCÍA

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.

*A mi madre y a mi padre*

Por haberme proporcionado la mejor educación y lecciones de vida. Por enseñarme que con esfuerzo, trabajo y constancia todo se consigue, y a su vez por la motivación de continuar mis estudios. Gracias por todo el apoyo, consejos, ánimos, amor y un sin número de cosas que jamás podré terminar de mencionar.

*A mis hermanas*

Loly y Ana, gracias por siempre estar ahí para reír, llorar y solidarizarnos. Por los buenos ratos que me contagian de felicidad, por celebrar mis triunfos como si fueran suyos. Gracias por ser mis confidentes y compañeras de toda la vida, pero también por ser las personas que me motivan, son mi todo.

*Siempre estaré completamente agradecida, los amo.*

## AGRADECIMIENTOS

A mi directora de tesis, la Dra. Susana del Carmen De la Rosa García, principalmente quiero agradecerle que sin su apoyo y compromiso no hubiese sido posible la elaboración de este trabajo, pero también por ser parte de mi formación académica, por compartir su conocimiento, su entusiasmo que transmite al ver el mundo microscópico, que me contagia y me ha motivado para seguir estudiando. Gracias por abrirme las puertas del laboratorio, por su amistad, y por ser la persona quien supo guiarme en todo este proceso.

A mi codirectora, la Mtra. Stephania Guadalupe Lázaro Mass, por su apoyo, paciencia y tiempo dedicado. Gracias por siempre resolver mis dudas, por ser inspiración de siempre querer llegar lejos.

Al Dr. Sergio Alberto Gómez Cornelio, por su ayuda, por brindarme la disposición de mis cepas en todo momento, por su amistad, y ser parte de este logro, muchísimas gracias.

Agradezco a mis sinodales, al Dr. Gabriel Núñez Nogueira, Dra. Erika Escalante Espinosa por su interés, tiempo, por sus acertados comentarios que siempre fueron de manera positiva, así como también por su disposición para participar en la evaluación de este trabajo. Igualmente, al comité revisor el Dr. Rosendo López González y el Dr. Edmundo Rosique Gil por su tiempo en la revisión de este trabajo.

A mis amigos del Laboratorio, Isys, Félix, Luis, Jazmín, Yessi, Vivi, y Graciela, por ser parte de esta experiencia, por su apoyo, por estar en las buenas y en las malas, por hacer mejores los días en el lab. ¡Gracias, chicos!

A mis amigos de la carrera y a todas las grandes personas que conocí durante este tiempo, que supieron aceptarme e hicieron a un lado nuestras diferencias y me brindaron su amistad y apoyo, gracias por las horas compartidas, los trabajos realizados y aventuras vividas. No menos importante, agradecer a la División Académica de Ciencias Biológicas (DACBiol) por sus instalaciones prestadas, llevando a cabo la realización de este trabajo en el

Laboratorio de Microbiología Aplicada, que me ha exigido tanto, pero al mismo tiempo me ha permitido obtener mi tan ansiado título. Así mismo, agradecer a otras instituciones como Universidad Politécnica del Centro, al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del IPN (Cinvestav-Unidad Mérida) y a los Laboratorios de Nanotecnología y de Bioensayos y Pruebas Medioambientales en el Centro de Investigación de Ciencia y Tecnología Aplicada del Estado de Tabasco (CICTAT) de la División Académica de Ingeniería y Arquitectura (DAIA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT).

Proyecto financiado por de PRODECTI 2022-01/75 “Biosíntesis de nanopartículas de Zn y Ag por actinobacterias con actividad antifúngica para aplicación en la industria de la construcción”.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México

## INDICE

<b>LISTA DE TABLAS</b> .....	<b>I</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>II</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>III</b>
<i>Capítulo 1</i>	
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>2</b>
<i>Capítulo 2</i>	
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	<b>5</b>
<b>2.1 DIFERENTES ÁREAS DE APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO</b> .....	<b>5</b>
<b>2.3 CONDICIONES TROPICALES Y SÍNDROME DEL EDIFICIO ENFERMO</b> .....	<b>6</b>
<b>2.4 NANOTECNOLOGÍA Y LA INDUSTRIA DE LA CONSTRUCCIÓN</b> .....	<b>7</b>
<b>2.5 SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS</b> .....	<b>8</b>
<b>2.6 ACTINOBACTERIAS EN LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS</b> .....	<b>8</b>
<b>2.7 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS</b> .....	<b>10</b>
<b>2.8 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE NANOPARTÍCULAS</b> .....	<b>10</b>
<i>Capítulo 3</i>	
<b>3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b> .....	<b>13</b>
<b>3.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN</b> .....	<b>13</b>
<b>3.2 OBJETIVOS</b> .....	<b>14</b>
<i>Capítulo 4</i>	
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	<b>16</b>
<i>Capítulo 5</i>	
<b>5. DIAGRAMA EXPERIMENTAL</b> .....	<b>18</b>
<i>Capítulo 6</i>	
<b>6. METODOLOGÍA</b> .....	<b>20</b>
<b>6.1 CEPAS DE TRABAJO</b> .....	<b>20</b>
<b>6.2 BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC.</b> .....	<b>21</b>
<b>6.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC</b> .....	<b>22</b>
<b>6.3.1 ESPECTROSCOPIA UV-Vis</b> .....	<b>22</b>

6.3.2	DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX).....	23
6.3.3	DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS).....	24
6.3.4	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE EMISIÓN DE CAMPO (FESEM).....	24
6.4	ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA.....	25
6.4.1	PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS.....	26
6.4.2	OBTENCIÓN DE CONIDIOS.....	26
6.4.3	ENSAYO DE MICRODILUCIÓN Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI).....	26
6.4.4	DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA (CMF).....	28
<i>Capítulo 7</i>		
7.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	30
7.1	BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC.....	30
7.2	CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC.....	32
7.2.1	ESPECTROSCOPIA UV-Vis.....	32
7.2.2	DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX).....	33
7.2.3	DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS).....	35
7.2.4	MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE EMISIÓN DE CAMPO.....	37
7.3	ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA.....	40
7.3.1	ENSAYO DE MICRODILUCIÓN Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) Y DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA (CMF).....	40
<i>Capítulo 8</i>		
8.	CONCLUSIONES.....	48
<i>Capítulo 9</i>		
9.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Características de distintos tipos de NP sintetizadas por Actinobacterias del género <i>Streptomyces</i> sp. (modificada de Sivasankar <i>et al.</i> , 2019). .....	9
Cuadro 2. Rendimiento de nanopartículas de ZnO obtenidas de los diferentes SLC de Actinobacterias usando diferentes precursores.....	32
Cuadro 3. Bordes de absorción de nanopartículas de ZnO obtenidas de los diferentes SLC de Actinobacterias usando diferentes precursores.....	33
Cuadro 4. Tamaño de cristalito por DRX para las NP de ZnO .....	34
Cuadro 5. Valores de potencial Z e índice de Polidispersidad (PDI) de las NP de ZnO a través de diferentes precursores. Los valores corresponden a la media $\pm$ la desviación estándar.....	36
Cuadro 6. Valores de CMI, CMF y modo de acción (MA) de NP de ZnO por el precursor Acetato de zinc .....	41
Cuadro 7. Valores de CMI, CMF y modo de acción (MA) de NP de ZnO por el precursor Sulfato de zinc.....	42
Cuadro 8. Valores de CMI, CMF y modo de acción (MA) de NP de ZnO por el precursor Nitrato de zinc contra diferentes cepas de hongos.....	43
Cuadro 9. Cuadro comparativo de las características de las NP de ZnO obtenidos por los diferentes precursores y su relación a su actividad biológica.....	45

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Cepas de Actinobacterias seleccionadas para este estudio creciendo en medio ISP-2: A) S31A62, B) S31A55, C) S61A09, D) S22A22, E) S31A53 y F) S41A01.....	20
Figura 2. Esquema de biosíntesis de NP de ZnO usando el sobrenadante de cepas de <i>Streptomyces</i> sp. Creado con BioRender.com.....	22
Figura 3. Conidios de las cepas fúngicas aisladas de edificios enfermos A) <i>Stachybotrys</i> sp. (H9), B) <i>Fusarium</i> sp. (H8) C) <i>Stachybotrys</i> sp. (H7), D) <i>Curvularia</i> sp. (H3), E) <i>Phoma</i> sp.	

(H4), y F) *Scolecobasidium* sp. (H1). Barra de escala: A-D= 10  $\mu\text{m}$ , E= 100  $\mu\text{m}$  y F= 5  $\mu\text{m}$ .  
..... 25

Figura 4. Esquema de posición de NP en microplaca de 96 pocillos para el ensayo de CMI.  
..... 27

Figura 5. Evaluación del potencial de los sobrenadantes libres de células (SLC) de diversas cepas de Actinobacterias en la producción bioasistida de nanopartículas de ZnO utilizando distintos precursores químicos. A) S31A62, B) S61A09, C) S31A55..... 30

Figura 6. Patrones de espectroscopia UV-vis de las NP de ZnO, bioasistidas por las diferentes Actinobacterias y usando como precursores: A) Sulfato de zinc, B) Acetato de zinc y C) Nitrato de zinc. .... 32

Figura 7. Patrones de difracción de rayos X de las NP de ZnO, bioasistidas por las diferentes Actinobacterias y usando como precursores: A) Sulfato de zinc, B) Acetato de zinc y C) Nitrato de zinc. .... 34

Figura 8. Distribución del tamaño de partícula hidrodinámico de ZnO obtenido por DLS. A) Sulfato de zinc, B) Acetato de zinc y C) Nitrato de zinc..... 36

Figura 9. Nanoestructuras de ZnO utilizando Acetato de Zinc A) S22A22 forma de nanoflores, B) S31A62, nanoflores C) S41A01 nanoflores, D). S61A09 estructuras de nanoflores. .... 39

Figura 10. Nanoestructuras de ZnO utilizando Sulfato de Zinc: A) S31A53 nanoflores, B) S31A55 nanoplacas, C) S31A62 nano barras y placas..... 39

Figura 11. Nanoestructuras de ZnO utilizando Sulfato de Zinc: A) S22A22 nanoplacas, B) S61A09 nanoflores. Nitrato de zinc: C) S61A09, nanobarras hexagonales..... 40

Figura 12. H9 *Stachybotrys* sp. A) Revelado con Resazurina. Lectura de CMI. B) Replica en PDA y lectura de CMF. .... 42

Figura 13. H4 *Phoma* sp. A) Revelado con Resazurina. Lectura de CMI. B) Replica en PDA y lectura de CMF. .... 43

## RESUMEN

La necesidad de crear tecnologías que sean respetuosas con el medio ambiente para la producción de nanomateriales ha generado una amplia línea de investigación para su desarrollo mediante procesos biológicos. Siendo así la “síntesis verde” una de las metodologías más relevantes para la preparación de nanopartículas (NP). En ese sentido, se implementó el uso de la “síntesis verde” para la obtención de NP de ZnO como una alternativa para el control del crecimiento fúngico en materiales de construcción, tal como se presenta en los edificios enfermos. Los metabolitos secundarios de 6 cepas de *Streptomyces* sp. participaron como agente reductor en presencia de diferentes sales de zinc: Nitrato de zinc ( $Zn(NO_3)_2$ ), Sulfato de zinc heptahidratado ( $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ ), Cloruro de zinc ( $ZnCl_2$ ) y Acetato de zinc ( $ZnC_4H_6O_4$ ). Se evaluaron un total de 10 NP contra 6 hongos aislados de edificios enfermos (*Scolecobasidium* sp., *Curvularia* sp., *Phoma* sp., *Fusarium* sp. y dos especies de *Stachybotrys* spp.), determinando la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y Concentración Mínima Fungicida (CMF). La formación de las NP se caracterizó mediante Espectroscopía de absorción UV-Vis, Difracción de Rayos X (DRX), Dispersión de luz dinámica (DLS) y Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM). Se comprobó el efecto fungicida de las NP de ZnO independientemente del precursor y cepa usada, presentando actividad inhibitoria a concentraciones desde 0.078 mg/mL– 0.156 mg/mL.

**Palabras clave:** *Streptomyces* sp., Nanopartículas, ZnO, antifúngico, inhibición, Concentración Mínima Inhibitoria y Concentración Mínima Fungicida

*Capítulo 1*

# INTRODUCCIÓN

## 1. INTRODUCCIÓN

En la construcción, algunos materiales utilizados son sustratos susceptibles a la colonización de diversos hongos debido a su continua exposición a la humedad, la iluminación, la mala ventilación y altas temperaturas, factores que en general contribuyen al denominado “síndrome del edificio enfermo” (Ogar *et al.*, 2015; Carvajal-Vilches, 2015). Este síndrome se refiere a edificios donde al menos el 20% de los ocupantes experimentan afectaciones provocadas por las condiciones que presentan dichas edificaciones, tales como: irritación y sequedad en los ojos, garganta y nariz, resequedad en la piel, dolor de cabeza y fatiga. Esto puede llevar al desarrollo de condiciones médicas como bronquitis, rinitis o asma (Pérez *et al.*, 2015).

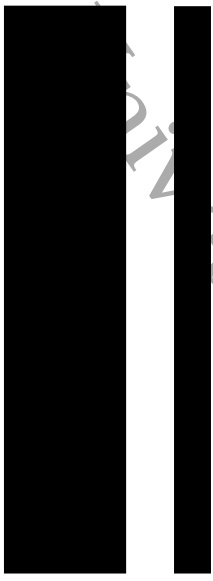
Una alternativa emergente es el uso de productos derivados del rápido desarrollo en nanotecnología, que tiene aplicaciones en diversas áreas industriales, como la medicina, la cosmética, la electrónica y los materiales de construcción. Las nanopartículas (NP) son materiales a nanoescala (con dimensiones entre 1 y 100 nanómetros), lo que les confiere áreas superficiales más grandes en comparación con partículas macroscópicas (Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo, 2015).

Los nanomateriales, particularmente las NP de óxidos metálicos como la plata, zinc, hierro y cobre, poseen un potencial antifúngico y antibacteriano debido a su relación área superficial/volumen (Shabatina *et al.*, 2022). Esto ha generado interés en el estudio de sus propiedades fisicoquímicas (Flores, 2014). Particularmente las NP de ZnO han demostrado excelentes propiedades antimicrobianas, inhibiendo el desarrollo de bacterias, hongos y levaduras (Shanmugasundaram & Balagurunathan, 2017). Sin embargo, la producción de NP a menudo involucra métodos físicos y químicos que pueden ser dañinos para el medio ambiente. La síntesis verde o biosíntesis, evita el uso de compuestos peligrosos y tóxicos, motivo por el cual se ha convertido en una técnica prometedora por ser sencilla, económica, y ambientalmente amigable, utilizando extractos de plantas, cultivos microbianos o enzimas (Pilaquina *et al.*, 2019).

Las NP biosintetizadas se obtienen mediante la reducción metálica intra y extracelular por microorganismos como mecanismo de detoxificación, donde algunas enzimas extracelulares reducen los iones metálicos a su estado elemental (Pereyra *et al.*, 2018).

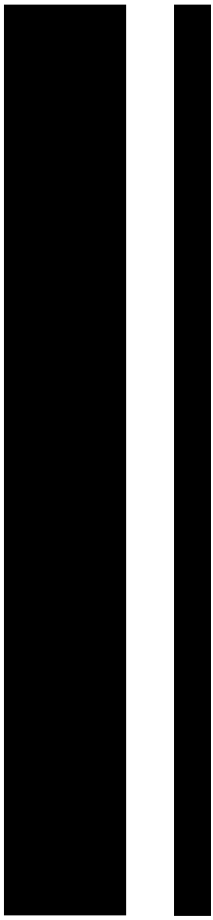
En ese sentido, las Actinobacterias son el filo bacteriano más diverso, ya que se encuentran en una amplia gama de ecosistemas, siendo metabólicamente muy versátiles. Producen una variedad de enzimas extracelulares, como la enzima Nitrato reductasa (E-NR). Algunos estudios reportan que las Actinobacterias productoras de esta enzima pueden reducir metales como la plata y el zinc (van Bergeijk *et al.*, 2020).

Con esta premisa, se realizó un estudio bioprospectivo en la Sierra del Madrigal y la “Florida”, aislando Actinobacterias y se seleccionaron 16 de 77 cepas de Actinobacterias productoras de la enzima Nitrato reductasa (E-NR) debido a su alta eficiencia en la biosíntesis intra y extracelular de nanopartículas de plata (NP de Ag), (Rico-Velazco *et al.*, 2018). Por lo tanto, en el presente trabajo se utilizaron cuatro de esas cepas de Actinobacterias para la biosíntesis de NP de Zn. Para este fin, se emplearon cuatro precursores metálicos: Acetato de zinc, Sulfato de zinc, Cloruro de zinc y Nitrato de zinc. Las nanopartículas resultantes fueron caracterizadas mediante Espectroscopía UV-Vis, Difracción de Rayos X (DRX), Dispersión de Luz Dinámica (DLS) y Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (FESEM), y se evaluó su potencial antifúngico y modo de acción contra hongos aislados de edificios afectados por el “síndrome del edificio enfermo.”



*Capítulo 2*

**ANTECEDENTES**



## 2. ANTECEDENTES

La nanotecnología, aunque se percibe como un campo moderno, ha estado presente desde la Edad Media, cuando se utilizaban pinturas que incorporaban nanopartículas de plata y oro en las decoraciones de las iglesias (Horikoshi & Serpone, 2013). En 1959, el científico visionario Richard Feynman esbozó las primeras ideas sobre la fabricación de materiales a escala atómica. Sin embargo, no fue hasta 1974 que el término 'nanotecnología' se acuñó para describir las técnicas que permiten manipular materiales a nanoescala. Un avance decisivo en este campo fue el desarrollo del microscopio de efecto túnel por Gerd Binnig y Heinrich Rohrer en 1981, lo que permitió visualizar y manipular la materia a nivel atómico (González *et al.*, 2021).

### 2.1 DIFERENTES ÁREAS DE APLICACIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ZnO

El óxido de zinc (ZnO), un compuesto del zinc, situado en el grupo II, y el oxígeno, del grupo VI de la tabla periódica, es reconocido como un semiconductor II-VI de importancia en la ciencia de materiales. Exhibe propiedades biomédicas notables, en parte debido a su actividad fotocatalítica y a su habilidad para generar especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés "reactive oxygen species"), las cuales pueden intervenir en la replicación del ADN (Zhou *et al.*, 2023).

Las NP de ZnO también se han convertido en un material destacado en la odontología gracias a sus propiedades antibacterianas. Su incorporación en resinas ha demostrado inhibir hasta un 80% del crecimiento de biopelículas de *Streptococcus sobrinus*, una bacteria relacionada con la caries dental (De Souza-Rastelli *et al.*, 2016). En los sectores de la agricultura y la seguridad alimentaria, las NP de ZnO han mostrado efectividad contra patógenos alimentarios como *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*, y varias especies de *Salmonella*, consolidándose como un conservante alimenticio con baja toxicidad. Del mismo modo, la aplicación foliar de NP de ZnO es una estrategia efectiva para mitigar la deficiencia de zinc en el suelo, logrando así un aumento significativo en el

rendimiento de las plantas, además de poseer propiedades antimicrobianas que pueden contribuir a la prevención y control de enfermedades en los cultivos (Estrada-Arellano *et al.*, 2023). La Administración de Alimentos y Medicamentos (FDA) de EE. UU. ha clasificado estas sustancias como “Generalmente Reconocidas como Seguras” (GRAS, por sus siglas en inglés "Generally Recognized as Safe").

Así mismo, su uso en las ciencias veterinarias se ha considerado a las NP metálicas como una herramienta revolucionaria e innovadora. Un claro ejemplo fue el efecto 100% garrapaticida a una concentración de 0.008 mg/mL de NP ZnO, investigación dirigida a combatir la especie *Rhipicephalus microplus* que afecta al ganado bovino (Ortiz-Arana *et al.*, 2021). Además, se han desarrollado productos que incluyen pañales, artículos de higiene personal, dentales, ungüentos y dispositivos médicos, todos ellos con recubrimientos basados en ZnO para la prevención del crecimiento bacteriano (Mokammel *et al.*, 2019).

### 2.3 CONDICIONES TROPICALES Y SÍNDROME DEL EDIFICIO ENFERMO

Según la clasificación climática de Köppen, los climas tropicales o cálidos se caracterizan por temperaturas constantemente superiores a los 22 °C y precipitaciones anuales que oscilan entre los 1000 y 4000 mm. Estas condiciones climáticas son ideales para la proliferación de microorganismos, influenciados por factores físicos como la humedad, temperatura, disponibilidad de agua, altitud, luz, aireación, y factores químicos, como el pH y la composición del sustrato, creando el ambiente óptimo para el crecimiento de hongos y bacterias (Mata & Salmones, 2021). No obstante, es importante reconocer que cada microorganismo posee características y necesidades únicas, así como nichos ecológicos diferenciados (Gómez-Daza, 2019). La acumulación de estos microorganismos en lugares como techos, ventanas y paredes internas puede desencadenar el Síndrome del Edificio Enfermo (SEE).

En 1982, la Organización Mundial de la Salud (OMS) diferenció dos categorías de edificios enfermos: aquellos que exhiben síntomas de forma temporal, desapareciendo

generalmente en unos seis meses, y edificios con síntomas persistentes que, a pesar de las intervenciones, pueden tardar años en resolverse (Cascales, 2009). Los síntomas más frecuentes en los ocupantes de edificios enfermos incluyen sequedad en ojos, nariz, garganta y piel, lagrimeo y dolores de cabeza. Cabe destacar que otros factores como los productos de limpieza, la ventilación inadecuada, los sistemas de aire acondicionado y el humo del tabaco también pueden contribuir a la aparición de estos síntomas (Manzano *et al.*, 2007). La presencia y colonización de cepas específicas, como *Stachybotrys chartarum*, *Aspergillus fumigatus*, *Chaetomium globosum* y *Cladosporium cladosporioides*, han sido fuertemente vinculadas con los síntomas previamente descritos (Ogar *et al.*, 2015).

#### 2.4 NANOTECNOLOGÍA Y LA INDUSTRIA DE LA CONSTRUCCIÓN.

La nanotecnología es tan versátil que abarca numerosas áreas de aplicación, ofreciendo la oportunidad de crear materiales innovadores con propiedades mejoradas. La construcción es una de estas áreas, y en la actualidad, hay una variedad de productos en el mercado que incorporan nanopartículas. Un ejemplo es el uso de nanomateriales en recubrimientos para madera, concreto, ladrillos, pinturas y pisos, así como aditivos para hormigón, plásticos, asfalto y adhesivos (Angelome & Angelomé, 2019).

Un estudio realizado en 2019 examinó la integración de nanopartículas de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) y zinc (Zn) en cemento para protegerlo contra los hongos, utilizando *Cladosporium* sp. como modelo biológico. Se descubrió que las NP de ZnO eran más eficaces que el  $\text{TiO}_2$  en la inhibición del crecimiento fúngico en los materiales de construcción (Loh *et al.*, 2018). Además, la aplicación de nanosílice en cementos y pastas actúa como nanorelleno y aglutinante, lo que reduce la porosidad y bloquea la penetración del agua, previniendo así la degradación del material (Mohajerani *et al.*, 2019).

Ciertas nanopartículas, como las de ZnO, TiO<sub>2</sub>, y dióxido de silicio (SiO<sub>2</sub>), ofrecen una notable mejora en la fluidez de mezclas compuestas por cemento, agua, grava y arena, facilitando una entrada más efectiva en lugares de difícil acceso (Chuquihuanga & Guerra, 2020).

## 2.5 SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS

La síntesis verde representa un enfoque biológico sostenible para la producción de nanopartículas y óxidos metálicos, con el objetivo de minimizar el impacto ambiental (Esquivel-Figueredo & Mas-Diego, 2021). Este método utiliza procesos biológicos de oxidación y reducción de metales, empleando metabolitos tales como proteínas y enzimas reductoras. Dependiendo del origen de las NP, la síntesis puede ser intracelular, utilizando componentes y enzimas dentro de la célula, o extracelular, aprovechando las sustancias secretadas en el medio de cultivo.








La síntesis verde es un método biológico que se emplea para la obtención de NP de metales y óxidos metálicos con el fin de ser sostenible con el medio ambiente (Gómez-Garzón, 2018). En un estudio, se utilizaron extractos de mucílago de cladodio de *Opuntia amychlaea* con el fin de actuar como agentes reductores y estabilizantes de partículas de ZnO. Sin embargo, se observó que estas NP no mostraron actividad antibacteriana contra *Escherichia coli* ni *Staphylococcus aureus*. Este fenómeno se atribuyó al encapsulamiento de polisacáridos y proteínas presentes en el mucílago utilizado durante el proceso (Francisco-Escudero *et al.*, 2017).

## 2.6 ACTINOBACTERIAS EN LA SÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS

Hasta la fecha, se ha recurrido a diversos microorganismos y plantas para llevar a cabo la síntesis de NP. Entre ellos, se han investigado las Actinobacterias como biomaquinarias para la síntesis de nanopartículas metálicas, principalmente debido a su capacidad para generar diversos compuestos bioactivos y enzimas (Kumari *et al.*, 2020).

Especies de *Streptomyces* sp. exhiben una adaptabilidad metabólica, empleando ácidos naturales, moléculas aromáticas, aminoácidos, azúcares y alcoholes en el proceso de producción de moléculas bioactivas. Destacado como el género más importante no solo en términos de propiedades infecciosas, ya que produce sustancias antibacterianas y antifúngicas, teniendo la capacidad de sintetizar NP de zinc y plata (Cuadro 1) (Sivasankar *et al.*, 2019) sino que también en el ámbito económico, debido a que el 50-55% de los antibióticos conocidos son generados por *Streptomyces* sp. (Manivasagan *et al.*, 2014).

**Cuadro 1.** Características de distintos tipos de NP sintetizadas por Actinobacterias del género *Streptomyces* sp. (modificada de Sivasankar *et al.*, 2019).

Cepa	Nanopartícula	Forma y tamaño	Dosis	Patógenos	Referencias
 <i>Streptomyces</i> sp.	Zinc	- / 16-25 nm	50 µg/mL	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> , <i>E. aerogenes</i> , <i>S. typhi</i> , <i>P. vulgaris</i>	Shanmugasundaram & Balagurunathan, 2017
 <i>S. plicatus</i>	Zinc	- / 21.96 nm	15.6-500 µg/mL	<i>E. amylovora</i> , <i>A. flavus</i> , <i>A. niger</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>F. moniliform</i> , <i>A. alternat</i> , <i>A. oryzae</i> , <i>A. fumigatus</i>	Kalaba <i>et al.</i> , 2021
 <i>S. enisocesilis</i>	Zinc	Aguja / 11-14.5 nm	-	<i>K. pneumoniae</i>	Rajivgandhi <i>et al.</i> , 2022
 <i>S. ghanaensis</i>	Plata	Esférico / 30- 50 nm	100 µg/mL	<i>H. influenzae</i> , <i>S. typhimurium</i> , <i>B. cereus</i>	Abirami & Kannabiran, 2016
 <i>S. calidiresistens</i>	Plata	Esférico / 5- 50 nm	16-128µg/mL y 8-256 µg/mL	<i>B. subtilis</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>C. albicans</i> , <i>M. furfur</i>	Wypij <i>et al.</i> , 2019
 <i>S. kasugaensis</i>	Plata	Esférico / 13.2 nm	-	<i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>E. coli</i>	Wypij <i>et al.</i> , 2017
 <i>S. xinghaiensis</i>	Plata	Esférico / 64 nm	16- 256 µg/mL	<i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>C. albicans</i> , <i>M. furfur</i>	Wypij <i>et al.</i> , 2017

**Nota:** (-) Sin registro.

Las Actinobacterias poseen la capacidad de generar nanopartículas mediante diversos mecanismos, como la absorción y reducción, destacando la participación de enzimas extracelulares, como las reductasas. Dentro de los organismos, la nicotinamida adenina dinucleótida (NADH) desempeña un papel crucial en la reducción de iones metálicos mediante la acción de la reductasa dependiente, ya que opera como un transportador de electrones y de iones metálicos (Li *et al.*, 2012). Dentro de estas, la enzima más reportada en síntesis de NP es la Nitrato reductasa dependiente de NADH. Esta enzima forma parte del ciclo del nitrógeno y actúa en la bio-reducción de iones metálicos (Hulkoti & Taranath, 2014).

## 2.7 TÉCNICAS DE CARACTERIZACIÓN DE NANOPARTÍCULAS

La caracterización detallada de las NP es fundamental en la ciencia de materiales, ya que revela cómo las distintas metodologías de síntesis, los modelos biológicos empleados y los precursores químicos influyen en la morfología y en las propiedades fisicoquímicas finales de las NP. Dependiendo de la técnica de caracterización aplicada, se pueden elucidar diversas propiedades del nanomaterial, como tamaño, forma, superficie específica, composición química y estructura cristalina (García-de la Cruz *et al.*, 2023). Para una comprensión integral de las NP, es recomendable incluir técnicas como la microscopía electrónica de barrido (SEM) para observar la morfología, la dispersión de luz dinámica (DLS) para el análisis de tamaño, la espectroscopia de energía dispersiva de rayos X (EDX) para la composición elemental, y la difracción de rayos X (DRX) para la estructura cristalina (Mayeen *et al.*, 2018).

## 2.8 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA DE NANOPARTÍCULAS

Se ha reportado que las NP de ZnO actúan como bactericidas y fungicidas, inhibiendo patógenos como *Penicillium expansum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger* y *Fusarium culmorum*. Se demostró su eficacia en plantas de tomate afectadas por *Fusarium oxysporum*, reafirmando el potencial de las NP de ZnO como agentes antifúngicos para controlar patógenos (González-Merino *et al.*, 2021). Adicionalmente, se estableció la actividad antifúngica de NP de ZnO sobre *Erythricium salmonicolor*, encontrando que concentraciones

de 9 mmol/L a 0.15 M y 12 mmol/L a 0.1 M impiden el desarrollo fúngico y provocan deformaciones en el crecimiento del microorganismo (Arciniegas-Grijalba *et al.*, 2017). En 2020, se evaluó la acción de las NP de ZnO contra hongos comunes en interiores como *Trichoderma viride*, *Aspergillus niger*, *Paecilomyces variotii* y *Penicillium ochrochloron*, reportando una actividad antifúngica efectiva en suspensión al 0.01%. Estos resultados sugieren que las NP de ZnO tienen un prometedor futuro en el desarrollo de materiales antifúngicos para construcción (Dyshlyuk *et al.*, 2020).

*Capítulo 3*

**PLANTEAMIENTO DEL  
PROBLEMA Y OBJETIVOS**

### 3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

El crecimiento microbiano en edificaciones y estructuras expuestas a la intemperie no solo compromete su integridad estructural, también pueden conducir al “Síndrome del Edificio Enfermo” mediante la presencia de diversos microorganismos y sus conidios. Tradicionalmente, se han utilizado productos químicos para combatir estos problemas; no obstante, tales agentes pueden ser perjudiciales para la salud humana y el medio ambiente. Por ello, se hace imperativa la adopción de tecnologías seguras, económicas y ecológicas, entre las cuales NP emergen como una alternativa prometedora. Investigaciones anteriores han demostrado la eficacia de las NP en el combate de patógenos como *Candida albicans* y *Staphylococcus aureus*, particularmente en el área de la medicina (Castro-Longoria, 2022). Sin embargo, existe una brecha en la investigación respecto a su aplicación contra microorganismos que deterioran las edificaciones modernas. Por lo tanto, los edificios situados en zonas tropicales enfrentan condiciones de humedad y temperatura que propician la proliferación de hongos causantes de micosis. Esta situación presenta una oportunidad para investigar la efectividad de las NP producidas mediante síntesis verde en el control de estos agentes patógenos.

#### 3.1 PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿Poseen las nanopartículas de óxido de zinc sintetizadas a través de la reducción metabólica de diferentes precursores por los metabolitos de Actinobacterias, propiedades antifúngicas que inhiben el crecimiento de cepas *in vitro* y sus posibles aplicaciones en la industria de la construcción?

### 3.2 OBJETIVOS

#### OBJETIVO GENERAL

Evaluar la actividad antifúngica de nanopartículas de ZnO biosintetizadas por Actinobacterias contra hongos aislados de edificios con características del síndrome de edificio enfermo.

#### OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Sintetizar nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) mediante procesos de síntesis asistida por Actinobacterias.
- Analizar las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas de ZnO biosintetizadas mediante los métodos de Espectroscopia UV-Vis, Difracción de Rayos X (DRX), Dispersión de luz (DLS) y Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM).
- Definir el modo de acción antifúngico de las nanopartículas de Zn mediante ensayos *in vitro* contra cepas fúngicas aisladas de edificaciones afectadas por el síndrome del edificio enfermo.

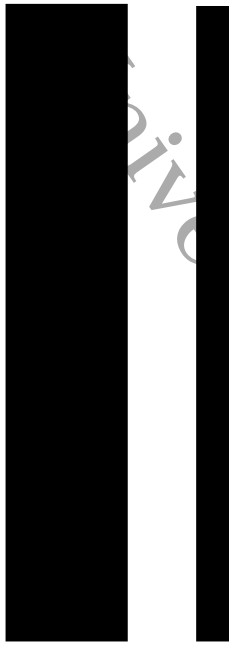
*Capítulo 4*

## **HIPÓTESIS**

#### 4. HIPÓTESIS

Las nanopartículas de óxido de zinc biosintetizadas mediante el aprovechamiento de la capacidad reductora del metabolismo de diversas cepas de Actinobacterias, presentarán modificaciones en sus propiedades intrínsecas que resultarán en una significativa actividad antifúngica, y que esta actividad será efectiva para aplicaciones específicas en la industria de la construcción.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.  
México

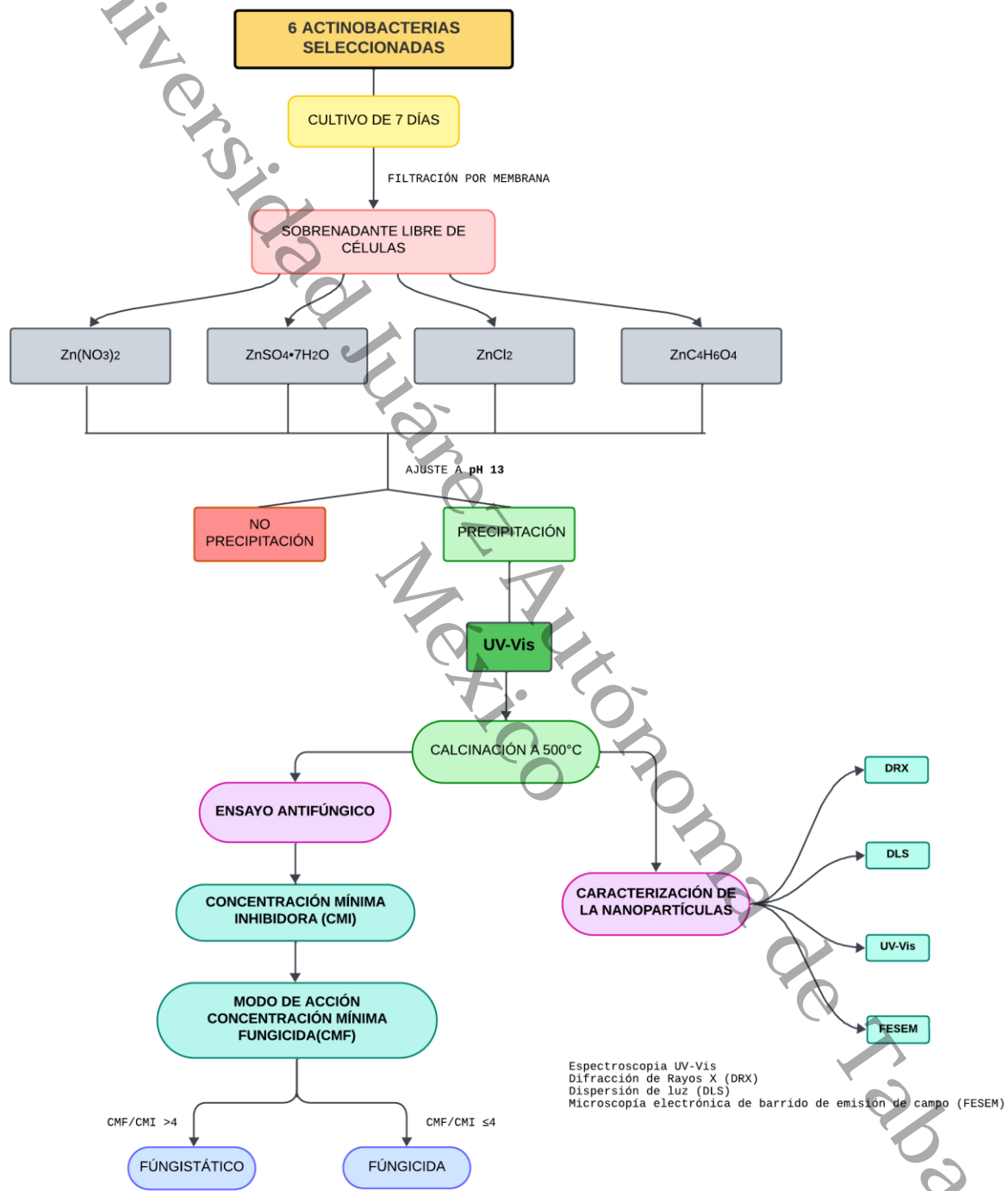


*Capítulo 5*

## **DIAGRAMA EXPERIMENTAL**



## 5. DIAGRAMA EXPERIMENTAL



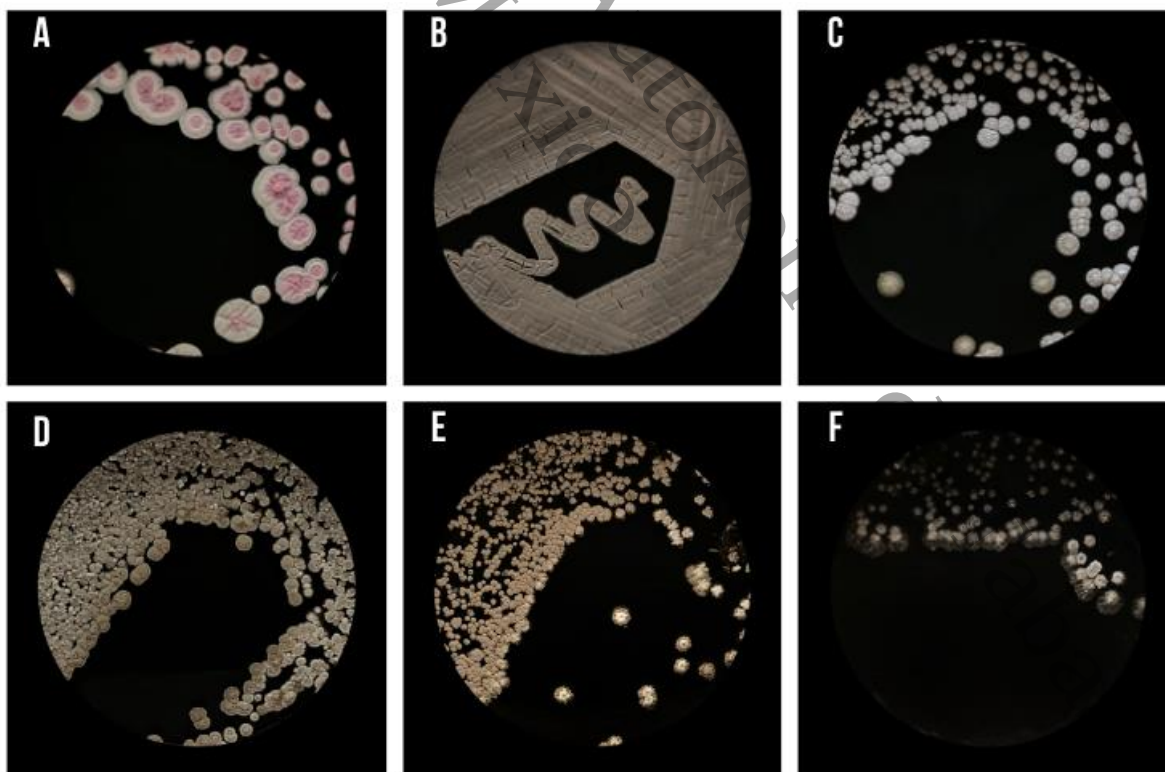
*Capítulo 6*

**METODOLOGÍA**

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 CEPAS DE TRABAJO

En el marco de un estudio bioprospectivo llevado a cabo en la Sierra El Madrigal, Teapa, Tabasco, se identificaron y registraron 16 cepas de Actinobacterias capaces de producir la enzima Nitrato reductasa (E-NR), (Rico-Velazco *et al.*, 2018). De este conjunto se seleccionaron cuatro cepas pertenecientes al género *Streptomyces* sp. por su destacada producción de NP. Estas cepas fueron codificadas de acuerdo con su origen geográfico de aislamiento: S22A22 de La Florida, S31A53, S31A55 y S31A62 de Puyacatengo, S41A01 de Agua Blanca, y S61A09 de Coconá, todas aisladas de los suelos de dicho lugar correspondiente. Las cepas seleccionadas se mantienen preservadas en el Laboratorio de Microbiología Aplicada de la División Académica de Ciencias Biológicas para su uso en este estudio (Fig. 1).



**Figura 1.** Cepas de Actinobacterias seleccionadas para este estudio creciendo en medio ISP-2: A) S31A62, B) S31A55, C) S61A09, D) S22A22, E) S31A53 y F) S41A01.

## 6.2 BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC.

Para la obtención de NP de ZnO, las Actinobacterias se sembraron en cajas de Petri con Agar ISP-2, y se inocularon de 2 a 3 semanas hasta que se observó la expresión de color del micelio sustrato y aéreo. Se prepararon matraces de 250 mL con 100 mL de caldo ISP-2 por Actinobacteria, y se inocularon con diez cilindros ( $\approx 8$  mm diámetro) perforados de la caja de la Actinobacterias correspondiente.

Los Matraces inoculados se incubaron a  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$  en agitación constante a 120 rpm por siete días. Después del tiempo de incubación, los cultivos se pre-filtraron con filtros Whatman No. 2 al vacío, y finalmente por Millipore con una medida de poro de  $0.45\text{ }\mu\text{m}$ . Al volumen obtenido se le adicionó el mismo volumen de los diferentes precursores: 1. Nitrato de zinc ( $\text{Zn}(\text{NO}_3)_2$ ) y 2. Sulfato de zinc heptahidratado ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) a 100 mM (El-Moslamy *et al.*, 2023), 3. Cloruro de zinc ( $\text{ZnCl}_2$ ) y 4. Acetato de zinc ( $\text{ZnC}_4\text{H}_6\text{O}_4$ ) a 10 mM (Moghaddam *et al.*, 2017), y se ajustaron a pH 13 con NaOH (Fig. 2), se dejaron en agitación constante en un orbitador a 120 rpm a  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$  por 24 h. Se consideró el cambio de color de la solución y la presencia de precipitados blancos como indicador de la posible biosíntesis de las NP de ZnO.

La presencia de las NP de ZnO biosintetizadas por las Actinobacterias se detectaron por UV- Vis, haciendo un barrido espectrofotométrico desde 200 a 800 nm. Posteriormente los precipitados blancos, se centrifugaron a 10,000 rpm por 40 min y las NP se separaron por decantación y se lavaron tres veces con agua desionizada para eliminar los residuos del medio de cultivo. El sólido obtenido se calcinó  $500\text{ }^{\circ}\text{C}$  para eliminar residuo orgánico, y se pesó y determinar el rendimiento.

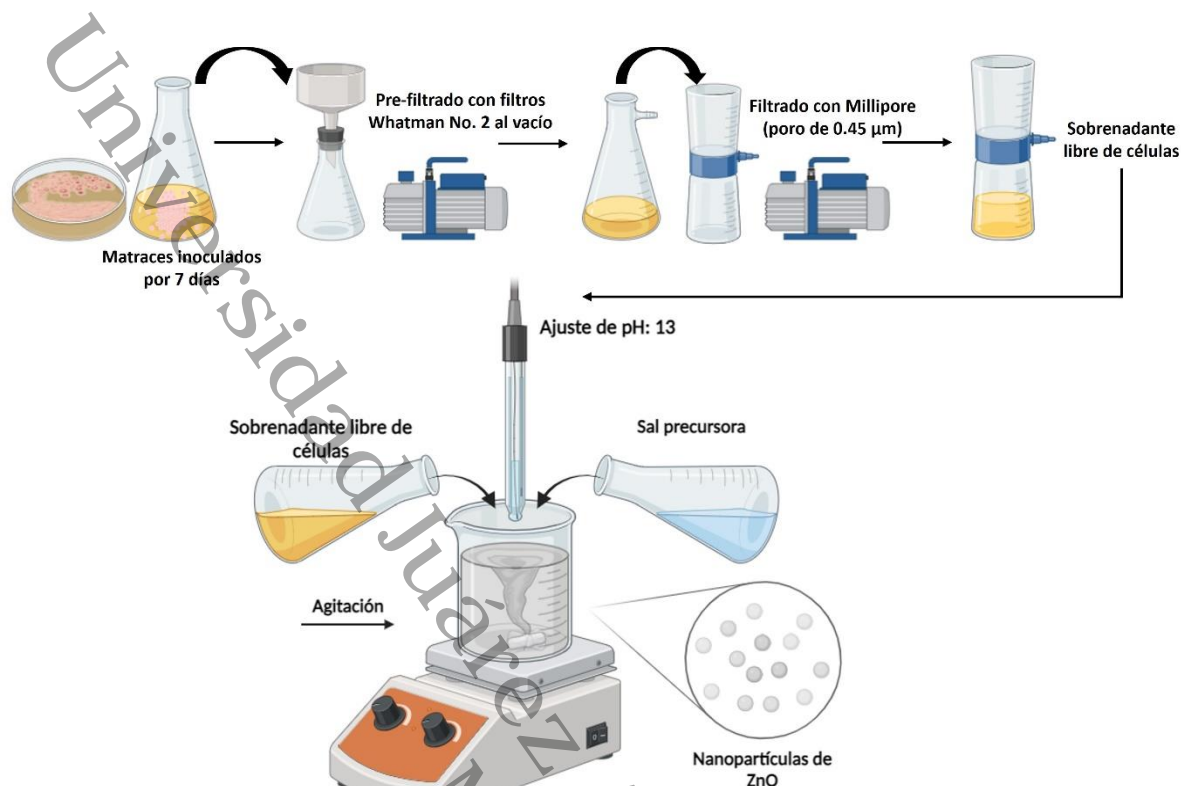


Figura 2. Esquema de biosíntesis de NP de ZnO usando el sobrenadante de cepas de *Streptomyces* sp. Creado con BioRender.com

### 6.3 CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC

Para las caracterizaciones de las NP se usaron la técnica de Espectroscopia de absorción UV-vis para determinar las propiedades ópticas. Difracción de Rayos X (DRX) para identificar la estructura cristalina. Dispersión de luz dinámica (DLS) para medir el tamaño y estabilidad en suspensión y Microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM) para observar la morfología superficial, y el tamaño de las NP.

#### 6.3.1 ESPECTROSCOPIA UV-Vis

La Espectroscopía UV-Vis se utilizó para confirmar la presencia NP mediante la detección de bandas de absorbancia a longitudes de onda específicas. Para las NP de ZnO, el borde de absorción debido a su banda de energía en la región UV cercana generalmente es

alrededor de 370 nm. Las mediciones espectrofotométricas se realizaron en celdas de cuarzo, en un rango de 200 a 800 nm con intervalos de 5 nm. Para las muestras que registraron valores altos de absorbancia, se le realizaron diluciones de 1:4 con agua destilada.

### 6.3.2 DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX).

La Difracción de Rayos X (DRX) es una técnica analítica fundamental en el campo de las nanociencias, utilizada para determinar las estructuras cristalinas, así como la composición y el tamaño del cristalito a nivel nanométrico. El difractograma resultante, que se compone de picos o reflexiones, permite calcular las distancias interplanares, proporcionando información detallada sobre la estructura cristalina de la muestra (Aparicio & Carbajal, 2010). Las mediciones se realizaron en un difractómetro de Rayos X Bruker D8 Advance, con geometría Bragg-Brentano y radiación Cu-K $\alpha$  (1.5418 Å), con fuente de energía de 40 kV e intensidad de corriente de 30 mA. Las muestras se depositaron sobre un porta muestras de silicio y se analizaron con un tiempo y tamaño de paso de 0.3 s y 0.02°, en un rango de 10° a 70° (2 $\theta$ ). La identificación se realizó por comparación del patrón de difracción con la base de datos del Joint Committee on Powder Diffraction Standards (JCPDF).

Así mismo, se determinó el tamaño del cristalito mediante la ecuación de Scherrer. En esta ecuación, L representa el tamaño de cristal, K= 0.89 la constante de Scherrer, corresponde al factor de escala que varía dependiendo de la forma cristalina de las nanopartículas, en este caso, partículas esféricas,  $\lambda$  es la longitud de onda de los rayos X,  $\beta$  es el ancho medio del pico máximo de difracción y  $\theta$  es el ángulo de Bragg.

$$L = \frac{K \lambda}{\beta \cdot \cos \theta}$$

### 6.3.3 DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS)

La Dispersión de Luz Dinámica (DLS) es una técnica analítica que nos brinda información acerca de la distribución de tamaño de partículas en suspensión al analizar las fluctuaciones en la intensidad de la luz dispersada, las cuales son causadas por el movimiento browniano de las partículas. Cuando un haz láser incide en una muestra con partículas en suspensión, estas partículas dispersan la luz en múltiples direcciones. La interferencia resultante de estas ondas dispersadas depende del movimiento de las partículas; es decir, la rapidez con la que cambian las posiciones relativas de las partículas altera las condiciones de interferencia y, por consiguiente, la intensidad de la luz dispersada (Cuadros-Moreno *et al.*, 2014).

El radio hidrodinámico y el potencial Z de las nanopartículas fueron determinados mediante las técnicas de Dispersión de Luz Dinámica (DLS) y microelectroforesis de Láser Doppler. Las muestras se suspendieron en agua ultrapura a una concentración de 0.0125 mg/mL y se sonicaron durante 30 min para asegurar una dispersión homogénea. La solución resultante se introdujo en una cubeta espectrofotométrica y se colocaron en el porta muestras del equipo Zetasizer Nano ZS (Malvern). Las mediciones se efectuaron manteniendo una temperatura constante de  $20 \pm 5$  °C y se utilizó una longitud de onda de 633 nm, con cinco mediciones por muestra para garantizar la precisión de los datos. Para determinar el potencial Z, se siguió un procedimiento similar, con la diferencia de que se incorporó un electrodo de medición ZEN1002-Zeta Dip CELL. Esto permitió evaluar la movilidad electroforética de las nanopartículas el potencial Z, que es un indicador de la estabilidad de la suspensión de las nanopartículas.

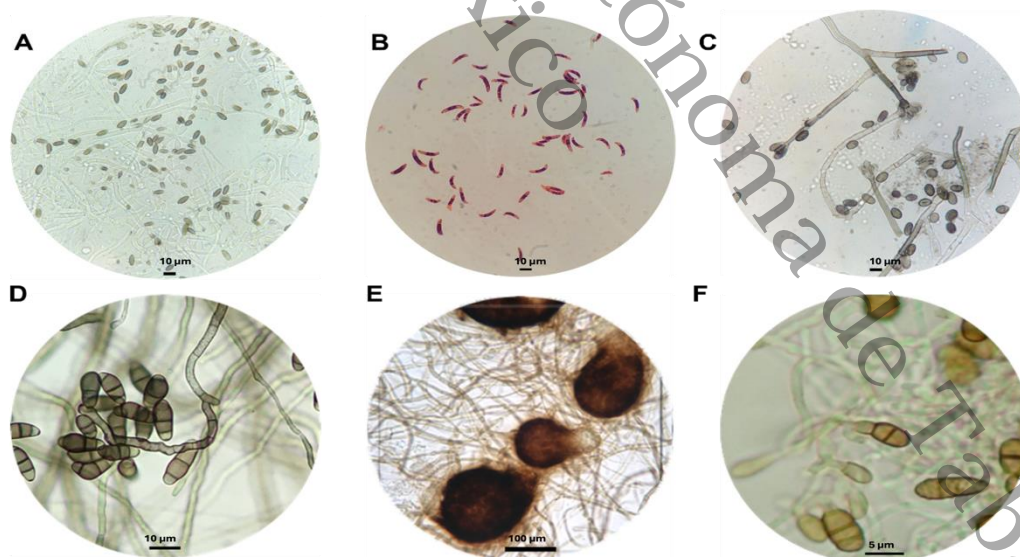
### 6.3.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE EMISIÓN DE CAMPO (FESEM)

La microscopía electrónica de barrido por emisión de campo (FESEM) es una técnica utilizada para la obtención de imágenes detalladas de la estructura superficial de materiales a una resolución nanométrica. Este método es particularmente valioso cuando se requiere una

resolución superior a la que puede proporcionar la SEM convencional para visualizar con claridad la morfología de los materiales (Orasugh *et al.*, 2020). En este estudio, la FESEM se empleó para examinar las NP de ZnO, para la obtención de una información detallada sobre su forma y tamaño. Las muestras para la microscopía se dispersaron en isopropanol mediante sonicación durante 15 min, asegurando una distribución homogénea. Posteriormente, se depositó una gota de esta suspensión sobre el porta muestras, se recubrió con Au/Pd y se dejó secar antes de realizar el análisis en el FESEM.

#### 6.4 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

Los modelos biológicos para evaluar la actividad antifúngica fueron seis cepas fúngicas aisladas de edificios enfermos, sitios que presentaron problemas de humedad, poca ventilación e iluminación necesaria para la proliferación de los microorganismos. Las cepas fúngicas fueron *Scolecobasidium* sp. (H1), *Curvularia* sp. (H3), *Phoma* sp. (H4), *Fusarium* sp. (H8) y dos especies de *Stachybotrys* spp. (H7) y (H9) (Fig. 3).



**Figura 3.** Conidios de las cepas fúngicas aisladas de edificios enfermos A) *Stachybotrys* sp. (H9), B) *Fusarium* sp. (H8) C) *Stachybotrys* sp. (H7), D) *Curvularia* sp. (H3), E) *Phoma* sp. (H4), y F) *Scolecobasidium* sp. (H1). Barra de escala: A-D= 10 µm, E= 100 µm y F= 5 µm.

#### 6.4.1 PREPARACIÓN DE NANOPARTÍCULAS

Se evaluó la actividad antifúngica de los compuestos nanoparticulados obtenidos por las Actinobacterias. Se preparó una suspensión de 50 mg/mL de cada NP en agua MilliQ a pH 7.0, y se sonicaron por 2 h para asegurar la dispersión de los nanomateriales.

#### 6.4.2 OBTENCIÓN DE CONIDIOS

Para conseguir la suspensión de conidios, se les colocaron a las cajas Petri 5 mL de solución salina al 0.85% + Tween 20 al 0.025%, se hizo un raspado superficial con un portaobjetos estéril y se filtró la suspensión resultante a través de una gasa para permitir el paso de los conidios y no del micelio. Se realizó un conteo de conidios en la cámara de Neubauer y se ajustó a una concentración de  $1 \times 10^5$  conidios/mL en Caldo Papa Dextrosa (CPD).

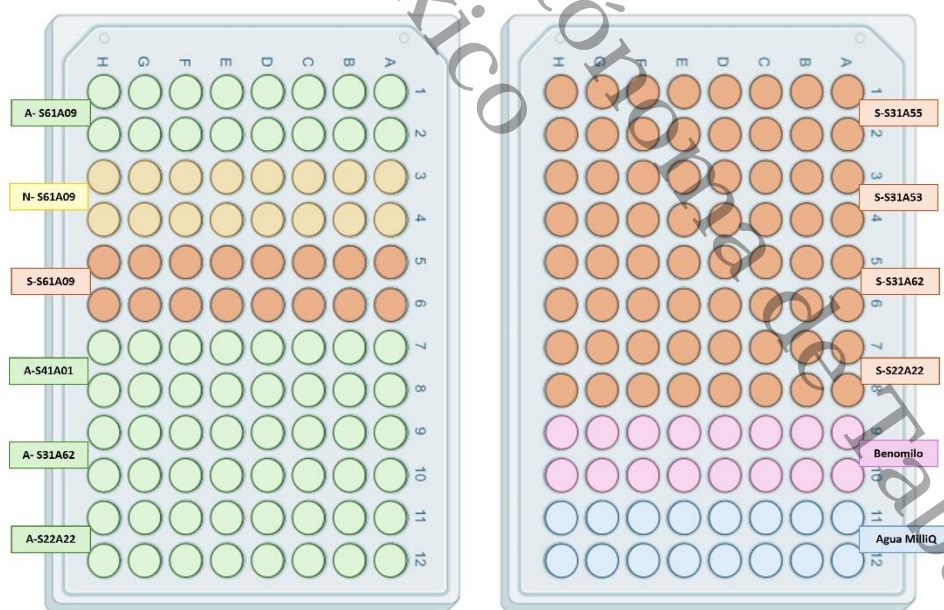
#### 6.4.3 ENSAYO DE MICRODILUCIÓN Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI)

Para el ensayo se utilizaron microplacas de 96 pozos, se agregaron 180  $\mu$ L de CPD en el pozo 1 y 100  $\mu$ L en los demás. La suspensión de NP se homogenizó con ayuda de un Vortex. Se colocaron 20  $\mu$ L (1 mg) en el primer pozo de la microplaca, con ayuda de una multipipeta, se homogenizó y se transfirieron 100  $\mu$ L al siguiente pozo realizando diluciones dobles seriadas. Los pozos asignados para los controles fueron llenados con 100  $\mu$ L de agua MilliQ (control positivo), y 100  $\mu$ L de agua MilliQ más 20  $\mu$ L del antifúngico comercial benomilo al 0.2 % (control negativo). A toda la microplaca se le añadió 100  $\mu$ L de la suspensión de conidios de  $1 \times 10^5$  UFC /mL. Las microplacas se incubaron a 28 °C de 24 a 72 h. Los ensayos se realizaron por duplicado en las microplacas y por triplicado.

Transcurridas las primeras 24 h se registró el valor de la concentración mínima inhibitoria (CMI), al término de este tiempo se realizó una inspección visual de cada placa. La CMI se determinó como la concentración mínima que se requiere para que las NP

evaluadas detengan el crecimiento del hongo, es decir, donde no hay desarrollo visible del microorganismo después del periodo de incubación. Para determinar la CMI y evidenciar los valores correspondientes, se añadieron 30 µL de solución estéril de resazurina al 0.01% a cada pozo, empleando este colorante como indicador metabólico de viabilidad celular. La resazurina es un colorante (azul-purpura) no tóxico que se transforma en resorufina (color rosa intenso) o en dihidroresorufina (de amarillo a incoloro), mediante la acción de las enzimas NADPH o NADH deshidrogenasa. Estas enzimas, presentes en procesos de respiración aeróbica, son las responsables de reducir la resazurina a resorufina. Por ende, estos cambios de color permiten evidenciar efectivamente la CMI en la transición de las células viables de las que no.

Se realizó el registro fotográfico, y las microplacas continuaron incubándose por 24 h. Terminado el tiempo se determinó la concentración mínima fungicida (CMF) con un segundo registro fotográfico de color. En la Figura 4 se muestra la posición de cada NP para todos los ensayos de microdilución para determinar CMI de las NP de ZnO.



**Figura 4.** Esquema de posición de NP en microplaca de 96 pocillos para el ensayo de CMI.

#### 6.4.4 DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA (CMF)

Se replicaron las muestras de la microplaca en cajas cuadradas con Agar Papa Dextrosa (PDA), depositando 10  $\mu$ L de cada pocillo de la microplaca. Las cajas se incubaron a 28 °C durante 24 a 48 horas, según el ritmo de crecimiento del hongo observado. Se registró la CMF como la concentración en la cual no se detecta crecimiento fúngico.

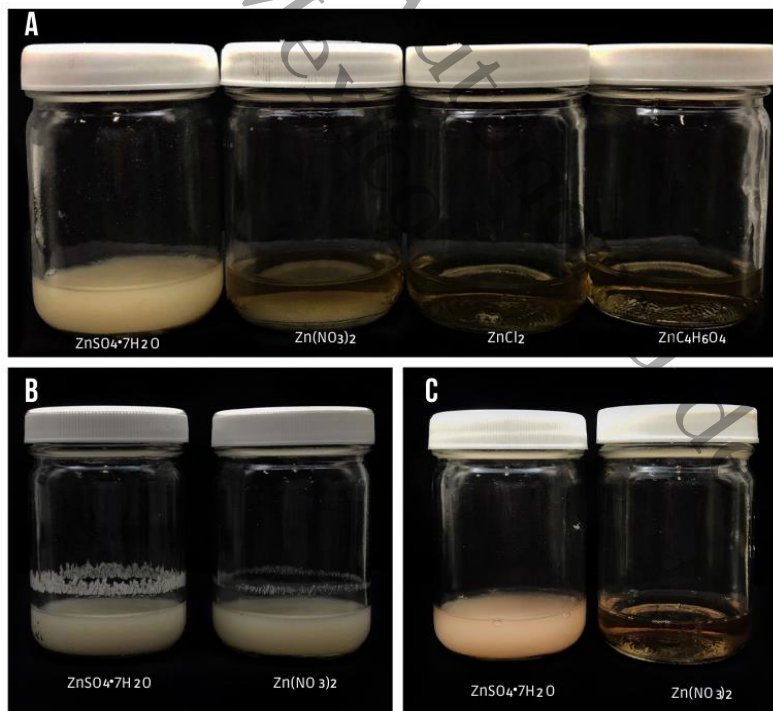
*Capítulo 7*

## **RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 BIOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC

En este estudio, se seleccionaron seis cepas de Actinobacterias debido a su capacidad para producir la enzima Nitrato reductasa y la de NP de plata. Se emplearon los sobrenadantes libres de células (SLC) de estas Actinobacterias para la síntesis bioasistida de NP de ZnO, utilizando cuatro precursores químicos distintos: Nitrato de zinc, Sulfato de zinc, Cloruro de zinc y Acetato de zinc. Se consideró un cambio de color de amarillo a blanco como indicativo positivo de la biosíntesis de NP de ZnO. Aunque todos los SLC de las Actinobacterias fueron capaces de producir NP de ZnO, se resalta particularmente que cuando se usó el cloruro de zinc la formación de NP no fue detectada (Fig. 5). El cloruro de zinc tiene una alta reactividad y puede generar condiciones ácidas al disolverse, lo que podría desestabilizar el medio de reacción y afectar las enzimas y otros componentes biológicos involucrados en la formación de NP (Cuizano *et al.*, 2010).



**Figura 5.** Evaluación del potencial de los sobrenadantes libres de células (SLC) de diversas cepas de Actinobacterias en la producción bioasistida de nanopartículas de ZnO utilizando distintos precursores químicos. A) S31A62, B) S61A09, C) S31A55.

Con los resultados anteriores, se seleccionaron un total de 10 nanopartículas (NP) de ZnO, producidas a partir de los distintos SLC de las Actinobacterias utilizando varios precursores. De estas NP, cinco fueron sintetizadas con Sulfato de zinc, cuatro con Acetato de zinc y una con Nitrato de zinc. En el Cuadro 2 se resumen los rendimientos de cada síntesis.

El SLC de la Actinobacteria S22A22, utilizando Sulfato de zinc como precursor, mostró el mayor rendimiento, alcanzando 19.49 g/L. En contraste, la cepa S61A09 presentó los rendimientos más bajos, con 1.105 g/L usando Nitrato de zinc y 1.180 g/L con Sulfato de zinc. El Sulfato de zinc se destacó como el precursor más efectivo en la producción de ZnO en cinco de las seis Actinobacterias evaluadas. Contrastándolo con el trabajo de Rajivgandhi y colaboradores (2022), la formación de NP de ZnO con los SLC de *Streptomyces enisocesilis* tratados con Sulfato de zinc (0.1 M) a 37 °C por 4 días, obtuvieron 30 mg/mL de rendimiento de NP bioasistidas, puesto que, en este trabajo, se pudo obtener un buen rendimiento, reduciendo las 96 h a 24 h, con un ajuste de ZnSO<sub>4</sub> a 100 mM.

En ese sentido, el Sulfato de zinc es un compuesto altamente soluble en agua, lo que puede facilitar una mejor dispersión y disponibilidad de iones de zinc en la solución donde ocurre la biosíntesis. Esta alta solubilidad permite una interacción más eficiente con los compuestos bioactivos producidos por las Actinobacterias, lo cual contribuye en la reducción y la estabilización de las NP formadas (Niu *et al.*, 2016). Pues por eso, la mayoría de los reportes que usan el SLC de Actinobacterias principalmente del género *Streptomyces* sp., el precursor más utilizado es el Sulfato de zinc (El-Moslamy *et al.*, 2023; Manjunath *et al.*, 2014).

**Cuadro 2.** Rendimiento de nanopartículas de ZnO obtenidas de los diferentes SLC de Actinobacterias usando diferentes precursores.

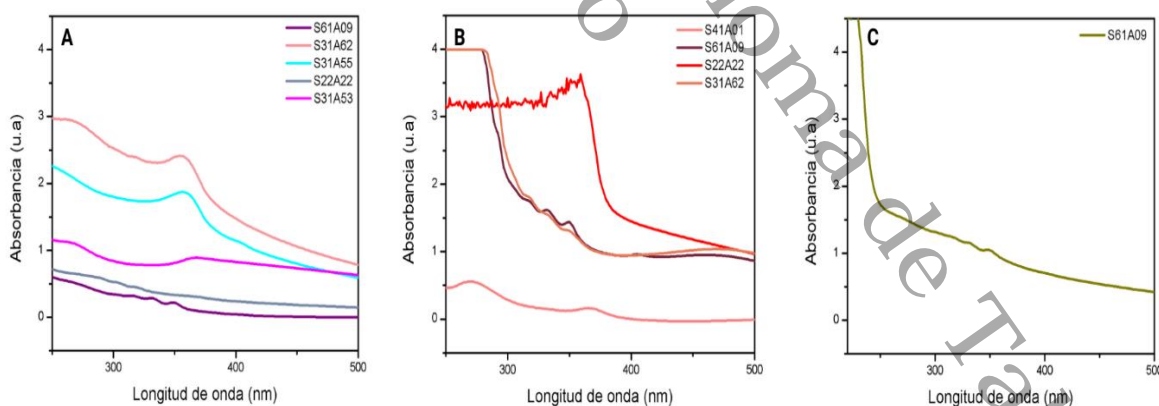
Cepa	Nitrato de zinc (g/L)	Sulfato de zinc (g/L)	Acetato de zinc (g/L)
S61A09	1.105	1.18	2.8
S41A01	-	-	<b>6.795</b>
S31A62	-	1.39	2.945
S22A22	-	<b>19.49</b>	1.68
S31A53	-	<b>6.955</b>	-
S31A55	-	4.975	-

Nota: (-) Sin producción de NP.

## 7.2 CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC

### 7.2.1 ESPECTROSCOPIA UV-Vis

Todas las reacciones que mostraron un cambio a color blanco fueron sometidas a un barrido espectrofotométrico para verificar la producción de NP ZnO. En la Fig. 6 se pueden apreciar los espectros de absorción UV-Vis de las diferentes biosíntesis de NP obtenidas por distintos Actinomicetos, obteniendo bordes de absorción que se muestran en el Cuadro 3.



**Figura 6.** Patrones de espectroscopia UV-vis de las NP de ZnO, bioasistidas por las diferentes Actinobacterias y usando como precursores: A) Sulfato de zinc, B) Acetato de zinc y C) Nitrato de zinc.

**Cuadro 3.** Bordes de absorción de nanopartículas de ZnO obtenidas de los diferentes SLC de Actinobacterias usando diferentes precursores.

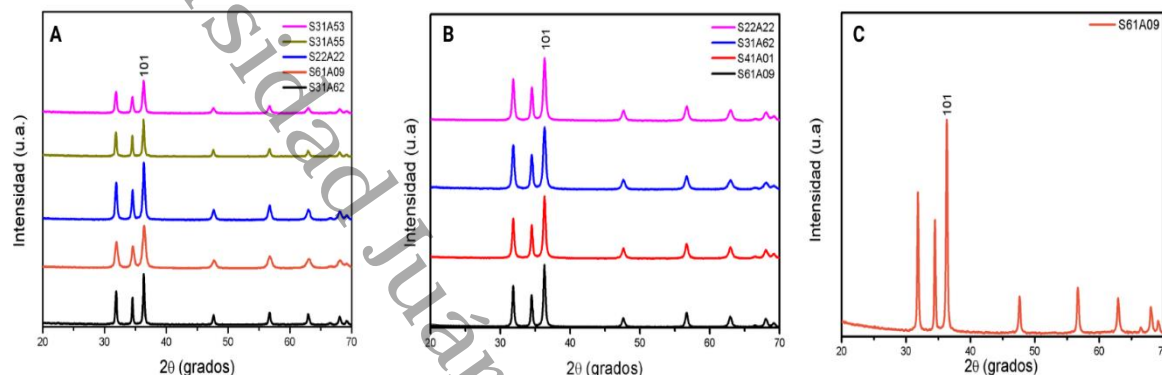
Precursor	Cepa	Bordes de absorción (nm)
NITRATO	S61A09	350
	S22A22	304
SULFATO	S31A53	367
	S31A55	358
	S31A62	356
	S61A09	331
	S22A22	360
ACETATO	S31A62	350
	S41A01	366
	S61A09	350
	S61A09	350

Se confirmó la formación de NP de ZnO con una absorbancia máxima de 367 nm. Si bien la absorción característica del ZnO de la estructura hexagonal tipo wurtzita de 360 nm (Rabieh *et al.*, 2014), se han reportado picos máximos a 280 y 373 nm, para la formación de NP de ZnO (Ashour & Abd-Elhalim, 2024; Solmaz *et al.*, 2024). Esto es debido a que la intensidad y longitud de onda de los picos de absorbancia pueden modificarse y desplazarse por factores como el pH y composición de la solución y cepa analizada. Además, la posición del pico de absorbancia máxima no es constante ya que esta puede variar de acuerdo con el tamaño, forma y microestructuras superficiales de las NP de ZnO (Meléndez *et al.*, 2022).

### 7.2.2 DIFRACCIÓN DE RAYOS X (DRX).

Para confirmar la pureza de las NP sintetizadas, se realizó el análisis de patrones de difracción de rayos X. En la figura 7 se presentan los difractogramas de rayos X de las 10 NP de ZnO obtenidos por la biosíntesis de las diferentes Actinobacterias. El difractograma exhibe picos claramente definidos a  $2\theta = 31^\circ, 34^\circ, 36^\circ, 48^\circ, 56^\circ, 63^\circ$  y  $68^\circ$ , que corresponden a las difracciones de los planos cristalinos (100), (002), (101), (102), (110), (103) y (112), respectivamente. La intensidad del pico 3 (101) sugiere una la dirección de crecimiento monocristalino predominantemente de ZnO en la fase wurtzita hexagonal según la carta cristalográfica (JCPDS PDF #00-036-1451). A partir del pico más intenso (101), se calculó el tamaño de los cristalitas de las NP utilizando la ecuación de Scherrer.

Es importante destacar que el tamaño de cristalito calculado no necesariamente representa el tamaño real de las partículas, dado que una partícula puede estar constituida por uno o más cristalitos (Camejo- Ginebra *et al.*, 2023).



**Figura 7.** Patrones de difracción de rayos X de las NP de ZnO, bioasistidas por las diferentes Actinobacterias y usando como precursores: A) Sulfato de zinc, B) Acetato de zinc y C) Nitrato de zinc.

Los análisis de difracción de rayos X (DRX) indicaron que el tamaño promedio de los cristalitos varía en función del precursor químico utilizado. Al emplear Acetato de zinc, el tamaño promedio de los cristalitos fue de 24.63 nm; con Sulfato de zinc fue de 25.24 nm; y al utilizar Nitrato de zinc, el tamaño aumentó a 32.74 nm. Los detalles específicos se encuentran en el Cuadro 4.

**Cuadro 4.** Tamaño de cristalito por DRX para las NP de ZnO

Precursor	Cepa	Datos				Tamaño promedio
		#	Posición del pico 2θ (°)	FWHM propio B(°)	L (nm)	
<b>NITRATO</b>	S61A09	101	36.32	0.25	<b>32.74</b>	<b>32.74</b>
<b>SULFATO</b>	S22A22	101	36.37	0.38	<b>21.81</b>	
	S31A53	101	36.34	0.38	<b>21.80</b>	
	S31A55	101	36.32	0.29	<b>28.72</b>	
	S31A62	101	36.36	0.27	<b>30.64</b>	
	S61A09	101	36.41	0.36	<b>23.21</b>	
<b>ACETATO</b>	S22A22	101	36.32	0.28	<b>29.09</b>	<b>24.63</b>
	S31A62	101	36.33	0.33	<b>25.25</b>	
	S41A01	101	36.34	0.39	<b>21.43</b>	
	S61A09	101	36.33	0.36	<b>22.75</b>	

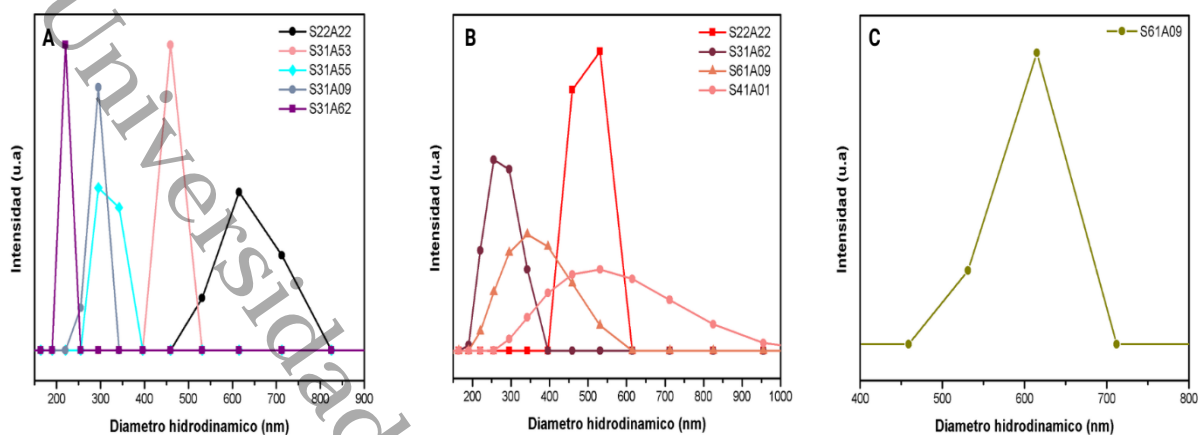
L - Tamaño de cristalito (nm), B - FWHM (Full Width at Half Maximum) Ancho medio de pico, θ – posición angular de picos DRX, mitad de 2θ. Se consideró 0.01 como error instrumental.

En cuanto a la biosíntesis de ZnO con la ayuda de extractos de plantas, Fakhari y colaboradores (2019) hicieron uso de extracto acuoso de hojas de *Laurus nobilis* y sales como Nitrato de zinc y Acetato de zinc, revelando la formación de una estructura en fase cristalina tipo wurtzita hexagonal, con tamaños promedio de cristalito que varían desde los 21- 49 nm y 25- 26 nm respectivamente. Comparándolo con los valores obtenidos en este trabajo, del tamaño teórico usando Nitrato de zinc se encuentra en el rango reportado, mientras que para las de Acetato de zinc se obtuvo una ligera disminución de 2-3 nm en comparación a la literatura.

### 7.2.3 DISPERSIÓN DE LUZ DINÁMICA (DLS).

Se empleo la técnica DLS para determinar el diámetro hidrodinámico de la NP de ZnO, la cual proporciona el nivel de aglomeración de las NP obtenidas. El diámetro hidrodinámico refleja el tamaño promedio de todas las NP en suspensión en una muestra (Mosquera *et al.*, 2015). La Figura 8 evidencia las variaciones significativas en el tamaño promedio de las partículas según el precursor utilizado. Para las NP derivadas del Sulfato de zinc, los tamaños oscilan entre 200 y 800 nm. Con Acetato de zinc, el rango es de 200 a 1000 nm. Finalmente, las NP obtenidas a partir de Nitrato de zinc presentan una distribución de tamaño de 450 a 700 nm. La ampliación o reducción del pico de distribución de tamaño en las NP de ZnO por el método de dispersión de luz, podría ser el resultado de la agregación de NP. A medida que la partícula aumenta de tamaño, su movimiento browniano tiende a ser más lento (Saha *et al.*, 2011).

De acuerdo con lo reportado por Shaaban y El-Mahdy (2018), el tamaño de las NP de ZnO biosintetizadas por *Streptomyces enissocaesilis* y usando como precursor  $ZnSO_4$ , es de 135 nm. Así mismo, Balraj y colaboradores (2017), reportaron que los metabolitos de *Streptomyces* sp. fueron capaces de reducir el  $ZnCl_2$ , obteniendo NP de ZnO con diámetros hidrodinámicos de 20- 50 nm.



**Figura 8.** Distribución del tamaño de partícula hidrodinámico de ZnO obtenido por DLS. A) Sulfato de zinc, B) Acetato de zinc y C) Nitrato de zinc.

Los análisis realizados con la técnica de DLS también evidenciaron que las partículas suspendidas en agua superaron los tamaños de 100 nm, lo que indica una posible aglomeración de las NP sintetizadas, mostrando una distribución relativamente estrecha. En el Cuadro 5, el índice de polidispersidad (PDI) son valores  $>0.7$  lo que indica que todas las muestras son muy polidispersas.

**Cuadro 5.** Valores de potencial Z e índice de Polidispersidad (PDI) de las NP de ZnO a través de diferentes precursores. Los valores corresponden a la media  $\pm$  la desviación estándar.

Precursor	Cepa	Diámetro (nm)	Potencial Z (mV)	PDI
NITRATO	S61A09	$584.4 \pm 249.9$	$-12.4 \pm 0.9$	0.9
SULFATO	S22A22	$569.9 \pm 137.8$	$-20.4 \pm 0.2$	1.0
	S31A53	$438.7 \pm 139.7$	$-16.9 \pm 0.5$	1.0
	S31A55	$333.7 \pm 72.6$	$-16.0 \pm 0.5$	0.9
	S61A09	$285.9 \pm 106.2$	$-17.3 \pm 0.9$	0.9
	S31A62	$260.7 \pm 176.6$	$-19.8 \pm 2.3$	1.0
ACETATO	S31A62	$291.9 \pm 159.7$	$-13.5 \pm 0.9$	0.9
	S22A22	$502.6 \pm 34.5$	$-5.7 \pm 0.7$	0.8
	S61A09	$352.9 \pm 83.7$	$-10.6 \pm 0.7$	0.7
	S41A01	$546.0 \pm 109.3$	$-14.1 \pm 2.0$	0.8

El cuadro 5 también presenta valores de potencial Z, que reflejan cómo el método de síntesis influye en la carga superficial de las NP. Estos valores se obtuvieron como promedio de cinco lecturas distintas. Los datos indican que las NP sintetizadas mediante diferentes precursores muestran inestabilidad coloidal, lo que implica que las nanopartículas no se mantengan dispersas y tiendan aglomerarse llevando a la formación de partículas más grandes no deseadas, esto puede afectar su comportamiento y estabilidad en sus aplicaciones (Bhattacharjee, 2016). La de carga negativa presente en estos casos, puede deberse a la gran cantidad de grupos hidroxilo generados por el NaOH durante su síntesis (Abd-Elkoudous *et al.*, 2020).

#### **7.2.4 MICROSCOPIA ELECTRÓNICA DE BARRIDO DE EMISIÓN DE CAMPO (FESEM).**

La morfología, estructura y tamaño de las NP de ZnO fueron evaluados mediante análisis de microscopía electrónica de barrido de emisión de campo (FESEM). Las imágenes obtenidas mostraron una diversidad de tamaños y formas, incluyendo dimensiones a escala nanométrica. Los resultados indican que la utilización de distintas cepas no influyó significativamente, en este caso, las diferencias pueden atribuirse a los efectos de los distintos precursores.

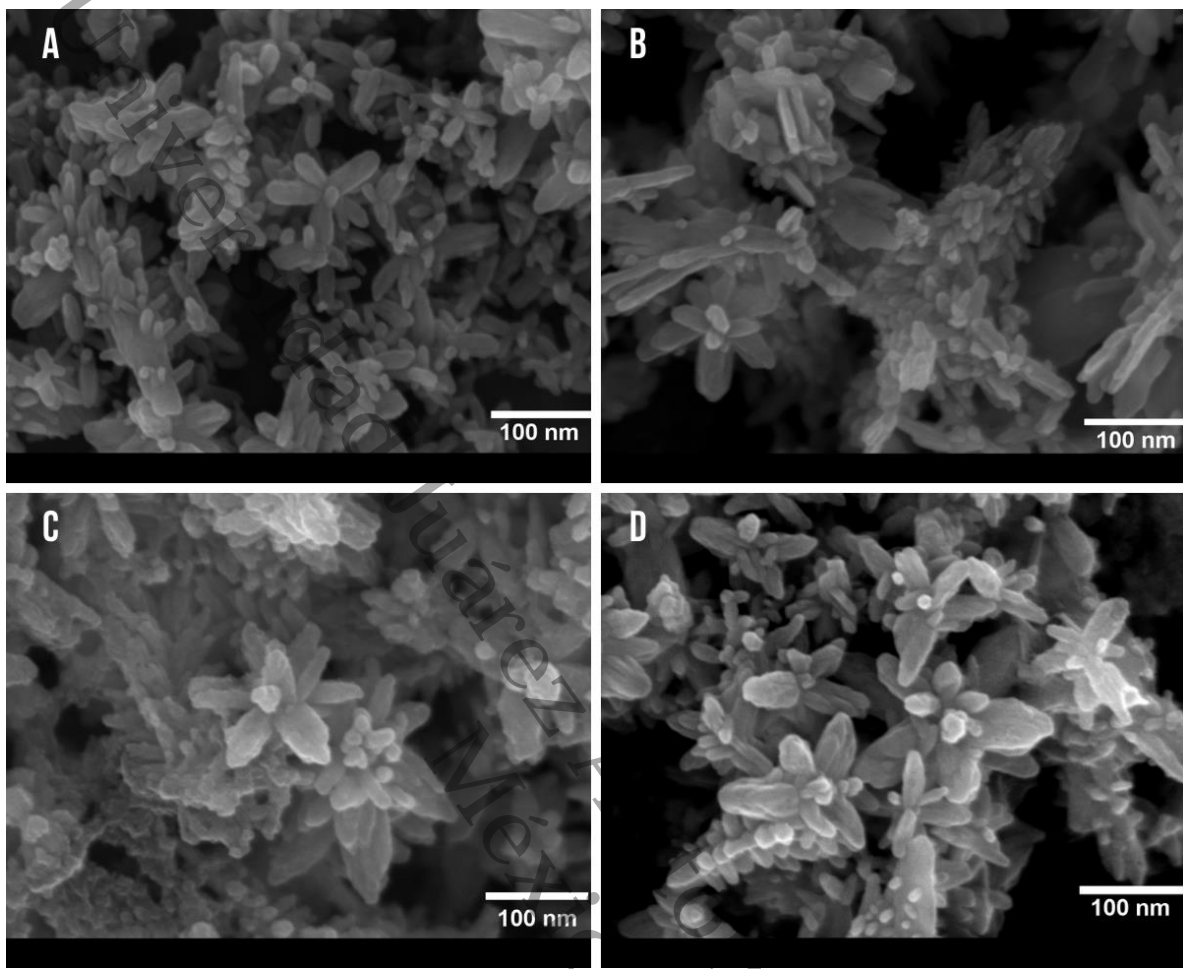
El uso de Acetato de zinc como precursor generó NP con morfologías de nanoflores, con tamaños que varían entre los 47 a 567 nm, como se observa en la Figura 9. Las NP derivadas del Sulfato de zinc también formaron estructuras de nanoflores, aunque algunas mostraron mayor aglomeración, como se puede ver en la figura 10-A. Por otro lado, en las Figuras 10-B y 10-C, se aprecian formaciones de nanoplacas con tamaños de 70 a 1,456 nm y de 57 a 460 nm, respectivamente.

La cepa S22A22 desarrolló una morfología de nanoplacas con dimensiones que oscilan entre 71 y 464 nm, ilustradas en la Figura 11. En contraste, el empleo de Nitrato de zinc condujo a la formación de NP que exhiben un crecimiento progresivo, resultando en estructuras de barras hexagonales con dimensiones entre 87 y 722 nm, como se muestra en la Figura 11C

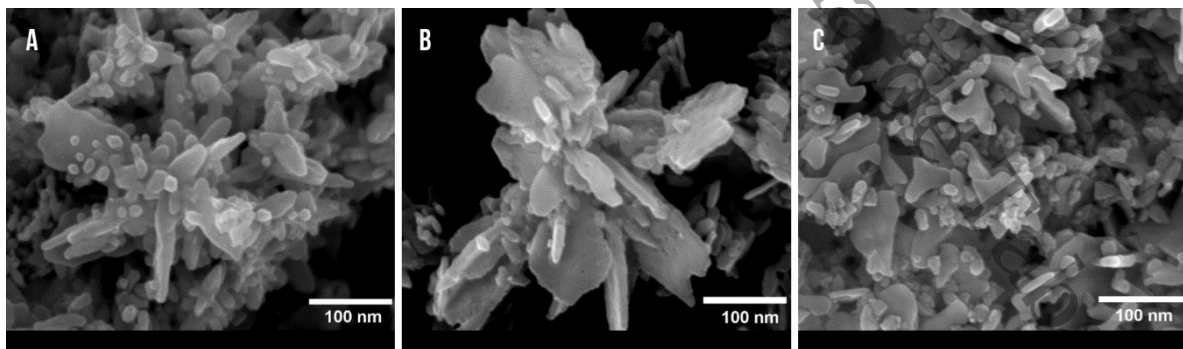
Es posible que estas morfologías varíen al modificar otras condiciones durante el proceso de la síntesis, por ejemplo: la concentración del precursor. En otros estudios al emplear Acetato de zinc se obtuvieron formas esféricas (Rani *et al.*, 2022) y elipsoidales (esfera imperfecta), (Xiao *et al.*, 2008). Fakhari y colaboradores (2019) reporta cambios en cuanto al tamaño y forma de las NP al usar distintos precursores, obteniendo estructuras pequeñas, esféricas y aglomeradas, mientras que al utilizar Nitrato de zinc se adquieren formas esféricas acumulándose en forma de nanoflores. También se reportan nanovarillas para Nitrato de zinc, y nanolaminas hexagonales con Sulfato de zinc. Del mismo modo, el pH puede ser otro factor que modifique la morfología de las NP. Liu y colaboradores (2006), obtuvo tres morfologías diferentes de nanoflores de ZnO al cambiar los valores de pH.

Manjunath y colaboradores (2014) reporta morfologías en forma hexagonal y esféricas ante la reducción de ZnSO<sub>4</sub>. No obstante, el trabajo de revisión de Da Costa-Rocha y colaboradores (2021) recapitula principales trabajos (en un periodo de 2016- 2021) sobre óxidos sintetizados utilizando extractos de plantas. Lo cual menciona que existe una diferencia en la morfología del ZnO cuando se emplean *Scutellaria baicalensis* y *Camellia japonica*, resultando NP esféricas, mientras que al tomar como modelo biológico a *Codonopsis lanceolata* y *Calliandra haematocephala*, mostraron morfologías de tipo flor. Estos cambios se infieren por la diferencia que hay en las condiciones y composición química del extracto.

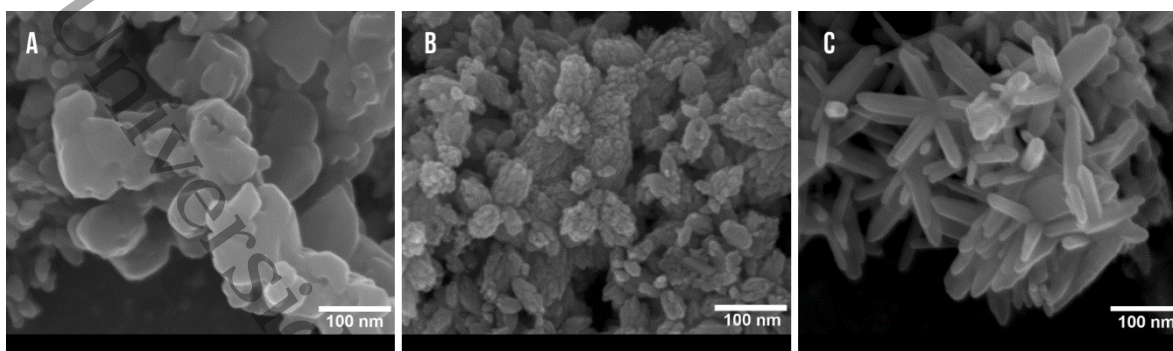
En relación con el tamaño, las nanoflores de ZnO obtenidas por *Bacillus licheniformis* revelaron tamaños entre 250 nm a 1 µm, observándose esta morfología mediante aglomeraciones de nanobarras (Tripathi *et al.*, 2014).



**Figura 9.** Nanoestructuras de ZnO utilizando Acetato de Zinc: A) S22A22 forma de nanoflores, B) S31A62, nanoflores, C) S41A01 nanoflores, D). S61A09 estructuras de nanoflores.



**Figura 10.** Nanoestructuras de ZnO utilizando Sulfato de Zinc: A) S31A53 nanoflores, B) S31A55 nanoplacas, C) S31A62 nano barras y placas.



**Figura 11.** Nanoestructuras de ZnO utilizando Sulfato de Zinc: A) S22A22 nanoplacas, B) S61A09 nanoflores. Nitrato de zinc: C) S61A09, nanobarras hexagonales.

### 7.3 ACTIVIDAD ANTIFÚNGICA

#### 7.3.1 ENSAYO DE MICRODILUCIÓN Y CONCENTRACIÓN MÍNIMA INHIBITORIA (CMI) Y DETERMINACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN MÍNIMA FUNGICIDA (CMF).

Se evaluó la efectividad de las 10 NP de ZnO obtenidas por biosíntesis asistida de cuatro cepas de Actinobacterias, contra seis cepas fúngicas extraídas de edificios catalogados como enfermos. Las Concentraciones Mínimas Inhibitorias (CMI) se determinaron con ayuda de microscopía óptica, como la menor concentración en la que no se observó germinación de los conidios. La aplicación del colorante resazurina facilitó la visualización de los resultados, que coincidieron con las observaciones microscópicas realizadas. Los datos, presentados en el cuadro 6, 7 y 8, muestran que todas las ZnO NP obtenidas inhibieron el crecimiento de las cepas fúngicas evaluadas, con CMI que oscilaron entre 0.039 y 2.5 mg/mL. En general, las NP mostraron un modo de acción (MA) fungicida (Fc), sin importar el precursor o la cepa utilizada, solo en cinco casos el modo de acción detectado fue de tipo Fungistático.

#### *Actividades antifúngicas de las nanopartículas de ZnO obtenidas con el Acetato de zinc*

Cuando se usó el precursor Acetato de zinc, cuatro de las seis Actinobacterias evaluadas fueron capaces de producir NP de ZnO. La NP obtenidas con este precursor mostraron una destacada actividad antifúngica con respecto a los otros precursores. Con los valores más bajos de CMI y CMF (0.078 mg/mL– 0.156 mg/mL). Esta actividad puede estar

relacionado con el tamaño de cristalito, ya que en promedio estas NP tuvieron los tamaños de cristalito más pequeños con un promedio de 24.6 nm (Cuadro 4). En particular, las NP obtenida con las Actinobacteria S31A62 y S41A01, produjeron NP de ZnO con la mejor actividad antifúngica contra el hongo *Stachybotrys* sp. (H9) presentando un MA de modo fungicida tal como se muestra en el Cuadro 6 y Figura 12.

**Cuadro 6.** Valores de CMI, CMF y modo de acción (MA) de NP de ZnO por el precursor Acetato de zinc

CEPAS	S61A09				S41A01				S31A62				S22A22			
	CMF mg/mL	CMI mg/mL	CMF/CMI	MA	CMF mg/mL	CMI mg/mL	CMF/CMI	MA	CMF mg/mL	CMI mg/mL	CMF/CMI	MA	CMF mg/mL	CMI mg/mL	CMF/CMI	MA
H1 <i>Scolecobasidium</i> sp.	0.625	0.625	1	Fc	0.625	0.156	4	Fc	0.625	0.078	8	Fg	2.5	0.625	4	Fc
H3 <i>Curvularia</i> sp.	2.5	0.625	4	Fc	2.5	1.25	2	Fc	1.25	1.25	1	Fc	2.5	1.25	2	Fc
H4 <i>Phoma</i> sp.	0.625	0.156	4	Fc	0.625	0.078	8	Fg	0.625	0.156	4	Fc	0.078	0.156	1	Fc
H7 <i>Stachybotrys</i> sp.	0.312	0.312	1	Fc	0.625	0.312	2	Fc	0.625	0.156	4	Fc	0.312	0.156	2	Fc
H8 <i>Fusarium</i> sp.	0.625	0.156	4	Fc	0.625	0.156	4	Fc	0.625	0.156	4	Fc	0.625	0.156	4	Fc
H9 <i>Stachybotrys</i> sp.	0.312	0.156	2	Fc	0.156	0.078	2	Fc	0.156	0.078	2	Fc	0.312	0.156	2	Fc

MA: Modo de acción. Fg Fungistático; Fc Fungicida.

Aunque la mayoría de las NP presentaron un modo de acción fungicida en general, para los hongos *Phoma* sp. (H4) y *Scolecobasidium* sp. (H1), se detectó un efecto fungistático en las mismas concentraciones (0.078 mg/mL– 0.625 mg/mL). Por otra parte, El hongo *Curvularia* sp. (H3), fue el más difícil de inhibir con valores de CMF igual o superiores a 1.25 mg/mL, eso puede deberse a que este hongo además de presentar conidios melanizados tienen conidios de cuatro septos, por lo que se requiere una mayor cantidad de la NP para inhibir la germinación de cada uno de ellos, haciéndolo más resistente al efecto de las NP, en contraste con los conidios *Stachybotrys* que no tienen septos (Zagada- Domínguez, De la Rosa-García *et al.*, 2020).

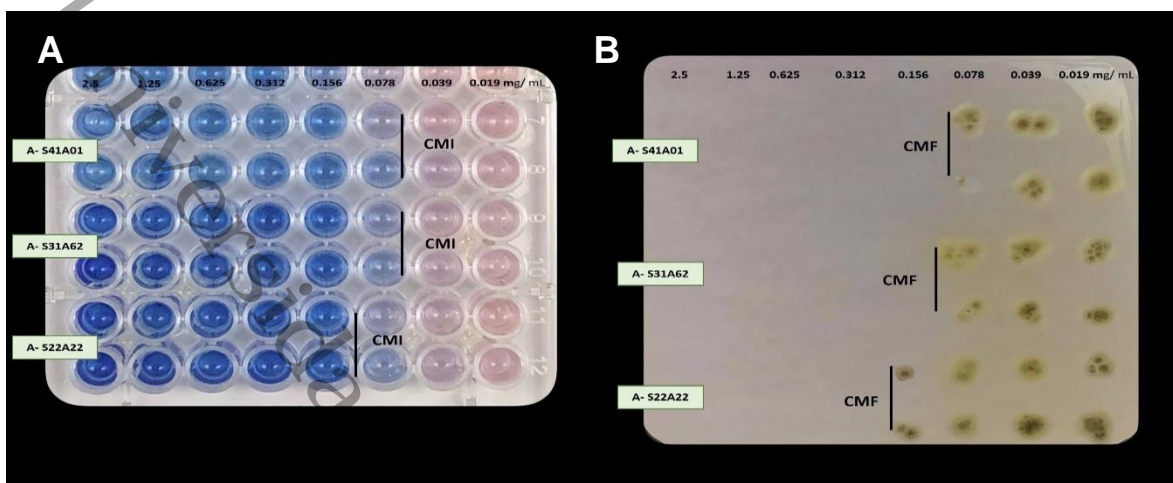


Figura 12. H9 *Stachybotrys* sp. A) Revelado con Resazurina. Lectura de CMI. B) Replica en PDA y lectura de CMF.

### Actividades antifúngicas de las nanopartículas de ZnO obtenidas con Sulfato de zinc

Con Acetato de zinc, cinco de las seis cepas de Actinobacterias probadas lograron producir nanopartículas de ZnO. Sin embargo, la determinación de la CMI y la CMF mediante microdilución y colorimetría mostró que las NP sintetizadas con Sulfato de zinc resultaron ser más efectivas contra *Phoma* sp. (Fig. 13), con valores de 0.078 mg/mL para CMI y 0.078-0.156 mg/mL para CMF, usando las cepas S31A62 y S22A22, respectivamente. Del mismo modo, se observaron valores de CMI/CMF de 8 con un modo de acción fungistático para los hongos H8 y H9 a concentraciones de 0.156-1.25 mg/mL (Cuadro 7).

Cuadro 7. Valores de CMI, CMF y modo de acción (MA) de NP de ZnO por el precursor Sulfato de zinc.

CEPAS	S61A09				S31A55				S31A53				S31A62				S22A22			
	CMF mg/mL	CMI mg/mL	CMF/CMI	MA	CMF mg/mL	CMI mg/mL	CMF/CMI	MA	CMF mg/mL	CMI mg/mL	CMF/CMI	MA	CMF mg/mL	CMI mg/mL	CMF/CMI	MA	CMF mg/mL	CMI mg/mL	CMF/CMI	MA
H1 <i>Scolecobacidium</i> sp.	0.625	0.625	1	Fc	0.625	0.625	1	Fc	1.25	0.625	2	Fc	0.625	0.625	1	Fc	0.625	0.312	2	Fc
H3 <i>Curvularia</i> sp.	2.5	0.625	4	Fc	0.312	0.312	1	Fc	1.25	0.312	4	Fc	0.625	0.312	2	Fc	0.625	0.312	2	Fc
H4 <i>Phoma</i> sp.	0.156	0.156	1	Fc	0.156	0.156	1	Fc	0.312	0.156	2	Fc	0.078	0.078	1	Fc	0.156	0.078	2	Fc
H7 <i>Stachybotrys</i> sp.	0.625	0.312	2	Fc	0.312	0.312	1	Fc	0.312	0.312	1	Fc	0.312	0.312	1	Fc	0.039	0.039	1	Fc
H8 <i>Fusarium</i> sp.	0.625	0.156	4	Fc	1.25	0.156	8	Fg	0.312	0.156	2	Fc	0.625	0.312	2	Fc	0.625	0.156	4	Fc
H9 <i>Stachybotrys</i> sp.	1.25	0.156	8	Fg	0.625	0.312	2	Fc	0.156	0.156	1	Fc	0.156	0.156	1	Fc	0.078	0.078	1	Fc

MA: Modo de acción. Fg Fungistático; Fc Fungicida.

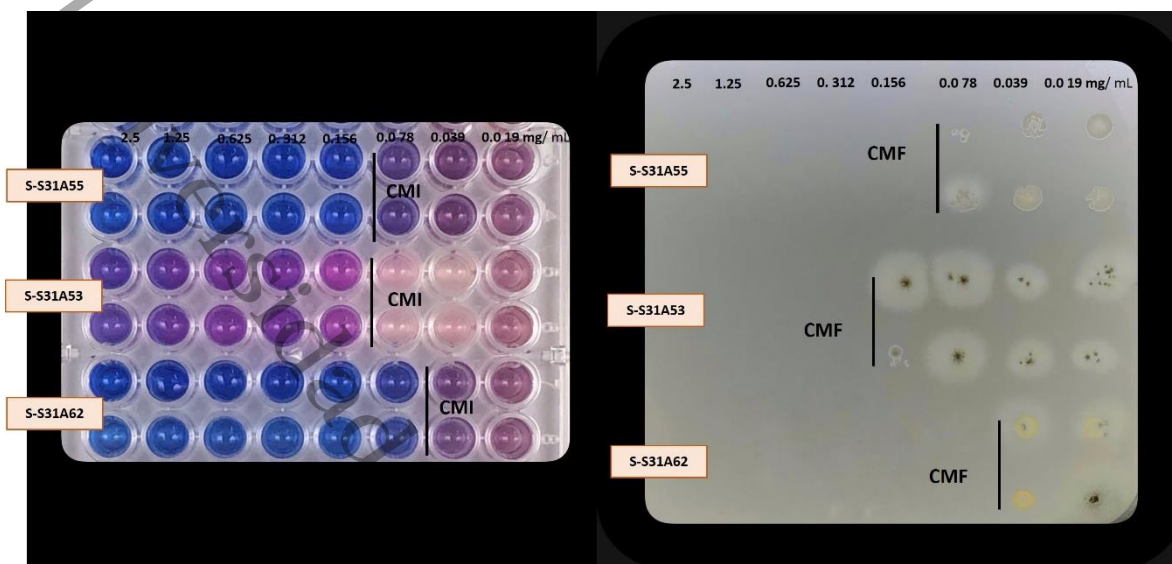


Figura 13. H4 *Phoma* sp. A) Revelado con Resazurina. Lectura de CMI. B) Replica en PDA y lectura de CMF.

#### Actividades antifúngicas de las nanopartículas de ZnO obtenidas con Nitrato de zinc

Otra de las NP de ZnO evaluadas fue añadiendo Nitrato de zinc, obteniendo una única respuesta con la cepa S61A09. Las NP obtenidas por dicho precursor tuvieron actividad de tipo fungicida para cinco de seis hongos, reflejando valores más bajos de CMI/CMF de 0.156 mg/mL– 0.156 mg/mL (Cuadro 8). Siendo *Curvularia* sp. (H3) el único hongo en crecer a concentraciones altas >2.5 mg/mL.

Cuadro 8. Valores de CMI, CMF y modo de acción (MA) de NP de ZnO por el precursor Nitrato de zinc contra diferentes cepas de hongos.

CEPAS	S61A09			
	CMF mg/mL	CMI mg/mL	CMF/ CMI	MA
H1 <i>Scolecobacidium</i> sp.	0.625	0.625	1	Fc
H3 <i>Curvularia</i> sp.	>2.5	0.625	-	Fg
H4 <i>Phoma</i> sp.	0.156	0.156	1	Fc
H7 <i>Stachybotrys</i> sp.	0.312	0.312	1	Fc
H8 <i>Fusarium</i> sp.	0.625	0.156	4	Fc
H9 <i>Stachybotrys</i> sp.	0.312	0.156	2	Fc

MA: Modo de acción. Fg Fungistático; Fc Fungicida; - Sin registro.

Se afirma que a la biosíntesis de NP de ZnO exhibieron actividad fungicida independientemente del uso de diferentes precursores y/o Actinobacteria, teniendo resultados de CMF/CMI similares. Investigaciones realizadas de NP biológicamente reducidas por *Streptomyces* sp. han tenido eficacia antibacteriana y antifúngica (Manivasagan *et al.*, 2015; Pallavi *et al.*, 2020; Kalaba *et al.*, 2021).

Las investigaciones sobre mecanismos de acción de las NP indican que intervienen en la germinación de conidios y desarrollo de micelio (Mittal *et al.*, 2013; Mitra *et al.*, 2017). Se sabe que la actividad antifúngica de las NP de ZnO contra hongos filamentosos, se atribuye a la ruptura de la membrana celular, reduciendo la actividad enzimática del hongo (Sharma *et al.*, 2021), además de interferir con las funciones metabólicas del microorganismo, dañando la integridad de la célula (Slavin *et al.*, 2022). Teniendo en cuenta lo anterior, las cepas fúngicas ocupadas en los ensayos fueron vulnerables ante los mecanismos de las NP de ZnO a ciertas concentraciones. Se registraron a las concentraciones más bajas las NP por el precursor Sulfato de zinc, teniendo la capacidad de inhibir el crecimiento de diferentes hongos, tal es el caso de (H7) *Stachybotrys* sp., (H9) *Stachybotrys* sp., (H4) *Phoma* sp. y (H8) *Fusarium* sp., desde los 0.039 mg/mL, 0.078 mg/mL (para H9 y H4), y 0.312 mg/mL, respectivamente.

Se ha investigado la efectividad de las NP de ZnO sintetizadas a partir de extracto fúngico contra diferentes especies del género *Fusarium* sp. (*F. graminearum*, *F. oxysporum*, *F. poae*, *F. tricinctum*) y *Phoma* sp., las concentraciones reportadas para detener la germinación de los conidios fueron a partir de 1 mg/mL para *Phoma* sp., a diferencia de *Fusarium* sp. presentando nula actividad antifúngica para la mayoría de las cepas de ese género (Trzcińska-Wencel *et al.*, 2023); mientras que Pariona *et al.* (2018) reportaron inhibición del crecimiento de *Fusarium* sp. a concentraciones de 0.75 y 1 mg/mL, dando así ventaja del uso de las NP de ZnO obtenidas en este trabajo para contrarrestar el crecimiento fúngico de dichos hongos. Para el caso de *Curvularia* sp. que llegó a presentar crecimiento en la mayor concentración (>2.5 mg/ mL) (Cuadro 8), puede relacionarse a que es un hongo

con conidios septados, lo que conlleva a tener más posibilidades de desarrollarse, además de tener paredes más gruesas que las hifas vegetativas (Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria [DGSV-CNRF], 2020), por lo que se requiere de altas concentraciones de NP para inhibir su crecimiento. Dicho de otra manera, la supervivencia de los hongos en presencia de las NP está determinada principalmente por dos factores: las propiedades bioquímicas y estructurales de cada hongo (morfología) y las alteraciones en el entorno de acuerdo con el tipo de metal y disponibilidad (Gadd, 1993; Wang *et al.*, 2009).

Aunque la capacidad antifúngica de las NP puede variar fundamentalmente si se modifican sus propiedades tales como: tamaño, forma, carga superficial (López *et al.*, 2023), en este trabajo no se pudo apreciar con claridad dicha relación debido a que todas las NP mostraron un buen desempeño fúngico aun con las diferencias de tamaños y morfologías registrados por FESEM (Cuadro 9).

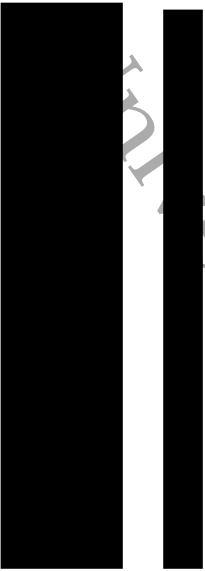
**Cuadro 9.** Cuadro comparativo de las características de las NP de ZnO obtenidos por los diferentes precursores y su relación a su actividad biológica.

Actinobacteria	Tamaño cristalito (nm)	Diámetro (nm)	Potencial Z (mV)	Tamaño y forma (nm)	Modo de Acción
S61A09	32.74	584.4	-12.4	87-722 Nanobarras hexagonales	Fungicida Fungistático
S22A22	21.81	569.9	-20.4	71-464 Nanoplacas	Fungicida
S31A53	21.80	438.7	-16.9	64- 853 Nanoflores	Fungicida
S31A55	28.72	333.7	-16.0	70-1,456 Nanoplacas	Fungicida fungistático
S31A62	30.64	260.7	-19.8	57-460 Nanobarras y placas	Fungicida
S61A09	23.21	285.9	-17.3	75-273 Nanoflores	Fungicida fungistático
S22A22	29.09	502.6	-5.7	56-385 Nanoflores	Fungicida
S31A62	25.25	291.9	-13.5	66-353 Nanoflores	Fungicida fungistático
S41A01	21.43	352.9	-10.6	68-483 Nanoflores	Fungicida fungistático
S61A09	22.75	546.0	-14.1	47-567 Nanoflores	Fungicida

Precursores: ■ Nitrato ■ Sulfato ■ Acetato

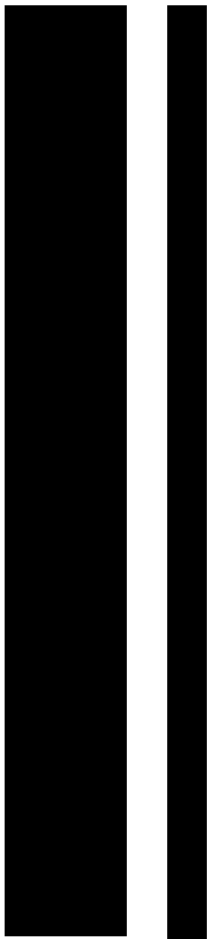
En el Cuadro 9 se puede apreciar de manera resumida las características de cada nanopolvo obtenido. Se observa que las NP que presentar un mayor tamaño son las cepas S31A53 y S31A55, ambas por el Sulfato de zinc. Estos tamaños se adquieren por las aglomeraciones de las NP, dando como resultado estructuras muy compactas, pero con funciones antifúngicas.

Por el contrario, citando a Zubair y Akhtar (2020), obtuvieron dos morfologías diferentes de ZnO debido a los efectos de las variantes de pH, temperatura y tiempo de reacción; consiguiendo formas de flores y nanobarras, siendo estas las que exhibieron mayor actividad microbiana ante la presencia de *Streptococcus mutans* y *Escherichia coli*. En estudios previos la obtención de NP se reportan formas pseudo-hexagonales y esféricas, dando respuestas inhibitorias a hongos filamentosos (*P. oxalicum* y *A. niger*) independientemente del tamaño y morfología (Soria-Castro, 2019; Sierra-Fernández *et al.*, 2017). Erazo y colaboradores (2019), sintetizaron NP de ZnO que adquirieron morfologías distintas al utilizar dos diferentes solventes, generando partículas en forma acicular (aguja) con medidas de aproximadamente 40- 500 nm y estructuras esféricas con dimensiones de 40 nm, dejando ver una actividad antifúngica más efectiva para aquellas con aspecto acicular, generando deformaciones en las hifas y conidios de *Aspergillus niger* y *Botrytis cinerea*.



*Capítulo 8*

## **CONCLUSIONES**



## 8. CONCLUSIONES

1. El método de biosíntesis mediante reducción con *Streptomyces* sp. permite la obtención de nanopartículas de ZnO puras, con diferentes morfologías.
2. La morfología de las nanopartículas depende principalmente de la sal precursora, no de la cepa de Actinobacterias utilizada.
3. El rendimiento de las nanopartículas está relacionado tanto con el precursor como con la cepa. El Sulfato de zinc y la cepa S22A22 lograron el mayor rendimiento (19 g/L), sugiriendo el uso de este nanopolvo como una opción eficaz para inhibir hongos en materiales de construcción.
4. La formación de nanopartículas de ZnO se confirmó con una absorbancia máxima de 367 nm y una fase hexagonal tipo wurtzita, como lo verificó la difracción de rayos X (DRX).
5. El uso de *Streptomyces* sp. afecta las propiedades de las nanopartículas, lo que da como resultado suspensiones inestables.
6. La mayoría de las nanopartículas de ZnO inhiben a las seis cepas fúngicas a bajas concentraciones, con CMI/CMF de 0.078 a 0.625 mg/mL.
7. Casi todas las nanopartículas de ZnO tienen un modo de acción fungicida, según la relación CMI/CMF.



*Capítulo 9*

## REFERENCIAS



## 9. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abd Elkodous, M., El-Sayyad, G. S., Abdel Maksoud, M. I. A., Abdelrahman, I. Y., Mosallam, F. M., Gobara, M., & El-Batal, A. I. (2020). Fabrication of Ultra-Pure Anisotropic Zinc Oxide Nanoparticles via Simple and Cost-Effective Route: Implications for UTI and EAC Medications. *Biological Trace Element Research*, 196(1), 297–317. <https://doi.org/10.1007/s12011-019-01894-1>
- Abirami, M. & Kannabiran, K. (2016). *Streptomyces ghanaensis* VITHM1 mediated green synthesis of silver nanoparticles: Mechanism and biological applications. *Frontiers of Chemical Science*, 10(4), 542-51. <http://dx.doi.org/10.1007/s11705-016-1599-6>
- Angelome, P., & Angelomé, J. C. (2019). *Nanotecnología en la industria de la construcción*. Cámara Argentina de la Construcción. 978-987-4401-57-1
- Aparicio, C. M., & Carbajal, A. G. (2010). Utilidad de la difracción de rayos X. *Mundo Nano*, 3(2), 62–72. [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S2448-56912010000200062&lng=es&tlng=es](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2448-56912010000200062&lng=es&tlng=es).
- Arciniegas-Grijalba, P. A., Patiño-Portela, M. C., Mosquera-Sánchez, L. P., Guerrero-Vargas, J. A., & Rodríguez-Páez, J. E. (2017). ZnO nanoparticles (ZnO-NPs) and their antifungal activity against coffee fungus *Erythricium salmonicolor*. *Applied Nanoscience*, 7(5), 225–241. <https://doi.org/10.1007/s13204-017-0561-3>
- Ashour, M., & Abd-Elhalim, B. T. (2024). Biosynthesis and biocompatibility evaluation of zinc oxide nanoparticles prepared using *Priestia megaterium* bacteria. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-54460-8>
- Balraj, B., Senthilkumar, N., Siva, C., Krithikadevi, R., Julie, A., Potheher, I. V., & Arulmozhi, M. (2017). Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using marine *Streptomyces* sp. with its investigations on anticancer and antibacterial activity. *Research on Chemical Intermediates*, 43, 2367-2376.
- Bhattacharjee, S. (2016). DLS and zeta potential – What they are and what they are not?. *Journal of Controlled Release*, 235, 337-351. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2016.06.017>
- Camejo-Giniebra, J.J., Domínguez- Domínguez, J.A., & Marrero, R. (2023). *Apuntes sobre composición, estructura y propiedades de los materiales de construcción*.

- <https://www.researchgate.net/publication/370550593> Apuntes sobre composición es  
tructura y propiedades de los materiales de construcción
- Carvajal-Vilches, T.C. (2015). *Aislación e Identificación de Hongos Presentes en el Interior de Viviendas Sociales Expuestas a Altos Niveles de Humedad*. [Tesis de licenciatura, Universidad de Valparaíso]. Dirección de Biblioteca y Recursos para el Aprendizaje. <https://repositoriobibliotecas.uv.cl/serveruv/api/core/bitstreams/c1ec38d3-0289-4f7d-b0fa-1191b440ce30/content>
- Cascales, M. (2009). Determinación del Síndrome del Edificio Enfermo. *Revista Digital de Prevención*, 1-17.
- Castro-Longoria, E. (2022). Producción de nanopartículas metálicas mediante el uso de los hongos: una alternativa contra microorganismos patógenos. *Revista Farmacología*, 1(1), 12–17. <https://doi.org/10.58713/rf.v1i1.0>
- Chuquihuanga, L. L., & Guerra, G. R. D. (2022). *Diseño de bloque de concreto con aplicaciones de nanopartículas de ZnO para mejorar su resistencia a la compresión, Tarapoto 2020*. [Tesis de grado]. Universidad César Vallejo.
- Cuadros-Moreno, A., Casañas, R., San Martín-Martínez, E., & Yañes, J. (2014). Dispersión de luz dinámica en la determinación de tamaño de nanopartículas poliméricas. *Latin-American Journal of Physics Education*, 8(4). <http://www.lajpe.org>
- Cuizano, N. A., Reyes, Ú. F., Domínguez, S., Llanos, B. P., & Navarro, A. E. (2010). Relevancia del pH en la adsorción de iones metálicos mediante algas pardas. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 76(2), 123-130. <https://www.redalyc.org/pdf/3719/371937617002.pdf>
- Da Costa-Rocha, M. B., De Araújo, T. R., Medeiros, R. L., Oliveira, M. M., & De Figueredo, G. P. (2021). Recent advances (2016 - 2020) in green synthesis of metal oxide nanoparticles: An overview. *Research, Society and Development*, 10(16), e399101623406. <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i16.23406>
- De Souza-Rastelli, A. N., Carreira, E. T., Dias, H. B., & Hamblin, M. R. (2016). Nanobiomaterials in dentistry. In M.G. Alexandru (Ed.), *Nanobiomaterials in Dentistry: Applications of Nanobiomaterials* (pp. 1–25). William Andrew. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-42867-5.00001-1>

- Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (2020). *Curvularia lunata*. SaderSenasica. Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Ficha técnica. Tecámac, Estado de México, 17 p. [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600866/Curvularia\\_lunata.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600866/Curvularia_lunata.pdf)
- Dyshlyuk, L., Babich, O., Ivanova, S., Vasilchenko, N., Prosekov, A., & Sukhikh, S. (2020). Suspensions of metal nanoparticles as a basis for protection of internal surfaces of building structures from biodegradation. *Case Studies in Construction Materials*, 12. <https://doi.org/10.1016/j.cscm.2019.e00319>
- El-Moslamy, S.H., Elnouby, M.S., Rezk, A.H., & El-Fakharany, E.M. (2023). Scaling-up strategies for controllable biosynthetic ZnO NPs using cell free-extract of endophytic *Streptomyces albus*: characterization, statistical optimization, and biomedical activities evaluation. *Scientific Reports*, 13(1), 3200. Doi: 10.1038/s41598-023-29757-9.
- Erazo, A., Mosquera, S. A., & Páez, J. E. R. (2019). Synthesis of ZnO nanoparticles with different morphology: Study of their antifungal effect on strains of *Aspergillus niger* and *Botrytis cinerea*. *Materials Chemistry and Physics*, 234, 172-184. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2019.05.075>
- Esquivel-Figueroa, R. de la C., & Mas-Diego, M. S. (2021). Síntesis biológica de nanopartículas de plata: revisión del uso potencial de la especie *Trichoderma*. *Revista Cubana de Química*, 33(2), 23-45. <http://scielo.sld.cu/pdf/ind/v33n2/2224-5421-ind-33-02-23.pdf>
- Estrada-Arellano, K. L., Vázquez-Vázquez, C., Betancourt-Galindo, R., Muy-Rangel, M. D., Valenzuela-Nuñez, L. M., García-Hernández, J. L., & Gallegos-Robles, M. Á. (2023). Fertilización foliar con nanopartículas de ZnO y su efecto en la producción, calidad biofísica y nutracéutica en frutos de nogal pecanero (*Carya illinoensis*). *Terra Latinoamericana*, 41, 1-11. <https://doi.org/10.28940/terra.v41i0.1585>
- Fakhari, S., Jamzad, M., & Fard, H. K. (2019). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 12(1), 19-24. <https://doi.org/10.1080/17518253.2018.1547925>
- Francisco-Escudero, J., Villanueva-Ibáñez, M., Lucho-Constantino C. A., Coronel-Olivares, C., Hernández-Pérez M., & Flores-González, M.A. (2017). Biosíntesis de con

- Nanopartículas de ZnO Extracto Acuoso de Mucílago de *Opuntia Amychlaea*. *Simposio Iberoamericano Multidisciplinario de Ciencias e Ingenierías*, 5, 12-18. [https://www.upp.edu.mx/simci/historico/simci2021/pdf/revista-SIMCI2017\\_ISSN.pdf#page=30](https://www.upp.edu.mx/simci/historico/simci2021/pdf/revista-SIMCI2017_ISSN.pdf#page=30)
- Flores, C. Y. (2014). *Nanopartículas de plata con potenciales aplicaciones en materiales implantables: síntesis, caracterización fisicoquímica y actividad bactericida*. [Tesis doctoral]. Universidad Nacional de la Plata. <https://core.ac.uk/download/pdf/296363958.pdf>
- Gadd, G. M. (1993). Tansley Review No. 47. Interactions of Fungi with Toxic Metals. *The New Phytologist*, 124(1), 25–60. <http://www.jstor.org/stable/2558069>
- García-De la Cruz, K. C., Owoyokun, T. O., Garcías M. C., Martínez, L. A., & Pérez, B. C. M. (2023). Characterization Techniques for Cellulose Nanomaterials: an update. *CienciAcierta*, 73, 82-101. <http://www.cienciacierta.uadec.mx/articulos/cc73/286.-%20Tecnicas.pdf>
- Gómez-Daza, F. (2019). Características generales de los hongos e infecciones sistémicas y oportunistas de las micosis tropicales. In C. G. Torres Viera, J. Murillo, & A. M. Rodríguez Elorza (Eds.), *Experto en Medicina Tropical y Enfermedades Infecciosas* (Médica Panamericana, pp. 1–20). Universidad Católica de Murcia.
- Gómez-Garzón, M. (2018). Nanomateriales, nanopartículas y síntesis verde. *Repertorio de Medicina y Cirugía*, 27(2), 75–80. <https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27>
- González, C., Navarro-Tovar, G., & Gómez Martínez, E. (2021). Evaluación biológica de los nanomateriales. Una visión hacia su regulación. *Elementos*, 28(123), 79–84. <https://elementos.buap.mx/directus/storage/uploads/00000006111.pdf>
- González-Merino, A. M., Hernández-Juárez, A., Betancourt-Galindo, R., Ochoa-Fuentes, Y. M., Valdez-Aguilar, L. A., & Limón-Corona, M. L. (2021). Antifungal activity of zinc oxide nanoparticles in *Fusarium oxysporum*- *Solanum lycopersicum* pathosystem under controlled conditions. *Journal of Phytopathology*, 169(9), 533–544. <https://doi.org/10.1111/jph.13023>

- Horikoshi, S. & Serpone, N. (2013). Introduction to Nanoparticles. In S. Horikoshi and N. Serpone (Eds). *In Microwaves in Nanoparticle Synthesis*. (pp. 1-24). Wiley-VCH <https://doi.org/10.1002/9783527648122.ch1>
- Hulkoti, N. I., & Taranath, T. C. (2014). Biosynthesis of nanoparticles using microbes- a review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 121, 474–483. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2014.05.027>
- Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo. (2015). Seguridad y salud en el trabajo con nanomateriales. <https://www.insst.es/documents/94886/96076/sst+nanomateriales/bd21b71f-d5ec-4ee8-8129-a4fa58480968>
- Kalaba, M. H., Moghannem, S. A., El-Hawary, A. S., Radwan, A. A., Sharaf, M. H., & Shaban, A. S. (2021). Green Synthesized ZnO Nanoparticles Mediated by *Streptomyces plicatus*: Characterizations, Antimicrobial and Nematicidal Activities and Cytogenetic Effects. *Plants*, 10(9), 1760. <https://doi.org/10.3390/plants10091760>
- Kumari, S., Tehri, N., Gahlaut, A., & Hooda, V. (2020). Actinomycetes mediated synthesis, characterization, and applications of metallic nanoparticles. *Inorganic and Nano-Metal Chemistry*, 51(10), 1386- 1395. [Doi:10.1080/24701556.2020.1835978](https://doi.org/10.1080/24701556.2020.1835978)
- Li, G., He, D., Qian, Y., Guan, B., Gao, S., Cui, Y., Yokoyama, K., & Wang, L. (2012). Fungus-mediated green synthesis of silver nanoparticles using *Aspergillus terreus*. *International Journal of Molecular Sciences*, 13(1), 466–476. <https://doi.org/10.3390/ijms13010466>
- Liu, J., Huang, X., Li, Y., Duan, J., & Ai, H. (2006). Large-scale synthesis of flower-like ZnO structures by a surfactant-free and low-temperature process. *Materials Chemistry and Physics*, 98(2-3), 523-527. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2005.09.075>
- Loh, K., Gaylarde, C. C., & Shirakawa, M. A. (2018). Photocatalytic activity of ZnO and TiO<sub>2</sub> ‘nanoparticles’ for use in cement mixes. *Construction and Building Materials*, 167, 853–859. <https://doi.org/10.1016/j.conbuildmat.2018.02.103>
- López, G.P., Gallegos, M.V., Peluso, M.A., Damonte, L.C., Sambeth, J.E., Belloti, N. (2023). ZnO recovered from spent alkaline batteries as antimicrobial additive for

- waterborne paints. *Emergent Mater.* 6, 147–158. <https://doi.org/10.1007/s42247-022-00443-2>
- Manivasagan, P., Alam, M.S., Kang, K.H., Kwak, M., & Kim, S.K. (2015). Extracellular synthesis of gold bionanoparticles by *Nocardiopsis* sp. and evaluation of its antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities. *Bioprocess Biosystems Engineering*, 38(6), 1167-77. <http://dx.doi.org/10.1007/s00449-015-1358-y>
- Manivasagan, P., Venkatesan, J., Sivakumar, K., & Kim, S. K. (2014). Actinobacteria mediated synthesis of nanoparticles and their biological properties: A review. *Critical Reviews in Microbiology*, 42(2), 209–221. <https://doi.org/10.3109/1040841X.2014.917069>
- Manjunath, K. R., Ravishankar, T. N., Kumar, D. B., Priyanka, K. P., Varghese, T., Naika, H. R., Nagabhushana, H., Sharma, S., Dupont, J., Ramakrishnappa, T., & Nagaraju, G. (2014). Facile combustion synthesis of ZnO nanoparticles using *Cajanus cajan* and its multidisciplinary applications. *Materials Research Bulletin*, 57, 325-334. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2014.06.010>
- Manzano, F. A., de Borja Mancha García, F., & Cutuli de Simón, M. T. (2007). De los miasmas a los edificios enfermos: Hongos en el interior. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 1(2), 277–287. <https://revistas.ucm.es/index.php/RCCV/article/view/RCCV0707230277A/22661>
- Mata, G., & Salmones. D. (eds.), 2021. *Técnicas de aislamiento, cultivo y conservación de cepas de hongos en el laboratorio*. Instituto de Ecología, A.C., Xalapa, México. [https://www.inecol.mx/inecol/images/pdf/libro\\_cepas.pdf](https://www.inecol.mx/inecol/images/pdf/libro_cepas.pdf)
- Mayeen, A., Shaji, L. K., Nair, A. K., & Kalarikkal, N. (2018). Morphological characterization of nanomaterials. In S.M. Bhaggyaraj., O.S. Oluwafemi., N. Kalarikkal & S. Thomas (Eds.), *Characterization of Nanomaterials: Advances and Key Technologies* (pp. 335–364). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101973-3.00012-2>
- Meléndez, B. L., Hernández, G. J., Ruiz, T. A., Arroyo, C. M., & Soto, L. I. (2022). Síntesis de nanopartículas de plata preparadas con extracto de *Pimpinella anisum*. *Revista Tendencias en Docencia e Investigación en Química*, 8(8), 272–276.

[http://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/9563/Sintesis de nanoparticulas de plata 2022.pdf?sequence=1](http://zaloamati.azc.uam.mx/bitstream/handle/11191/9563/Sintesis_de_nanoparticulas_de_plata_2022.pdf?sequence=1)

- Mitra, C., Gummadidala, P. M., Afshinnia, K., Merrifield, R. C., Baalousha, M., Lead, J. R., & Chanda, A. (2017). Citrate-Coated Silver Nanoparticles Growth-Independently Inhibit Aflatoxin Synthesis in *Aspergillus parasiticus*. *Environmental Science & Technology*, 51(14), 8085-8093. <https://doi.org/10.1021/acs.est.7b01230>
- Mittal, A.K., Chisti, Y., & Banerjee, U.C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31, 346–356. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.003>
- Moghaddam, A.B., Moniri, M., Azizi, S., Rahim, R.A., Ariff, A.B., Saad, W.Z., Namvar, F., Navaderi, M., & Mohamad, R. (2017). Biosynthesis of ZnO Nanoparticles by a New *Pichia kudriavzevii* Yeast Strain and Evaluation of Their Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Molecules*, 22(6), 872. <https://doi.org/10.3390/molecules22060872>
- Mohajerani, A., Burnett, L., Smith, J. V., Kurmus, H., Milas, J., Arulrajah, A., Horpibulsuk, S., & Kadir, A. A. (2019). Nanoparticles in construction materials and other applications, and implications of nanoparticle use. *Materials*, 12(19). <https://doi.org/10.3390/ma12193052>
- Mokammel, M. A., Islam, M. J., Hasanuzzaman, M., & Hashmi, S. (Eds.). (2019). *Nanoscale Materials for Self-Cleaning and Antibacterial Applications*. Materials Science and Materials Engineering. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-803581-8.11585-1>
- Mosquera, E., Rosas, N., Debut, A., & Guerrero, V. H. (2015). Síntesis y Caracterización de Nanopartículas de Dióxido de Titanio Obtenidas por el Método de Sol-Gel. *Revista Politécnica*, 36(3). [https://revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista\\_politecnica2/article/view/525/pdf](https://revistapolitecnica.epn.edu.ec/ojs2/index.php/revista_politecnica2/article/view/525/pdf)
- Niu, G., Chater, K. F., Tian, Y., Zhang, J., & Tan, H. (2016). Specialised metabolites regulating antibiotic biosynthesis in *Streptomyces* spp. *FEMS Microbiology Reviews*, 40(4), 554–573. <https://doi.org/10.1093/femsre/fuw012>

- Ogar, A., Tylko, G., & Turnau, K. (2015). Antifungal properties of silver nanoparticles against indoor mould growth. *Science of the Total Environment*, 15(521–522), 305–314. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.101>
- Orasugh, J. T., Ghosh, S. K., & Chattopadhyay, D. (2020). Nanofiber-reinforced biocomposites. In B. Han., S. Sharma., L. Li., K. S. Bhat., T. A. Nguyen (Eds.), *Fiber-Reinforced Nanocomposites: Fundamentals and Applications* (pp. 199–233). Elsevier Science Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819904-6.00010-4>
- Ortiz-Arana, G., Talavera-Rojas, M., Velázquez-Ordoñez, V., & Acosta-Dibarrar, J. (2021). Aplicaciones de las nanopartículas metálicas en las ciencias veterinarias. *Revista MVZ Córdoba*, 26(3). <https://doi.org/10.21897/rmvz.2123>
- Pallavi, S.S., Rudayni, H. A., Bepari, A., Niazi, S. K., & Nayaka, S. (2022). Green synthesis of Silver nanoparticles using *Streptomyces hirsutus* strain SNPGA-8 and their characterization, antimicrobial activity, and anticancer activity against human lung carcinoma cell line A549. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(1), 228–238. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.08.084>
- Pariona, N., Hermida-Montero, L. A., Mtz-Enriquez, A. I., Sánchez-Rangel, D., Carrión, G., López-Lima, D., Rosas-Saito, G., Rodríguez-Hass, B. & Duran-Barradas, Z. (2018). Síntesis de nanopartículas de cobre para el control de hongos fitopatógenos. *ECIPERU*, 15 (2), 109-116. <https://doi.org/10.33017/reveciperu2018.0017>
- Pereyra, J., Paterlini, P., Noblega, L., Álvarez, A., & Romero, C. M. (2018). *Biosíntesis Y Caracterización De Nanopartículas De Plata Por Actinobacterias Metalo-Resistentes*. XXVI Jornada de Jóvenes Investigadores. Universidad Nacional de Cuyo. Mendoza, Argentina, 17- 19 octubre 2018.
- Pérez, M. Á. D., Benavides, D. X. M., & Hernández, P. A. (2015). Contaminación microbiológica del aire al interior y el síndrome del edificio enfermo. *Biociencias*, 10(2), 37-50. <https://doi.org/10.18041/2390-0512/bioc>.
- Pilaquinga, F., Pazmiño, K., Robalino, A., Jara, E., López, F., Meneses, L., Vizuete, K., & Debut M, A. (2019). Síntesis verde de nanopartículas de plata usando el extracto acuoso de las hojas de ajo (*Allium sativum*). *InfoANALÍTICA*, 7(2), 41–55. <https://doi.org/https://doi.org/10.26807/ia.v7i2.102>

- Rabieh, S., Bagheri, M., Heydari, M., & Badiei, E. (2014). Microwave assisted synthesis of ZnO nanoparticles in ionic liquid and their photocatalytic investigation. *Materials Science In Semiconductor Processing*, 26, 244-250. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2014.05.013>
- Rajivgandhi, G., Gnanamangai, B. M., Prabha, T. H., Poornima, S., Maruthupandy, M., Alharbi, N. S., Kadaikunnan, S., & Li, W. (2022). Biosynthesized zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs) using actinomycetes enhance the anti-bacterial efficacy against *K. pneumoniae*. *Journal of King Saud University. Science/Mağallā' Ğāmi'a' Al-malik Sa'ūd. al-'Ulūm*, 34(1), 101731. <https://doi.org/10.1016/j.jksus.2021.101731>
- Rani, S., Kumar, P., Dahiya, P., Dang, A. S., & Suneja, P. (2022). Biogenic Synthesis of Zinc Nanoparticles, Their Applications, and Toxicity Prospects. *Frontiers In Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.824427>
- Rico-Velazco, E. G., De la Rosa-García S. C., Álvarez-Lemus, M. A. Biosíntesis de nanopartículas de plata por *Streptomyces* de suelos tropicales. *7mo. Encuentro de Jóvenes Investigadores en Evaluación y Tecnología Ambiental*. Villahermosa Tabasco, 15-16 noviembre 2018.
- Saha, S., Bera, K., & Jana, P. C. (2011). Growth time dependence of size of nanoparticle of ZnS. *International Journal of Soft Computing and Engineering*, 1(5), 23-26. <https://citeseerx.ist.psu.edu/document?repid=rep1&type=pdf&doi=64635321e8a0a22664787c8764f0645609c512f0>
- Shaaban, M. I., & El-Mahdy, A. M. (2018). Biosynthesis of Ag, Se, and ZnO nanoparticles with antimicrobial activities against resistant pathogens using waste isolate *Streptomyces enissocaesilis*. *IET Nanobiotechnology*, 12(6), 741-747. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2017.0213>
- Shabatina, T., Vernaya, O., Shumilkin, A., Semenov, A., & Melnikov, M. (2022). Nanoparticles of Bioactive Metals/Metal Oxides and Their Nanocomposites with Antibacterial Drugs for Biomedical Applications. *Materials*, 15(10), 3602. <https://doi.org/10.3390/ma15103602>
- Shanmugasundaram, T., & Balagurunathan, R. (2017). Bio-medically active zinc oxide nanoparticles synthesized by using extremophilic actinobacterium, *Streptomyces* sp.

- (MA30) and its characterization. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 45(8). 10.1080/21691401.2016.1260577
- Sharma, D. R., Afzal, S., & Singh, N. K. (2021). Nanopriming with phytosynthesized zinc oxide nanoparticles for promoting germination and starch metabolism in rice seeds. *Journal of Biotechnology*, 336, 64-75. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2021.06.014>
- Sierra-Fernández, A., De la Rosa-García, S., Gomez-Villalba, L. S., Gómez-Cornelio, S., Rabanal, M., Fort, R., & Quintana, P. (2017). Synthesis, Photocatalytic, and Antifungal Properties of MgO, ZnO and Zn/Mg Oxide Nanoparticles for the Protection of Calcareous Stone Heritage. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 9(29), 24873-24886. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b06130>
- Sivasankar, P., Poongodi, S., Seedeivi, P., Kalaimurugan, D., Sivakumar, M., & Loganathan, S. (2019). Nanoparticles from Actinobacteria: A Potential Target to Antimicrobial Therapy. *Current Pharmaceutical Design*, 25(24), 2626–2636. <https://doi.org/10.2174/1381612825666190709221710>
- Slavin, Y. N., & Bach, H. (2022). Mechanisms of Antifungal Properties of Metal Nanoparticles. *Nanomaterials*, 12(24), 4470. <https://doi.org/10.3390/nano12244470>
- Solmaz, A., Turna, T., & Baran, A. (2024). Removal of paracetamol from aqueous solution with zinc oxide nanoparticles obtained by green synthesis from purple basil (*Ocimum basilicum*) waste. *Biomass Conversion and Biorefinery*. <https://doi.org/10.1007/s13399-024-05355-1>
- Soria-Castro, M., De la Rosa-García, S.C., Quintana, P., Gómez-Cornelio, S., Sierra-Fernandez, A., & Gómez-Ortíz, N. (2019). Broad spectrum antimicrobial activity of Ca(Zn(OH)<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·2H<sub>2</sub>O and ZnO nanoparticles synthesized by the sol-gel method. *Journal of Sol-Gel Science and Technology* 89, 284–294. <https://doi.org/10.1007/s10971-018-4759-y>
- Tripathi, R. M., Bhadwal, A. S., Gupta, R., Singh, P., Shrivastav, A., & Shrivastav, B. R. (2014). ZnO nanoflowers: Novel biogenic synthesis and enhanced photocatalytic activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 141, 288-295. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2014.10.001>

- Trzcińska-Wencel, J., Wypij, M., Terzyk, A. P., Rai, M., & Golińska, P. (2023). Biofabrication of novel silver and zinc oxide nanoparticles from *Fusarium solani* IOR 825 and their potential application in agriculture as biocontrol agents of phytopathogens, and seed germination and seedling growth promoters. *Frontiers in Chemistry*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fchem.2023.1235437>
- van Bergeijk, D. A., Terlouw, B. R., Medema, M. H., & van Wezel, G. P. (2020). Ecology and genomics of Actinobacteria: new concepts for natural product discovery. *Nature Reviews Microbiology*, *18*(10), 546–558. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0379-y>
- Wang, J., & Chen, C. (2009). Biosorbents for heavy metals removal and their future. *Biotechnology Advances*, *27*(2), 195–226. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2008.11.002>
- Wypij, M., Golinska, P., Dahm, H., & Rai, M. (2017). Actinobacterial-mediated synthesis of silver nanoparticles and their activity against pathogenic bacteria. *IET Nanobiotechnol*, *11*(3), 336-42. <http://dx.doi.org/10.1049/iet-nbt.2016.0112>
- Wypij, M., Świecimska, M., Dahm, H., Rai, M., & Golinska, P. (2019). Controllable biosynthesis of silver nanoparticles using actinobacterial strains. *Green Processing Synthesis*, *8*(1), 207-14. <http://dx.doi.org/10.1515/gps-2018-0070>
- Xiao, Q., Huang, S., Zhang, J., Xiao, C., & Tan, X. (2008). Sonochemical synthesis of ZnO nanosheet. *Journal of Alloys and Compounds*, *459*(1-2). <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2007.05.026n>
- Zagada-Domínguez, U., De la Rosa-García, S., Ruiz-Gómez, M. A., González, R. L., Soria-Castro, M., Quintana, P., & Gómez-Cornelio, S. (2020). Photocatalytic and antifungal activity of  $\text{CaZn}_2(\text{OH})_6 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  mixed with  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  for its application in cultural heritage. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, *392*, 112440. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112440>
- Zubair, N., & Akhtar, K. (2020). Morphology controlled synthesis of ZnO nanoparticles for in-vitro evaluation of antibacterial activity. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, *30*(6), 1605-1614. [https://doi.org/10.1016/s1003-6326\(20\)65323-7](https://doi.org/10.1016/s1003-6326(20)65323-7)
- Zhou, X. Q., Hayat, Z., Zhang, D. D., Li, M. Y., Hu, S., Wu, Q., Cao, Y. F., & Yuan, Y. (2023). Zinc Oxide Nanoparticles: Synthesis, Characterization, Modification, and

Applications in Food and Agriculture. *Processes*, 11(4), 1193.  
<https://doi.org/10.3390/pr11041193>

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco  
México