



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA



Evaluación de la actividad antibacteriana de nanocompositos de Quitosano-ZnO y Quitosano-TiO₂ obtenidos en presencia del extracto acuoso de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*)

TESIS

Para obtener el grado de:

Maestro en Ciencias en Ingeniería

Presenta:

Ing. Cinthya Elizabeth Meza Rodríguez

Director:

Dra. Mayra Angélica Alvarez Lemus

Co-Director

Dra. Ruth Lezama García



DECLARACIÓN DE AUTORÍA Y ORIGINALIDAD

En la ciudad de Cunduacán, Tabasco el día 21 del mes de Junio del año 2024 la alumna del programa de Maestría en Ciencias en Ingeniería con número de matrícula 212D19002, adscrito a la División Académica de Ingeniería y Arquitectura, de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, como autora de la Tesis presentada para la obtención del grado de Maestra en Ciencias en Ingeniería y titulada "Evaluación de la actividad antibacteriana de nanocompositos de Quitosano-ZnO y Quitosano-TiO₂ obtenidos en presencia del extracto acuoso de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*)" dirigida por la Dra. Mayra Angélica Alvarez Lemus y co-dirigida por la Dra. Ruth Lezama García

DECLARO QUE:

La tesis es una obra original que no infringe los derechos de propiedad intelectual ni los derechos de propiedad industrial u otros, de acuerdo con el ordenamiento jurídico vigente, en particular, la LEY FEDERAL DEL DERECHO DE AUTOR (decreto con el que se reforman y adicionan diversas disposiciones de la Ley Federal del Derecho de Autor del 01 de Julio del 2020 regularizando y aclarando y armonizando las disposiciones legales vigentes sobre la materia), en particular, las disposiciones referidas al derecho de cita.

Del mismo modo, asumo frente a la Universidad cualquier responsabilidad que pudiera derivarse de la autoría o falta de originalidad o contenido de la Tesis presentada de conformidad con el ordenamiento jurídico vigente.

Villahermosa, Tabasco a 21 de Junio del 2024.

ATTE:

I. Q. Cinthya Elizabeth Meza Rodríguez



UJAT

UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



División
Académica
de Ingeniería
y Arquitectura



2024
Felipe Carrillo
PUERTO
GOBIERNO DE TABASCO
ESTADO DE TABASCO
MEXICO

DIRECCIÓN

OFICIO: DAIA/DIR/1571/2024

FECHA: 19 de junio de 2024

ASUNTO: Autorización de
impresión definitiva

I.Q. CINTHYA ELIZABETH MEZA RODRÍGUEZ
PASANTE DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN INGENIERÍA
PRESENTE

En virtud de haber elaborado su trabajo de tesis denominado:

"Evaluación de la actividad antibacteriana de nanocompositos de Quitosano-ZnO y Quitosano-TiO2 obtenidos en presencia del extracto acuoso de lirio acuático (Eichhornia crassipes)"

Para obtener el grado de **Maestro en Ciencias en Ingeniería** y en el cual ha tenido como Director de Tesis a la Dra. Mayra Angélica Álvarez Lemus y como Co-directora a la Dra. Ruth Lezama García.

Tengo a bien autorizarle la **IMPRESIÓN DEFINITIVA** de dicho trabajo, continuando con los trámites correspondientes para su examen de obtención de grado.

Agradeciendo de antemano sus atenciones, le envió un cordial saludo.

ATENTAMENTE

DRA. DORA MARÍA FRÍAS MÁRQUEZ
DIRECTORA

c.c.p. Archivo

DRA'DMFM / LB'ECR



DIRECCIÓN

Carretera Cunduacán –Jalpa de Méndez, km 1, Col. La Esmeralda,
C.P.86690 Cunduacán, Tabasco
Tel. (993) 358.15.00 Ext. 6752
e-Mail: direccion.daia@ujat.mx



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO

“ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE”



División
Académica
de Ingeniería
y Arquitectura



2024
Felipe Carrillo
PUERTO
GOBIERNO DEL ESTADO DE TABASCO
MÉXICO

JEFATURA DE POSGRADO

Cunduacán, Tabasco a 04 de junio de 2024.

MEM/AP-DAIA/164/2024

PARA **DRA. DORA MARÍA FRÍAS MÁRQUEZ**
DIRECTORA DE LA DAIA
DE: COMISIÓN SINODAL
ASUNTO: APROBACIÓN DE IMPRESIÓN DE TESIS DE MAESTRÍA

Una vez hecha la revisión detallada del Trabajo de Tesis denominado:

“Evaluación de la actividad antibacteriana de nanocompositos de Quitosano-ZnO y Quitosano-TiO₂ obtenidos en presencia del extracto acuoso de lirio acuático (Eichhornia crassipes)”

Desarrollado por la I. Q. **Cinthya Elizabeth Meza Rodríguez** de la **Maestría en Ciencias en Ingeniería**, le comunicamos que aceptamos la impresión del trabajo, ya que el mismo ha cumplido con los requisitos necesarios.

COMITÉ SINODAL



DR. ROSENDO LÓPEZ GONZÁLEZ
PRESIDENTE



DR. ERIK RAMÍREZ MORALES
SECRETARIO



**DRA. MAYRA ANGÉLICA ÁLVAREZ
LEMUS**
VOCAL 1



DRA. DORA MARÍA FRÍAS MÁRQUEZ
VOCAL 2



**DRA. SUSANA DEL CARMEN DE LA
ROSA GARCÍA**
VOCAL 3

Cunduacán, Tabasco; 21 de Junio de 2024.

CARTA AUTORIZACIÓN


A quien corresponda:

Por medio de la presente manifiesto haber colaborado como autora en la producción, creación y/o realización de la obra denominada “Evaluación de la actividad bacteriana de nanocompositos de Quitosano-ZnO y Quitosano-TiO₂ obtenidos en presencia del extracto acuoso de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*)”.

Con fundamento en el artículo 83 de la Ley Federal del Derecho de Autor y toda vez que, la creación y/o realización de la obra antes mencionada se realizó bajo la comisión de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco; entiendo y acepto el alcance del artículo en mención, de que tengo el derecho al reconocimiento como autora de la obra, y la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco mantendrá en un 100% la titularidad de los derechos patrimoniales por un periodo de 20 años sobre la obra en la que colaboré, por lo anterior, cedo el derecho patrimonial exclusivo en favor de la Universidad.

Sin más por el momento, se firma la presente autorización.


ATTE., COLABORADORES:



Dra. Mayra Angélica Alvarez
Lemus


I. Q. Cinthya Elizabeth Meza
Rodríguez


Dra. Ruth Lezama García

TESTIGOS


C. P. Sandra Verónica
Rodríguez Serna


Físico Marco Antonio Meza
Rodríguez

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
Mexico.

*“Usted no puede esperar construir un mundo mejor sin
mejorar a las personas.
Cada uno de nosotros debe trabajar para su propia
mejora.”*

Marie Curie.

DEDICATORIAS

A Dios, por dejarme llegar hasta donde estoy, prestarme vida y darme energía para lograr este paso tan importante en mi vida, en compañía de las personas que quiero.

A mi mamá y mi hermano, que son el pilar de mi vida y mi motor para todo. Sin su apoyo incondicional y motivación constante no hubiera llegado hasta aquí. Ambos son unos guerreros y mi ejemplo por seguir siempre. Los amo inmensamente.

A Inés y René, les agradezco el apoyo brindado y que siempre han estado ahí para lo que he necesitado. Los quiero.

A toda mi familia que no veo seguido pero que están ahí al pendiente, no los tengo físicamente, pero si en mi mente y mi corazón. Los quiero mucho y este triunfo es también para ustedes, que me he perdido fiestas, viajes y demás para lograr este sueño.

Al amor más bonito que he encontrado en la vida, que llegó para brindarme su apoyo incondicional y animándome cuando ni yo quería continuar. Te estoy muy agradecida Mauricio por todas las cosas que hemos compartido y siempre decirme que lo haga si eso me hace feliz, por compartir el estrés junto conmigo y permitirme usarte en esta recta final para que dieras varias vueltas por mí. Te adoro.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnologías (CONAHCYT) por la beca otorgada durante los estudios de la maestría. Al proyecto DAMA 845101: “Descubrimiento Acelerado de Materiales Antibioincrustantes”.

A la División Académica de Ingeniería y Arquitectura y la División Académica de Ciencias Biológicas de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, así como a la Universidad Politécnica del Centro por el apoyo en uso de sus instalaciones y recursos para llevar a cabo este proyecto de investigación.

A mi directora de tesis, Dra. Mayra Angélica Álvarez Lemus, por su confianza para la realización de este proyecto, por su paciencia para enseñarme a realizar las técnicas y preocupación de que yo aprendiera todo lo posible. Además de sus consejos y amistad para concluir esta etapa de mi vida y meta personal. ¡Muchas gracias!

A mi codirectora de tesis, Dra. Ruth Lezama García, por su apoyo, asesoría y tiempo en la revisión del presente documento. Gracias.

Un agradecimiento especial al Dr. Sergio Alberto Gómez Cornelio, por su gran apoyo, colaboración, enseñanza, asesoría, tiempo, motivación e inspiración para continuar en el camino de la investigación. ¡Mil gracias!

Al comité revisor, Dr. Erik Ramírez Morales, Dr. Rosendo López González, Dra. Dora María Frías Márquez y Dra. Susana del Carmen De la Rosa García; por su tiempo, sugerencias y comentarios para la mejora de este trabajo. En especial al Dr. Rosendo por abrirme las puertas del laboratorio y permitirme mucho más.

A mis compañeros de laboratorio Erik, Susana, Víctor, Katy, Luis Miguel, Martín, Buzo y Mardonio; por las tantas horas de trabajo compartidas, las risas, las frustraciones compartidas y aventuras vividas. Un reconocimiento especial a mis compañeros de madrugadas, Nestora, Nacho, Rocío y Luis Miguel, esas noches no las olvidaré. Otro reconocimiento especial a mi amigo desde la licenciatura, Wilber, ya 10 años de ser amigos. Por último, a mi chaparrita Rocío que, con altas y bajas, malentendidos y demás, seguimos apoyándonos y espero que sea así por muchos años más. Los quiero a todos, chicos, gracias.

ÍNDICE

RESUMEN	1
ABSTRACT	2
Lista de Abreviaturas	3
CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN	4
CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO	7
2.1 Síntesis de Nanomateriales.	7
2.2 Óxidos metálicos sintetizados con extracto de lirio acuático.	8
2.2.1 ZnO sintetizado en presencia de extractos vegetales.	9
2.2.2 TiO ₂ sintetizado en presencia de extractos vegetales.	10
2.3 Actividad antibacteriana del ZnO y TiO ₂	11
JUSTIFICACIÓN	13
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN	14
HIPÓTESIS	14
OBJETIVOS	15
General.....	15
Específicos	15
CAPÍTULO III: DESARROLLO EXPERIMENTAL	16
3.1 Obtención del extracto acuoso de lirio acuático.	16
3.2 Síntesis de nanopartículas de ZnO en presencia de extracto.	17
3.3 Síntesis de nanopartículas de TiO ₂ en presencia de extracto.	17
3.4 Preparación del material compuesto Quitosano + Óxido Metálico.	18
3.5 Técnicas de caracterización empleadas	19
3.5.1 Microscopía de Barrido de Electrones por Emisión de Campo (FE-SEM).	19
3.5.2 Espectroscopía infrarroja por la transformada de Fourier (FT-IR).	19
3.5.3 Difracción de Rayos-X (DRX).	20
3.5.4 Espectroscopía Ultravioleta-visible.	21
3.5.5 Fisorción de gases a baja presión.	22

3.5.6	Dispersión de luz dinámica (DLS) y dispersión electroforética de luz (ELS).....	22
3.5.7	Análisis termogravimétrico (TGA).....	23
3.6	Evaluación de la actividad biológica.....	23
3.6.1	Tinción de Gram.....	23
3.6.2	Difusión en disco y en pozo.....	24
3.6.3	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y ensayo CTT.....	25
CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN		26
4.1	Efecto de la presencia de quitosano de bajo peso molecular en el composito con los óxidos metálicos.....	26
4.1.1	Microscopía Electrónica de Barrido por Emisión de Campo (FE-SEM).....	26
4.1.2	Espectros FT-IR.....	28
4.1.3	Difracción de Rayos-X.....	34
4.1.4	Espectros UV-Vis por reflectancia difusa.....	37
4.1.5	Fisorción de gases a baja presión.....	41
4.1.6	Dispersión de Luz Dinámica (DLS) y Dispersión Electroforética de Luz (ELS).....	49
4.2	Evaluación de la actividad biológica.....	53
4.2.1	Difusión en disco.....	53
4.2.2	Difusión en pozo.....	58
4.2.3	Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria.....	62
CAPÍTULO V: CONCLUSIONES.....		64
CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS		67
REFERENCIAS.....		68
ANEXOS.....		86
A.1.	Determinación de polifenoles y flavonoides del extracto acuoso de lirio acuático.....	86
A.1.1	Polifenoles.....	86
A.1.2	Flavonoides.....	87
A.2.	Caracterización de los materiales sin calcinar.....	88

REFERENCIAS ANEXOS 101

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Nomenclatura asignada y descripción de los materiales obtenidos.	20
Tabla 2. Valores de absorbancia buscados para cada bacteria en una longitud de onda de 550 nm (CLSI, 1999).	24
Tabla 3. Datos obtenidos mediante la técnica de fisorción de gases a baja presión, para los materiales con ZnO (Z500 y ZQ).....	42
Tabla 4. Datos obtenidos mediante la técnica de fisorción de gases a baja presión, para los materiales con TiO ₂ (T570 y TQ).....	46
Tabla 5. Valores de tamaño hidrodinámico y potencial zeta obtenidos para el ZnO calcinado a 500°C (Z500) y el material compuesto Z500 con Quitosano (ZQ).	50
Tabla 6. Valores de tamaño hidrodinámico y potencial zeta obtenidos para el TiO ₂ calcinado a 570°C (T570) y el material compuesto T570 con Quitosano (TQ).	52
Tabla 7. Nomenclatura empleada, indicando sus concentraciones para los diferentes ensayos microbiológicos.....	54
Tabla 8. Actividad inhibitoria (mm) de las nanopartículas de Z500 y ZQ a diferentes concentraciones suspendidas en agua destilada contra <i>Staphylococcus aureus</i> ; empleando la técnica de difusión en disco.	58
Tabla 9. Actividad inhibitoria (mm) de las nanopartículas de Z500 a diferentes concentraciones suspendidas en agua destilada contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ; empleando la técnica de difusión en pozo.....	61
Tabla 10. Actividad inhibitoria (mm) de las nanopartículas Z500 y ZQ a diferentes concentraciones suspendidas en agua destilada contra <i>Staphylococcus aureus</i> ; evaluando la técnica de inhibición en pozo.	62
Tabla 11. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de las nanopartículas de Z500 y ZQ a diferentes concentraciones suspendidas en agua destilada contra <i>Staphylococcus</i> y <i>Escherichia aureus</i>	62
Tabla 12. Contenido de Polifenoles Totales (TPC) del extracto de lirio.	86
Tabla 13. Contenido de Flavonoides Totales (TFC) del extracto de lirio.....	87

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Comparación de las membranas de las células bacterianas de una Gram positiva y una Gram negativa [24].	12
Figura 2. Esquema del procedimiento para la obtención del extracto de lirio acuático.	16
Figura 3. Esquema de la metodología seguida para la síntesis del ZnO en presencia de extracto de lirio acuático.	17
Figura 4. Esquema de la metodología seguida para la síntesis del TiO ₂ en presencia del extracto de lirio acuático.	18
Figura 5. Esquema de la preparación del material compuesto Q+OM.	18
Figura 6. Esquema de realización de la Tinción de Gram.	24
Figura 7. Micrografías del ZnO calcinado a 500 °C, Z500, con a) x100,000 de magnificación y b) x50,000 de magnificación.	26
Figura 8. Micrografías del TiO ₂ calcinado a 570 °C, T570, con a) x100,000 de magnificación y b) x200,000 de magnificación.	28
Figura 9. Espectros FT-IR del material ZnO calcinado (Z500) y del material compuesto de Z500 y quitosano (ZQ); a) Acercamiento de la región de 1800-800 cm ⁻¹ , b) Acercamiento de 3800 – 2800 cm ⁻¹ y c) Espectro completo desde los 4000 cm ⁻¹ con inserto del espectro completo del quitosano.	29
Figura 10. Espectros FT-IR del material TiO ₂ calcinado a 570 °C (T570) y del material compuesto de TiO ₂ y quitosano (TQ); a) Acercamiento de la región de 1800-800 cm ⁻¹ , b) Acercamiento de 3800 – 2800 cm ⁻¹ y c) Espectro completo desde los 4000 hasta los 400 cm ⁻¹ con inserto del espectro completo del quitosano.	32
Figura 11. Difractogramas del ZnO calcinado a 500°C (Z500), del material compuesto de Z500 con quitosano (ZQ) y del quitosano de bajo peso molecular (Q).	35

Figura 12. Difractogramas del TiO ₂ calcinado a 570°C (T570), del material compuesto de T570 con quitosano (TQ) y del quitosano de bajo peso molecular (Q).	37
Figura 13. Espectros UV-Vis por reflectancia difusa del ZnO calcinado a 500 °C (Z500), del material compuesto de Z500 con quitosano (ZQ) y el quitosano (Q).	38
Figura 14. Espectros UV-Vis por reflectancia difusa del TiO ₂ calcinado a 570 °C (T570), del material compuesto de T570 con quitosano (TQ) y el quitosano (Q).	40
Figura 15. Isotermas de adsorción-desorción del ZnO calcinado a 500 °C (Z500) y del material compuesto de Z500 + Quitosano (ZQ).	43
Figura 16. Distribución del tamaño de poro por el método BJH del ZnO calcinado a 500 °C (Z500) y del material compuesto de Z500 con quitosano (ZQ).	44
Figura 17. Isotermas de adsorción-desorción del TiO ₂ calcinado a 570 °C (T570) y del material compuesto de T570 + Quitosano (TQ).	47
Figura 18. Distribución del tamaño de poro por el método BJH del TiO ₂ calcinado a 570 °C (T570) y del material compuesto de T570 con quitosano (TQ).	48
Figura 19. Ensayo de difusión en disco en agar Mueller-Hinton de los materiales a) Z500, b) ZQ, c) T570 y d) TQ a concentraciones de la 1 – 7 de 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562 y 0.781 mg/mL contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . C- agua destilada; C+ amikacina (0.4 µg/mL).	55
Figura 20. Ensayo de difusión en disco en agar Mueller-Hinton de los materiales a) Z500, b) ZQ, c) T570 y d) TQ a concentraciones de la 1 – 7 de 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562 y 0.781 mg/mL contra <i>Escherichia coli</i> . C- agua destilada estéril; C+ amikacina (0.4 µg/mL).	56
Figura 21. Ensayo de difusión en disco en agar Mueller-Hinton de los materiales a) Z500, b) ZQ, c) T570 y d) TQ a concentraciones de la 1 – 7 de 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562 y 0.781 mg/mL contra <i>Staphylococcus aureus</i> . C-, agua destilada estéril; C+ amikacina (0.4 µg/mL).	57
Figura 22. Ensayo de difusión en pozo de los materiales a) Z500, b) ZQ, c) T570 y d) TQ [50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 y 0.78 mg/mL] contra <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . C- agua destilada estéril y C+ amikacina [0.4 µg/mL].	59

Figura 23. Ensayo de difusión en pozo de los materiales a) Z500, b) ZQ, c) T570 y d) TQ [40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25 y 0.625 mg/mL] contra <i>Staphylococcus aureus</i> . C- agua destilada estéril; C+ amikacina [0.4 µg/mL].	60
Figura 24. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los materiales Z500, ZQ, T570 y TQ. Las concentraciones se numeraron de 1-8, siendo en ese orden 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562 y 0.781 mg/mL. C- agua destilada estéril. C+ amikacina [0.4 µg/mL] contra las bacterias a) <i>Staphylococcus aureus</i> y b) <i>Escherichia coli</i> .	63
Figura 25. Termograma del ZnO seco a 70 °C (Z70), del extracto acuoso de lirio acuático y del precursor de zinc (AAZ, inserto) con un barrido de temperaturas entre los 30- 1000 °C y una rampa de calentamiento de 10 °C/min.	88
Figura 26. Termograma del TiO ₂ seco a 100 °C (T100) y del extracto acuoso de lirio acuático con un barrido de temperaturas entre los 30 - 1000 °C y una rampa de calentamiento de 10 °C/min.	90
Figura 27. Espectros FT-IR del ZnO seco a 70°C (Z70) y del extracto acuoso de lirio acuático liofilizado.	91
Figura 28. Espectros FT-IR del TiO ₂ seco a 100°C (T100) y del extracto acuoso de lirio acuático liofilizado	93
Figura 29. Espectros UV-Vis del ZnO seco a 70°C (Z70) y del extracto acuoso de lirio acuático.	95
Figura 30. Espectros UV-Vis del TiO ₂ seco a 100°C (T100) y del extracto acuoso de lirio acuático.	97

RESUMEN

En esta investigación, se elaboraron compuestos de óxido de zinc y dióxido de titanio combinados con quitosano. Para sintetizar estos óxidos metálicos, se usó el método sol-gel, que fue estabilizado con un extracto de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*). El objetivo era estudiar el impacto de este proceso en las capacidades antibacterianas de los óxidos.

Se examinaron las características fisicoquímicas de los materiales utilizando diversas técnicas, como Espectroscopía Infrarroja, Espectroscopía Ultravioleta-Visible, Difracción de Rayos-X, entre otras. Además, se usó Microscopía Electrónica de Barrido para evaluar el impacto del extracto en el proceso de síntesis.

Mediante técnicas de espectroscopía, como FT-IR y UV-Visible, se confirmó la formación de óxidos y se detectaron las interacciones entre el quitosano y el óxido metálico. El ZnO mostró una estructura cristalina hexagonal sin señales evidentes de quitosano, mientras que el TiO₂ presentó una estructura tetragonal con indicios leves de quitosano en su composición.

Usando microscopía electrónica, se identificaron microfloreas en el Z500 compuestas por partículas nanométricas y en el TiO₂, aglomerados de nanopartículas semiesferoidales de alrededor de 8 y 20 nm. El estudio textural reveló que ambos materiales eran mesoporosos, con áreas específicas BET de 31.74 m²/g para Z500 y 84.46 m²g⁻¹ para T570. Estos valores disminuyeron con la adición de quitosano a 6.01 m²g⁻¹ y 46.97 m²g⁻¹, respectivamente.

En cuanto a las pruebas antibacterianas, se emplearon técnicas de difusión en disco y en pozo, además de determinar la concentración inhibitoria mínima contra bacterias como *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*.

ABSTRACT

In this research, composite materials of ZnO and TiO₂ with chitosan, were prepared. The sol-gel process mediated by aqueous extract of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) was used as the synthesis method for obtaining the metal oxides in order to evaluate the effect of the extract on the antibacterial properties of the materials.

Physicochemical properties of the composites were analyzed using spectroscopy (Fourier Transform Infrared Spectroscopy and Ultraviolet-Visible Diffuse Reflectance Spectroscopy), X-ray Diffraction, Nitrogen Physisorption, Dynamic and Electrophoretic Light Scattering, Thermogravimetric Analysis, and Field Emission Scanning Electron Microscopy. The aim was to determine the effect of the extract on the properties of the final powders.

Spectroscopic techniques showed the formation of the oxides, since FTIR and UV-Vis spectra were in agreement with literature for both ZnO and TiO₂ as well as the interactions between the oxide and chitosan. Crystalline structure obtained for ZnO was hexagonal (wurtzite-type) whereas for TiO₂ tetragonal (anatase) phase was obtained, small signals associated to chitosan were observed for the TiO₂ composite.

Electron microscopy revealed the formation of microflowers formed by small nanoparticles in the case of Z500 and agglomerated semi-spheroidal nanoparticles for the TiO₂, with sizes of ca. 8 and 20 nm, respectively. Textural analysis demonstrated the obtaining of mesoporous materials with specific BET (Brunnauer-Emmet-Teller) areas of 31.74 and 84.46 m²g⁻¹, for Z500 and T570, respectively. This parameter was affected after the incorporation of chitosan, decreasing to 6.01 (ZQ) and 46.97 m²g⁻¹ (TQ).

The evaluation of bacterial growth inhibition was carried out using the disk diffusion test, well diffusion, as well as determining the minimum inhibitory concentration (MIC) against the strains of *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Escherichia coli*.

Lista de Abreviaturas

- UV-Vis – Ultravioleta-Visible.
- Eg – energía de banda prohibida.
- FT-IR – por sus siglas en inglés, Espectroscopía Infrarroja por la Transformada de Fourier.
- ATR – por sus siglas en inglés, Reflectancia Total atenuada.
- DRX – Difracción de Rayos-X.
- FWHM – por sus siglas en inglés, Anchura a media altura.
- IUPAC – por sus siglas en inglés, Unión Internacional de Química Pura y Aplicada.
- DLS – por sus siglas en inglés, Dispersión de Luz Dinámica.
- ELS – por sus siglas en inglés, Dispersión de Luz Electroforética.
- TGA – por sus siglas en inglés, Análisis Termogravimétrico.
- FE-SEM – por sus siglas en inglés, Microscopía Electrónica de Barrido de Electrones por Emisión de Campo.
- CTT – cloruro de tetrazolio.
- ATCC – American Type Culture Collection.
- OECD – por sus siglas en inglés, Organización para la Cooperación y el Desarrollo Económico.
- CLSI – por sus siglas en inglés, Instituto de Estándares para el Laboratorio Clínico.
- MIC – por sus siglas en inglés, Concentración Mínima Inhibitoria.
- OM – óxido metálico.
- UFC/mL – Unidades formadoras de colonias por mililitro.

CAPÍTULO I: INTRODUCCIÓN

Comúnmente, cuando se habla de bacterias se asocia a enfermedades y/o a infecciones que repercuten la salud de los seres vivos ya que se encuentra registrado que, a lo largo de la historia, han causado múltiples epidemias, tal es el caso de la peste bubónica, también conocida como la peste negra, la cual provocó la muerte de aproximadamente 200 millones de individuos [Acini y Hernández, 2023].

Se pueden encontrar bacterias en diversos lugares, tales como el suelo, el aire, el agua y especialmente en la materia orgánica en descomposición. Estas se tratan de microorganismos de una sola célula que se multiplican mediante un proceso denominado fisión binaria; existen bacterias benignas y patógenas, siendo las últimas las causantes de enfermedades debido a que cuentan con requerimientos metabólicos complicados orillándolas a depender de organismos vivos ajenos para sobrevivir desarrollando el estilo de vida parasitario por la pérdida de la habilidad para producir compuestos vitales para ella misma [Alvia et al., 2019].

A finales del siglo XIX se demostró que afecciones provocadas por bacterias patógenas se pueden transferir de persona a persona provocando enfermedades infecciosas, reacciones autoinmunitarias y alteraciones funcionales, pero, no obstante, dichas bacterias patógenas representan solamente el 1% de las especies microbianas del planeta, pero es precisamente esta pequeña parte la que causa importantes daños a la salud [Lizasoain, 2022].

La contaminación de aguas por bacterias patógenas genera grandes problemas en el medio ambiente y de salud a nivel mundial. El agua puede contener una gran variedad de bacterias, algunas de las cuales son inofensivas y otras perjudiciales para la salud. La presencia y/o concentración de bacterias depende del tipo de agua, la fuente de obtención y el tratamiento previo. Las especies de bacterias que se encuentran en el agua contaminada son las coliformes (*Escherichia coli*), normalmente encontradas en la flora intestinal de los seres humanos que provoca infecciones mayormente en el sistema digestivo, las ambientales (*Pseudomonas aeruginosa*) que se encuentra en diversos entornos la cual puede causar infecciones en sistemas inmunológicos debilitados y las bacterias oportunistas (*Staphylococcus aureus*) que solo proliferan en el agua si ésta se encuentra ya con contaminación bacteriana [Marroquín, 2005]. El agua

contaminada por bacterias puede provenir del sistema de drenaje urbano, fosas sépticas, granjas de animales y/o pozos mal cerrados. Hoy en día, se cuenta con varios procesos de desinfección del agua potable, ya sea por adición de cloro, de cloraminas, rayos UV y por ozono, pero hasta el momento no se cuenta con un equipo para potabilización del agua que elimine al 100% la presencia de bacterias dañinas para el ser humano [Admin., 2021; Del Agua, 2022]; por este motivo, se han creado normas, tanto internacionales como nacionales, en las que se establecen las concentraciones permitidas en el agua sin que afecte a la salud de los seres vivos, un ejemplo de esta norma es la **NMX-AA-102-SCFI-2006 ≈ ISO 9308/1** [Diario Oficial de la Federación, 2006].

El desarrollo de nuevos materiales con propiedades antibacterianas se da dado en respuesta a numerosas enfermedades provocadas por bacterias en diferentes objetos, ropa y cuerpos de agua. Se estima que las infecciones bacterianas se traducen en gastos anuales de alrededor de \$1.5 millones en México y por ende se ha vuelto indispensable el desarrollo de materiales que cuenten con propiedades antimicrobianas (limitación o inhibición del crecimiento). Para que un material se considere antibacteriano, sin importar que sea orgánico o inorgánico, debe contar con propiedades que reduzca o elimine a las bacterias; por tal motivo, la nanotecnología proporciona una alternativa con altas expectativas. Como se encuentra reportado, el comportamiento de las nanopartículas se encuentra estrictamente ligado a su método de síntesis ya que estas afectan sus propiedades finales con aspectos como su tamaño, forma y estabilidad [Patricia et al., s. f.]. Dichas pruebas de los materiales para evaluar su actividad antimicrobiana se rigen por diferentes normas, una que es de gran utilidad es la **ASTM E2149-01** [ASTM, 2021] la cual prueba cuán efectivo es un material en la reducción o eliminación de microorganismos cuando ese material se sumerge en una solución que contiene microorganismos.

En estudios recientes se ha demostrado la actividad antibacteriana del ZnO, pero aún no se ha establecido definitivamente los mecanismos de reacción en el que las nanopartículas ejercen toxicidad sobre las cepas bacterianas. Varios trabajos intuyen que es mediante la adhesión a las membranas de las bacterias entrando en un rol importante la interacción de las cargas superficiales de los materiales y las células

bacterianas entrando en función los diferentes componentes de la membrana. Por otro lado, también se propone que se lleva a cabo la liberación de iones y la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) [Zavaleta et al., 2019].

El TiO_2 ha despertado un interés por las propiedades antibacterianas que ha presentado tanto con fotoactivación como sin activación contra bacterias coliformes (*Escherichia coli*) [Patricia et al., s. f.].

CAPÍTULO II: MARCO TEÓRICO

2.1 Síntesis de Nanomateriales.

La síntesis de materiales implica una serie de operaciones y procedimientos destinados a obtener materiales innovadores con alta cristalinidad y pureza. Se utilizan diversos métodos para la generación de estos materiales, entre los cuales se destacan:

- Sol-Gel: Se emplea para preparar zeolitas, sintetizadas en una solución acuosa y sometidas a presión controlada y tratamiento térmico.
- Sólido: Involucra la mezcla de precursores sólidos, ofreciendo un mejor control de los parámetros que afectan la síntesis.
- Hidrotérmico: Realizado en recipientes cerrados con temperaturas y presiones superiores a las condiciones ambientales controladas. Se aplica a varios materiales para garantizar la uniformidad de la estructura del nanomaterial.
- Solvo-térmico: Las concentraciones son cruciales, ya que afectan el tamaño, morfología y estructura del material.
- Oxidación directa: Reacciones generalmente exotérmicas que ocurren en reactores tipo batch de pequeño volumen y alta velocidad.
- Deposición química de vapor (CVD): Método para obtener materiales a base de carbono con alta cristalinidad y pureza.
- Electrodeposición: Empleada para controlar el crecimiento de materiales con conducción eléctrica, proporcionando alta área superficial, pureza, cristalinidad y alta capacidad específica.
- Verde: Basado en los principios de las funciones naturales de las plantas para extraer metales pesados de suelos contaminados, depositándolos como nanopartículas con diámetros de 2 a 20 nm [Bhushan et al., 2014].

Estas técnicas de síntesis son fundamentales en el desarrollo de nuevos materiales con propiedades específicas, permitiendo avances en diversas áreas científicas y tecnológicas.

La síntesis verde representa una alternativa de bioproducción de materiales nanoparticulados en combinación con metales (como oro, plata, hierro y óxidos

metálicos), con el objetivo de ser respetuosa con el medio ambiente. Uno de los primeros informes sobre el uso de esta técnica para la producción de nanopartículas de plata implicó el tratamiento de plantas de alfalfa con nitrato de plata como fuente de iones de plata [Hublikar et al., 2021]. Esta metodología se basa en la reducción de metales mediante especies naturales que poseen propiedades antioxidantes. A lo largo del tiempo, se han desarrollado diversas estrategias que involucran plantas para la síntesis de nanopartículas. Entre ellas, uno de los métodos más rápidos y sencillos consiste en utilizar extracto acuoso de plantas que contienen ingredientes activos beneficiosos para este proceso. Mediante esta aproximación, se logra obtener materiales nanoparticulados de manera más amigable con el medio ambiente, en contraposición a técnicas convencionales que pueden tener un mayor impacto ambiental [Borja y Rojas, 2020; Gómez-Garzón, 2018]. La química verde persigue la minimización o eliminación total de los compuestos químicos derivados de los desechos de síntesis, evitando así el desperdicio o el uso indiscriminado de materias primas no renovables. Su objetivo es obtener materiales que no pongan en peligro la salud ni el medio ambiente. En este contexto, los extractos de plantas actúan en la solución de síntesis como agentes reductores, estabilizantes o protectores, dependiendo de la necesidad específica. De esta manera, se promueve una síntesis más sostenible y responsable, contribuyendo a un mundo más respetuoso con el entorno natural y la salud humana [De Jesús Rodríguez Ortiz et al., 2021].

2.2 Óxidos metálicos sintetizados con extracto de lirio acuático.

La síntesis de óxido de zinc a partir del extracto de hoja de *Eichhornia crassipes* se presenta como una tecnología de bajo costo en comparación con otras técnicas disponibles, además de constituir un método ecológico. En este proceso, el extracto desempeña el papel de estabilizante y/o reductor durante la síntesis de las nanopartículas. Este enfoque biológico para la síntesis de óxido de zinc, utilizando extractos de plantas, se ha propuesto como una alternativa ecológica a los métodos tradicionales basados en químicos y procesos físicos. Al aprovechar recursos naturales y sostenibles, este método puede ofrecer beneficios tanto en eficiencia como en la

reducción del impacto ambiental, consolidándose como una opción prometedora para la producción responsable de nanopartículas de óxido de zinc [Vanathi et al., 2014].

Los óxidos metálicos simples son ampliamente empleados debido a sus notables ventajas. En primer lugar, se basan en elementos abundantes en la naturaleza, convirtiéndolos en una elección sostenible y accesible. Además, estos elementos son esenciales para los seres humanos, aportando un aspecto de seguridad y compatibilidad con aplicaciones biológicas. También exhiben una destacada actividad antimicrobiana, lo que los convierte en una opción efectiva incluso en pequeñas cantidades y en ausencia de luz. Estas cualidades hacen que los óxidos metálicos simples sean materiales altamente valorados en una amplia gama de campos y aplicaciones, desde la industria hasta la medicina y la tecnología [Dyshlyuk et al., 2020].

2.2.1 ZnO sintetizado en presencia de extractos vegetales.

Los extractos de plantas se han convertido en la fuente preferida para la síntesis de nanopartículas debido a sus ventajas en la producción a gran escala y la obtención de materiales con mayor estabilidad. Estos extractos actúan como estabilizantes según las necesidades del proceso, gracias a la presencia de fitoquímicos como polisacáridos y compuestos polifenólicos, entre otros. Esta colaboración de fitoquímicos permite la producción de nanopartículas de ZnO libres de trazas de trazas de precursores o de mezcla de fases cristalinas. La inclusión de extractos acuosos vegetales en el proceso de síntesis influye en varias características de las nanopartículas, especialmente en el aumento de la superficie disponible en comparación con las sintetizadas sin la presencia de extracto mediante métodos químicos. Esto resulta en un mejor rendimiento en diversas aplicaciones, como la fotocatalisis, donde las nanopartículas producidas a partir de extractos vegetales muestran un desempeño superior cuando se degradan contaminantes y colorantes orgánicos. Así, la utilización de estos extractos abre camino a nuevas y eficientes posibilidades en la producción de nanopartículas con aplicaciones prometedoras en distintos campos [De Jesús Rodríguez Ortiz et al., 2021]. En el estudio de Ali y colaboradores [Ali et al., 2016] se sintetizaron nanopartículas de ZnO en presencia de extracto de hoja de *Aloe barbadensis* Miller. Se sugirió que los

compuestos fenólicos desempeñan un papel crucial en la nucleación y estabilidad de las nanopartículas de ZnO, lo que podría resultar en una aplicación antibacteriana efectiva contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*, destacando el potencial de estas nanopartículas como posibles nanoantibióticos o portadores de fármacos. Por otro lado, el uso de extracto de hojas de *P. niruri* y utilizando el nitrato de zinc como precursor dirigió a la obtención de nanopartículas cuasiesféricas y con tamaños en el rango de 25 a 61 nm, las cuales se probaron en la fotodegradación de azul de metileno [19], mientras que el extracto de hoja de albahaca (*Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens* Benth-Lamiaceae) junto con nitrato de zinc también se han explorado para la síntesis de ZnO [Salam et al., 2014].

Estos estudios resaltan la relevancia de los extractos vegetales en la síntesis de nanopartículas de ZnO y su aplicación potencial en diversas áreas, desde aplicaciones antibacterianas hasta fotocatalisis, proporcionando nuevas perspectivas y soluciones en la obtención y caracterización de estos materiales avanzados.

2.2.2 TiO₂ sintetizado en presencia de extractos vegetales.

La síntesis de TiO₂ utilizando extractos vegetales se enmarca en el enfoque de la química verde. Esta tendencia ha ganado impulso en los últimos años, destacando la importancia de desarrollar métodos sostenibles para la producción de materiales avanzados como el TiO₂ [Vera-García et al., 2023]. En los últimos años, se ha investigado el papel fundamental de los fitoquímicos presentes en los extractos vegetales, como los polifenoles y flavonoides, en la síntesis de nanopartículas. Estos compuestos actúan como agentes clave en el proceso, permitiendo evitar el uso de solventes orgánicos y agentes tensoactivos que a menudo se emplean en la síntesis de óxidos metálicos. Gracias a esta aproximación más sostenible, se ha logrado avanzar hacia métodos de síntesis más amigables con el medio ambiente para obtener nanopartículas de alto valor en diversas aplicaciones [Díaz-Dávila et al., 2020].

En el estudio realizado por Singh y colaboradores [Singh et al., 2021] se evaluó la actividad antibacteriana del TiO₂ obtenido mediante síntesis en un medio de extracto acuoso de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*). Los resultados mostraron una inhibición del crecimiento bacteriano significativamente mayor en comparación con el TiO₂

comercialmente disponible. Estos hallazgos destacan el valor y la viabilidad de utilizar esta metodología de síntesis sostenible para obtener TiO_2 con propiedades antibacterianas mejoradas, lo que abre la puerta a aplicaciones prácticas y beneficiosas en el campo de la salud y la industria.

2.3 Actividad antibacteriana del ZnO y TiO_2 .

ZnO

En la literatura, se ha reportado que el tamaño de partícula de los óxidos de zinc está inversamente relacionado con su actividad antibacteriana [Riverón, 2022]. Esta actividad antibacteriana se produce cuando las partículas entran en contacto con la pared celular bacteriana, lo que desencadena la rápida destrucción de la célula bacteriana. Este efecto se atribuye al intercambio temprano de iones de zinc (Zn) con la pared celular, lo que provoca la liberación de iones Zn^{2+} y, en consecuencia, la formación de especies y radicales libres de oxígeno. La actividad antibacteriana es más notable en células bacterianas Gram positivas (como *Staphylococcus aureus*) que en células Gram negativas (como *Pseudomonas aeruginosa*). Esto se debe a que en las células Gram negativas, solo se produce un aumento en el tamaño de la membrana celular sin causar la lisis celular completa. [Mendes et al., 2022]. La Figura 1 muestra una comparación de la composición de la membrana celular entre una bacteria Gram positiva y una bacteria Gram negativa.

Las nanopartículas de ZnO inducen estrés oxidativo, lo que tiene un gran impacto en la actividad antibacteriana. La interacción de la célula bacteriana con los iones Zn^{+2} liberados por el ZnO inhiben las enzimas respiratorias, causando un daño irreversible en la pared celular. Este daño se manifiesta a través de la despolarización, deformación de la arquitectura celular, aumento de la fluidez y pérdida de proteínas. Una diferencia significativa entre las células con potenciales de superficie positivos y negativos radica en la presencia de una doble membrana en las células Gram negativas, mientras que en las Gram positivas esto no ocurre. Esta diferencia conduce a una mayor producción de oxígeno reactivo en las células Gram negativas, lo que resulta en una despolarización de la membrana celular [Riverón, 2022; Mendes et al., 2022].

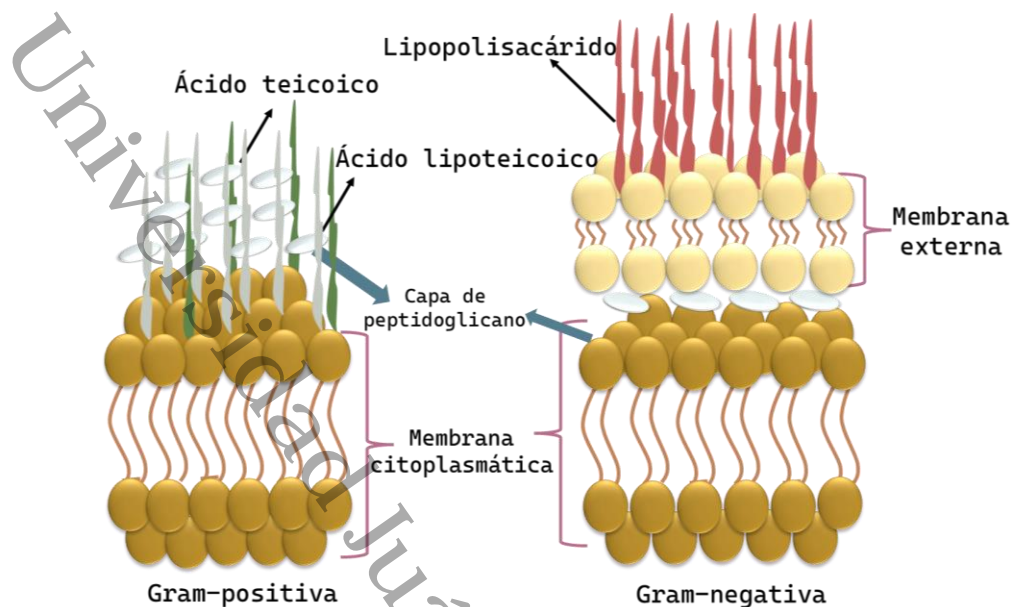


Figura 1. Comparación de las membranas de las células bacterianas de una Gram positiva y una Gram negativa [Riverón, 2022].

TiO₂

Este óxido metálico ha sido objeto de especial atención debido a su alta estabilidad cuando se encuentra en contacto con sistemas biológicos, destacando en comparación con los compuestos orgánicos. En los últimos años, se ha evaluado su capacidad antibacteriana contra microorganismos como *Escherichia coli* y células tumorales de cáncer [X. Chen & Mao, 2007]. Este material exhibe una notable actividad fotocatalítica, lo que se atribuye a su habilidad para generar especies reactivas de oxígeno (ROS), y son eficaces en la destrucción rápida de la membrana celular de las bacterias, provocando peroxidación de los fosfolípidos de la membrana e interrumpiendo la respiración celular, lo cual finalmente lleva a la muerte bacteriana.

Estas propiedades hacen del óxido metálico una opción atractiva en diversas aplicaciones, tanto en el campo médico como en la desinfección de superficies o en tratamientos de aguas contaminadas. La alta estabilidad y capacidad antibacteriana de este material lo convierten en una herramienta valiosa para enfrentar diversos desafíos relacionados con la salud y el medio ambiente [Henao y Sierra, 2016].

Justificación

El quitosano, un polisacárido compuesto por D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina, se deriva de la quitina, el segundo biopolímero más abundante en la naturaleza después de la celulosa. Este material se obtiene a través de un tratamiento básico de la quitina, resultando en un polisacárido biorenovable, biocompatible, biodegradable, no tóxico y no irritante, con una estructura cristalina estable. Estas propiedades lo hacen ideal para una amplia variedad de aplicaciones, como por ejemplo para la inhibición del crecimiento de microorganismos [Romero–Serrano & Pereira, 2020]. Por otro lado, el ZnO es un compuesto inorgánico cuyas características lo posicionan como un material valioso en múltiples sectores [Catarina, 2021], y del cual se ha demostrado su potencial como agente antimicrobiano y antifúngico. Mientras que el TiO₂ que también posee propiedades específicas para aplicaciones como la fotocatalisis [Tabares et al., 2014] y que presenta cierta bioactividad bajo condiciones específicas de radiación y/o composición superficial, lo que ha hecho que en últimos años se investigue su uso como posible agente inhibidor de microorganismos. Recientemente, el uso de extractos de plantas como coadyuvantes para la obtención de nanopartículas también ha mostrado proporcionar a través de sus fitocompuestos, propiedades antimicrobianas a las nanopartículas, ya sea mediante la funcionalización o al actuar como estructurante y dirigir hacia morfologías y tamaños específicos. En este sentido, los extractos de lirio acuático han atraído interés, ya que pueden facilitar la obtención de nanopartículas y al mismo tiempo modificar sus propiedades físicas y químicas, confiriéndoles actividad biológica.

A pesar de que los tres materiales mencionados por separado o en combinación (Quitosano, ZnO y TiO₂) se han estudiado como posibles alternativas antimicrobianas, hasta el momento no existen resultados concluyentes sobre el efecto del quitosano en el ZnO y TiO₂ en la actividad antimicrobiana de dichos óxidos. Adicionalmente, derivado del potencial del extracto de lirio acuático como coadyuvante en la obtención de nanopartículas bioactivas, surge la interrogante de identificar si puede también incrementar las propiedades microbiológicas de los tres materiales al formar compositos híbridos quitosano-óxido, empleando el extracto como medio para la obtención de las nanopartículas.

PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN

¿El extracto acuoso del lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) potencializará la actividad antimicrobiana de nanopartículas de ZnO y TiO₂ incorporadas con quitosano, para su uso como composites orgánico-inorgánico?

HIPÓTESIS

La actividad biológica del quitosano, nanopartículas de ZnO y nanopartículas de TiO₂ al formar materiales compuestos biopolímero-óxido metálico, se incrementará con respecto a los componentes individuales, inhibiendo la propagación bacteriana de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*.

OBJETIVOS

General

Evaluar el efecto antibacteriano de nanocompositos de quitosano y nanopartículas de ZnO y TiO₂, obtenidas a partir del extracto acuoso de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*), contra las bacterias *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

Específicos

1. Evaluar el efecto estabilizante del extracto en las propiedades texturales, estructurales y electrocinéticas de las nanopartículas de ZnO y TiO₂.
2. Determinar el efecto de la incorporación del quitosano en las propiedades electrocinéticas y texturales de nanopartículas de ZnO y TiO₂.
3. Evaluar la actividad antibacteriana de los nanocompositos en la inhibición de *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

CAPÍTULO III: DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1 Obtención del extracto acuoso de lirio acuático.

La recolección de las hojas de lirio acuático, de la especie *Eichhornia crassipes*, se llevó a cabo en la laguna del negro (Villahermosa, Tabasco, México) ubicada en Latitud 18°0'30" norte y Longitud 92°55'3" oeste. Las hojas se lavaron abundantemente con agua potable y posteriormente se realizó un lavado con agua desionizada. Las hojas se secaron en un deshidratador (Cuisinart, modelo DHR-20P1) durante 2 h y finalmente se trituraron para disminuir su tamaño y facilitar su almacenamiento, el cual fue en la oscuridad en una bolsa de sello hermético para resguardo de la humedad [Gutiérrez-Morales et al., 2017]. El extracto se obtuvo por medio de la maceración de las hojas; en la Figura 2 se observa un esquema del procedimiento, el cual consistió en colocar en un vaso de precipitado 100 mL de agua desionizada (conductividad: $0.055 \mu\text{scm}^{-1}$) y 5 g de hojas secas de lirio; la mezcla se mantuvo a 100 °C (hasta ebullición) y agitación constante, a 700 rpm, durante 10 min. Transcurrido este tiempo, la mezcla se enfrió a temperatura ambiente y, finalmente, se filtró con papel filtro (CDMLAB GROUP, poro de $2 \mu\text{m}$) para obtener un extracto acuoso de color café sin restos vegetales. El extracto se almacenó a 4 °C para su posterior uso [Jagathesan & Rajiv, 2018].



Figura 2. Esquema del procedimiento para la obtención del extracto de lirio acuático.

3.2 Síntesis de nanopartículas de ZnO en presencia de extracto.

Se tomó como base la metodología propuesta por Raj et. al. 2021; modificando el precursor de zinc (Figura 3).

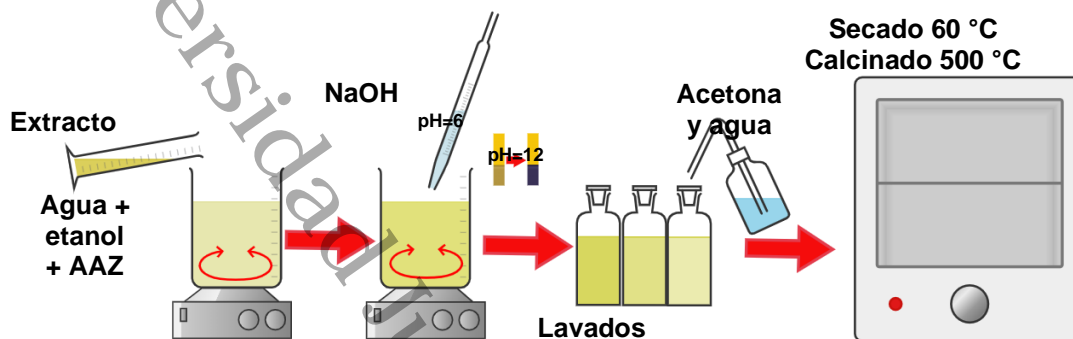


Figura 3. Esquema de la metodología seguida para la síntesis del ZnO en presencia de extracto de lirio acuático.

Se preparó una solución de acetilacetonato de zinc (AAZ, Aldrich, 98%) 0.02 M en una dilución 70:30 de etanol:agua desionizada (conductividad: $0.055 \mu\text{scm}^{-1}$). A 100 mL de esta solución, se adicionaron 4 mL del extracto de lirio acuático, preparado en la sección 3.1, dejando la mezcla en agitación por 2 h a 700 rpm a temperatura ambiente. Una vez transcurrido este tiempo, se ajustó el pH con una solución 0.2 M de hidróxido de sodio (NaOH, CIVEQ, 97%) hasta alcanzar un valor de 12 y la solución se mantuvo en agitación por 1 h. La mezcla final se dejó reposar durante 16 h para posteriormente centrifugar a 4,000 rpm durante 10 min. El sólido separado se lavó, con 50 mL de acetona y 50 mL de agua desionizada, se secó a 70 °C en un horno de secado (Ecoshel, modelo 9023A) por 16 h, se pulverizó hasta obtener un polvo fino en un mortero de ágata con pistilo. Finalmente, se calcinó a 500 °C por 4 h, con una rampa de calentamiento de 2 °C/min, en una mufla (Terlab, modelo Brainchild) y se almacenó para su posterior caracterización.

3.3 Síntesis de nanopartículas de TiO₂ en presencia de extracto.

Se siguió la metodología establecida por Pathinti et. al., 2021; mostrándose, en la Figura 4, un esquema de la metodología seguida. Se prepararon 100 mL de una solución 0.1 M de isopropóxido de titanio (IPT, Aldrich-chemistry, 97%) en agua

desionizada (conductividad: $0.055 \mu\text{scm}^{-1}$) dejándolo en agitación por 2 h a 700 rpm. Transcurrido ese tiempo, a la solución se le agregó 40% v/v de extracto de lirio acuático manteniendo en agitación por 8 h. Posteriormente, se centrifugó a 4,000 rpm durante 10 min para después lavarlo con 50 mL de agua desionizada. El sólido obtenido se secó a 100°C en un horno de secado (Ecoshel, modelo 9023A), durante 16 h, y se pulverizó hasta obtener un polvo fino en un mortero de ágata con pistilo. Finalmente, se calcinó a 570°C , con una rampa de calentamiento de $2^\circ\text{C}/\text{min}$, en una mufla (Terlab, modelo Brainchild) por 4 h y se almacenó para su caracterización correspondiente.

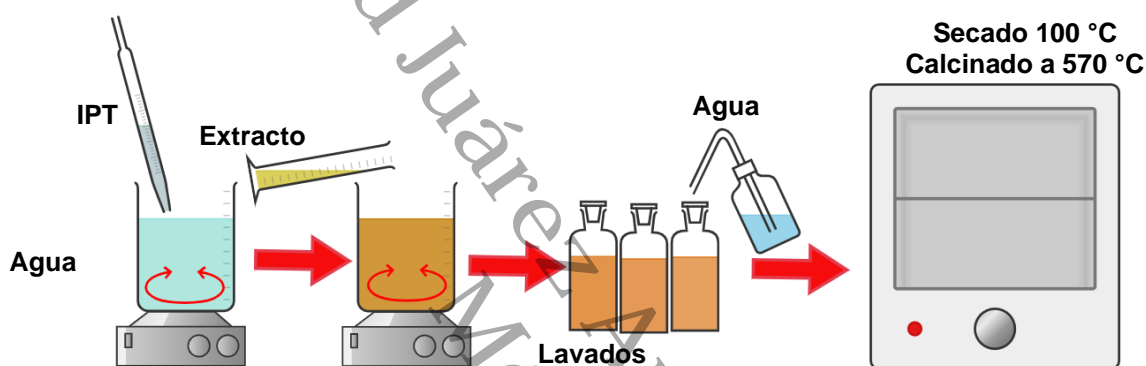


Figura 4. Esquema de la metodología seguida para la síntesis del TiO_2 en presencia del extracto de lirio acuático.

3.4 Preparación del material compuesto Quitosano + Óxido Metálico.

La metodología que se siguió fue la establecida por Dananjaya et. al., 2018; cuya secuencia se muestra en la Figura 5. Se preparó una solución 1% v/v de ácido acético (SA, J. T. Baker, 100%) en la que se dispersó 1 g del óxido metálico (OM), ya sea de ZnO o TiO_2 , y 750 mg de quitosano de bajo peso molecular (Q, Sigma-Aldrich, $\geq 75\%$) dejando en agitación por 30 min a 700 rpm.

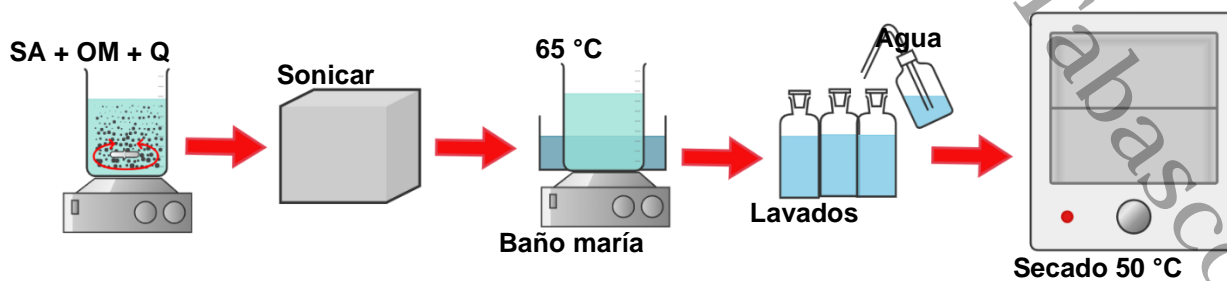


Figura 5. Esquema de la preparación del material compuesto Q+OM.

La suspensión se sonicó durante 20 min en un baño ultrasónico (Ultrasonic center, modelo KS-8893, potencia: 300 W, frecuencia: 40 kHz) y posteriormente se calentó a baño maría por 3 h a 65 °C. La suspensión se centrifugó a 4,000 rpm durante 20 min; el sólido recuperado se lavó con 10 mL de agua desionizada (conductividad: 0.055 μscm^{-1}), este paso se realizó 3 veces para, finalmente, secarlo a 50 °C en un horno de secado (Ecoshel, modelo 9023A) durante 6 h.

En la Tabla 1 se mencionan las nomenclaturas asignadas a cada material, así como la descripción de estos indicando las condiciones durante y después de la síntesis.

3.5 Técnicas de caracterización empleadas

A continuación, se describen las condiciones empleadas para las mediciones de los materiales, en las técnicas de caracterización utilizadas.

3.5.1 Microscopía de Barrido de Electrones por Emisión de Campo (FE-SEM).

Obteniendo micrografías de los materiales Z500 y T570 en un microscopio electrónico de barrido por emisión de campo (FE-SEM) marca JEOL, modelo JSM-7601F. Para la realización de esta técnica se fijó, en una cinta de carbón, el material empleando 10 kV de voltaje de aceleración utilizando electrones secundarios.

3.5.2 Espectroscopía infrarroja por la transformada de Fourier (FT-IR).

La determinación de las bandas vibracionales, correspondientes a los grupos funcionales de los materiales, se realizó mediante la espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier, en un equipo marca Nicolet IS50 Thermo Scientific utilizando el módulo de Reflectancia Total Atenuada (ATR, por sus siglas en inglés) en un rango de 4000 a 500 cm^{-1} controlado por el software OMNIC realizando 32 scans.

Tabla 1. Nomenclatura asignada y descripción de los materiales obtenidos.

NOMENCLATURA	DESCRIPCIÓN
Z70	Nanopartículas de ZnO sintetizadas en presencia del extracto de lirio acuático secadas a 70 °C.
Z500	Nanopartículas Z70 calcinadas a 500 °C durante 4 h con una rampa de calentamiento de 2 °C/min.
ZQ	Nanopartículas Z500 en el material compuesto con quitosano secadas a 50 °C.
T100	Nanopartículas de TiO ₂ sintetizadas en presencia del extracto de lirio acuático secadas a 100 °C.
T570	Nanopartículas T100 calcinadas a 570 °C durante 4 h con una rampa de calentamiento de 2 °C/min.
TQ	Nanopartículas T570 en el material compuesto con quitosano secadas a 50 °C.

3.5.3 Difracción de Rayos-X (DRX).

El análisis de las fases cristalinas de los materiales se realizó mediante esta técnica, utilizando un difractómetro para polvos marca Bruker modelo D-8 ADVANCE, con una radiación $Cu\alpha = 1.5406 \text{ \AA}$, un rango de escaneo de $10^\circ - 70^\circ 2\theta$, un tamaño de paso de 0.020° y tiempo de 0.4 s empleando un detector de ojo de lince con una apertura de 1° . El tamaño de cristalito fue calculado por la ecuación de Scherrer, Ecuación 1 [Cullity, 1956]

$$t = \frac{K*\lambda}{B*cos\theta_B} \quad (1)$$

Donde:

t = tamaño de cristalito (nm)

K = constante independiente de la forma del cristalito (0.89)

λ = longitud de onda de Rayos-X con la que trabaja el equipo

B = FWHM; y

θ_B = el ángulo de Bragg.

Por otro lado, en el material T570 se observó una combinación de fases cristalinas, por tal motivo se realizó el cálculo del porcentaje de fase cristalina, empleando la fórmula que se encuentra en la Ecuación 2 [Murphy, 2007], tomando en cuenta los planos (1 0 1) para la fase anatasa y el plano (2 1 1) para rutilo.

$$\% \text{Fase cristalina} = \frac{I_{a(101)}}{I_{a(101)} + I_{r(211)}} * 100 \quad (2)$$

Donde:

$I_{a(101)}$ = intensidad del plano de mayor intensidad de anatasa, (1 0 1); y

$I_{r(211)}$ = intensidad del plano de mayor intensidad de rutilo, (2 1 1).

3.5.4 Espectroscopía Ultravioleta-visible.

Para la identificación de las bandas de absorción de las transiciones electrónicas del extracto y los OM, así como la determinación de la energía de banda prohibida (E_g) de estos últimos, se utilizó un espectrómetro UV-Vis 2600 marca Shimadzu. Los espectros se colectaron en un rango de medición de 200 a 800 nm, los datos se procesaron mediante el software UVProbe versión 2.43.

Para el extracto de lirio acuático, se colocaron 3 mL del extracto de lirio, diluido en una proporción 1:10 en agua desionizada, en una celda de cuarzo de 10 mm de paso. Los OM en polvo se compactaron en el porta muestras midiéndolos, usando el accesorio para sólidos con la esfera de integración empleando una referencia de integración utilizando una referencia de cloruro de bario.

Se realizó el cálculo del valor de energía de banda prohibida con la Ecuación de Kubelka-Munk mostrada en la Ecuación 3 [López & Gómez, 2011].

$$F(R) = \frac{(1-R)^2}{2R} \quad (3)$$

Donde:

R = reflectancia y

$F(R)$ = proporcional al coeficiente de extinción (α).

Sin embargo, al multiplicar la función de Kubelka-Munk por la energía del fotón $h\nu$, se obtiene una versión modificada que resulta ser más adecuada. Esto se debe a que incorpora el coeficiente n relacionado con las transiciones electrónicas del material semiconductor; quedando de la manera en la que se observa en la Ecuación 4 [López & Gómez, 2011; Murphy, 2007].

$$(F(R) * h\nu)^{1/n} \quad (4)$$

Dando los siguientes valores para “ n ” dependiendo de la transición electrónica que se presenta:

$n = 2$ para transiciones indirectas permitidas;

$n = 3$ para transiciones indirectas prohibidas;

$n = 1/2$ para transiciones directas permitidas y

$n = 3/2$ para transiciones directas prohibidas.

3.5.5 Fisisorción de gases a baja presión.

Las isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno se obtuvieron a 77K empleando un equipo Quantachrome Autosorb 3B iQ. Las muestras se desgasificaron a 300 °C durante 19 h en una celda de 6 mm para los materiales metálicos calcinados y a 80 °C por 14 h en una celda de 6 mm para los materiales compuestos con quitosano. Los resultados se procesaron mediante el software ASiQwin versión 5.0.

3.5.6 Dispersión de luz dinámica (DLS) y dispersión electroforética de luz (ELS).

El tamaño hidrodinámico y el potencial zeta de los materiales fue determinado empleando un analizador de tamaño de partícula Zeta sizer marca Malvern Instruments modelo ZS; realizando suspensiones de 0.5 mg/mL de cada material empleando como medio dispersante agua desionizada. La celda empleada para la determinación del potencial zeta fue una celda capilar DTS de 0.75 mL con electrodos en ambos lados de

la celda. Por otro lado, para la medición del tamaño hidrodinámico de las partículas se empleó una celda de poliestireno de 12 mm. Cada medición se realizó por triplicado.

3.5.7 Análisis termogravimétrico (TGA).

El comportamiento de la masa respecto al aumento de temperatura se analizó mediante esta técnica usando un equipo Analizador térmico simultáneo Setaram, Labsys Evo 1100. El TGA se realizó empleando una rampa de calentamiento de 10 °C/min en un rango de temperatura que va desde la temperatura ambiente (30 °C) hasta los 1000 °C contando con un flujo de gas inerte, Argón, a 20 psi. Los datos fueron procesados por el software Calisto Processing.

3.6 Evaluación de la actividad biológica.

La actividad antimicrobiana de las nanopartículas de Z500 y T570, así como los materiales compuestos, ZQ y TQ, fueron evaluadas contra las bacterias modelo *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 3538), *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 8739) y *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*, ATCC 39327) mediante la técnica de difusión en disco y difusión en pozo. La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó por el método de microdilución en caldo utilizando microplacas de 96 pozos FELISA (marca Corning). La actividad se reveló con cloruro de tetrazolio (CTT) para la determinación de la actividad bactericida o bacteriostática.

3.6.1 Tinción de Gram.

La morfología de las bacterias fue verificada por tinción de Gram, para ello, se depositó un inóculo de cada microorganismo sobre un portaobjetos con una gota de colorante cristal violeta durante 1 min. La muestra de bacterias se enjuagó con agua destilada y posteriormente se le colocó una gota de una solución de yodo por 30 s como mordiente. Transcurrido ese tiempo, la muestra de bacterias se enjuagó con acetona para finalmente colocar una gota de colorante safranina durante 1 min. Las tinciones se lavaron con agua destilada y se observaron en el microscopio [40]. El procedimiento se ilustra en la Figura 6.

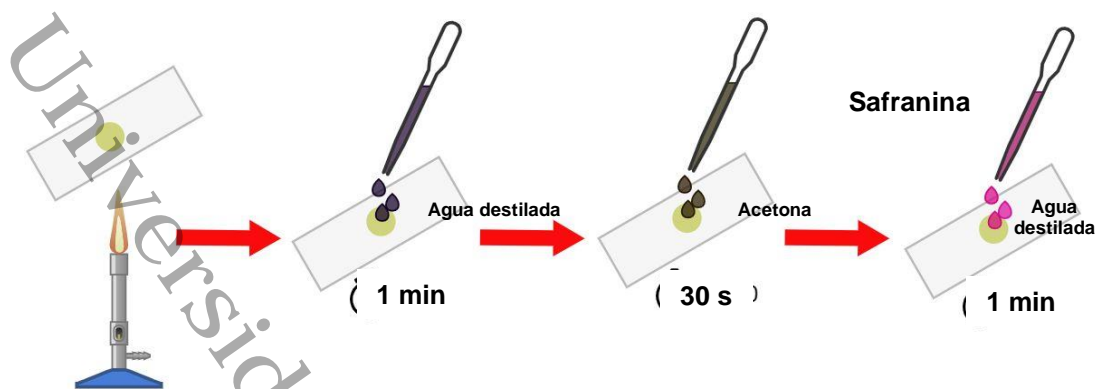


Figura 6. Esquema de realización de la Tinción de Gram.

3.6.2 Difusión en disco y en pozo.

Para la realización de ambas técnicas de evaluación bacteriológica, difusión en disco y en pozo, la concentración del inóculo de cada bacteria se ajustó mediante turbidez, con el patrón 0.5 de McFarland, midiendo su densidad óptica en un espectrómetro, buscando las absorbancias que se indican en la Tabla 2 en una longitud de onda de 550 nm.

Tabla 2. Valores de absorbancia buscados para cada bacteria en una longitud de onda de 550 nm (CLSI, 1999).

BACTERIA	ABSORBANCIA
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.092
<i>Staphylococcus aureus</i>	0.084
<i>Escherichia coli</i>	0.071

Posteriormente, se realizó una dilución de la suspensión de bacterias, ajustando el inóculo a 1×10^7 UFCmL⁻¹, en solución salina (0.85%) y finalmente diluidas en agar Muller-Hinton, contando con un volumen total de 110 mL del agar inoculado, para vaciar en cajas Petri cuadradas (90 x 15 mm).

En el procedimiento de difusión en disco, se aplicaron 20 µL de la suspensión de cada material sobre discos de papel filtro, de 6 mm de diámetro, permitiendo su absorción; después de este paso, los discos se colocaron sobre la superficie del agar que contenía las bacterias inoculadas. Paralelamente, se llevó a cabo la difusión en pozo, mediante la perforación de pequeños pozos en el agar, donde se añadieron 20 µL de las respectivas suspensiones. Una vez que las diluciones entraron en contacto con el

agar inoculado, en ambas técnicas de difusión, se refrigeraron a 4 °C durante 2 h para facilitar el proceso de difusión de los materiales. Finalmente, se incubaron a 37 °C durante 18 h y se midió el halo de inhibición, reportando el diámetro en milímetros [Hudzicki, 2009].

Los materiales, Z500 y T570, y los materiales compuestos con quitosano, ZQ y TQ, se trabajaron en diluciones seriadas, empezando en 50 mg·mL⁻¹ hasta 0.781 mg·mL⁻¹. Como control positivo se empleó amikacina [0.4 µg·mL⁻¹], y como negativo agua destilada.

3.6.3 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) y ensayo CTT.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó mediante la técnica de microdilución en caldo, siguiendo el protocolo de la CLSI con ligeras modificaciones. La concentración mínima inhibitoria se refiere a la concentración más baja de una sustancia evaluada que puede inhibir el crecimiento visible de un microorganismo después de 24 h de incubación.

En la realización de este ensayo, se ajustó un inóculo de bacterias a una concentración de 1x10⁶ UFC/mL, y se colocaron 100 µL en los 96 pozos de una microplaca de 96 pocillos (marca CORNING). Los materiales fueron suspendidos en agua destilada estéril iniciando a una concentración de 50 mg/mL y un tratamiento de sonicación durante 8 h. A partir de la concentración inicial, 50 mg/mL, se realizaron diluciones seriadas, desde el pozo A hasta el pozo H de la microplaca, colocando 50 µL de muestra y 50 µL de agua estéril en cada pozo, por duplicado. Como control positivo se utilizó amikacina (0.4 µg/mL), en diluciones seriadas, 100 µL, y como control negativo inóculo sin compuesto antimicrobiano [European Committee, 2017]. Las placas se incubaron a 28 °C durante 24 h. Finalmente, en la placa se utilizó el compuesto cloruro de tetrazolio (CTT, 1%); se añadió 50 µL de la solución a cada pocillo dejando en condiciones de oscuridad durante 5 min; esto con el fin de eliminar la variable que proporciona la exposición a la luz debido a que se puede presentar la degradación del formazán [Stockert et al., 2018].

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Efecto de la presencia de quitosano de bajo peso molecular en el compuesto con los óxidos metálicos.

4.1.1 Microscopía Electrónica de Barrido por Emisión de Campo (FE-SEM).

ZnO (Z500)

El ZnO obtenido fue observado mediante FE-SEM con el fin de determinar tanto el tamaño como la forma, ya que no se ha reportado el uso de acetilacetato de zinc junto con extracto acuoso de hojas de lirio acuático (Z500). En esta investigación, las partículas de ZnO obtenidas mostraron una disposición similar a una flor (Figura 7a) con tamaños que varían desde 300 hasta 500 nm. A mayor aumento, se puede observar que estas microflores están formadas por pequeñas partículas aglomeradas (Figura 7b) con tamaños entre 25 y 125 nm. Es claramente observable la aparente superficie lisa de las partículas más pequeñas, pero la forma en que estas partículas están dispuestas proporciona cierta "rugosidad" a los aglomerados más grandes en forma de flor. Es interesante cómo las partículas parecen tener una dirección de crecimiento preferencial que es responsable de formar estructuras semejantes a pétalos unidas a un centro común.

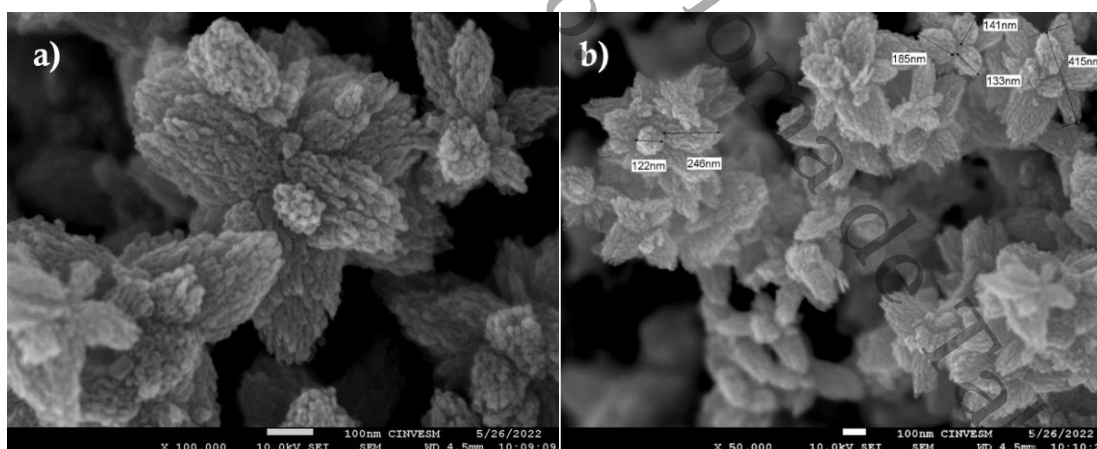


Figura 7. Micrografías del ZnO calcinado a 500 °C, Z500, con a) x100,000 de magnificación y b) x50,000 de magnificación.

El lirio acuático contiene compuestos orgánicos y minerales que pueden actuar como agentes de nucleación y crecimiento en la síntesis de ZnO, lo que puede resultar en

cambios en la forma y tamaño de las partículas de ZnO. Estos compuestos pueden interactuar con los iones de zinc y promover la formación de núcleos cristalinos, lo que afecta el proceso de crecimiento de las nanopartículas de ZnO y su posterior agregación en forma de microflore. Los compuestos orgánicos y minerales del extracto acuoso pueden interactuar con los iones de zinc y afectar la morfología de las partículas de ZnO. Estos compuestos pueden actuar como modificadores de forma, promoviendo el crecimiento preferencial de ciertas caras cristalinas y la formación de estructuras en forma de flor. Además, la presencia de minerales específicos en el extracto acuoso puede afectar la nucleación y el crecimiento de los cristales, lo que también influye en la morfología final observada en las micrografías FE-SEM [L. Zhu et al., 2018; Bandeira et al., 2020].

Dependiendo de la concentración y composición de los compuestos presentes en el extracto acuoso, la velocidad de crecimiento de diferentes caras cristalinas de ZnO puede ser modificada. A esto se le atribuye la formación preferencial de ciertas estructuras, como las microflore, debido a diferencias en las tasas de crecimiento de las diferentes caras cristalinas [Šarić et al., 2022; Rodríguez-Jiménez et al., 2021a].

TiO₂ (T570)

De la misma manera, el TiO₂ obtenido fue observado mediante FE-SEM con el fin de determinar el tamaño y la forma, ya que no se ha reportado el uso de extracto acuoso de hojas de lirio de acuático (T570). En esta investigación, las partículas de TiO₂ sintetizadas mostraron conglomerados (Figura 8a). A mayor aumento, se puede observar que éstos están formados por pequeñas partículas (Figura 8b) con tamaños entre 17 y 135 nm. Es claramente observable la aparente superficie lisa de las partículas más pequeñas, pero la forma en que estas partículas están dispuestas proporciona cierta "rugosidad" a los aglomerados más grandes.

Al contener compuestos bioactivos, tales como polifenoles y flavonoides, se presenta la interacción con las partículas de TiO₂ durante la síntesis; dichos compuestos pueden actuar como agentes de nucleación, modificando de esta manera la morfología de las nanopartículas. Las interacciones que se presentan entre el extracto de lirio acuático y el isopropóxido de titanio afectan la cinética de reacción, esto debido a los diferentes fitocompuestos con los que cuenta el extracto, tales como flavonoides y polifenoles,

que interactúan de diferentes manera con el precursor de titanio, que en este caso fue el isopropóxido, el cual conlleva a la formación de aglomerados con partículas semiesferoidales; formación de núcleos de TiO_2 y el crecimiento de las partículas, que se pueden observar en las micrografías de la Figura 8 [Pathinti et al., 2021; Rodríguez-Jiménez et al., 2021a].

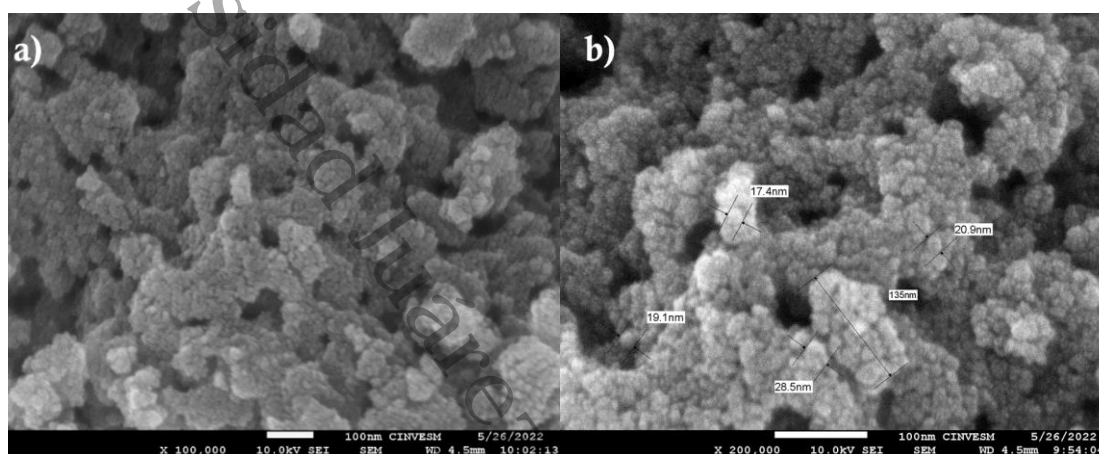


Figura 8. Micrografías del TiO_2 calcinado a $570\text{ }^\circ\text{C}$, T570, con a) x100,000 de magnificación y b) x200,000 de magnificación.

Para el caso de las nanopartículas de TiO_2 , se observa que el extracto no generó un efecto director distinto a lo reportado para materiales obtenidos sin extracto, ya que el uso de isopropóxido de titanio promueve la formación de partículas semiesféricas de tamaños pequeños, menores a 50 nm. Lo anterior, permite inferir que, el extracto tiene una mayor interacción con el precursor de zinc durante la síntesis, que con el isopropóxido de titanio.

La morfología obtenida para el ZnO, microfiores, es idónea al momento de evaluarse con las bacterias debido a que están formadas por nanopartículas dándole una alta relación superficie-volumen mejorando de esta manera su capacidad para dañar las membranas bacterianas y generar ROS, siendo letal para la bacteria.

4.1.2 Espectros FT-IR.

ZnO+Quitosano (Z500 y ZQ)

La finalidad del presente trabajo fue la evaluación del efecto de la incorporación de quitosano en los óxidos, Z500 y T570, en sus propiedades estructurales, texturales,

espectroscópicas y antimicrobianas. Para ello, se caracterizaron por espectroscopía FT-IR para identificar la presencia de los grupos funcionales del polímero, una vez que los óxidos fueron modificados.

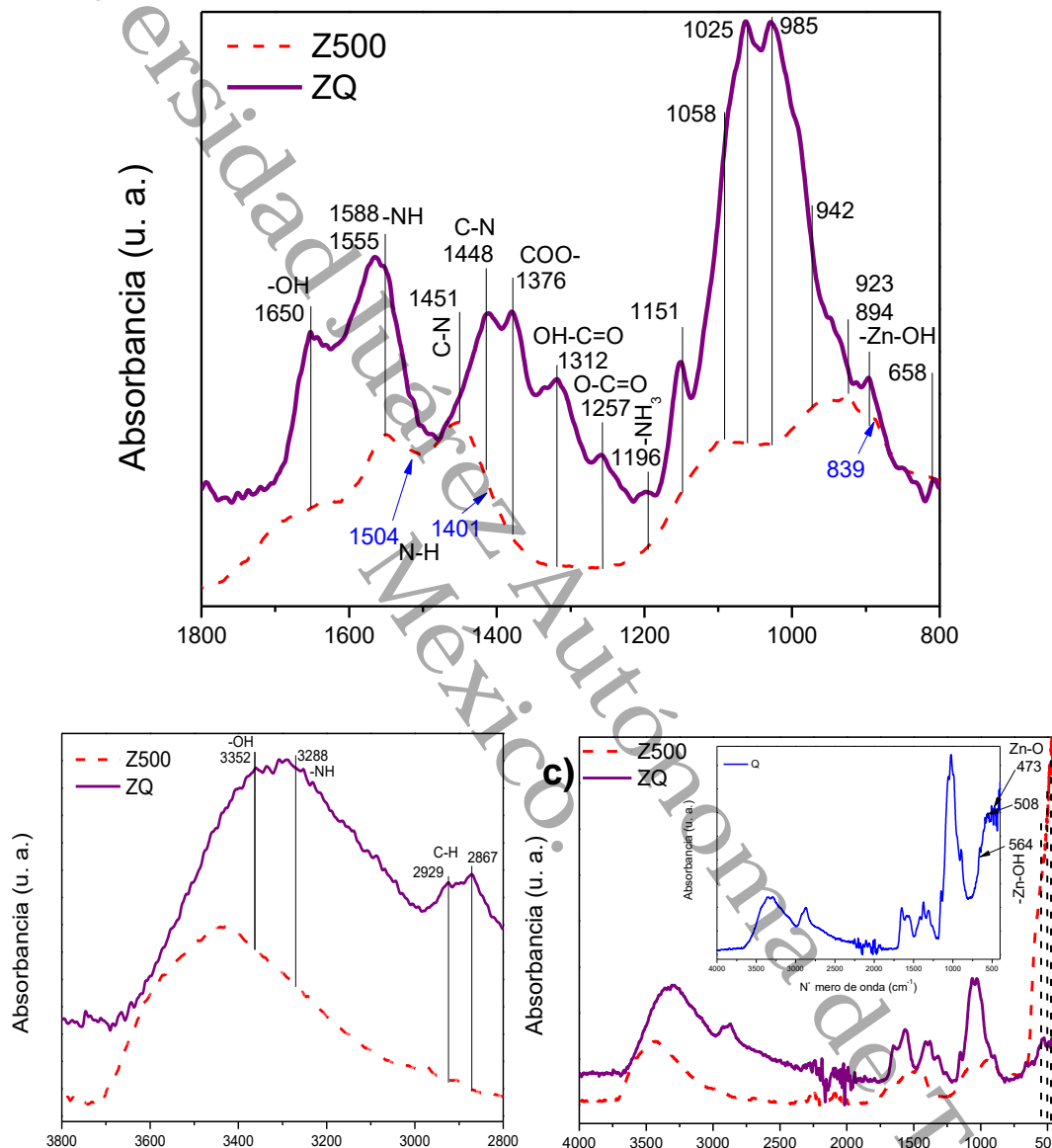


Figura 9. Espectros FT-IR del material ZnO calcinado (Z500) y del material compuesto de Z500 y quitosano (ZQ); a) Acercamiento de la región de 1800-800 cm^{-1} , b) Acercamiento de 3800 – 2800 cm^{-1} y c) Espectro completo desde los 4000 cm^{-1} con inserto del espectro completo del quitosano.

En la Figura 9a) se muestra el espectro infrarrojo para los materiales ZnO calcinado a 500 °C (Z500) y Z500 modificado con quitosano (ZQ) entre 1800 cm^{-1} y 1300 cm^{-1} ,

donde se puede apreciar en el espectro del Z500 una banda ancha correspondiente a la superposición de bandas que se atribuyen a la estabilización de grupos funcionales orgánicos provenientes del extracto en la superficie del ZnO a la temperatura de calcinación, en comparación con el espectro del material sin calcinar, la desaparición de otras señales es clara, asumiéndose la remoción por descomposición de algunos compuestos orgánicos del extracto y del precursor mismo. En esta misma región se observa que la incorporación del quitosano añade bandas al espectro del Z500, las cuales se atribuyen a las vibraciones de grupos amino presentes en el quitosano, y se localizan en 1555, 1196, 1151 y 985 cm^{-1} atribuidas al enlace simple -NH, estiramiento del enlace -NH₃ y, finalmente, la torsión fuera del plano, respectivamente.

La deformación axial del enlace C-N y de los metilos se puede asumir por la presencia de bandas a 1451 cm^{-1} y 1448 cm^{-1} [Asgari-Targhi et al., 2021; Saad et al., 2018]. Las vibraciones del enlace COO- se pueden asignar a la banda centrada en 1376 cm^{-1} [Saad et al., 2018]; así como la torsión de los enlaces OH-C=O y O-C=O que se encuentran en 1312 cm^{-1} y 1257 cm^{-1} [Asgari-Targhi et al., 2021], lo que permite asumir que se tiene la presencia del quitosano en la superficie del ZnO, ya que el método de síntesis implica la incorporación del quitosano posterior a la formación del ZnO.

En el espectro del material Z500 se observa una banda con un hombro ubicado en 1644 cm^{-1} correspondiente al estiramiento de los enlaces -OH del agua molecular; dicha banda se encuentra ligeramente desplazada hacia los 1650 cm^{-1} , y más definida que la que se observa en el espectro del material seco, Figura 9 que se encuentra en el anexo A.3.1.2, debido a la interacción de los -OH del biopolímero formando enlaces -ZnOH dentro del material compuesto [Anusuya et al., 2021].

Las dos señales localizadas en 1504 y 1401 cm^{-1} pueden atribuirse a la presencia del enlace N-H dados por el grupo nitrógeno alcaloide contenido en el extracto que, aunque se disminuyó su intensidad después del tratamiento térmico, siguen presentes en la superficie de los materiales. De igual manera, la última banda también se ve afectada por la presencia de los -OH propios de los alcoholes primarios que se encuentran en los compuestos polifenólicos dados por la presencia de extracto de lirio acuático durante la síntesis vegetal [Dananjaya et al., 2018; Oluwafemi et al., 2019a; Sathy et al., 2020b].

La formación del óxido ZnO y la unión de éste mismo con el quitosano en el material compuesto se puede asumir por la presencia de las bandas localizadas a 894, 839, 564, 550, 508 y 478 cm^{-1} ; las cuales se pueden observar en las Figuras 9a) y 9b). En el espectro del Z70, que se encuentra en el anexo A.3.1.2 se puede observar la presencia de bandas asociadas a las vibraciones de los enlaces Zn-O y Zn-OH en los 839, 550 y 478 cm^{-1} . Las interacciones entre el óxido y polímero se pueden suponer debido a las bandas centradas en 894 y 473 cm^{-1} del espectro del ZQ teniendo un desplazamiento de los enlaces -Zn-OH y Zn-O debido a la unión con el quitosano [Anusuya et al., 2021]. De igual manera, se observa desplazamiento de la banda localizada en 564 cm^{-1} por la unión del biopolímero con el óxido metálico.

Se infiere que el aumento de temperatura, durante el tratamiento térmico del material, degrada la estructura molecular de la materia orgánica proveniente del extracto motivo por el cual aún se observan bandas (1574, 904 y 878 cm^{-1}) incluso después del tratamiento térmico del material pero de menor intensidad que en el espectro del ZnO seco; lo que indica la pérdida de los compuestos originales por el rompimiento de sus moléculas, propiciando de esta manera que se unan con los grupos funcionales del ZnO [Yuan et al., 2021].

Estructuralmente no se observaron cambios significativos entre el ZnO empleando extracto y referencias de ZnO reportadas en la literatura para ZnO obtenido sin extracto, sin embargo, a nivel vibracional se detectó la presencia de grupos funcionales que se encuentran presentes en el extracto empleado [Raj et al., 2021].

En la región de los 3300 y 3500 cm^{-1} , que se observa en la Figura 9b), se encuentran las bandas vibracionales correspondientes al estiramiento de los enlaces -OH; las cuales se ven desplazadas hacia 3352 cm^{-1} cuando se obtiene el material compuesto, además de contar con una banda ubicada en 3288 cm^{-1} atribuible a la vibración de los enlaces -NH debido al quitosano [Saad et al., 2018; Anusuya et al., 2021]. La banda compuesta por las señales ubicadas en los 2929 y 2867 cm^{-1} pueden atribuirse al estiramiento asimétrico de los enlaces C-H del quitosano unidos al óxido metálico formando de esta manera el material compuesto [Asgari-Targhi et al., 2021].

TiO₂ + Quitosano (T570 y TQ)

La Figura 10a) muestra un acercamiento de la región entre 1800 cm⁻¹ y 800 cm⁻¹, mientras que el acercamiento Figura 10b) se encuentra entre 3800 cm⁻¹ y 2800 cm⁻¹. Por último, se muestra el espectro completo desde 4000 cm⁻¹ hasta 400 cm⁻¹ en la Figura 10c) de los materiales TiO₂ calcinado a 570 °C (T570) y el material compuesto con quitosano secado a 50 °C (TQ).

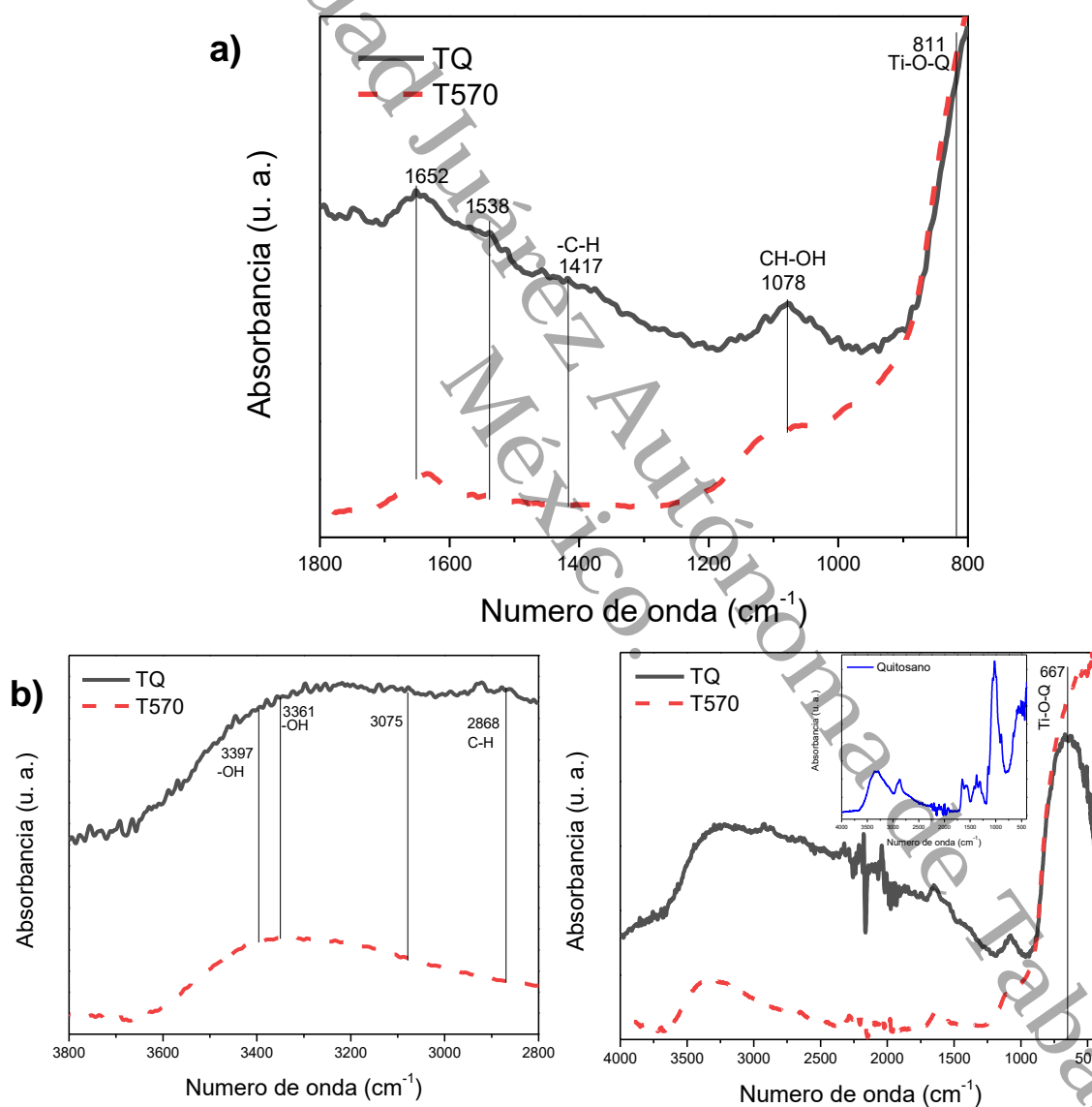


Figura 10. Espectros FT-IR del material TiO₂ calcinado a 570 °C (T570) y del material compuesto de TiO₂ y quitosano (TQ); a) Acercamiento de la región de 1800-800 cm⁻¹, b) Acercamiento de 3800 – 2800 cm⁻¹ y c) Espectro completo desde los 4000 hasta los 400 cm⁻¹ con inserto del espectro completo del quitosano.

La banda que se encuentra centrada en los 3397 cm^{-1} correspondiente a la vibración de los enlaces -OH del agua fisisorbida y de los hidroxilos superficiales inherentes a la síntesis del material de TiO_2 , esta banda presenta un corrimiento ubicándose hacia 3361 cm^{-1} para el material compuesto TQ, este fenómeno puede atribuirse a la interacción entre el óxido y el biopolímero. Ésta última banda, también puede asociarse con la presencia de grupos amino del quitosano unidas a los grupos funcionales presentes en la superficie del material, así como la banda localizada a 2868 cm^{-1} que corresponde a vibraciones del enlace C-H de la cadena principal de la amina [Asgari-Targhi et al., 2021].

La banda ubicada en 1652 cm^{-1} puede interpretarse como la superposición de más de una banda, observándose un pequeño hombro en 1538 cm^{-1} , que puede asignarse a las vibraciones de los enlaces que se encuentran en la amida, del quitosano, en la Figura 10a), se observa la presencia de la flexión del -OH del agua molecular en la banda centrada en 1632 cm^{-1} , presente en el espectro del Ti-c. [Anusuya et al., 2021]. La interacción entre las nanopartículas sintetizadas en la presencia del extracto acuoso de lirio acuático y el quitosano se puede asumir por la presencia de la banda ubicada en 1417 cm^{-1} atribuible a la vibración de los enlaces -C-H que se encuentra en los grupos carboxilos responsables de dicha interacción [Dyshlyuk et al., 2020; K. M. Khalil et al., 1998b].

La banda que se encuentra centrada en 1078 cm^{-1} corresponde a la vibración del enlace fuerte entre grupos CH-OH dados por la molécula de la glucosa correspondiente al enlace β -glucosídico y el estiramiento del enlace C-O-C presente en la cadena principal de esta molécula [Saad et al., 2018]; así como también la presencia de grupos funcionales dados por los compuestos orgánicos y fitoquímicos correspondientes a la presencia del extracto obtenido de hojas de lirio acuático se encuentra en 1049 cm^{-1} indicando el estiramiento del enlace C-O que se encuentran en los alcoholes formando alcaloides [K. M. Khalil et al., 1998b; Paradisi et al., 2021].

La interacción de los enlaces de Ti-O con el quitosano, se observa en las bandas ligeramente desplazadas con respecto al espectro del óxido sin quitosano, localizadas para el composito TQ en 811 y 667 cm^{-1} [Anusuya et al., 2021; Al-Shabib et al., 2020; Sethy et al., 2020b].

A diferencia del compuesto ZQ, el material TQ no presenta bandas que puedan atribuirse claramente a la presencia del quitosano, a excepción de la banda cercana a 1250 cm^{-1} que cambia de forma en el espectro del TQ, lo cual nos habla de que, debido a la diferencia de los óxidos, estos interactúan de manera distinta con el quitosano [Sethy et al., 2020b].

Existe evidencia de la obtención de espectros con bandas alusivas a la interacción de los grupos funcionales superficiales del óxido metálico y el quitosano en un material compuesto TiO_2/ZnO -quitosano [Anusuya et al., 2021]. Por otro lado, la preparación de TiO_2 en presencia de extracto vegetal modificando el pH del medio de reacción, demostró que condiciones ácidas promueven la formación de superficies sin grupos orgánicos del extracto y la disminución de efectos cristalinos [K. M. Khalil et al., 1998b]. Lo anterior, puede explicar lo observado en este trabajo, donde no se empleó pH ácido para la obtención de los materiales. Las variaciones en las propiedades finales de los materiales pueden brindar un área de oportunidad para seguir explorando el efecto de la presencia de extractos vegetales en las características de los óxidos.

4.1.3 Difracción de Rayos-X.

ZnO (Z500 y ZQ)

Los difractogramas pertenecientes al material de ZnO calcinado a $500\text{ }^\circ\text{C}$ (Z500), del quitosano de bajo peso molecular (Q) y del material compuesto de Z500 con quitosano secado a $50\text{ }^\circ\text{C}$ (ZQ) se pueden observar en la Figura 11. La carta cristalográfica perteneciente al quitosano empleada como referencia en este trabajo es la **PDF No. 00-067-1540** donde se observan señales en 11° , 21° , 29° , 36° y 41° 2θ , siendo la principal y de mayor importancia la ubicada en los 21° (2θ).

En el difractograma del material Z500 se pueden observar los picos de difracción en los planos (1 0 1), (0 0 2) y (1 0 0) ubicados en los 36° , 34° y 32° (2θ) respectivamente; característicos de la estructura hexagonal tipo wurtzita del ZnO (**PDF No. 00-036-1451**). La ausencia de picos adicionales confirma la presencia de una sola fase cristalina.

El patrón de difracción de rayos-X del compuesto ZQ, muestra además de las señales del ZnO antes mencionadas, una banda poco intensa y amplia que se centra cerca de

20° (2θ), indicativo de la presencia de quitosano, la baja intensidad puede deberse tanto a la cantidad del polímero presente en el compuesto como a interacciones entre este óxido [Dananjaya et al., 2018].

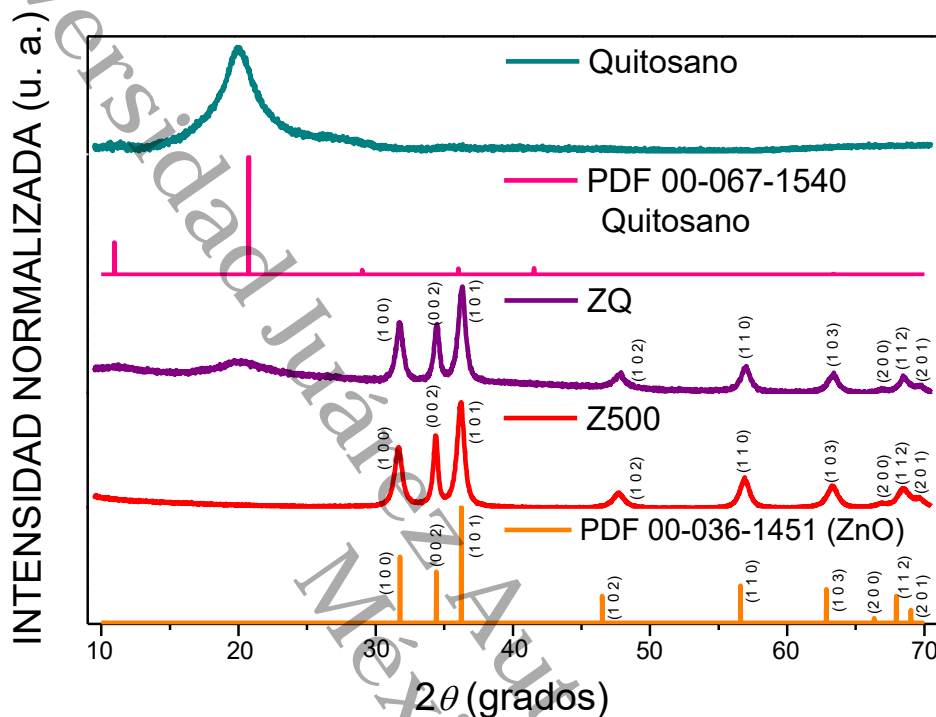


Figura 11. Difractogramas del ZnO calcinado a 500°C (Z500), del material compuesto de Z500 con quitosano (ZQ) y del quitosano de bajo peso molecular (Q).

El cálculo del tamaño de cristalito se realizó considerando el pico de la reflexión (1 0 1), empleando la ecuación de Scherrer (3), obteniendo un tamaño de 16.3 nm lo que coincide con reportes de la literatura para el ZnO [Raj et al., 2021]. Se puede asumir, debido a la intensidad del pico, a que las partículas tuvieron un crecimiento preferencia en ese plano, indicando un crecimiento anisotrópico, de acuerdo con lo reportado [Uribe-López et al., 2021; Singh et al., 2021; Jiang et al., 2022] y que se presentó en el presente trabajo.

El valor del tamaño de cristalito, para el compuesto ZQ disminuyó con respecto del óxido solo, ya que el valor calculado fue de 15.9 nm, sin embargo esta diferencia no es significativa, ni tampoco atribuible al quitosano debido a que el método de obtención del compuesto se basó en la obtención y estabilización térmica de las nanopartículas de ZnO y la posterior incorporación de las nanopartículas en una matriz de quitosano, por

lo que físicamente es poco probable que haya un efecto del polímero en la disminución de dicho parámetro, lo cual coincide con otros reportes [Raj et al., 2021].

Los resultados de esta técnica pueden dar soporte a la suposición de la formación del composito ZQ.

TiO₂ (T570 y TQ)

En la Figura 12 se observa el difractograma correspondiente a los materiales de dióxido de titanio calcinado a 570 °C, (T570), del que se encuentra en un composito con quitosano (TQ) y el quitosano de bajo peso molecular (Q). El difractograma del material calcinado muestra varios picos intensos y bien definidos, correspondientes a los planos cristalinos (1 0 1), (0 0 4), (2 0 0) y (1 0 5); siendo el de mayor intensidad el (1 0 1) indicando una preferencia en el acomodo sobre este plano. La presencia de estos picos sugiere que la estructura cristalina del material es mayormente del tipo anatasa, de acuerdo con la tarjeta cristalográfica **PDF No. 00-021-1272**, con un pequeño porcentaje de rutilo, ajustándolo con la tarjeta **PDF No. 00-021-1276** [Li et al., 2018; Kang et al., 2020].

Como se aprecia en la Figura, el pico de difracción característico del quitosano semicristalino no se observa en el patrón de difracción del TQ lo cual se atribuye a que contar con la presencia de quitosano en la red cristalina no afectó la misma sugiriendo de esta manera la interacción mediante la formación de enlaces de hidrógeno y la sustitución de los grupos funcionales hidroxilos dentro de las aminas del biopolímero [Pourhashem et al., 2021]. Adicionalmente, y con base en lo observado por la técnica de espectroscopía infrarroja, se puede asumir que las interacciones entre el TiO₂ y el quitosano no son lo suficientemente fuertes, lo que deriva en la incorporación de una menor cantidad de polímero con el óxido, esto debido a que el este óxido no aceptó al polímero en su red cristalina, como lo hizo el ZnO, dando como resultado que no se le adhiriera dicho material provocando que no tenga efectos/cambios en el difractograma del TiO₂.

El tamaño del cristalito se determinó utilizando el pico de reflexión (1 0 1) a través de la ecuación de Scherrer (3). Se obtuvo un tamaño de 10.3 nm, que, aunque se considera bajo, está dentro del rango reportado en la literatura, que es entre 10 y 30 nm [Pathinti et al., 2021; Chauhan et al., 2023; Nabi et al., 2021].

preparados, a partir de los espectros de reflectancia. En la Figura 13, se observan los espectros UV-Vis de los materiales de ZnO calcinado a 500 °C (Z500) y ZQ.

La banda de absorción perteneciente al material Z500 (Figura 13), en comparación con el espectro del Z70 (Figura 13, anexo A.2.1.2) sufre un ligero corrimiento, de 11 nm, después del tratamiento térmico a 500 °C, pasando de 355 nm a los 366 nm; lo que corresponde a lo reportado en la literatura como el rango de absorción óptica que caracteriza a este óxido [Zhao et al., 2014; Hojjati-Najafabadi et al., 2021]; esta banda es la característica del ZnO; sin embargo, debido a la amplitud de esta, no es posible determinar bandas adicionales atribuibles a la presencia de restos de extractos. El corrimiento de la banda de absorción entre el material Z70 y Z500 se puede atribuir a la contribución del extracto de lirio durante la síntesis, la cual formó poros en la superficie el ZnO teniendo como consecuencia la dispersión de luz incidente adicional [Raj et al., 2021].

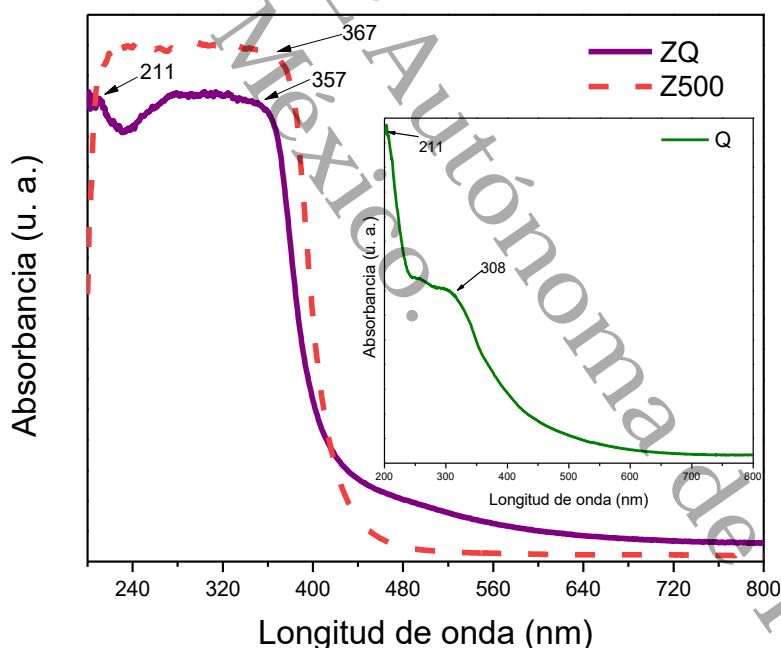


Figura 13. Espectros UV-Vis por reflectancia difusa del ZnO calcinado a 500 °C (Z500), del material compuesto de Z500 con quitosano (ZQ) y el quitosano (Q).

La banda que se observa perteneciente al Z500 es la que se encuentra reportada para la fase wurzita, de acuerdo con lo reportado en la literatura; presentándose, de esta manera, la transición de electrones de la banda de valencia a la banda de conducción, de la especie del O nivel 2p a la especie de Zn de nivel 3d [Aminuzzaman et al., 2018].

El efecto del extracto vegetal en el valor de la E_g de materiales de ZnO a partir de nitrato de zinc, se ha reportado en la literatura demostrando que posibles cambios en este parámetro pueden ser atribuidos a la presencia de restos del extracto [Raj et al., 2021], aunque no hay reportes aún sobre el uso de acetilacetato de zinc como precursor de óxido de zinc con síntesis mediada por extractos. En este trabajo, se observa en el espectro correspondiente una banda amplia en la región UV-A, la cual no difiere de trabajos previos empleando este mismo precursor en ausencia de extracto [Uribe-López et al., 2021; Zhao et al., 2014; Zhao et al., 2014].

En el espectro del material ZQ se puede observar una señal en 211 nm, la que puede atribuirse a la presencia del quitosano en el material debido a que éste último presenta una banda de absorción característica alrededor de los 211 nm; esta información se complementa con lo observado por DRX y FT-IR respecto a la presencia del biopolímero en el composito [Asgari-Targhi et al., 2021]. Para el ZQ se observa que la banda de absorción cambia ligeramente su pendiente, lo que puede atribuirse a interacciones entre el óxido y el biopolímero [Anusuya et al., 2021].

Las nanopartículas de ZnO exhibieron máximos de absorción alrededor de 357 nm, que se asigna a la absorción intrínseca de la banda del ZnO debido a la transferencia de carga de electrones de la banda de valencia a la banda de conducción (O_{2p} (ligando) \rightarrow Zn_{3d} (metal)) [Almeida Ramón, 2012].

La estimación del valor de la energía de banda prohibida (E_g) empleando la ecuación de Kubelka-Munk, (Ec. 2), resultó en un valor de 3.25 eV para Z500, el cual es ligeramente menor que el reportado para materiales similares (3.32 eV) [Aminuzzaman et al., 2018]. Por otro lado, para el material ZQ el valor de la E_g disminuyó a 3.13 eV, comportamiento que se esperaba debido posiblemente a una menor ordenación de los átomos y una mayor presencia de defectos inducidos por cargas asociados a la presencia del biopolímero, sin embargo, esta hipótesis requiere de futura demostración.

TiO₂ + Quitosano (T570 y TQ)

La Figura 14 presenta los espectros del TiO₂ calcinado a 500 °C (T570), del que se encuentra en el composito con quitosano (TQ) y del quitosano de bajo peso molecular (Q) se muestra como inserto en la Figura.

La banda de absorción característica del TiO_2 , correspondiente a este material obtenido bajo estas condiciones de síntesis, se encuentra a 311 nm, esto puede deberse a la transición de la banda de valencia de la especie del O_{2p} hacia la banda de conducción de la especie de Ti_{3d} , comportamiento característico de la fase anatasa debido a la promoción de e^- de banda a banda [Amanulla & Sundaram, 2019; Pragathiswaran et al., 2021].

La E_g estimada para el material T570 fue de 3.09 eV, en comparación con los valores de E_g reportados en la literatura, la diferencia se atribuye a la presencia de defectos y vacancias que se encuentran dentro de la red cristalina de las nanopartículas dando lugar a mejoras en las propiedades ópticas del mismo [Pathinti et al., 2021].

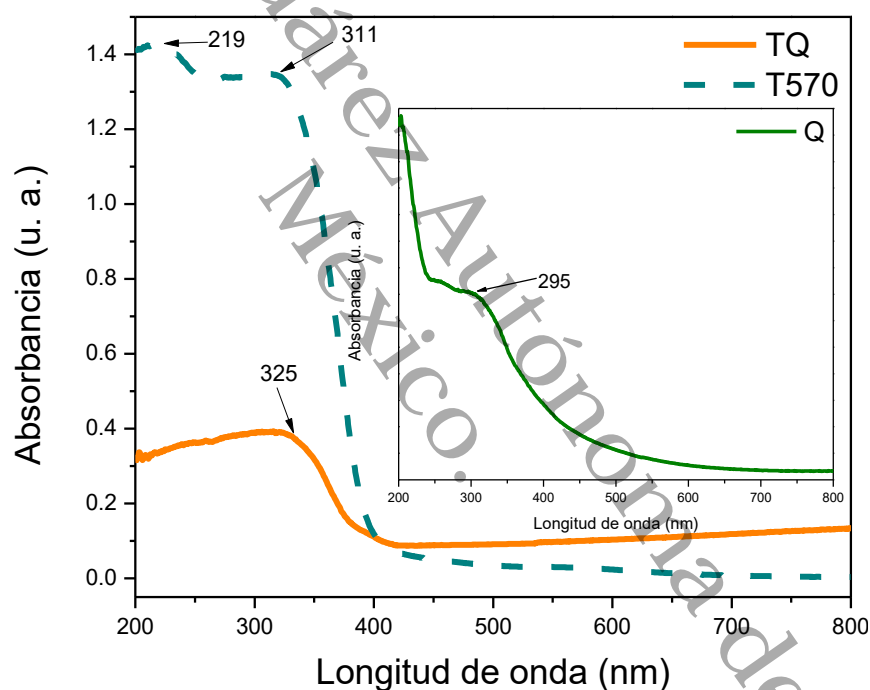


Figura 14. Espectros UV-Vis por reflectancia difusa del TiO_2 calcinado a 570 °C (T570), del material compuesto de T570 con quitosano (TQ) y el quitosano (Q).

Existen reportes [Pathinti et al., 2021; Thommes et al., 2015] acerca de metodologías de síntesis similares a la del presente trabajo, donde se demuestra que la banda de absorción que indica la correcta formación del óxido se encuentra alrededor de 322 nm debido a la transferencia electrónica de la banda de valencia (Oxígeno) a la de conducción (Titanio).

Sin embargo, otros autores [Pragathiswaran et al., 2021] reportaron esta absorción ubicada entre 250 y 400 nm y valores de E_g superiores a las estimadas en este trabajo, lo cual infiere en que la presencia de un extracto vegetal durante el proceso de síntesis modifica características el tamaño y las propiedades ópticas del óxido.

En un trabajo sobre las propiedades fotocatalíticas de TiO_2 obtenido a partir de extracto de *Syzygium cumini* y usando isopropóxido de titanio, se reportó un valor de E_g de 3.48 eV [Sethy et al., 2020], estos materiales fueron exitosamente empleados como fotocatalizadores en la remoción de plomo. Es decir, que a pesar de no tener un efecto de disminuir la E_g , las propiedades fotocatalíticas del semiconductor no se vieron afectadas.

Las diferentes características que se obtienen contando con un extracto vegetal se ven reportadas por Sethy et. al. [Sethy et al., 2020]; que indican que la banda de absorbancia, ubicada en el rango de entre 200 y 600 nm, es característica a la formación del óxido metálico obtenido mediante la biosíntesis contando con un valor de E_g mucho mayor que el encontrado en esta investigación, hecho atribuible a la planta de la que se obtiene el extracto a causa de los diferentes componentes que la forman.

4.1.5 Fisisorción de gases a baja presión.

ZnO (Z500 y ZQ)

En la Figura 15 se muestra la isoterma de adsorción-desorción de Nitrógeno del ZnO calcinado a 500 °C (Z500) y del composito con el quitosano (ZQ); así como los datos obtenidos en esta técnica en la Tabla 3. En primera instancia, se observa que el volumen adsorbido durante el proceso es relativamente bajo presentando una isoterma de tipo IV (a), de acuerdo con la clasificación de la IUPAC [Thommes et al., 2015], la cual es un indicador de la presencia de mesoporos en el material.

En esta isoterma, la curva muestra una capa multimolecular en la región de baja presión, seguida de una rápida adsorción en la región de presión media.

Este comportamiento indica que el material tiene una superficie específica de moderada a alta. A pesar de presentar el comportamiento característico de un material mesoporoso, la tendencia que se observa en presiones relativas mayores a 0.9 indican la posible presencia de macroporos. La histéresis que presenta este material es del tipo

H3, siendo un indicativo de materiales mesoporosos presentándose una fuerte desorción de la fase adsorbida a una presión mucho más baja que la presión a la que se inició la adsorción. Dicho comportamiento, sugiere que el material tiene una distribución de poros estrecha y que los poros son relativamente homogéneos [Das et al., 2019; Wu et al., 2017].

Tabla 3. Datos obtenidos mediante la técnica de fisisorción de gases a baja presión, para los materiales con ZnO (Z500 y ZQ)

MATERIAL	ISOTERMA	HISTÉRESIS	ÁREA ESPECÍFICA (m ² /g)	DIÁMETRO DE PORO PROMEDIO (nm)
Z500	IV (a)	H3	31.74	4.91
ZQ	IV (a)	H3	6	3.8

El valor del área específica se calculó mediante el método Brunauer-Emmet-Teller (BET), siendo el más empleado para el cálculo de distribuciones de tamaño de poro en el rango de los mesoporos. Se obtuvo un valor de área específica de 31.74 m²/g, dicho valor indica que la superficie del material tiene una gran cantidad de sitios de adsorción disponibles para interactuar con otras especies.

Los materiales con alta superficie específica pueden ser útiles en diversas aplicaciones; por ejemplo, la catálisis. El ZnO es conocido por tener una superficie específica relativamente baja debido a su estructura cristalina de tipo wurtzita, que presenta una gran cantidad de bordes y defectos superficiales. Es importante tener en cuenta que el valor de la superficie específica puede variar en función de las condiciones de síntesis, el método de medición utilizado y otros factores experimentales [Han et al., 2019; X. Zhang et al., 2019; Song et al., 2021]; por lo tanto, la presencia del extracto acuoso de lirio acuático puede afectar dicho valor ya que existen estudios que han informado que la adición de extractos de plantas durante la síntesis de nanopartículas puede aumentar la superficie específica del material [Lin et al., 2022; Al-Askar et al., 2023].

Se encuentra reportados valores de área específica de 34.2 m²/g para el ZnO sintetizado en presencia del extracto de lirio acuático, y de 23.4 m²/g para el ZnO sintetizado sin la presencia de extracto [Lin et al., 2022]. En la literatura, se informó que la presencia de extracto acuoso de lirio acuático durante la síntesis de ZnO aumentó la superficie específica del material [Al-Askar et al., 2023].

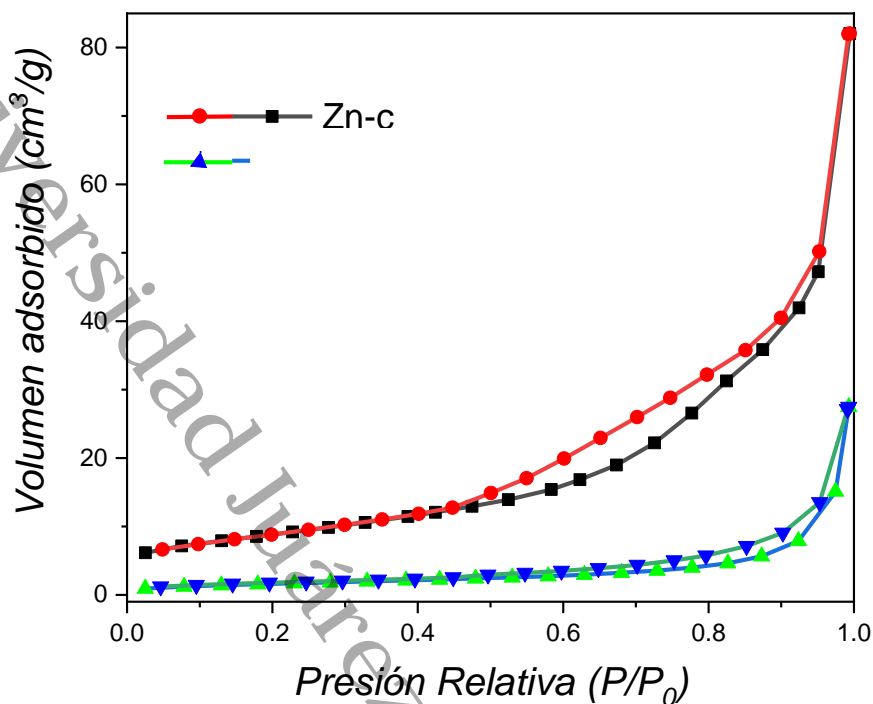


Figura 15. Isotermas de adsorción-desorción del ZnO calcinado a 500 °C (Z500) y del material compuesto de Z500 + Quitosano (ZQ).

El aumento en el valor del área específica se atribuye a que los compuestos orgánicos presentes en el extracto de la planta pueden actuar como agentes estabilizadores durante la síntesis, lo que ayuda a prevenir el crecimiento excesivo de las partículas y, por lo tanto, aumenta la superficie específica del material resultante. Sin embargo, el desempeño del material en una aplicación dada puede depender de varios factores, incluida la distribución de poros y la morfología del material [Han et al., 2019; X. Zhang et al., 2019; Song et al., 2021].

Con respecto a la distribución de tamaño de poro, este material, presenta una distribución bimodal teniendo como promedio un tamaño de poro de 4.91 nm, Figura 16.

En general, la presencia de mesoporos y macroporos puede mejorar la superficie específica y la capacidad de adsorción del material, lo que puede ser beneficioso para la separación de moléculas. En particular, los mesoporos pueden proporcionar un área específica grande y una alta difusividad para las moléculas adsorbidas, mientras que

los macroporos pueden mejorar la accesibilidad de las moléculas grandes al interior del material.

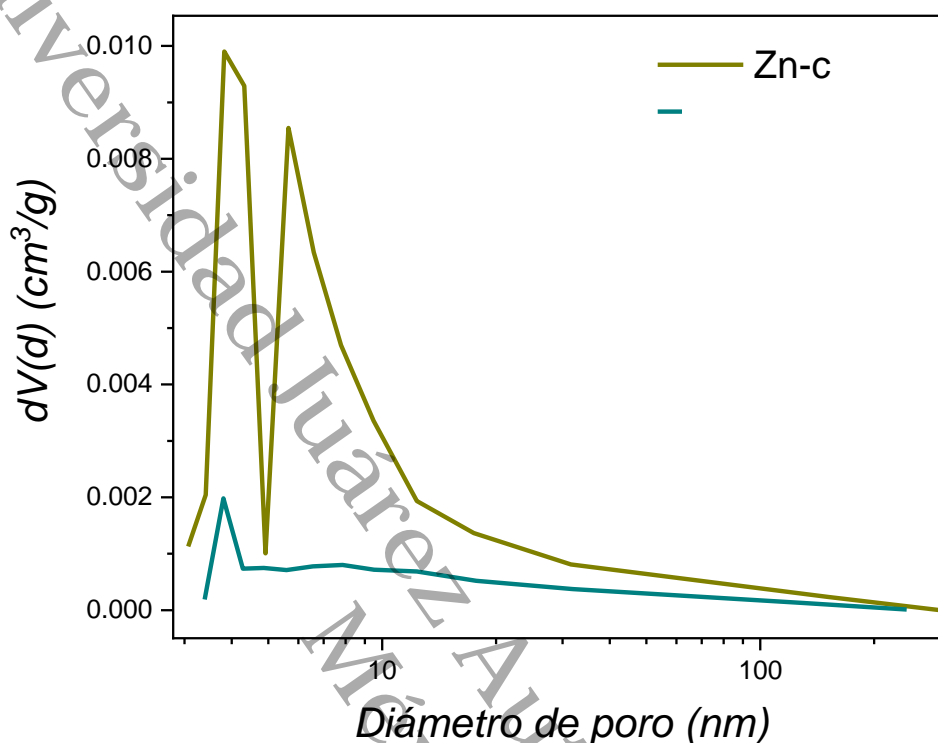


Figura 16. Distribución del tamaño de poro por el método BJH del ZnO calcinado a 500 °C (Z500) y del material compuesto de Z500 con quitosano (ZQ).

En la literatura se ha reportado que el contar con la presencia de un extracto vegetal acuoso tiene como efecto distribuciones de tamaño de poro más amplia y una mayor cantidad de poros con tamaños intermedios en comparación con el sintetizado sin la adición del extracto. Se cuenta con reportes en donde se presentó un rango de tamaño de poro mayor en comparación con el ZnO sintetizado sin extracto; dicho resultado se atribuyó a la interacción de los componentes del extracto con los iones de zinc durante la síntesis, lo que dio como producto una distribución más amplia de los tamaños en los poros [Jiang et al., 2015]. De igual manera, se encuentra en investigaciones previas que al contar con la presencia del extracto se obtuvo una distribución del tamaño de poro más amplia, así como una mayor cantidad de poros de tamaños intermedios, aunque en este caso se le atribuyó este comportamiento a la presencia de componentes orgánicos en el extracto acuoso los cuales afectaron la estructura porosa del ZnO [J. Chen et al., 2016].

Con respecto al material con quitosano, ZQ, se puede observar que el comportamiento cambia considerablemente ya que el volumen adsorbido disminuye, así como también el lazo de histéresis es más estrecho. La isoterma conserva su tipo, IV(a) cambiando únicamente su porosidad y una distribución estrecha de tamaño de poro, de acuerdo con lo establecido por la IUPAC [Thommes et al., 2015]; de igual manera, el comportamiento del lazo de histéresis sufrió un cambio ya que, aunque sigue teniendo un comportamiento del tipo H3, es más estrecho que la que presenta el material puro. El cambio en la porosidad del material indica un cambio en las propiedades de adsorción del ZnO al unirse con el quitosano. Específicamente, sugiere que la introducción de quitosano modifica la estructura de poros del ZnO, reduciendo el tamaño y estrechando su distribución de este; esto puede deberse a la formación de una capa de quitosano en la superficie del ZnO, lo que limita la accesibilidad de los poros más grandes y promueve la adsorción gradual y continua [Ye et al., 2021; Riedel, 2020].

El área específica del material compuesto también se ve afectada, como se podía inferir observando la Figura 16, provocado por la aglomeración de las partículas al momento de unirse con el biopolímero reduciendo de esta manera el área expuesta; así como de la humedad que pueda absorber del ambiente. Su valor disminuyó radicalmente hasta $6 \text{ m}^2/\text{g}$ debiéndose a lo mencionado anteriormente, que el quitosano forma una capa en la superficie del ZnO obstruyendo en gran parte a los poros que presentaba limitando la accesibilidad a estos, promoviendo la adsorción gradual y continua del nitrógeno [Ye et al., 2021; Riedel, 2020]. Por ende, al disminuir el valor del área específica se presenta una disminución del tamaño promedio de poro y del volumen de poro, quedando en un tamaño de 3.8 nm y un volumen de poro de $0.043 \text{ cm}^3/\text{g}$ provocado por el bloqueo de poros que se presenta cuando se une dicho óxido metálico con el biopolímero en cuestión [Stanić & Tanasković, 2020].

TiO₂ (T570 y TQ)

Las isotermas obtenidas para los materiales de TiO₂ calcinado a $570 \text{ }^\circ\text{C}$, T570, y el compuesto con el quitosano, TQ, se pueden observar en la Figura 17. La isoterma que presenta el material puro se ajusta a una de tipo IV(a), de acuerdo con la IUPAC [Thommes et al., 2015]. Dicha isoterma presenta una curva de adsorción con una

meseta en el rango de presiones intermedias, que indica la formación de una monocapa multimolecular de gas adsorbido. La isoterma indica que el material tiene poros pequeños y una distribución de tamaños de poro amplia [Kaewkam et al., 2022]. La histéresis que presenta esta isoterma es de tipo H2(b); indica la presencia de poros no conectados por lo que no se permite la salida del gas atrapado en los ellos durante la adsorción dando como resultado una curva de desorción que se desplaza ligeramente hacia la derecha en comparación con la curva de adsorción. Esta histéresis también nos indica que el material cuenta con una distribución de tamaños de poro relativamente amplia (Tabla 4) [Kaewkam et al., 2022].

Tabla 4. Datos obtenidos mediante la técnica de fisisorción de gases a baja presión, para los materiales con TiO₂ (T570 y TQ)

MATERIAL	ISOTERMA	HISTÉRESIS	ÁREA ESPECÍFICA (m ² /g)	DIÁMETRO DE PORO PROMEDIO (nm)
T570	IV (a)	H2(b)	84.46	4
TQ	IV (a)	H2(b)	46.97	10

El cálculo del área específica se realizó, de igual manera que para los materiales con ZnO, por el método BET obteniendo un valor de 84.46 m²/g. El contar con una alta área superficial aumenta la probabilidad de que las moléculas reactantes interactúen dando pie a que se lleven a cabo las reacciones químicas en la superficie entre los grupos funcionales del óxido metálico y el biopolímero [Z. Zhang, 2022]. Contar con la presencia de un extracto vegetal acuoso durante la síntesis afecta en el valor del área específica aumentándolo o disminuyéndolo, según sea el caso, del método de síntesis y la concentración del extracto en la misma [Z. Zhang, 2022; Guo et al., 2011].

Trabajos previos reportaron la obtención del TiO₂ por la técnica de hidrólisis añadiendo extracto de lirio acuático en diferentes concentraciones obteniendo como resultado un aumento en el valor del área específica, observando una tendencia que indica que el área superficial es directamente proporcional a la concentración de extracto en la síntesis; mostrando que para el material con una concentración del 1% de extracto el área fue de 80.4 m²/g mientras que el sintetizado sin presencia de extracto obtuvo un valor de 25.6 m²/g [Z. Zhang, 2022]. Por el contrario, en la literatura se encuentra reportado que el área específica del TiO₂ sintetizado mediante sol-gel disminuyó; dicho

fenómeno se atribuyó a la aglomeración de las partículas de TiO_2 debido a la presencia de compuestos orgánicos presentes en el extracto [Guo et al., 2011].

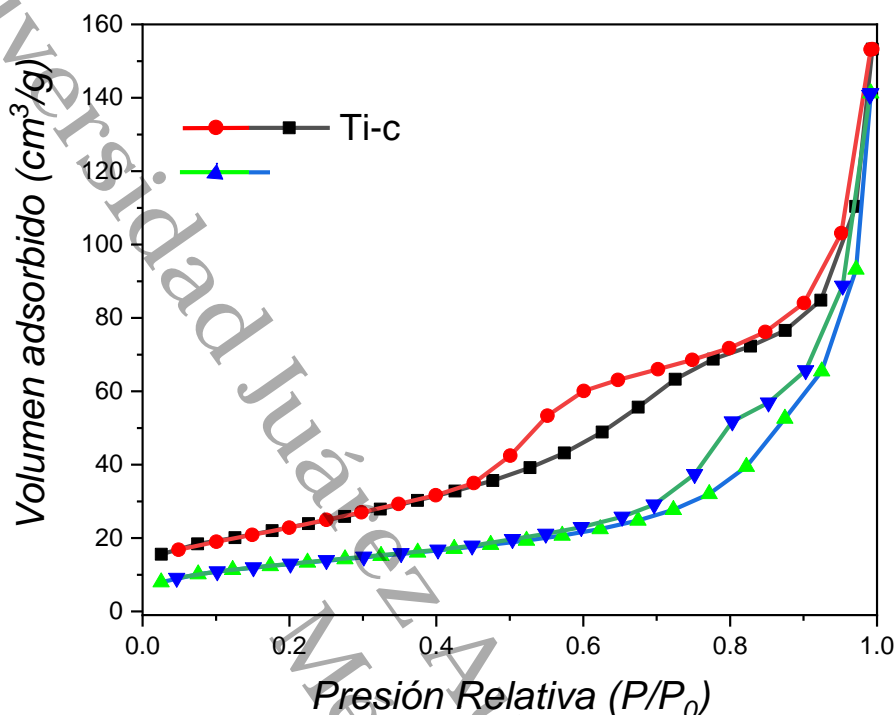


Figura 17. Isothermas de adsorción-desorción del TiO_2 calcinado a $570\text{ }^\circ\text{C}$ (T570) y del material compuesto de T570 + Quitosano (TQ).

Por otro lado, la isoterma correspondiente al material TQ cuenta con el mismo comportamiento del TiO_2 , que se ajusta a una de tipo IV(a), de acuerdo con la IUPAC, disminuyendo solamente el volumen adsorbido. Dicha diferencia del comportamiento entre ambas isothermas, pero conservando la misma tendencia y ajuste, se atribuye a la interacción débil que se presenta entre ambos materiales, el óxido metálico y el biopolímero, lo cual impide el cambio de las propiedades de adsorción-desorción; así como el poco recubrimiento que pueda haber realizado el quitosano como se observó mediante espectroscopía FT-IT y DRX manteniendo inalterada la estructura del TiO_2 [Zioui et al., 2022; Whang, 2018].

El hecho de presentar un volumen adsorbido menor y un pequeño corrimiento en el inicio del lazo de histéresis, en comparación con el T570, el cálculo del área específica para el TQ disminuyó prácticamente a la mitad del que se tenía para el óxido metálico puro, quedando en $46.97\text{ m}^2/\text{g}$. Esto puede posiblemente deberse a que, por el método

de impregnación, el quitosano recubra la superficie del TiO_2 reduciendo la accesibilidad de los poros y dificultando así la adsorción [Smith, 2018; Guerra Morán, 2022]; así como a la agregación de partículas ya que el biopolímero tiende a formar agregados o aglomerados lo que ocupa espacio y por ende provoca una reducción del área efectiva disponible para la adsorción del gas [Mizwari et al., 2020]. La ventaja o desventaja que esto represente en las propiedades de ambos materiales, requieren de estudios más profundos.

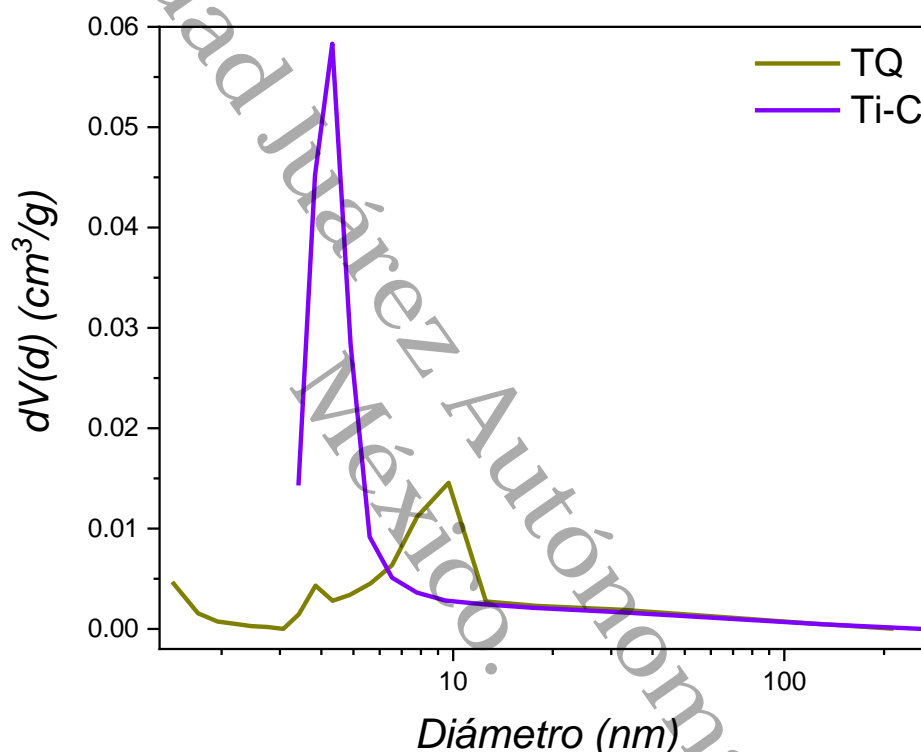


Figura 18. Distribución del tamaño de poro por el método BJH del TiO_2 calcinado a 570°C (T570) y del material compuesto de T570 con quitosano (TQ).

En la Figura 18 se presenta la gráfica que muestra la distribución del tamaño de poro obtenida por el método BJH para ambos materiales con TiO_2 . En dicha gráfica, para el T570, podemos observar que se presenta un comportamiento monomodal con un tamaño de poro de 4 nm, que entra en la clasificación de mesoporos coincidiendo con el tamaño promedio de poro con una ligera presencia de macroporos, lo cual puede confirmarse con el comportamiento de la isoterma a presiones relativas cercanas a 1. La presencia de mesoporos mejora la capacidad para adsorber y catalizar reacciones, así como también aumenta la difusión de moléculas en el material, optimiza la capacidad para degradar contaminantes y mejorar su eficiencia. El contar con una

ligera presencia de macroporos puede facilitar la difusión de sustancias de mayor tamaño y mejorar la velocidad de transporte y carga de material, así como también facilitar la eliminación de los productos de la reacción como se ha reportado en aplicaciones catalíticas. La distribución del tamaño de poro puede ser controlada mediante diferentes aspectos durante la realización de la síntesis; la presencia de extracto acuoso de lirio acuático es uno de los factores que le afectan [Yan et al., 2017].

Para el caso específico del material compuesto con quitosano, TQ, se presentó un aumento en el tamaño de los poros y una distribución más amplia, atribuible a la formación de nuevos poros debido a la interacción quitosano-TiO₂ provocados por la separación de partículas y la formación de espacios interpartícula más grandes [Su, 2013; Khan et al., 2021]; cambios en la estructura porosa del material debido a la expansión de los poros existentes por la presencia de enlaces entre los grupos funcionales de ambos materiales [Ricardi et al., 2021; Laranjo et al., 2019] y, por último, confirmado por la disminución del área específica discutida anteriormente, por la formación de agregados o aglomerados ya que ocupan espacio y aumentan el tamaño aparente de los poros [Mizwari et al., 2020].

4.1.6 Dispersión de Luz Dinámica (DLS) y Dispersión Electroforética de Luz (ELS).

ZnO (Z500 y ZQ)

Las curvas obtenidas por la dispersión de luz dinámica para el ZnO calcinado Z500, y del que se encuentra dentro del composito con quitosano, ZQ. Como se puede observar, la curva de distribución exhibe un comportamiento bimodal con un pico ubicado en los 821 nm y el segundo pico con máximo en valores mayores a 5 micras; obteniendo un promedio entre dichos picos de 700 nm de tamaño hidrodinámico para este material, sin embargo, debe señalarse que este parámetro fue medido empleando como dispersante agua y que puede atribuirse a interacciones con el dispersante provocando la aglomeración de las partículas.

La presencia de quitosano altera el comportamiento del óxido y se observa que se tiene una distribución estrecha a tamaños pequeños, lo cual puede deberse a interacciones

de cargas asociadas al quitosano, lo que altera su comportamiento en el dispersante, posiblemente previniendo la formación de aglomerados grandes como en el caso del óxido solo.

El valor del índice de polidispersión (PDI) del Z500 es de 0.248, el cual es un valor aceptable indicando que cuenta con una buena uniformidad en cuanto al tamaño de partícula. Para el material con quitosano, ZQ, este valor de PDI aumenta, quedando en 0.293; atribuible a que el quitosano, al interactuar con el ZnO y formar el nanocompuesto influye en los tamaños de las partículas.

Tabla 5. Valores de tamaño hidrodinámico y potencial zeta obtenidos para el ZnO calcinado a 500°C (Z500) y el material compuesto Z500 con Quitosano (ZQ).

MATERIAL	TAMAÑO HIDRODINÁMICO [nm]	ÍNDICE DE POLIDISPERSIÓN	VALOR DE POTENCIAL ZETA [mV]
Z500	700	0.248	-35.4
ZQ	433	0.293	6.0

En la Tabla 5 se puede observar la comparación entre los valores de tamaño hidrodinámico, el PDI obtenido y el valor del potencial zeta de los materiales Z500 y ZQ.

Por otro lado, el valor de potencial zeta, obtenido por la dispersión electroforética de luz, fue de -35.4 mV, para Z500, y 6 mV, para ZQ. Se ha establecido que valores cercanos a cero se asocian con la formación de suspensiones coloidales poco estables, donde se forman aglomerados que precipitan en corto tiempo [Fricke et al., 2021], por lo que este parámetro puede aplicarse como un criterio inicial para identificar si las partículas estarán dispersas en el medio, siendo de gran utilidad cuando se trata de aplicaciones en fase acuosa, aunque no es un criterio limitante para buenos desempeños. De estos resultados se observa que el quitosano proporciona una superficie más electropositiva que la del óxido solo. En la literatura se encuentran reportados valores negativos para el potencial zeta siguiendo este mecanismo de síntesis aunque sin la presencia de un extracto vegetal, para el ZnO; esta disminución del valor de potencial zeta se puede deber al acoplamiento de los iones del óxido metálico al unirse con el biopolímero indicando un cambio en la interacción

electrostática; se encuentra reportado en la literatura que el quitosano es un polímero catiónico que tiene grupos amino protonados, mientras que el ZnO se reporta con carga negativa en su superficie debido a la presencia de grupos oxígeno-metal llevando a una neutralización parcial de las cargas eléctricas en la superficie de las partículas dando como resultado la disminución del potencial zeta [Bhuyan et al., 2018; Dakrouy et al., 2021]. El contar con un valor electronegativo es característico de tener la fase wurzita del ZnO proporcionando la capacidad de comportarse de manera hidrofóbica, hecho que se observó al momento de realizar las diluciones en la evaluación biológica.

TiO₂ (T570 y TQ)

La distribución del tamaño hidrodinámico de partículas para el T570 y el TQ se muestran a continuación. En donde el T570 exhibe una curva de distribución monomodal estrecha centrada en 194 nm; este valor coincide con los reportados en la literatura, que van desde 10 hasta los 200 nm para este precursor (isopropóxido de titanio, IPT).

Como es bien sabido, esta técnica señala cómo es el comportamiento aparente del material en el medio en cuestión, en este caso agua, el cual generalmente difiere de los datos obtenidos por FE-SEM debido a que en la microscopía se realiza con el material seco debido a la agregación, dispersión y efectos interfaciales que se presenten en el momento [Li et al., 2018; Stetefeld et al., 2016].

El comportamiento de la gráfica de tamaño hidrodinámico del T570 se ve afectado cuando éste se encuentra dentro del material compuesto con el quitosano ya que, de primera instancia, la distribución es bimodal con el primer pico ubicado en los 296 nm. El observar el cambio de las gráficas, de ser monomodal a bimodal, para el T570 y TQ respectivamente, se debe a la influencia del quitosano en la agregación y estabilización de las partículas en cuestión. Esta forma monomodal, indica que las partículas de TiO₂ están relativamente dispersas y tienen un tamaño de partículas uniforme; sin embargo, cuando se une con el quitosano en el material compuesto, ocurre una aglomeración o agregación de partículas, fenómeno que ya se había propuesto por los resultados anteriores de fisorción de N₂. El quitosano, como un polímero de mayor peso molecular que el TiO₂, puede adsorberse en la superficie de las partículas de TiO₂ y

formar enlaces y/o interacciones entre ellas formando de esta manera agregados más grandes y una distribución bimodal de tamaños hidrodinámicos del material [Al-Kadi et al., 2023].

Tabla 6 Valores de tamaño hidrodinámico y potencial zeta obtenidos para el TiO₂ calcinado a 570°C (T570) y el material compuesto T570 con Quitosano (TQ).

MATERIAL	TAMAÑO HIDRODINÁMICO [nm]	ÍNDICE DE POLIDISPERSIÓN	VALOR DE POTENCIAL ZETA [mV]
T570	363.18	0.131	-29.7
TQ	290.3	0.388	21.5

El índice de polidispersión (PDI) de 0.131, para T570, nos indica que se tiene una distribución del tamaño de partícula relativamente homogéneo [Malvern Analytical, 2019; Nobbmann et al., 2007]. Por el contrario, al contar con un PDI para el TQ de 0.388 se puede inferir que la variación del tamaño aumentó y disminuyó su similitud.

Por otro lado, el potencial zeta es de -29.7 mV para T570 y de 21.5 mV para TQ. El valor electronegativo para el material calcinado se atribuye a la presencia de grupos funcionales en la superficie de las partículas que están ionizados generando una carga negativa, y en el caso particular el TiO₂ es común que cuente con grupos -OH en la superficie de este lo que lleva a que las partículas tengan una carga negativa. Este valor del potencial zeta sugiere una carga suficientemente alta para prevenir la agregación de las partículas de TiO₂ indicando una buena estabilidad coloidal de las partículas suspendidas en el medio acuoso. Por otro lado, al unirse el T570 con quitosano se debe a la interacción del biopolímero con el óxido metálico dando pie a un aumento en el valor de la carga superficial teniendo implicaciones en la estabilidad coloidal de las partículas y su interacción con el medio circundante [Tchoul et al., 2020]. La Tabla 6 nos muestra un comparativo entre los valores del tamaño de partículas obtenido por DLS y potencial zeta; así como también del valor de PDI obtenido del material T570.

4.2 Evaluación de la actividad biológica.

Los resultados de los ensayos de inhibición *in vitro*, obtenidos por las técnicas de difusión en disco, difusión en pozo y la determinación de la concentración mínima inhibitoria se exhiben a continuación. Estos ensayos evalúan la eficacia de las nanopartículas de óxidos metálicos puros y aquellas incorporadas en el material compuesto con quitosano suspendido en agua destilada (pH 7) contra diversas cepas bacterianas, de las cuales se enumeran a continuación las concentraciones empleadas en la Tabla 7.

Antes de cada ensayo se realizó una tinción de Gram para asegurar que las cepas bacterianas se encontraban libres de contaminación.

4.2.1 Difusión en disco.

En los ensayos de difusión en disco de las nanopartículas, se evaluaron diluciones seriadas de 50 a 0.781 mg/mL suspendidos en agua destilada estéril, y evaluados contra las bacterias Gram negativas *P. aeruginosa* (Figura 19), *E. coli* (Figura 20) y un modelo de Gram positiva, *S. aureus* (Figura 21).

Los materiales evaluados no presentaron actividad contra *P. aeruginosa* (Figura 19) mientras que el disco impregnado con el control positivo, antibiótico amikacina mostró un halo de inhibición promedio de 21.75 mm. A pesar de no observar inhibición alrededor de los discos con las nanopartículas de T570 y TQ se observó una ligera coloración café, sugiriendo que las bacterias podrían producir pigmentos o alterar su fisiología celular como una respuesta al efecto de las nanopartículas [Baquero & Levin, 2020; Ocampo et al., 2014].

En la Figura 20, no se observaron halos de inhibición de los materiales evaluados contra *E. coli*, únicamente se registró inhibición de amikacina con un halo de 24.25 mm. Este último se compone de dos partes, la primera de un halo donde se observa inhibición total del crecimiento bacteriano (actividad bactericida) y la segunda, un halo más tenue de aproximadamente 1 mm que indica el cese del crecimiento de las células bacterianas por limitación o bloqueo de las vías por las que entran los nutrientes

impidiendo su proliferación, pero no para provocar la muerte (actividad bacteriostática) [Baquero & Levin, 2020; Ocampo et al., 2014].

Tabla 7. Nomenclatura empleada, indicando sus concentraciones para los diferentes ensayos microbiológicos.

CÓDIGO	MATERIAL	CONCENTRACIÓN (mg/mL)	CÓDIGO	MATERIAL	CONCENTRACIÓN (mg/mL)
Z1	Z500	50	T1	T570	50
Z2		25	T2		25
Z3		12.5	T3		12.5
Z4		6.250	T4		6.250
Z5		3.125	T5		3.125
Z6		1.562	T6		1.562
Z7		0.781	T7		0.781
ZQ1	ZQ	50	TQ1	TQ	50
ZQ2		25	TQ2		25
ZQ3		12.5	TQ3		12.5
ZQ4		6.250	TQ4		6.250
ZQ5		3.125	TQ5		3.125
ZQ6		1.562	TQ6		1.562
ZQ7		0.781	TQ7		0.781

La actividad antimicrobiana del ZnO puro (Z500) contra *S. aureus*, una bacteria Gram positiva se observó en concentraciones de 50 hasta 3.12 mg/mL con halos de inhibición de diámetro 13.7 y 11.28 mm respectivamente. Por otro lado, al evaluar el ZnO con quitosano (ZQ), se observó una reducción de actividad tanto en la concentración efectiva como en el diámetro del halo de inhibición. A la concentración de 50 mg/mL (ZQ1) mostró un halo promedio de 9.1 mm, mientras que a una concentración de 12.5 mg/mL (ZQ3), el halo fue de 8.21 mm (Tabla 5). En contraste, en los ensayos con TiO₂ y TiO₂ con quitosano, no se encontró actividad antimicrobiana. Los halos de inhibición del control positivo fueron de 25 mm de diámetro.



Figura 19. Ensayo de difusión en disco en agar Mueller-Hinton de los materiales a) Z500, b) ZQ, c) T570 y d) TQ a concentraciones de la 1 – 7 de 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562 y 0.781 mg/mL contra *Pseudomonas aeruginosa*. C- agua destilada; C+ amikacina (0.4 $\mu\text{g/mL}$).

El óxido de zinc (ZnO) en su forma pura posee una mayor actividad antibacteriana a bajas concentraciones en comparación con cuando se le añade quitosano. Esto se atribuye a la mayor disponibilidad de iones de zinc en el Z500, que son esenciales para su eficacia antibacteriana. El quitosano, al formar una capa polimérica alrededor del ZnO [Smith, 2018; Guerra Morán, 2022], modifica la estructura cristalina [59], reduciendo la liberación de estos iones de zinc [Stanić & Tanasković, 2020; Smith, 2018; Guerra Morán, 2022; Mizwari et al., 2020].



Figura 20. Ensayo de difusión en disco en agar Mueller-Hinton de los materiales a) Z500, b) ZQ, c) T570 y d) TQ a concentraciones de la 1 – 7 de 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562 y 0.781 mg/mL contra *Escherichia coli*. C- agua destilada estéril; C+ amikacina ($0.4 \mu\text{g/mL}$).

La inhibición del crecimiento bacteriano de *S. aureus* por el ZnO podría atribuirse al rompimiento de la pared celular, que provoca un daño por oxidación que se extiende a la membrana citoplasmática, ocasionando lisis celular [Avelizapa et al., 2020].

Se ha reportado que el TiO_2 tiene actividad antibacteriana contra *E. coli* y *S. aureus* independientemente de su fase cristalina, anatasa o rutilo, dañando la pared celular y la membrana citoplasmática de las bacterias, lo que provoca la salida de contenido celular

y/o el ingreso de las partículas, además de liberar radicales -OH que atacan las enzimas y el ADN bacteriano [Vargas Urbano, 2005].



Figura 21. Ensayo de difusión en disco en agar Mueller-Hinton de los materiales a) Z500, b) ZQ, c) T570 y d) TQ a concentraciones de la 1 – 7 de 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562 y 0.781 mg/mL contra *Staphylococcus aureus*. C-, agua destilada estéril; C+ amikacina ($0.4 \mu\text{g/mL}$).

Trabajos previos han reportado que las nanopartículas de ZnO, TiO₂ y SiO₂ tienen actividad inhibitoria contra las células bacterianas. La eficacia del TiO₂ puede variar según las condiciones de síntesis [Dikshit et al., 2021]. La toxicidad de estos materiales se sugiere que es provocado por los iones metálicos disueltos al contacto con la membrana celular [Ameen et al., 2021]. Asimismo, el tamaño de las partículas puede

generar la formación de radicales libres de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) [Dikshit et al., 2021; Ameen et al., 2021].

Los halos de inhibición obtenidos para cada material se reportan en la Tabla 5. El diámetro correspondiente a los discos de papel filtro es de 6 mm.

Tabla 8. Actividad inhibitoria (mm) de las nanopartículas de Z500 y ZQ a diferentes concentraciones suspendidas en agua destilada contra *Staphylococcus aureus*; empleando la técnica de difusión en disco.

MATERIAL	CÓDIGO	CONCENTRACIÓN [mg/mL]	HALO DE INHIBICIÓN [mm]
Z500	Z1	50	13.7
	Z2	25	12.5
	Z3	12.5	12
	Z4	6.25	9.3
	Z5	3.125	8.9
ZQ	ZQ1	50	9.1
	ZQ2	25	8.6

De acuerdo con los resultados de diámetro de inhibición en la Tabla 5, se observa el efecto de la incorporación del quitosano en el material Z500, debido a que, aunque coinciden en concentraciones que tienen actividad inhibitoria, estos halos presentados son de menor diámetro con respecto a los del material puro (sin quitosano) lo cual se atribuye a la formación de enlaces entre los grupos funcionales de los OM y el biopolímero [Mizwari et al., 2020], la modificación en la estructura cristalina [59] y la formación de una capa de quitosano alrededor del ZnO [Smith, 2018; Guerra Morán, 2022] observados en los resultados de caracterización de los materiales en cuestión.

4.2.2 Difusión en pozo.

Adicionalmente, se realizó la prueba antimicrobiana de difusión en pozo de los materiales contra las bacterias *P. aeruginosa* (Figura 22) y *E. coli* (Figura 23), como modelos de bacterias Gram negativas, y *S. aureus*, como modelo de bacteria Gram positiva; reportando solamente los resultados de *P. aeruginosa*, debido a que en ambos

casos se presentó el mismo comportamiento. Los diámetros de los pozos ubicados en el agar son de 6 mm.

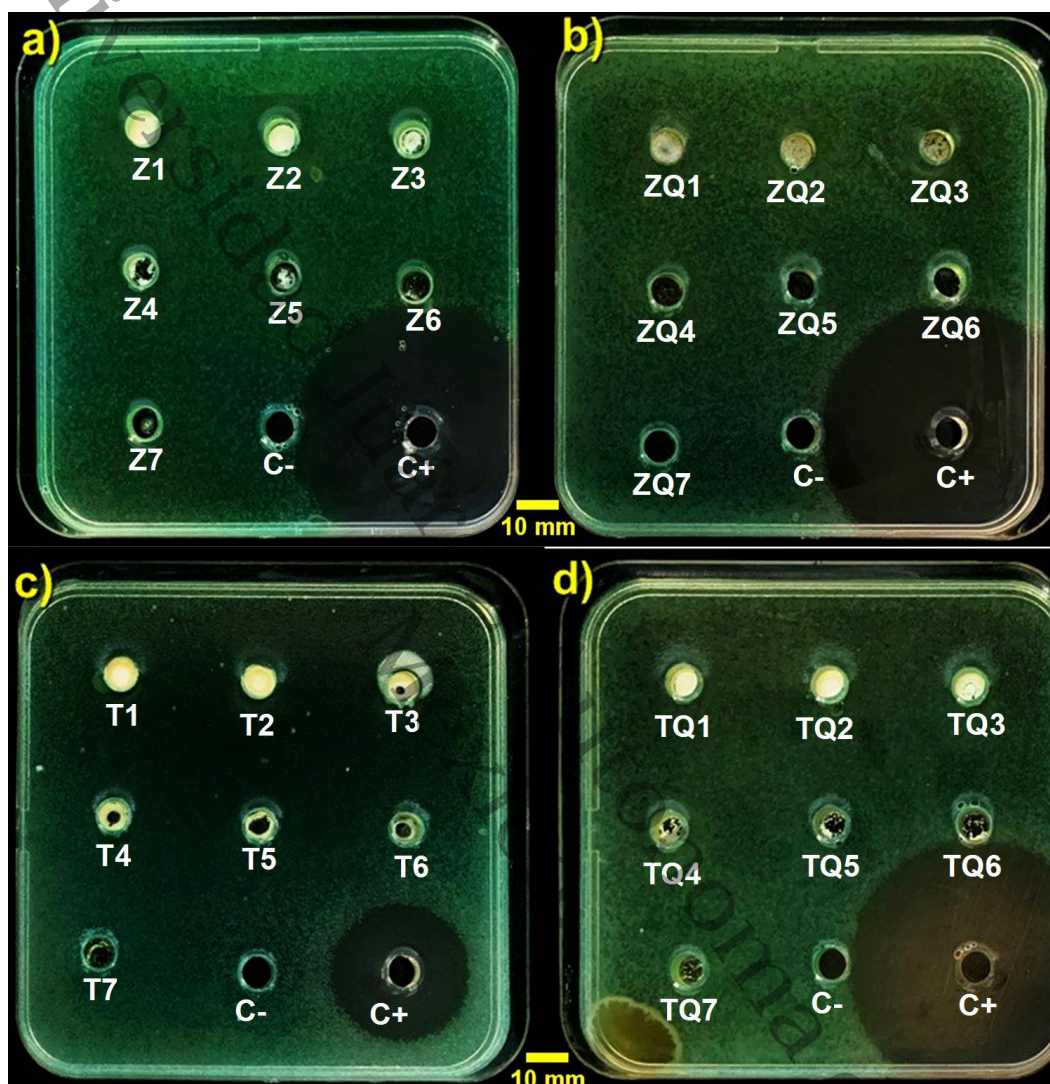


Figura 22. Ensayo de difusión en pozo de los materiales a) Z500, b) ZQ, c) T570 y d) TQ [50, 25, 12.5, 6.25, 3.12, 1.56 y 0.78 mg/mL] contra *Pseudomonas aeruginosa*. C- agua destilada estéril y C+ amikacina [0.4 $\mu\text{g/mL}$].

Esta metodología permite una interacción directa de los materiales (Z500, ZQ, T570 y TQ) suspendidos con las células bacterianas, distribuidas en el medio de cultivo agarizado [Yu et al., 2016]. A pesar de ello, y similar a lo encontrado en el ensayo en difusión en disco, no se registraron halos de inhibición contra las bacterias Gram negativas.

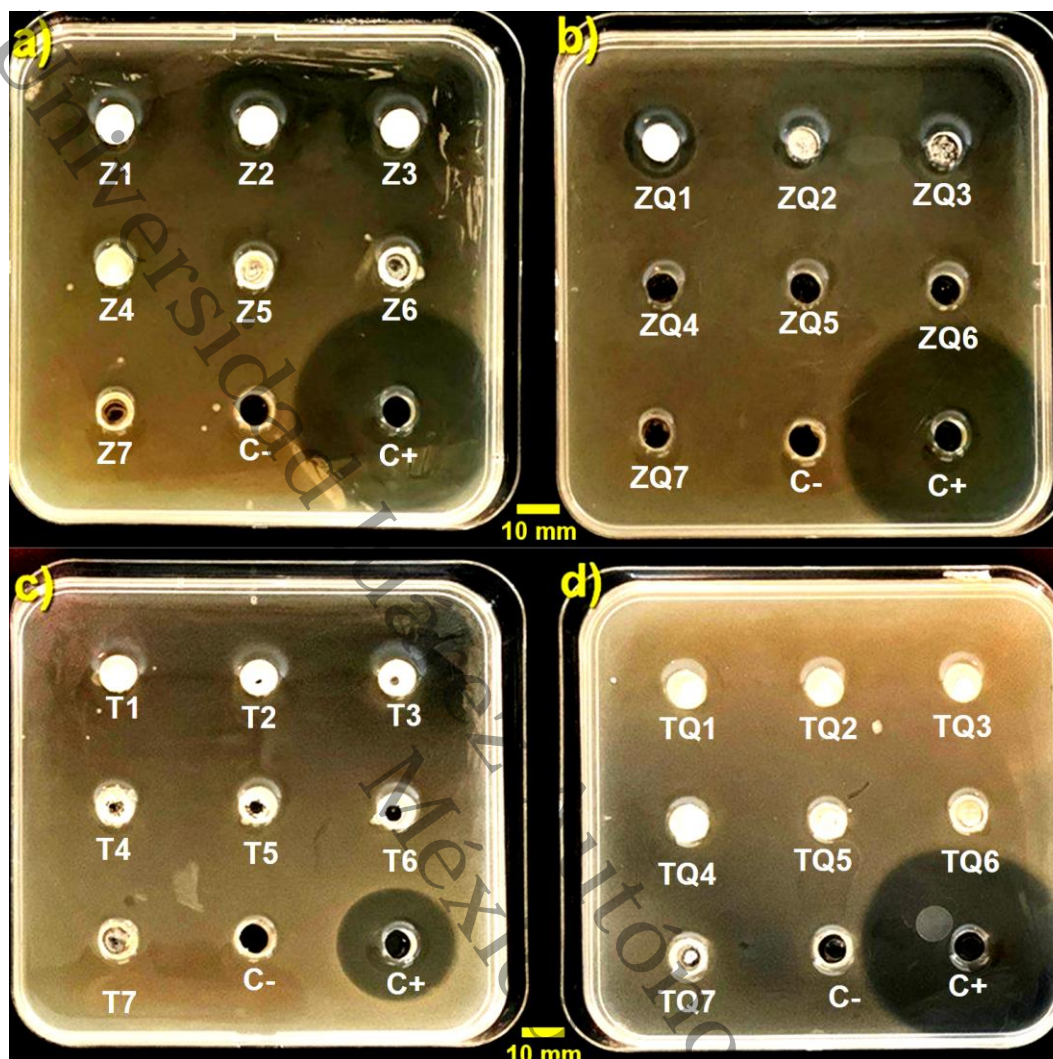


Figura 23. Ensayo de difusión en pozo de los materiales a) Z500, b) ZQ, c) T570 y d) TQ [40, 20, 10, 5, 2.5, 1.25 y 0.625 mg/mL] contra *Staphylococcus aureus*. C- agua destilada estéril; C+ amikacina [0.4 $\mu\text{g/mL}$].

P. aeruginosa (Figura 22) y *E. coli* (no mostrado). En la Figura 23 se observan los resultados de la inhibición contra la cepa *P. aeruginosa* de los materiales Z500, ZQ, T570 y TQ. Bajo esta metodología, se observó un halo de inhibición por la interacción del material Z500 con las células bacterianas. A pesar de que el material se precipita en el fondo del pozo, se encontró una mejor actividad antibacteriana debido a la interacción directa entre el agar y las nanopartículas suspendidas a concentraciones en 100 μL [Yu et al., 2016]. Los halos obtenidos mediante este ensayo bacteriológico se presentan en la Tabla 6.

Contra *S. aureus*, se obtuvieron resultados positivos para los materiales Z500 y ZQ hasta las concentraciones de 5 y 10 mg/mL , respectivamente (Figura 23), encontrando

un incremento en los diámetros de los halos de inhibición de 16 y 12 mm, respectivamente (Tabla 6), lo que puede deberse a la mayor área de contacto y disponibilidad de las partículas [Di Bonaventura et al., 2002; Redelinghuys, 2012]. El diámetro promedio de los halos de inhibición del antibiótico fue de 36 mm.

Tabla 9. Actividad inhibitoria (mm) de las nanopartículas de Z500 a diferentes concentraciones suspendidas en agua destilada contra *Pseudomonas aeruginosa*; empleando la técnica de difusión en pozo.

MATERIAL	CÓDIGO	CONCENTRACIÓN [mg/mL]	HALO DE INHIBICIÓN [mm]
Z500	Z1	50	7
	Z2	25	5
	Z3	12.5	4
	Z4	6.25	4
	Z5	3.12	3

La actividad del ZnO contra *S. aureus* se observó en ambas técnicas, esto puede atribuirse a la interacción entre el ZnO y la carga superficial de la bacteria Gram positiva que posee una carga superficial negativa debido al peptidoglicano en su pared celular (-35.4 mV). Esto facilita la adhesión de las nanopartículas a la superficie celular promoviendo así su actividad antibacteriana. Esta adhesión resulta en la alteración de la permeabilidad de la membrana, impide el transporte de nutrientes esenciales, la generación de ROS y daños mecánicos en la pared celular [Mía et al., 2018].

La ausencia de actividad de los materiales sobre las Gram negativas puede deberse a su compleja pared celular y la capa de lipopolisacáridos y proteínas que actúan como una barrera impermeable a compuestos antimicrobianos y moléculas grandes.

Además, se sabe que, las bacterias Gram negativas desarrollan resistencia a nuevos antibióticos debido a la existencia de sistemas de reflujos más eficientes que permiten la rápida expulsión de sustancias antimicrobianas [Pérez y Mota, 2006].

Tabla 10. Actividad inhibitoria (mm) de las nanopartículas Z500 y ZQ a diferentes concentraciones suspendidas en agua destilada contra *Staphylococcus aureus*; evaluando la técnica de inhibición en pozo.

MATERIAL	CÓDIGO	CONCENTRACIÓN [mg/mL]	HALO DE INHIBICIÓN [mm]
Z500	Z1	50	10
	Z2	25	9
	Z3	12.5	8
	Z4	6.25	6
	Z5	3.12	4
ZQ	ZQ1	50	5
	ZQ2	25	2.5
	ZQ3	12.5	2

4.2.3 Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó con la técnica de microdilución en pozo de los materiales Z500, ZQ, T570 y TQ contra *S. aureus* y *E. coli*, Figura 24.

Tabla 11. Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de las nanopartículas de Z500 y ZQ a diferentes concentraciones suspendidas en agua destilada contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.

MATERIAL	<i>S. aureus</i> [mg/mL]	<i>E. coli</i> [mg/mL]
ZQ	25	50
Z500	12.5	50

La actividad antimicrobiana se registró al igual que en las técnicas anteriores, solamente con aquellos materiales que contienen ZnO, ya sea Z500 o ZQ. A diferencia de los resultados obtenidos en las técnicas con medio de cultivo agarizado, con esta técnica se observó inhibición de *E. coli* a una concentración de 50 mg/mL (Figura 24b). Mientras que para *S. aureus* se requirió una menor concentración del Z500 al ZQ. En la Figura 24a) se observa la viabilidad celular después de la tinción con TTC, encontrando que la concentración mínima inhibitoria (CMI) del material Z500 es de 12.5 mg/mL mientras que para el ZQ se requiere una mayor concentración (25 mg/mL) para la

inhibición de las células bacterianas, esto por lo mencionado anteriormente, la interferencia del biopolímero en el óxido metálico. Cabe mencionar que la técnica de difusión en agar tiene mejores resultados que la de microdilución (Tabla 7).

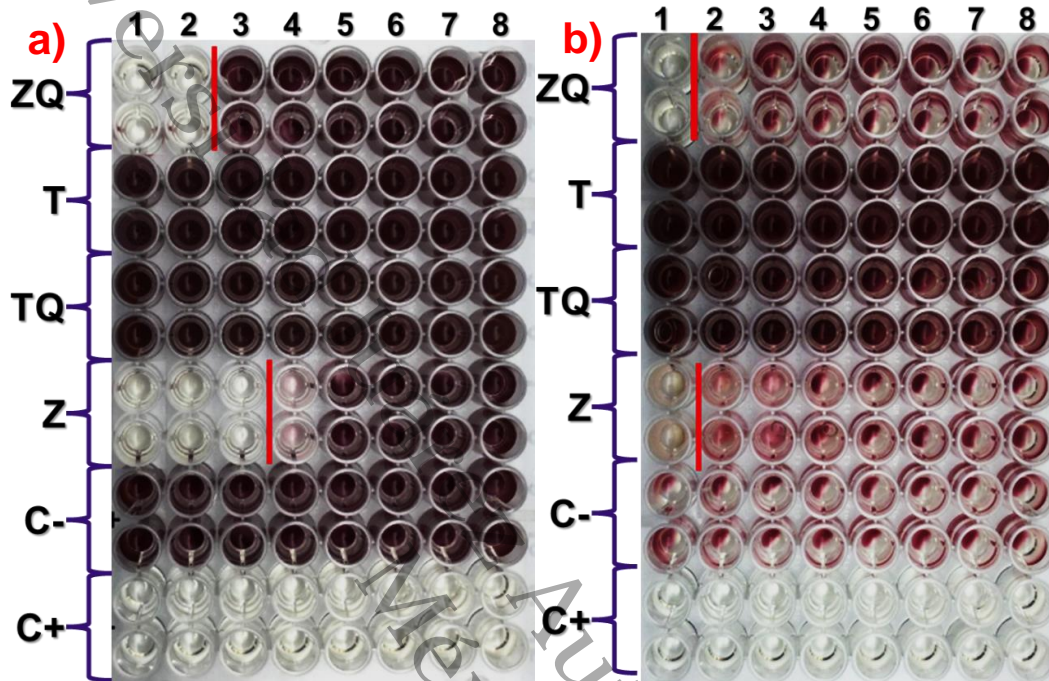


Figura 24. Determinación de la Concentración Mínima Inhibitoria de los materiales Z500, ZQ, T570 y TQ. Las concentraciones se numeraron de 1-8, siendo en ese orden 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562 y 0.781 mg/mL . C- agua destilada estéril. C+ amikacina [$0.4 \mu\text{g}/\text{mL}$] contra las bacterias a) *Staphylococcus aureus* y b) *Escherichia coli*.

CAPÍTULO V: CONCLUSIONES.

La calcina de ZnO a 500 °C (Z500) exhibe una estructura cristalina hexagonal tipo wurtzita, sin fases adicionales, confirmado por la ausencia de picos adicionales en los difractogramas. Esto indica que el material es puro y cristalino. Utilizando la ecuación de Scherrer, se determinó que el tamaño del cristalito del Z500 es de 16.3 nm, sugiriendo un crecimiento anisotrópico de las partículas. Al incorporar quitosano (ZQ), el tamaño del cristalito disminuyó ligeramente a 15.9 nm, lo que indica una mínima influencia del quitosano en el tamaño de los cristalitos.

En cuanto a la energía de banda prohibida (E_g), el Z500 presentó un valor de 3.25 eV, ligeramente inferior al valor reportado en la literatura (3.32 eV), mientras que, en el ZQ, la E_g disminuyó a 3.13 eV. Esta reducción se puede atribuir a una mayor presencia de defectos y una menor ordenación de los átomos, debido a la interacción con el quitosano, que introduce desorden en la estructura cristalina.

Tanto el Z500 como el ZQ presentan una isoterma de tipo IV(a), característica de materiales mesoporosos, y la presencia de macroporos se observa en presiones relativas mayores a 0.9. El Z500 tiene un área específica de 31.74 m²/g, con una distribución bimodal de tamaño de poro, con un promedio de 4.91 nm. La incorporación del quitosano reduce significativamente el área específica del ZQ a 6 m²/g y el tamaño promedio de poro a 3.8 nm. Esta reducción se debe a la obstrucción de los poros por el quitosano, que forma una capa que bloquea los poros del ZnO.

El tamaño hidrodinámico del Z500 es de 700 nm, con una distribución bimodal. En el ZQ, la distribución se estrecha, pero el índice de polidispersión (PDI) aumenta de 0.248 a 0.293, lo que indica una mayor variabilidad en el tamaño de las partículas debido a la presencia del quitosano. El potencial zeta del Z500 es de -35.4 mV; lo que sugiere una superficie electronegativa. En el ZQ, este valor disminuye a 6 mV, indicando una mayor electropositividad en la superficie, atribuida a la neutralización parcial de las cargas negativas por el quitosano.

La incorporación de quitosano y extracto de lirio acuático en la síntesis de TiO₂ afecta significativamente sus propiedades morfológicas y estructurales. Esta interacción induce cambios en el tamaño de cristalito y la distribución del tamaño de poro del material.

Por ejemplo, el TiO_2 puro presenta una alta área superficial ($84.46 \text{ m}^2/\text{g}$), lo que favorece la adsorción y la interacción con moléculas bacterianas. Sin embargo, al incorporar quitosano, el área específica se reduce a $46.97 \text{ m}^2/\text{g}$ debido al recubrimiento del óxido metálico y la formación de agregados. Por su parte, la presencia de extracto de lirio acuático puede aumentar o disminuir el área específica, dependiendo de su concentración y método de síntesis. Esta variabilidad puede ser aprovechada para optimizar el material en distintas aplicaciones.

La isoterma tipo IV(a) con histéresis H2(b) observada en el TiO_2 puro indica una estructura porosa con mesoporos y algunos macroporos, lo cual facilita la difusión de moléculas y mejora la capacidad de adsorción del material. En el material compuesto TQ, se observa una distribución del tamaño de poro más amplia y poros más grandes, lo cual resultó beneficioso para aplicaciones donde se requiere una mayor difusión de sustancias.

La banda de absorción característica del TiO_2 y su energía de banda prohibida (E_g) son afectadas por la presencia de defectos y vacancias en la red cristalina. La inclusión de extractos vegetales puede modificar estas propiedades ópticas, un aspecto crucial para aplicaciones fotocatalíticas y antibacterianas.

En cuanto a la distribución del tamaño de partículas, el TiO_2 puro presenta una distribución monomodal con un índice de polidispersión (PDI) bajo, indicando una distribución homogénea. Sin embargo, al combinarse con quitosano, la distribución se vuelve bimodal con un PDI mayor, sugiriendo agregación de partículas. Además, el potencial zeta cambia de -29.7 mV para el TiO_2 puro a 21.5 mV para el material compuesto, lo que indica una mayor estabilidad coloidal en el material puro en comparación con el material compuesto.

Estos cambios en las propiedades morfológicas y estructurales, inducidos por la incorporación de quitosano y extracto de lirio acuático, demuestran la complejidad y el potencial para la optimización de materiales compuestos de TiO_2 para aplicaciones específicas, como las antibacterianas y fotocatalíticas.

Los materiales evaluados (Z500, ZQ, T570 y TQ) no presentaron actividad antimicrobiana contra las bacterias Gram negativas *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli* en la mayoría de las pruebas, salvo una excepción con *E. coli* a una

alta concentración de Z500 (50 mg/mL). Esto se debe a la compleja estructura de la pared celular de las bacterias Gram negativas que actúa como una barrera impermeable y a la eficiencia de sus sistemas de reflujo para expulsar sustancias antimicrobianas. El ZnO puro (Z500) mostró una significativa actividad antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus* (una bacteria Gram positiva), con halos de inhibición que varían de 13.7 mm a 11.28 mm en concentraciones de 50 mg/mL y 3.12 mg/mL, respectivamente.

La adición de quitosano (ZQ) disminuyó la actividad antimicrobiana del ZnO, probablemente debido a la reducción en la liberación de iones de zinc causada por la formación de una capa polimérica de quitosano alrededor del ZnO. La incorporación de quitosano en los materiales de ZnO reduce su eficacia antimicrobiana. Los diámetros de los halos de inhibición para ZQ fueron menores comparados con el ZnO puro, lo cual se atribuye a la formación de enlaces entre los grupos funcionales de los materiales y el quitosano, así como a la modificación en la estructura cristalina del ZnO. La metodología de difusión en agar mostró mejores resultados en comparación con la microdilución, especialmente para las pruebas contra *S. aureus*. Las técnicas basadas en agar permiten una mayor interacción directa entre las nanopartículas y las células bacterianas, lo que podría explicar los mayores diámetros de los halos de inhibición observados. La actividad antimicrobiana del ZnO contra *S. aureus* se atribuye a la interacción entre las nanopartículas de ZnO y la carga superficial negativa de la pared celular bacteriana, lo que facilita la adhesión y la posterior alteración de la permeabilidad de la membrana.

CAPÍTULO VI: RECOMENDACIONES Y PERSPECTIVAS

Derivado de los resultados no concluyentes de la actividad microbiológica del quitosano en los compositos, se proponen las siguientes recomendaciones:

1. Variar el porcentaje de extracto de lirio acuático, así como el precursor de zinc y titanio respectivamente, para evaluar el efecto de estas variables en las propiedades estudiadas en esta investigación.
2. Emplear quitosano de distintos pesos moleculares en el composito y estudiar su efecto.
3. Probar otros microorganismos, como hongos y levaduras, para verificar si los materiales estudiados poseen actividad antifúngica.
4. Someter a fotoactivación las nanopartículas, ya sea de ZnO y TiO₂.

REFERENCIAS

- Acini-Vazquez A. y Hernández-Rodríguez D., Instituto de Ecología AC, 2023 [en línea].
Accesado el: 18 octubre 2023. URL: Bacterias... la otra historia (inecol.mx)
- Admin. (2021, 12 marzo). Bacterias en el agua: ¿cuáles son las más habituales? ¿nos deben preocupar? - Aconsa. Aconsa. <https://aconsa-lab.com/bacterias-en-el-agua/>
- Al-Askar, A. A., Hashem, A. H., Elhussieny, N. I., & Saied, E. (2023). Green Biosynthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using *Pluchea indica* Leaf Extract: Antimicrobial and Photocatalytic Activities. *Molecules/Molecules Online/Molecules Annual*, 28(12), 4679. <https://doi.org/10.3390/molecules28124679>
- Ali, K., Dwivedi, S., Azam, A., Saquib, Q., Al-Said, M. S., Alkhedhairi, A. A., & Musarrat, J. (2016). Aloe vera extract functionalized zinc oxide nanoparticles as nanoantibiotics against multi-drug resistant clinical bacterial isolates. *Journal of Colloid and Interface Science*, 472, 145-156. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2016.03.021>
- Al-Kadi, F. K., Abdulkareem, J. F., & Azhdar, B. A. (2023). Chitosan -TiO₂ Hybrid Nano-Composite Impregnated in Type A -2186 Maxillofacial Silicon Subjected to Different Accelerated Aging Conditions: The Color Stability Evaluation. *N. I.* <https://doi.org/10.20944/preprints202307.1336.v1>
- Almeida Ramón, L. (2017). Síntesis y evaluación de la actividad citotóxica in vitro de nanopartículas de ZnO funcionalizado con moléculas orgánicas, para el tratamiento de cáncer [Disertación de maestría]. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ingeniería y Arquitectura.
- Al-Shabib, N. A., Husain, F. M., Qais, F. A., Ahmad, N., Khan, A., Alyousef, A. A., Arshad, M., Noor, S., Khan, J. M., Alam, P., Albalawi, T. H., & Shahzad, S. A. (2020). Phyto-Mediated Synthesis of Porous Titanium Dioxide Nanoparticles from *Withania somnifera* Root Extract: Broad-Spectrum Attenuation of Biofilm and Cytotoxic Properties Against HepG2 Cell Lines. *Frontiers In Microbiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.01680>

- Alvia, A. M., Villamar, L. A. M., Lucas, M. R. E., Solórzano, F. A. V., Valdivieso, P. A. V., Mendoza, L. M. M., Holguín, D. M. C., Intriago, M. L. C., Pinoargote, F. R. M., Reyes, J. M. P., Cuenca, M. F. V., Jácome, B. A. C., Saltos, S. P. U., Vásconez, J. P. I., Espinoza, S. X. A., Arteaga, C. L. V., Suárez, C. A. E., Márquez, M. C. V., & Bejarano, M. J. T. (2019). Microbiología y salud. En Editorial Científica 3Ciencias eBooks. <https://doi.org/10.17993/med.2019.62>
- Amanulla, A. M., & Sundaram, R. (2019). Green synthesis of TiO₂ nanoparticles using orange peel extract for antibacterial, cytotoxicity and humidity sensor applications. *Materials Today: Proceedings*, 8, 323-331. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.02.118>
- Ameen, F., Alsamhary, K., Alabdullatif, J. A., & ALNadhari, S. (2021). A review on metal-based nanoparticles and their toxicity to beneficial soil bacteria and fungi. *Ecotoxicology And Environmental Safety*, 213, 112027. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112027>
- Aminuzzaman, M., Ying, L. P., Goh, W., & Watanabe, A. (2018). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using aqueous extract of Garcinia mangostana fruit pericarp and their photocatalytic activity. *Bulletin of Materials Science/Bulletin of Materials Science*, 41(2). <https://doi.org/10.1007/s12034-018-1568-4>
- Anbuvannan, M., Ramesh, M., Viruthagiri, G., Shanmugam, N., & Kannadasan, N. (2015). Synthesis, characterization, and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles prepared by biological method. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 143, 304-308. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2015.01.124>
- Anusuya, N., Pragathiswaran, C., & Mary, J. V. (2021). A potential catalyst - TiO₂/ZnO based chitosan gel beads for the reduction of nitro-aromatic compounds aggregated sodium borohydride and their antimicrobial activity. *Journal Of Molecular Structure*, 1236, 130197. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2021.130197>
- Asgari-Targhi, G., Iranbakhsh, A., Ardebili, Z. O., & Tooski, A. H. (2021). Synthesis and characterization of chitosan encapsulated zinc oxide (ZnO) nanocomposite and its

- biological assessment in pepper (*Capsicum annuum*) as an elicitor for in vitro tissue culture applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 189, 170-182. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.08.117>
- ASTM E2149-01, Standard Test Method for Determining the Antimicrobial Activity of Immobilized Antimicrobial Agents Under Dynamic Contact Conditions, ASTM International, West Conshohocken, PA, 2001.
- Avelizapa, N. G. R., Infante, P. E. R., Del Rosario Dávila Lezama, M., Hernández, R. C. L., & Avelizapa, L. I. R. (2020). Actividad antimicrobiana de nanopartículas de plata contra bacterias fitopatógenas. *Revista Biológico-Agropecuaria Tuxpan*, 8(2), 1-7. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v8i2.173>
- Bandeira, M., Giovanela, M., Roesch-Ely, M., Devine, D. M., & Da Silva Crespo, J. (2020). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A review of the synthesis methodology and mechanism of formation. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, 15, 100223. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2020.100223>
- Baquero, F., & Levin, B. R. (2020). Proximate and ultimate causes of the bactericidal action of antibiotics. *Nature Reviews. Microbiology*, 19(2), 123-132. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-00443-1>
- Barrett, E. P., Joyner, L. G., & Halenda, P. P. (1951). The Determination of Pore Volume and Area Distributions in Porous Substances. I. Computations from Nitrogen Isotherms. *Journal of the American Chemical Society*, 73(1), 373-380. <https://doi.org/10.1021/ja01145a126>
- Berlanga, M. (2008). Brock Biology of microorganisms 12th edn. International *Microbiology*, 11(1), 65-66. <https://doi.org/10.2436/im.v11i1.9650>
- Berne, B. J., & Pecora, R. (1976). Dynamic Light Scattering: With Applications to Chemistry, Biology, and Physics. <http://ci.nii.ac.jp/ncid/BA20818279>
- Bhushan, B., Luo, D., Schrick, S. R., Sigmund, W., & Zauscher, S. (2014). Handbook of Nanomaterials Properties. En Springer eBooks. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-31107-9>

- Bhuyan T., Mishra M. y Pal S., 2018. Preparation and characterization of ZnO/chitosan nanocomposite: Study on antimicrobial and optical properties. *INT J BIOL MACROMOL.*
- Borja Borja, & Rojas Oviedo. (2020). Nanomaterials: Synthesis methods. *Polo del Conocimiento*, 48(5).
- Bragg, W. H., & Bragg, W. L. (1913). The reflection of X-rays by crystals. Proceedings of the Royal Society of London. *Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character*, 88(605), 428-438. <https://doi.org/10.1098/rspa.1913.0040>
- Bretón J., de la Real E. y de Ciencias A. C. Las interacciones moleculares.
- Catarina.udlap.mx. (2021). Antecedentes. [en línea] Disponible en: [Consultado el 24 Noviembre 2021].
- Chauhan, G., Malik, P., & Deep, A. (2023). Morphological, dielectric, electro-optic and photoluminescence properties of titanium oxide nanoparticles enriched polymer stabilized cholesteric liquid crystal composites. *Journal Of Molecular Liquids*, 376, 121406. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2023.121406>
- Chen, J., Li, Q., & Yang, G. (2016). Porous ZnO with controllable pore size and hierarchical structure; synthesis, characterization, and applications. *Journal Of Materials Chemistry A*, 8(17).
- Chen, X., & Mao, S. S. (2007). Titanium Dioxide Nanomaterials: Synthesis, Properties, Modifications, and Applications. *Chemical Reviews*, 107(7), 2891-2959. <https://doi.org/10.1021/cr0500535>
- Cullity B. y Stock S. (2014). Elements of X-ray diffraction. 3rd ed. Borchers J., LeBeau J. y Egami T. Introduction to the Theory of X-ray and Neutron Scattering (2nd ed.). Oxford University Press.
- Cullity, B. D. (1956). Elements of X-ray diffraction. <http://cds.cern.ch/record/821266>
- Dakrouy, G. A., El-Shazly, E. A. A., & Hassan, H. S. (2021). Preparation and characterization of ZnO/Chitosan nanocomposite for Cs(I) and Sr(II) sorption from

- aqueous solutions. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, 330(1), 159-174. <https://doi.org/10.1007/s10967-021-07935-1>
- Dananjaya, S., Kumar, R. S., Yang, M., Nikapitiya, C., Lee, J., & De Zoysa, M. (2018). Synthesis, characterization of ZnO-chitosan nanocomposites and evaluation of its antifungal activity against pathogenic *Candida albicans*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 108, 1281-1288. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.11.046>
- Das, A., SK, N., & Nair, R. G. (2019). Influence of surface morphology on photocatalytic performance of zinc oxide: A review. *Nanostructures & Nano-objects*, 19, 100353. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2019.100353>
- De Jesús Rodríguez Ortiz, M., Valencia, R. H., Parra, G. A., & Morales, P. A. L. (2021). Síntesis verde de materiales nanoestructurados de ZnO en la degradación de contaminantes orgánicos por medio de la fotocatalisis heterogénea. *Revista de Ciencias Tecnológicas*, 4(4), 299-313. <https://doi.org/10.37636/recit.v44299313>
- Del Agua, T. N. (2022, 6 octubre). ¿Qué es la contaminación bacteriológica del agua? Tratamiento Natural del Agua. <https://aguanatural.com/que-es-la-contaminacion-bacteriologica-del-agua-2/>
- Di Bonaventura, G., D'Antonio, D., Catamo, G., Ballone, E., & Piccolomini, R. (2002). Comparison of Etest, agar dilution, broth microdilution and disk diffusion methods for testing in vitro activity of levofloxacin against *Staphylococcus* spp. isolated from neutropenic cancer patients. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 19(2), 147-154. [https://doi.org/10.1016/s0924-8579\(01\)00483-6](https://doi.org/10.1016/s0924-8579(01)00483-6)
- Diario Oficial de la Federación, 2006. Calidad del agua. Detección y Enumeración de Organismos Coliformes, Organismos Coliformes Termotolerantes y *Escherichia coli* presuntiva - Método de Filtración en Membrana.
- Díaz-Dávila N., Galindo A. y Castañeda-Facio A., 2020. Nanopartículas de TiO₂: Una revisión. 64.

- Dikshit, P. K., Kumar, J., Das, A. K., Sadhu, S., Sharma, S., Singh, S., Gupta, P. K., & Kim, B. S. (2021). Green Synthesis of Metallic Nanoparticles: Applications and Limitations. *Catalysts*, 11(8), 902. <https://doi.org/10.3390/catal11080902>
- Dukhin A. y Goetz P. (2010). Fundamentals of interface and colloid science. In *Studies in Interface Science* (Vol. 24). Elsevier.
- Dyshlyuk, L., Babich, O., Ivanova, S., Vasilchenko, N., Atuchin, V., Korolkov, I., Russakov, D., & Prosekov, A. (2020). Antimicrobial potential of ZnO, TiO₂ and SiO₂ nanoparticles in protecting building materials from biodegradation. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 146, 104821. <https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2019.104821>
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2017. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0, 2021.
- Fox, M., & Bertsch, G. F. (2002). Optical Properties of Solids. *American Journal of Physics*, 70(12), 1269-1270. <https://doi.org/10.1119/1.1691372>
- Frickenstein, A. N., Hagood, J. M., Britten, C. N., Abbott, B. S., McNally, M. W., Vopat, C. A., Patterson, E. G., MacCuaig, W. M., Jain, A., Walters, K. B., & McNally, L. R. (2021). Mesoporous Silica Nanoparticles: Properties and Strategies for Enhancing Clinical Effect. *Pharmaceutics*, 13(4), 570. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13040570>
- Gianetti. (2017). Cinética de nucleación y cristalización de líquidos tetraédricos [Disertación de doctorado]. Universidad de Buenos Aires. Facultad de Ciencias Exactas y Naturales.
- Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Michael, J. R., Ritchie, N. W., Scott, J. H. J., & Joy, D. C. (2018). Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis. En Springer eBooks. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6676-9>
- Gómez-Garzón, M. (2018). Nanomateriales, Nanopartículas y Síntesis verde. *Repertorio de Medicina y Cirugía/Repertorio de Medicina y Cirugía*, 27(2). <https://doi.org/10.31260/repertmedcir.v27.n2.2018.191>

- Guerra Moran J. (2022). Compositos de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc contra bacterias aisladas de aguas residuales del procesamiento de langostino.
- Guo, J., Mao, J., Zhang, Y., & Huang, Y. (2015). Synthesis of TiO₂ nanoparticles in aqueous extract of lotus leaf for photocatalytic degradation of organic pollutants. *Journal of Environmental Science*, 30.
- Gutiérrez-Morales, A., Velázquez-Ordoñez, V., Khusro, A., Salem, A. Z., Estrada-Zúñiga, M. E., Salem, M. Z., Valladares-Carranza, B., & Burrola-Aguilar, C. (2017). Anti-staphylococcal properties of Eichhornia crassipes, Pistacia vera, and Ziziphus amole leaf extracts: Isolates from cattle and rabbits. *Microbial Pathogenesis*, 113, 181-189. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.10.015>
- Han, X., Liao, F., Zhang, Y., Han, X., Xu, C., & Chen, H. (2019). Solvothermal preparation of zinc cobaltite mesoporous microspheres for high-performance electrochemical supercapacitors. *Journal of Alloys and Compounds*, 781, 425-432. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.12.079>
- Henao, C. P. B., Montes, V. H., & Sierra, R. B. (2016a). Nanopartículas para materiales antibacterianos y aplicaciones del dióxido de titanio. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas*, 35(4), 387-402. <http://scielo.sld.cu/pdf/ibi/v35n4/ibi09416.pdf>
- Hitkari, G., Singh, S., & Pandey, G. (2017). Structural, optical, and photocatalytic study of ZnO and ZnO–ZnS synthesized by chemical method. *Nanostructures & Nano-objects*, 12, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2017.08.007>
- Hojjati-Najafabadi, A., Davar, F., Enteshari, Z., & Hosseini-Koupaei, M. (2021). Antibacterial and photocatalytic behaviour of green synthesis of Zn_{0.95}Ag_{0.05}O nanoparticles using herbal medicine extract. *Ceramics International*, 47(22), 31617-31624. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2021.08.042>
- Hublikar, L. V., Ganachari, S. V., Raghavendra, N., Patil, V. B., & Banapurmath, N. R. (2021). Green synthesis silver nanoparticles via Eichhornia Crassipes leaves

- extract and their applications. *Current Research In Green And Sustainable Chemistry*, 4, 100212. <https://doi.org/10.1016/j.crgsc.2021.100212>
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer Disk Diffusion Susceptibility Test Protocol. *American Society for Microbiology*. <https://www.asmscience.org/content/education/protocol/protocol.3189>
- Jagathesan, G., & Rajiv, P. (2018). Biosynthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using *Eichhornia crassipes* leaf extract and assessing their antibacterial activity. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 13, 90-94. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.11.014>
- Jiang, Y., Xiong, Z., Huang, J., Yan, F., Yao, G., & Lai, B. (2022). Effective E. coli inactivation of core-shell ZnO@ZIF-8 photocatalysis under visible light synergize with peroxymonosulfate: Efficiency and mechanism. *Chinese Chemical Letters/Chinese Chemical Letters*, 33(1), 415-423. <https://doi.org/10.1016/j.ccllet.2021.06.058>
- Jiang, Zhang, Guo, Liu, Q., Yang, & Liu, J. (2015). Facile synthesis of mesoporous ZnO using water lily root extract as bio-template. *Microporous And Mesoporous Materials*, 216
- Kaewkam, P., Kanchanapaetnukul, A., Khamyan, J., Phadmanee, N., Lin, K. A., Kobwittaya, K., & Sirivithayapakorn, S. (2022b). UV-assisted TiO₂ photocatalytic degradation of virgin LDPE films: Effect of UV-A, UV-C, and TiO₂. *Journal Of Environmental Chemical Engineering*, 10(4), 108131. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.108131>
- Kang, Y., Kim, K., Cho, B., Kwak, Y., & Kim, J. (2020). Highly Sensitive Detection of Benzene, Toluene, and Xylene Based on CoPP-Functionalized TiO₂ Nanoparticles with Low Power Consumption. *ACS Sensors*, 5(3), 754-763. <https://doi.org/10.1021/acssensors.9b02310>
- Khalil, K. M., Baird, T., Zaki, M. I., El-Samahy, A. A., & Awad, A. M. (1998). Synthesis and characterization of catalytic titanias via hydrolysis of titanium (IV)

isopropoxide. *Colloids And Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 132(1), 31-44. [https://doi.org/10.1016/s0927-7757\(97\)00156-8](https://doi.org/10.1016/s0927-7757(97)00156-8)

Khan, A., Goepel, M., Lisowski, W., Łomot, D., Lisovytskiy, D., Mazurkiewicz-Pawlicka, M., Gläser, R., & Colmenares, J. C. (2021). Titania/chitosan–lignin nanocomposite as an efficient photocatalyst for the selective oxidation of benzyl alcohol under UV and visible light. *RSC Advances*, 11(55), 34996-35010. <https://doi.org/10.1039/d1ra06500a>

Laranjo, M., Morawski, F., Dias, S., Benvenuti, E., Arenas, L., & Costa, T. (2019). Silica/Titania Graphite Composite Modified with Chitosan and Tyrosinase Employed as a Sensitive Biosensor for Phenolic Compounds. *Journal of the Brazilian Chemical Society*. <https://doi.org/10.21577/0103-5053.20190190>

Laura, M., Santelices, J. C., & Cabrera, S. (2018). TOHAC (Titanium - Oxo- Hidroxo- Atrade Cluster): Nucleación en Sistema Acuoso. *Revista Boliviana de Química*, 35(2), 64-72. http://www.scielo.org.bo/pdf/rbq/v35n2/v35n2_a03.pdf

Li S., Zhang X. y Jiang Y. (2018). Size Distribution Analysis of Nanoparticles: Interplay Between Electron Microscopy and Light Scattering Techniques. *Small*. 14(2).

Li, P., Wang, X., Li, H., Yang, X., Zhang, X., Zhang, L., Ozaki, Y., Liu, B., & Zhao, B. (2018). Investigation of charge-transfer between a 4-mercaptobenzoic acid monolayer and TiO₂ nanoparticles under high pressure using surface-enhanced Raman scattering. *Chemical Communications*, 54(49), 6280-6283. <https://doi.org/10.1039/c8cc01850b>

Lin, H., Xiao, Y., Geng, A., Bi, H., Xu, X., Xu, X., & Zhu, J. (2022). Research Progress on Graphitic Carbon Nitride/Metal Oxide Composites: Synthesis and Photocatalytic Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 12979. <https://doi.org/10.3390/ijms232112979>

Lizasoain, J. (2022, 18 agosto). Bacterias beneficiosas para nuestro organismo. Canal Salud IMQ. Recuperado 18 de agosto de 2023, de <https://canalsalud.imq.es/blog/bacterias-beneficiosas>

- López, R., & Gómez, R. (2011). Band-gap energy estimation from diffuse reflectance measurements on sol-gel and commercial TiO₂: a comparative study. *Journal of Sol-gel Science and Technology*, 61(1), 1-7. <https://doi.org/10.1007/s10971-011-2582-9>
- Lyklema, J. (2005). *Fundamentals of Interface and Colloid Science. Vol. IV: Particulate Colloids*. Elsevier. <http://library.wur.nl/WebQuery/wurpubs/344298>
- Malvern Panalytical, 2019. *Dynamic Light Scattering (DLS) – An Introduction*. App Note.
- Marini, A., Berbenni, V., & Flor, G. (1979). Kinetic Parameters from Thermogravimetric Data. *Zeitschrift Für Naturforschung. A, A Journal of Physical Sciences*, 34(5), 661-663. <https://doi.org/10.1515/zna-1979-0523>
- Marroquín, G. U. F. (2005). *Microbiología: lo esencial y lo práctico*. <https://iris.paho.org/handle/10665.2/51601>
- Mendes, C. R., Dilarri, G., Forsan, C. F., De Moraes Ruy Sapata, V., Lopes, P. R. M., De Moraes, P. B., Montagnoli, R. N., Ferreira, H., & Bidoia, E. D. (2022). Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06657-y>
- Mía, R. J., Martínez, M. T. A., & Lara, P. D. L. (2018). Quitosano: actividad antimicrobiana y mecanismos de acción. *e-CUCBA*, 9, 17-23. <https://doi.org/10.32870/e-cucba.v0i9.98>
- Mizwari, Z. M., Oladipo, A. A., & Yilmaz, E. (2020). Chitosan/metal oxide nanocomposites: synthesis, characterization, and antibacterial activity. *International Journal Of Polymeric Materials*, 70(6), 383-391. <https://doi.org/10.1080/00914037.2020.1725753>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65(1-2), 55-63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Murphy, A. (2007). Band-gap determination from diffuse reflectance measurements of semiconductor films, and application to photoelectrochemical water-splitting. *Solar*

- Energy Materials & Solar Cells/Solar Energy Materials and Solar Cells*, 91(14), 1326-1337. <https://doi.org/10.1016/j.solmat.2007.05.005>
- Nabi, G., Majid, A., Riaz, A., Alharbi, T., Kamran, M. A., & Al-Habardi, M. (2021). Green synthesis of spherical TiO₂ nanoparticles using Citrus Limetta extract: Excellent photocatalytic water decontamination agent for RhB dye. *Inorganic Chemistry Communications/Inorganic Chemistry Communications (Online)*, 129, 108618. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108618>
- Nobbmann, U., Connah, M., Fish, B., Varley, P., Gee, C., Mulot, S., Chen, J., Zhou, L., Lu, Y., Sheng, F., Yi, J., & Harding, S. E. (2007). Dynamic light scattering as a relative tool for assessing the molecular integrity and stability of monoclonal antibodies. *Biotechnology & Genetic Engineering Reviews*, 24(1), 117-128. <https://doi.org/10.1080/02648725.2007.10648095>
- Ocampo, P. S., Lázár, V., Papp, B., Arnoldini, M., Wiesch, P. A. Z., Busa-Fekete, R., Fekete, G., Pál, C., Ackermann, M., & Bonhoeffer, S. (2014). Antagonism between Bacteriostatic and Bactericidal Antibiotics Is Prevalent. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(8), 4573-4582. <https://doi.org/10.1128/aac.02463-14>
- Oluwafemi, O. S., Anyik, J. L., Zikalala, N. E., & Sakho, E. H. M. (2019). Biosynthesis of silver nanoparticles from water hyacinth plant leaves extract for colourimetric sensing of heavy metals. *Nanostructures & Nano-objects*, 20, 100387. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2019.100387>
- Paradisi, E., Rosa, R., Baldi, G., Dami, V., Cioni, A., Lorenzi, G., & Leonelli, C. (2021). Effect of isopropanol co-product on the long-term stability of TiO₂ nanoparticle suspensions produced by microwave-assisted synthesis. *Chemical Engineering and Processing*, 159, 108242. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2020.108242>
- Pathinti, R. S., Gollapelli, B., Jakka, S. K., & Vallamkondu, J. (2021). Green synthesized TiO₂ nanoparticles dispersed cholesteric liquid crystal systems for enhanced optical and dielectric properties. *Journal Of Molecular Liquids*, 336, 116877. <https://doi.org/10.1016/j.molliq.2021.116877>

- Patricia, B. H. C., Vanessa, H. M., & Robison, B. S. (s. f.). Nanoparticles for antibacterial materials and titanium dioxide applications. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002016000400009&lng=en
- Pérez M. y Mota M. (2006). Morfología y estructura bacteriana. Temas de bacteriología y virología médica.
- Pourhashem, S., Duan, J., Zhou, Z., Ji, X., Sun, J., Dong, X., Wang, L., Guan, F., & Hou, B. (2021). Investigating the effects of chitosan solution and chitosan modified TiO₂ nanotubes on the corrosion protection performance of epoxy coatings. *Materials Chemistry and Physics*, 270, 124751. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2021.124751>
- Pragathiswaran, C., Smitha, C., Abbubakkar, B. M., Govindhan, P., & Krishnan, N. A. (2021). Synthesis and characterization of TiO₂/ZnO–Ag nanocomposite for photocatalytic degradation of dyes and anti-microbial activity. *Materials Today: Proceedings*, 45, 3357-3364. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.664>
- Raj, N. B., PavithraGowda, N., Pooja, O., Purushotham, B., Kumar, A., Sukrutha, S., Ravikumar, C., Nagaswarupa, H., Murthy, H. A., & Boppana, S. B. (2021). Harnessing ZnO nanoparticles for antimicrobial and photocatalytic activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 6, 100021. <https://doi.org/10.1016/j.jpap.2021.100021>
- Redelinghuys M., Ehlers M. y Dreyer A. (2012). Comparative study of disk diffusion and broth microdilution methods for antibiotic susceptibility testing of *Mycoplasma hominis*. *J CLIN MICROBIOL*.
- Reimer, L. (2014). Transmission Electron Microscopy: Physics of Image Formation and Microanalysis. <http://ci.nii.ac.jp/ncid/BA30358856>
- Ricardi, N. C., Arenas, L. T., Benvenuto, E. V., Hinrichs, R., Flores, E. E. E., Hertz, P. F., & Costa, T. M. H. (2021). High performance biocatalyst based on β -d-galactosidase immobilized on mesoporous silica/titania/chitosan material. *Food Chemistry*, 359, 129890. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129890>

- Riedel, K. (2020). The influence of chitosan functionalization on the adsorption properties of ZnO nanorods. *J COLLOID INTERF SCI*.
- Riverón B., 2022. Utilización de nanoestructuras de óxido de zinc (ZnO) como antimicrobianos. *Horticultura y Poscosecha*.
- Rodríguez-Jiménez, R., PanecatI-Bernal, Y., Carrillo-López, J., Méndez, Rojas, M., Romero-López, A., Pacio-Castillo, M., Vivaldo, I., Morales-Sánchez, A., Arce, R. D., Caram, J., Villanueva-Cab, J., & Alvarado, J. (2021). Influence of Ethanolic Plant Extracts on Morphology and Size Distribution of Sol-Gel Prepared TiO₂ Nanoparticles. *ChemistrySelect*, 6(16), 3958-3968. <https://doi.org/10.1002/slct.202100494>
- Romero-Serrano, A., & Pereira, J. (2020). Estado del arte: Quitosano, un biomaterial versátil. Estado del Arte desde su obtención a sus múltiples aplicaciones. *Revista INGENIERÍA UC*, 27(2), 118-135. <https://www.redalyc.org/journal/707/70764230002/html/>
- Rouquerol, F., Rouquerol, J., & Sing, K. S. W. (1998). Adsorption by Powders and Porous Solids: Principles, Methodology and Applications. <http://cds.cern.ch/record/1985543>
- Saad, A. H. A., Azzam, A. M., El-Wakeel, S. T., Mostafa, B. B., & El-Latif, M. B. A. (2018). Removal of toxic metal ions from wastewater using ZnO@Chitosan core-shell nanocomposite. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 9, 67-75. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2017.12.004>
- Salam, H. A., Sivaraj, R., & Venckatesh, R. (2014). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles from *Ocimum basilicum* L. var. purpurascens Benth-Lamiaceae leaf extract. *Materials Letters*, 131, 16-18. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.05.033>
- Šarić, A., Vrankić, M., Lützenkirchen-Hecht, D., Despotović, I., Petrović, Ž., Dražić, G., & Eckelt, F. (2022). Insight into the Growth Mechanism and Photocatalytic Behavior of Tubular Hierarchical ZnO Structures: An Integrated Experimental and

- Theoretical Approach. *Inorganic Chemistry*, 61(6), 2962-2979.
<https://doi.org/10.1021/acs.inorgchem.1c03905>
- Sethy, N. K., Arif, Z., Mishra, P. K., & Kumar, P. (2020). Green synthesis of TiO₂ nanoparticles from *Syzygium cumini* extract for photo-catalytic removal of lead (Pb) in explosive industrial wastewater. *Green Processing and Synthesis*, 9(1), 171-181. <https://doi.org/10.1515/gps-2020-0018>
- Shayegan, Z., Haghghat, F., & Lee, C. (2021). Anatase/brookite biphasic surface fluorinated Fe–TiO₂ photocatalysts to enhance photocatalytic removal of VOCs under visible and UV light. *Journal Of Cleaner Production*, 287, 125462. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2020.125462>
- Singh, T. A., Sharma, A., Tejwan, N., Ghosh, N., Das, J., & Sil, P. C. (2021). A state-of-the-art review on the synthesis, antibacterial, antioxidant, antidiabetic, and tissue regeneration activities of zinc oxide nanoparticles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 295, 102495. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2021.102495>
- Singh, T., Pal, D. B., Almalki, A. H., Althobaiti, Y. S., Alkhanani, M. F., Haque, S., Sharma, S., & Srivastava, N. (2022). Green synthesis of TiO₂ bionanocomposite using waste leaves of water hyacinth: Application in antibacterial activity of toilet bacteria *Serratia marcescens*. *Materials Letters*, 316, 132012. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2022.132012>
- Smith J. (2018). Interaction of ZnO with chitosan and its effect on the release of Zn ions and inhibition of bacterial growth. *Journal of Nanomaterials*.
- Smith, A. L. (1979). Applied Infrared Spectroscopy: Fundamentals Techniques and Analytical Problem-Solving. <https://ci.nii.ac.jp/ncid/BA09902462>
- Song, Y., Yin, F., Zhang, C., Guo, W., Han, L., & Yuan, Y. (2021). Three-Dimensional Ordered Mesoporous Carbon Spheres Modified with Ultrafine Zinc Oxide Nanoparticles for Enhanced Microwave Absorption Properties. *Nano-micro-Letters*, 13(1). <https://doi.org/10.1007/s40820-021-00601-x>

- Stanić, V., & Tanasković, S. B. (2020). Antibacterial activity of metal oxide nanoparticles. En Elsevier eBooks (pp. 241-274). <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-819943-5.00011-7>
- Stetefeld, J., McKenna, S. A., & Patel, T. R. (2016). Dynamic light scattering: a practical guide and applications in biomedical sciences. *Biophysical Reviews*, 8(4), 409-427. <https://doi.org/10.1007/s12551-016-0218-6>
- Stockert, J. C., Horobin, R. W., Colombo, L. L., & Blázquez-Castro, A. (2018). Tetrazolium salts and formazan products in Cell Biology: Viability assessment, fluorescence imaging, and labeling perspectives. *Acta Histochemica*, 120(3), 159-167. <https://doi.org/10.1016/j.acthis.2018.02.005>
- Su H. (2013). Synthesis and characterization of mesoporous Titania-Chitosan nanocomposites. *J SOL-GEL SCI TECHN.*
- Tabares, T., Hernández, J., Barrera, D., Gómez, A., Blanquisett, E., Vargas, A., Palacio, C., Arroyave, M., Vargas, F., & Arias, J. (2014). ESTUDIO DE LAS PROPIEDADES FÍSICAS y QUÍMICAS DE RECUBRIMIENTOS DE TiO₂ ELABORADOS MEDIANTE PROYECCIÓN TÉRMICA POR COMBUSTIÓN OXIACETILÉNICA a PARTIR DE POLVOS NANOMÉTRICOS. *Revista Colombiana de Materiales*, 5, 277-283. http://bibliotecadigital.udea.edu.co/bitstream/10495/5775/1/TabaresTatiana_2014_recubrimientoscombustionoxiacetilenica.pdf
- Tchoul M., Drouiche N. y Meroufel A. (2020). Electrochemical synthesis and characterization of TiO₂-chitosan nanocomposites dor dye wastewater treatment. *J POLYM ENVIRON.* 28(6).
- Theophanides, T. M. (1984). Fourier transform infrared spectroscopy: industrial chemical and biochemical applications. *Springer Science and Business*. <http://ci.nii.ac.jp/ncid/BA0120559X>
- Thommes, M., Kaneko, K., Neimark, A. V., Olivier, J. P., Rodríguez-Reinoso, F., Rouquerol, J., & Sing, K. S. (2015). Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical

- Report). *Pure And Applied Chemistry*, 87(9-10), 1051-1069. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>
- Tkachenko, N. V. (2011). *Optical Spectroscopy: Methods and Instrumentations*. https://ofppt.scholarvox.com/catalog/book/41001478?_locale=fr
- Uribe-López, M., Hidalgo-López, M., López-González, R., Frías-Márquez, D., Núñez-Nogueira, G., Hernández-Castillo, D., & Alvarez-Lemus, M. (2021). Photocatalytic activity of ZnO nanoparticles and the role of the synthesis method on their physical and chemical properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology. A, Chemistry*, 404, 112866. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112866>
- Vanathi, P., Rajiv, P., Narendhran, S., Rajeshwari, S., Rahman, P. K., & Venckatesh, R. (2014). Biosynthesis and characterization of phyto mediated zinc oxide nanoparticles: A green chemistry approach. *Materials Letters*, 134, 13-15. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2014.07.029>
- Vargas Urbano, M. (2012). Evaluación del efecto del Dióxido de Titanio (TiO₂) sobre cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* [Tesis de maestría]. Universidad de Popayán, Instituto de Posgrados.
- Vera-García, P. F., Saenz-Galindo, A., De León, R. E. D., & Castañeda-Facio, A. O. (2023). Síntesis de nanopartículas de TiO₂ utilizando el extracto de *ricinus communis* L. *Deleted Journal*, 79(597), 509-516. <https://doi.org/10.55815/411478>
- Vyazovkin, S., Burnham, A. K., Criado, J. M., Pérez-Maqueda, L. A., Popescu, C., & Sbirrazzuoli, N. (2011). ICTAC Kinetics Committee recommendations for performing kinetic computations on thermal analysis data. *Thermochemica Acta*, 520(1-2), 1-19. <https://doi.org/10.1016/j.tca.2011.03.034>
- Whang J. (2018). Preparation and characterization of TiO₂/Chitosan composites for photocatalytic degradation of organic pollutant. *Journal of Environmental Science Popullants. Wang*.
- Wooten, F., & Davis, S. P. (1973). Optical Properties of Solids. *American Journal Of Physics*, 41(7), 939-940. <https://doi.org/10.1119/1.1987434>

- Wu, D., Wang, X., Cao, K., An, Y., Song, X., Liu, N., Xu, F., Gao, Z., & Jiang, K. (2017). ZnO Nanorods with Tunable Aspect Ratios Deriving from Oriented-attachment for Enhanced Performance in Quantum-dot Sensitized Solar Cells. *Electrochimica Acta*, 231, 1-12. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2017.02.029>
- Xu, R. (2015). Light scattering: A review of particle characterization applications. *Particuology*, 18, 11-21. <https://doi.org/10.1016/j.partic.2014.05.002>
- Yan, Z., He, J., Guo, L., Li, Y., Duan, D., Chen, Y., Li, J., Yuan, F., & Wang, J. (2017). Biotemplated Mesoporous TiO₂/SiO₂ Composite Derived from Aquatic Plant Leaves for Efficient Dye Degradation. *Catalysts*, 7(12), 82. <https://doi.org/10.3390/catal7030082>
- Ye, Y., Zhang, T., Lv, L., Chen, Y., Tang, W., & Tang, S. (2021). Functionalization of chitosan by grafting sulfhydryl groups to intensify the adsorption of arsenite from water. *Colloids And Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 622, 126601. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.126601>
- Yu, F., Lee, J., Wang, M., Hsu, H., Chen, T., Cheng, C., Yang, Y., Wang, G., & Yu, M. (2016). Evaluation of a modified direct agar proportion method for testing susceptibility of Mycobacterium tuberculosis from MGIT samples. *Wēi-miǎn Yǔ Gǎnrǎn Zázhi/Journal of Microbiology, Immunology, and Infection*, 49(1), 60-65. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2014.01.003>
- Yuan, W., Fan, W., Mu, Y., Meng, D., Yan, Z., Li, Y., & Lv, Z. (2021). Baking intervention for the interaction behaviours between bamboo (*Phyllostachys heterocycla*) leaf flavonoids and gliadin. *Industrial Crops and Products*, 164, 113385. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113385>
- Zavaleta-Espejo G., Saldaña-Jiménez J., Jáuregui-Rosas S., Pacherez-Gallardo D., Rivera-Burgos M., Samanamud-Moreno F. y Perales-Pérez O. (2019). Antibacterial effect of ZnO nanoparticles on *Staphylococcus aureus* and *Salmonella typhi*. *Arnaldoa*. 26(1).
- Zhang, X., He, X., Kang, Z., Cui, M., Yang, D., & Luque, R. (2019). Waste Eggshell-Derived Dual-Functional CuO/ZnO/Eggshell Nanocomposites: (Photo)catalytic

- Reduction and Bacterial Inactivation. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 7(18), 15762-15771. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b04083>
- Zhang, Z. (2022). Contents of five heavy metals in agricultural land soil in Hengshui and ecological risk assessment. En CRC Press eBooks (pp. 440-444). <https://doi.org/10.1201/9781003332657-61>
- Zhao, X., Li, M., & Lou, X. (2014). Sol-gel assisted hydrothermal synthesis of ZnO microstructures: Morphology control and photocatalytic activity. *Advanced Powder Technology*, 25(1), 372-378. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2013.06.004>
- Zhu, L., Li, Y., & Zeng, W. (2018). Hydrothermal synthesis of hierarchical flower-like ZnO nanostructure and its enhanced ethanol gas-sensing properties. *Applied Surface Science*, 427, 281-287. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2017.08.229>
- Zioui, D., Aoudjit, L., Touahra, F., & Bachari, K. (2022). "PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF TiO₂-CHITOSAN COMPOSITE FILMS AND APPLICATION FOR TARTRAZINE DYE DEGRADATION ". *Cellulose Chemistry and Technology*, 56(9-10), 1101-1107. <https://doi.org/10.35812/cellulosechemtechnol.2022.56.98>
- Zusso, M., Lunardi, V., Franceschini, D., Pagetta, A., Lo, R., Stifani, S., Frigo, A. C., Giusti, P., & Moro, S. (2019). Ciprofloxacin and levofloxacin attenuate microglia inflammatory response via TLR4/NF-κB pathway. *Journal Of Neuroinflammation*, 16(1). <https://doi.org/10.1186/s12974-019-1538-9>

ANEXOS

Estos resultados se realizaron, pero ya no se colocaron en el texto debido a que no se consideran relevantes para los objetivos del trabajo.

A.1. Determinación de polifenoles y flavonoides del extracto acuoso de lirio acuático.

A.1.1 Polifenoles

El análisis del Contenido de Polifenoles Totales (TPC) se realizó adaptando la metodología propuesta en 2017, construyendo una curva de calibración usando ácido gálico como estándar a concentraciones de 1, 2, 4, 6 y 7 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Para las muestras se utilizaron 100 μL de una solución del extracto disuelto en metanol, añadiendo 1400 μL de H_2O , seguido de 250 μL de reactivo de Folin-Ciocalteu 1 N, después de 6 minutos se adicionaron 250 μL de Na_2CO_3 al 20% y pasadas 2 h se leyeron las absorbancias de cada muestra a 760 nm. Las mediciones se realizaron por triplicado. La concentración se expresa como $\text{mg Eq. ácido gálico}/\text{g extracto seco}$. Los resultados se presentan en la Tabla 10 [Muñoz-Bernal et al., 2017].

Tabla 12. Contenido de Polifenoles Totales (TPC) del extracto de lirio.

PRUEBA	mg Eq. Ácido gálico/ g extracto liofilizado
1	48.96
2	41.63
3	37.97
Promedio	42.85

A.1.2 Flavonoides

El análisis del Contenido de Flavonoides Totales (TFC) se realizó adaptando la metodología propuesta en 2010, construyendo una curva de calibración usando rutina como estándar a concentraciones de 10, 20, 30, 40 y 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$. Para las muestras se utilizaron 100 μL de una solución del extracto disuelto en metanol, añadiendo 75 μL de NaNO_2 al 5%, después de 6 minutos se adicionaron 150 μL de AlCl_3 al 10%, pasados 5 min se añadieron 1675 μL de H_2O , seguido de 500 μL de NaOH 1 M. Se leyeron las absorbancias de cada muestra a 510 nm antes de haber transcurrido 15 min. Las muestras se realizaron por triplicado. La concentración se expresa como $\text{mg Eq. rutina}/\text{g extracto seco}$. Los resultados se presentan en la Tabla 11 [H. Zhu et al., 2009].

Tabla 13. Contenido de Flavonoides Totales (TFC) del extracto de lirio.

PRUEBA	mg Eq. Ácido rutina/ g extracto
	líoofilizado
1	121.72
2	110.06
3	120.13
Promedio	117.30

A.2. Caracterización de los materiales sin calcinar.

A.2.1 Análisis termogravimétrico (TGA).

ZnO (Z70)

En la Figura 25 se observa el termograma correspondiente al material Z70 y del Extracto acuoso de lirio acuático en fase líquida, respectivamente. Con respecto a la gráfica correspondiente al extracto, se observa la pérdida de casi la totalidad de la muestra sucede entre 30 °C y 137 °C como a la evaporación de los compuestos volátiles ligeros [Sukarni et al., 2018] de los componentes de la hoja de lirio que se encuentran disueltos en el agua [Gupta et al., 2016; Senhaji et al., 2020]. se observa una pequeña pérdida de masa, entre 137 °C y 900 °C, de aproximadamente 2% la cual se puede atribuir a la descomposición de los componentes orgánicos del extracto presentes después de la evaporación de solvente y componentes volátiles.

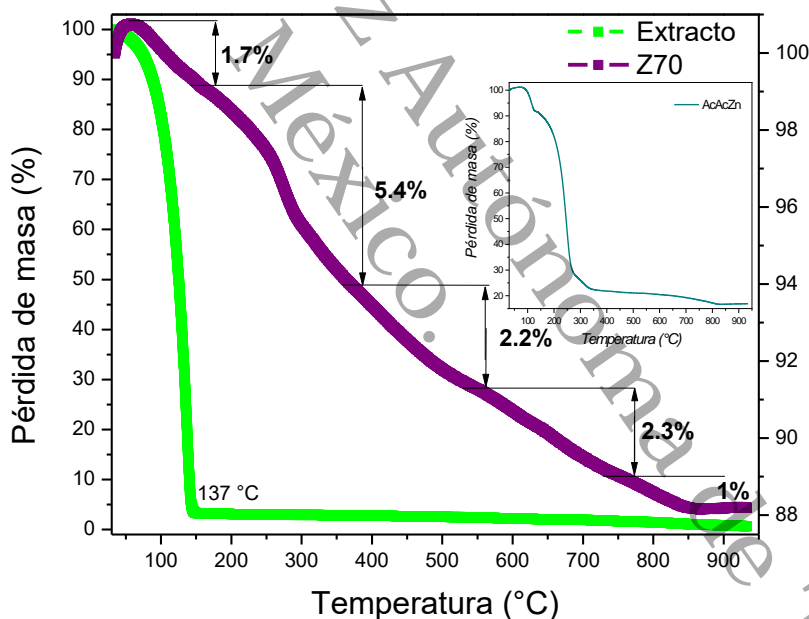


Figura 25. Termograma del ZnO seco a 70 °C (Z70), del extracto acuoso de lirio acuático y del precursor de zinc (AAZ, inserto) con un barrido de temperaturas entre los 30- 1000 °C y una rampa de calentamiento de 10 °C/min.

Por otro lado, en la gráfica correspondiente al material Z70, se presenta una pérdida de masa de 1.7% entre los 60 y 170 °C la cual se atribuye a la evaporación del agua fisisorbida que se encuentra en la superficie del material y la evaporación de los componentes volátiles ligeros aún adsorbidos en el material (como el ácido oleico,

alcohol estealítico, ácido octadecanoico, fitol vanilina y estigmasterol) [Sukri et al., 2019; Zak et al., 2011; Silva et al., 2015].

Para este material, se observa una segunda pérdida de masa entre los 170 °C y 370 °C de 5.4% ocasionada por la descomposición de los remanentes de materia orgánica presente en el material, el cual se origina tanto de los restos de precursor empleado (acetilactonato de zinc), como de alguno de los compuestos orgánicos provenientes del extracto que posiblemente pudieron adsorberse en la superficie del ZnO una vez formando; tales como el ácido ferúlico, colesterol metílico, β -sitosterol, colesterol, ácido vanílico, ácido heptadecanoico, ácido tetradecanoico, ácido pentadecanoico, ácido cítrico, glucosa, sacarosa y glicerol. Las subsecuentes pérdidas pueden asociarse a la descomposición de compuestos más complejos, como los ácidos carboxílicos y el ácido dicosanoico, los cuales se descomponen en temperaturas entre 300 °C hasta los 400 °C [Silva et al., 2015], aunque también se debe considerar que, la formación de la estructura hexagonal del ZnO tiene lugar arriba de 350 °C, por lo que la pérdida de masa en esta región de temperatura puede deberse al reacomodo de los hidroxilos de la estructura del óxido, la cual puede extenderse hasta 570 °C. Se ha reportado una pérdida importante de masa en muestras de ZnO obtenidas a partir del acetilacetinado de zinc en el rango de los 173 °C y 251 °C indicando la descomposición de la molécula del ligando acetilacetionato dejando únicamente el material ZnO [Horzum et al., 2018].

Respecto a la siguiente etapa de pérdida de masa entre los 570 °C y 780 °C se asocia al proceso de combustión de las especies orgánicas presentes en la muestra [M. I. Khalil et al., 2014; Chan et al., 2021].

Por último, la pérdida de masa de 1% alrededor de los 900 °C corresponde a la carbonización de la materia orgánica térmicamente estables a altas temperaturas [Yuan et al., 2021], así como el rompimiento de los enlaces, y por ende la descomposición, Zn-O que se presentan solamente a altas temperaturas, arriba de los 800 °C [Leal et al., 2023].

TiO₂ (T100)

La curva TGA del material T100 (Figura 26), exhibe un menor número de etapas en comparación que la del material Z70, y del extracto acuoso de lirio. El precursor de titanio, isopropóxido de titanio, cuenta con grupos orgánicos éster, alquilos y

metalorgánicos; de los cuales los ésteres se descomponen alrededor de los 150 °C por lo que igual contribuye a la primera pérdida de masa que se encuentra en ese rango, a la que mayormente contribuye la evaporación del agua y los volátiles ligeros del extracto.

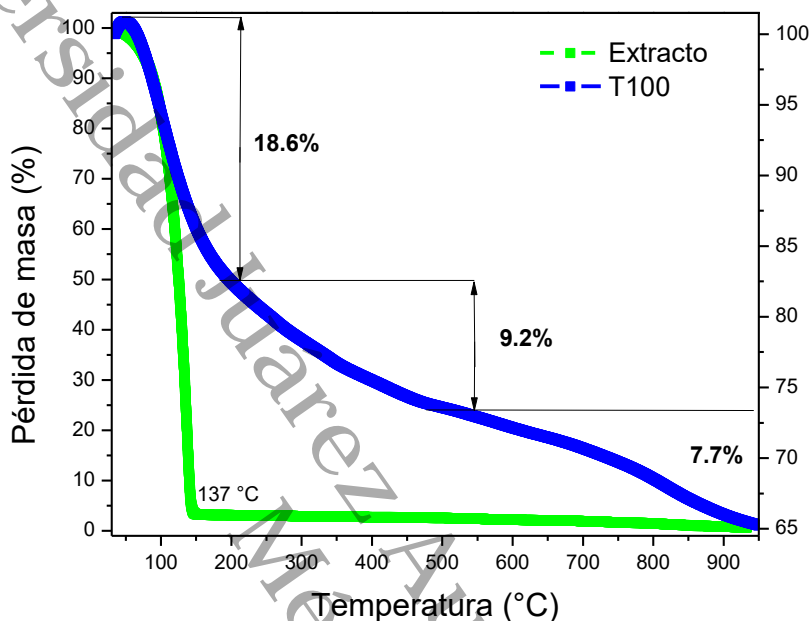


Figura 26. Termograma del TiO_2 seco a 100 °C (T100) y del extracto acuoso de lirio acuático con un barrido de temperaturas entre los 30 - 1000 °C y una rampa de calentamiento de 10 °C/min.

La segunda pérdida de masa ocurre entre los 200 °C y 550 °C, esta se puede atribuir a la descomposición de los grupos alquilo propios del precursor de titanio y del ácido tartárico, así como de los terpenoides dados por la presencia del extracto de lirio acuático. La descomposición del precursor de titanio se presenta en este rango de temperatura [Silva et al., 2015].

Finalmente, a temperaturas superiores a 550 °C, se tiene una pérdida de masa correspondiente al 7.7% que puede deberse tanto a la descomposición de la materia orgánica que aún se encuentra presente en la muestra aún después de realizar tratamiento térmico, como a la pérdida de hidroxilos estructurales dando lugar a la formación de la fase cristalina del óxido [Yuan et al., 2021].

A.2.2 Espectros FT-IR.

ZnO (Z70)

La técnica de espectroscopía infrarroja por la transformada de Fourier brindó la información necesaria para identificar los grupos funcionales que se encuentran presentes en los materiales. En la Figura 27, se pueden observar los espectros correspondientes al extracto acuoso de lirio acuático liofilizado y del material de ZnO secado a 70 °C (Z70).

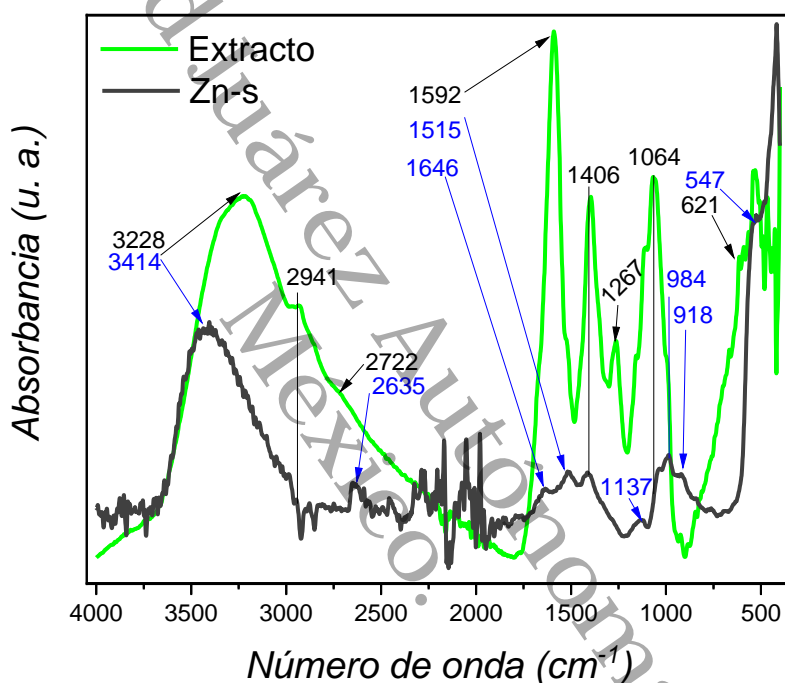


Figura 27. Espectros FT-IR del ZnO seco a 70°C (Z70) y del extracto acuoso de lirio acuático liofilizado.

En ambos espectros se puede observar una banda amplia centrada en 3336 cm^{-1} , para el extracto, y en los 3228 cm^{-1} , para el Z70; las cuales se atribuyen a la vibración de los enlaces -OH propios del agua adsorbida y OH estructurales, compuestos fenólicos y/o nitrogenados (-NH). La amplitud de las bandas es indicativa de la presencia de distintas especies OH, las cuales interactúan, además, con los grupos funcionales del Z70. En el espectro del extracto se observan dos bandas en 2941 y 2722 cm^{-1} , posiblemente provocadas por las vibraciones de estiramiento de los enlaces C-H que se encuentran en los grupos metilos y metoxilos provenientes de los compuestos orgánicos presentes en el extracto, que se ven afectados al entrar en contacto con el precursor de zinc

durante la síntesis provocando el desplazamiento de la banda en 2722 cm^{-1} hacia los 2635 cm^{-1} , así como un cambio en la definición de ésta señal en el espectro del Z70 [Oluwafemi et al., 2019b; Yunitasari et al., 2022; Rodríguez-Félix et al., 2021].

La banda vibracional que se observa en el espectro del extracto centrada en 1592 cm^{-1} , se puede presentar como un par de bandas bien definidas en el espectro del Z70 centradas en los 1646 cm^{-1} y 1515 cm^{-1} , estas señales pueden deberse a la presencia de enlaces C=C que se encuentran en la cadena principal de los anillos aromáticos correspondientes a los diferentes compuestos orgánicos dentro del extracto y de grupos hidroxilos del agua fisisorbida. En ambos espectros de la Figura 27 se observa una banda localizada a 1406 cm^{-1} que corresponden a la vibración de deformación de los enlaces C-H, C=C y C-O-H de grupos metileno y metoxilo. Las bandas presentes en 1267 cm^{-1} , 1064 cm^{-1} y 1137 cm^{-1} pueden asociarse con vibraciones de estiramiento asimétrico de C=C-O, C-H y C-O, y C-OH respectivamente, posiblemente asociadas a la presencia de los éteres en el extracto [Rodríguez-Félix et al., 2021; Espinoza-Acosta et al., 2022; Hitkari et al., 2017a].

Respecto a la formación del son, se observa que aun cuando la muestra Z70 se ha secado a baja temperatura, el óxido se ha logrado formar, debido a la presencia de bandas centradas a 984 , 918 , 621 y 547 cm^{-1} las cuales son características de las vibraciones de los enlaces Zn-OH y Zn-O [Hitkari et al., 2017a; Devi & Velu, 2016; Petrović et al., 2015].

La síntesis mediada por extractos de plantas puede inducir cambios en los óxidos de ZnO. Por ejemplo, se ha reportado un estudio comparativo entre el ZnO obtenido por síntesis química y por la síntesis con presencia de un extracto de hojas de jambolán (*Syzygium cumini*) [Raj et al., 2021], donde no se encontró un cambio significativo en cuanto a las bandas de los enlaces Zn-O del óxido.

En un trabajo sobre el uso de lirio acuático para la síntesis de nanopartículas de plata, se reportó que los compuestos presentes después de la obtención de las nanopartículas fueron de la familia de los flavonoides únicamente, reportando su estabilidad a temperaturas superiores a la temperatura ambiente. Lo anterior, puede representar una explicación a los resultados del presente trabajo, asumiendo que los grupos orgánicos presentes en la muestra calcinada puedan provenir de dichos

compuestos [Oluwafemi et al., 2019]. Adicionalmente, se ha reportado en la literatura [Espinoza-Acosta et al., 2022], la estabilidad de los grupos C=C de los componentes del extracto de lirio acuático, a temperaturas superiores a 70 °C, lo cual puede dar soporte a las suposiciones hechas sobre la permanencia de grupos funcionales del extracto de lirio, anclados o adsorbidos en la superficie del ZnO, incluso después del tratamiento térmico.

TiO₂ (T100)

En la Figura 28 se muestran los espectros del extracto acuoso de lirio acuático y del material de TiO₂ secado a 100 °C, (T100). En ambos espectros se observan bandas amplias ubicadas en la región de baja energía del espectro, para el extracto esta banda se centra en 3326 cm⁻¹ mientras que para el T100 se localiza alrededor de 3224 cm⁻¹. Se observan dos bandas en los 2933 y 2649 cm⁻¹, causadas por el estiramiento de los enlaces C-H presentes en los grupos metilos y metoxilos de los compuestos orgánicos del extracto [Oluwafemi et al., 2019b; Yunitasari et al., 2022; Rodríguez-Félix et al., 2021].

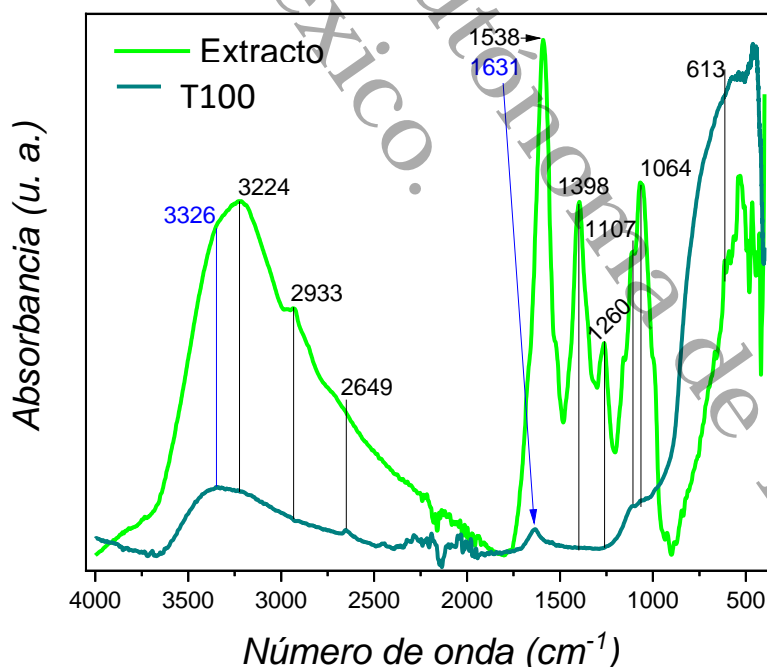


Figura 28. Espectros FT-IR del TiO₂ seco a 100°C (T100) y del extracto acuoso de lirio acuático liofilizado

El extracto presenta una vibración de banda localizada en 1631 cm⁻¹, resultante de los enlaces C=C en los anillos aromáticos de distintos compuestos orgánicos en él

contenidos. En el espectro de la Figura 28, se observa una banda en 1398 cm^{-1} que se asocia con la deformación de los enlaces C-H, C=C y C-O-H en los metilenos y metoxilos mencionados anteriormente. Las bandas detectadas en 1260 cm^{-1} , 1107 cm^{-1} y 1064 cm^{-1} corroboran la presencia de éteres en el extracto y fenoles en el óxido metálico. Dichas bandas derivan de las vibraciones asimétricas de los enlaces C=C-O, C-H, C-O y C-OH, en ese orden [Rodríguez-Félix et al., 2021; Espinoza-Acosta et al., 2022; Hitkari et al., 2017a].

A pesar de que el material T100 no se sometió más que al proceso de secado a $100\text{ }^{\circ}\text{C}$, se puede inferir la formación del óxido a esta temperatura debido a la presencia de una banda intensa centrada en 613 cm^{-1} , característica de las vibraciones del enlace Ti-O en materiales de TiO_2 [Hitkari et al., 2017^a; Devi & Velu, 2016; Petrović et al., 2015]. Con lo anterior, se puede asumir que el extracto no ejerce un efecto adverso en la obtención de TiO_2 a bajas temperaturas.

Adicionalmente, en el espectro infrarrojo del T100, se observa la presencia de señales correspondientes a grupos OH, mismos que generalmente se asocian a la presencia de moléculas de agua fisisorbida, pero también a los grupos OH terminales del óxido [Oluwafemi et al., 2019b].

Existen reportes sobre la síntesis de TiO_2 con presencia de extracto de hojas de jamun (*Syzygium cumini*) [Pathinti et al., 2021; Elagib, 2020], obteniendo de manera exitosa la formación de las nanopartículas con escasa presencia de bandas vibracionales pertenecientes a los grupos funcionales orgánicos provenientes del extracto, lo que permite asumir que la variedad de la planta y, en consecuencia, los compuestos que esta tenga, determinan en cierta forma la estabilidad de los grupos orgánicos que puedan adsorberse o anclarse al óxido.

En otro reporte sobre la obtención de TiO_2 a partir de isopropóxido de titanio (IPT) [K. M. Khalil et al., 1998a], se observe que el pH del medio de reacción tiene un papel importante en la permanencia de grupos funcionales sobre la superficie del óxido después del tratamiento térmico de éste, concluyendo que un pH ácido promueve la formación de superficies de bajo grado de hidroxilación, por lo que los compuestos orgánicos del extracto disponen de un menor número de sitios de enlace.

Por otro lado, una investigación sobre nanopartículas de plata empleando extracto de lirio acuático, demostró la estabilidad de los grupos funcionales provenientes del extracto incluso a temperaturas de tratamiento altas, lo que reafirma la suposición de mayor estabilidad térmica de los componentes del lirio con respecto de otras plantas reportadas [Oluwafemi et al., 2019b]. La presencia o ausencia de estos grupos funcionales, puede modificar las propiedades de los materiales, sin embargo, cada caso deberá estudiarse a profundidad, para determinar si tales modificaciones promueven o inhiben una aplicación en particular.

A.2.3 Espectros UV-Vis por reflectancia difusa.

ZnO (Z70)

En la Figura 29 se observa la comparación de los espectros UV-Vis obtenidos por reflectancia difusa del extracto de lirio y del ZnO secado a 70 °C (Z70). Para el extracto de lirio se cuenta con cuatro bandas de absorción en la región UV, entre los 200 y 400 nm, ubicadas en los 223 nm, 243 nm, 289 nm y 320 nm.

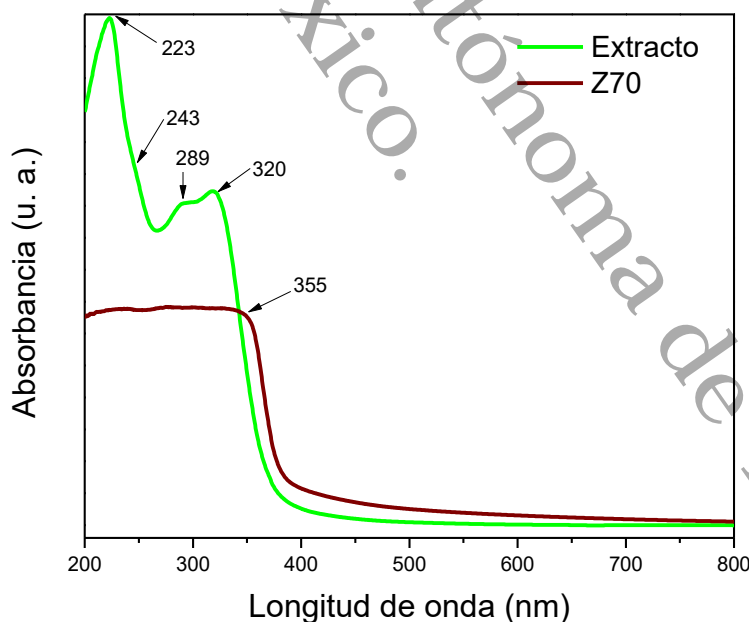


Figura 29. Espectros UV-Vis del ZnO seco a 70°C (Z70) y del extracto acuoso de lirio acuático.

En la literatura se ha reportado que el extracto de lirio cuenta varios compuestos orgánicos entre los cuales se encuentran los compuestos fenólicos (especies de

flavonoides y taninos), aminoácidos como los alcaloides, compuestos derivados del colesterol tales como los esteroides y por último los pigmentos naturales propios de la planta de la especie de carotenoides; la presencia de estos compuestos orgánicos se ven reflejada en las bandas de absorción observadas en la Figura 29.

La presencia de flavonoides que se encuentran en el extracto se puede observar por su banda de absorción que se encuentra en los 320 nm. Por otro lado, la presencia de los fenoles propios del extracto se evidencia por la banda centrada en los 289 nm. Debido a la presencia de compuestos derivados del colesterol, esteroides, y de los aminoácidos, alcaloides, se encuentra una banda de absorción ubicada en los 243 nm. Por último, la banda que se observa en los 223 nm se atribuye a la presencia de celulosa, compuesto propio y característico de las especies vegetales. De los compuestos mencionados, se van descomponiendo a medida que se somete a tratamientos térmicos, ya sea del proceso de secado a 70 °C o a la calcinación a 500 °C, por lo cual en los espectros de infrarrojo mencionados en el apartado anterior se contó con la presencia de bandas asociadas a los diferentes grupos funcionales de dichos compuestos orgánicos [Jurasekova et al., 2006; Elagib, 2020].

Raj et. al. (2021) reportaron la comparación entre ZnO sintetizado en presencia de un extracto vegetal y el obtenido por la vía química, ya conocida. Los espectros obtenidos en su investigación cuentan con una pendiente más pronunciada y con diferencia considerable entre ambos métodos de síntesis además de contar con bandas adicionales atribuibles al precursor de zinc empleado (nitrato de zinc) [Raj et al., 2021].

Zhao et. al. (2014) reportaron el espectro UV-Vis con una estrecha banda de absorción, alrededor de los 370 nm contando con una diferencia en la forma de las bandas obtenidas debido a la metodología de síntesis, sol-gel vs hidrotérmico, así como el pH con el que se llevó a cabo la reacción. Atribuir el comportamiento de la gráfica al precursor que se emplea se puede aseverar comparando los trabajos de Zhao et. al. y Raj et. al., mencionados anteriormente, con los trabajos de Uribe-López et. al. (2021) y Almeida-Ramón et. al. (2017) ya que estos trabajos emplean como precursor de zinc acetilacetato de zinc y como resultado se obtuvieron espectros más limpios y con una banda de absorción más amplia que las otras reportadas; teniendo este

comportamiento en la presente investigación [Uribe-López et al., 2021b; Zhao et al., 2014; Almeida Ramón, 2012].

TiO₂ (T100)

En la Figura 30 se observan los espectros UV-Vis obtenidos por reflectancia difusa del material seco a 100 °C (T100) y del extracto acuoso de lirio acuático. Se dispone de cuatro bandas de absorción en la región UV (200-400 nm) para el extracto de lirio; estas bandas se localizan en 223 nm, 243 nm, 289 nm y 320 nm. En la literatura se ha informado que el extracto de lirio contiene varios compuestos orgánicos, incluyendo compuestos fenólicos (flavonoides y taninos), aminoácidos como alcaloides, compuestos derivados del colesterol como esteroides y pigmentos naturales propios de la planta, como los carotenoides; la presencia de estos compuestos orgánicos se refleja en las bandas de absorción observadas en la Figura 30.

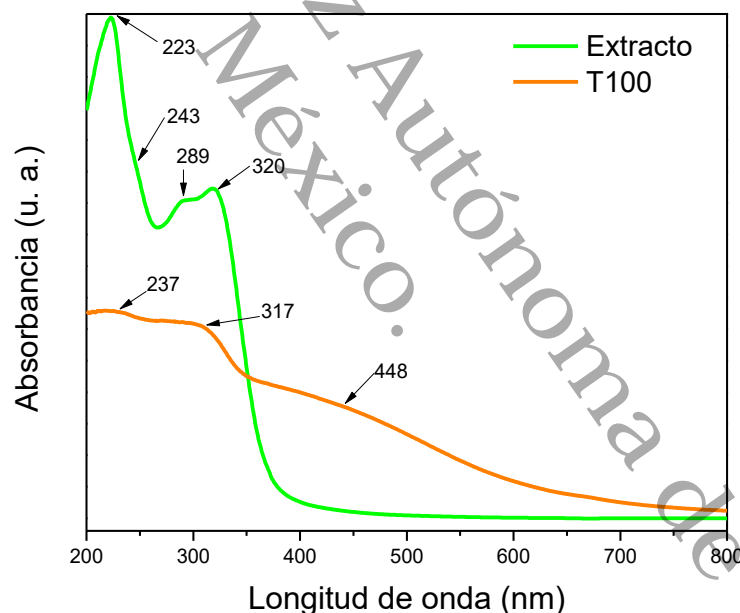


Figura 30. Espectros UV-Vis del TiO₂ seco a 100°C (T100) y del extracto acuoso de lirio acuático.

La banda de absorción en 320 nm indica la presencia de flavonoides en el extracto. Asimismo, la banda centrada en 289 nm evidencia la presencia de los fenoles característicos del extracto. La banda de absorción en 243 nm se atribuye a los compuestos derivados del colesterol (esteroides) y aminoácidos (alcaloides). Por último, la banda observada en 223 nm se relaciona con la presencia de celulosa, un

compuesto característico de las especies vegetales. Estos compuestos mencionados se descomponen durante los tratamientos térmicos, como el secado a 70 °C o la calcinación a 500 °C; es por ese motivo que, en los espectros infrarrojos mencionados anteriormente, se pueden observar bandas asociadas a los diferentes grupos funcionales de estos compuestos orgánicos [Jurasekova et al., 2006; Elagib, 2020; Lara-Serrano et al., s.f.].

Como se puede observar en el espectro perteneciente al TiO₂ cuenta con una interacción entre el precursor isopropóxido de titanio y el extracto. Dicha interacción se puede observar en las bandas presentes en los 448 nm y 237 nm; la primera se encuentra en la región de la luz visible debido a que, cuando se encuentra el material sin tratamiento térmico, éste tiene un color marrón claro que se atribuye a la interacción entre los grupos funcionales dados por el isopropóxido de titanio y los del extracto de lirio. La segunda interacción que se observa es una pequeña banda centrada en los 237 nm la cual, al encontrarse en la región UV, se atribuye al inicio de la formación de una fase cristalina secundaria, que es la rutilo. La banda característica del TiO₂ es la que se encuentra en los 317 nm en la cual se presenta el fenómeno de transferencia de carga entre los electrones de la banda de valencia a la banda de conducción. Dichas bandas se esperan que se eliminen o intensifiquen, según sea el caso, después del tratamiento térmico a 570 °C.

Amanulla et. al. (2019) y Pathinti et. al. (2021) reportaron metodologías de síntesis similares ya que se basan solamente en la mezcla de agua con el precursor de titanio (tetracloruro de titanio e isopropóxido de titanio respectivamente) y el extracto vegetal sin necesitar la contribución de una solución ácida durante el proceso de la síntesis. Ambas investigaciones reportan que la banda de absorción que indica la correcta formación del óxido se encuentra alrededor de los 322 nm pertenecientes a la transferencia electrónica de la banda de valencia (Oxígeno) a la de conducción (Titanio) [Pathinti et al., 2021; Amanulla & Sundaram, 2019a].

Pragathiswaran et. al. (2021) reportaron que la banda de absorción ubicada entre los 250 y 400 nm indicando la transición de la banda de conducción hacia la banda de valencia [Pragathiswaran et al., 2021a].

Alojamiento de la Tesis en el Repositorio Institucional	
Título de Tesis:	Evaluación de la actividad antibacteriana de nanocompositos de Quitosano-ZnO y Quitosano-TiO ₂ obtenidos en presencia del extracto acuoso de lirio acuático (<i>Eichhornia crassipes</i>)
Autor(a) o autores(as) de la Tesis:	Cinthya Elizabeth Meza Rodríguez
ORCID:	https://orcid.org/0009-0004-7171-8578
Resumen de la Tesis:	<p>En esta investigación, se elaboraron compuestos de óxido de zinc y dióxido de titanio combinados con quitosano. Para sintetizar estos óxidos metálicos, se usó el método sol-gel, que fue estabilizado con un extracto de lirio acuático (<i>Eichhornia crassipes</i>). El objetivo era estudiar el impacto de este proceso en las capacidades antibacterianas de los óxidos.</p> <p>Se examinaron las características fisicoquímicas de los materiales utilizando diversas técnicas, como Espectroscopía Infrarroja, Espectroscopía Ultravioleta-Visible, Difracción de Rayos-X, entre otras. Además, se usó Microscopía Electrónica de Barrido para evaluar el impacto del extracto en el proceso de síntesis.</p> <p>Mediante técnicas de espectroscopía, como FT-IR y UV-Visible, se confirmó la formación de óxidos y se detectaron las</p>

<p>Universidad Juárez del Estado de Tabasco México</p>	<p>interacciones entre el quitosano y el óxido metálico. El ZnO mostró una estructura cristalina hexagonal sin señales evidentes de quitosano, mientras que el TiO₂ presentó una estructura tetragonal con indicios leves de quitosano en su composición.</p> <p>Usando microscopía electrónica, se identificaron microflores en el Z500 compuestas por partículas nanométricas y en el TiO₂, aglomerados de nanopartículas semiesferoidales de alrededor de 8 y 20 nm. El estudio textural reveló que ambos materiales eran mesoporosos, con áreas específicas BET de 31.74 m²/g para Z500 y 84.46 m²g⁻¹ para T570. Estos valores disminuyeron con la adición de quitosano a 6.01 m²g⁻¹ y 46.97 m²g⁻¹, respectivamente.</p> <p>En cuanto a las pruebas antibacterianas, se emplearon técnicas de difusión en disco y en pozo, además de determinar la concentración inhibitoria mínima contra bacterias como <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> y <i>Escherichia coli</i>.</p>
<p>Palabras claves de la Tesis:</p>	<p>ZnO, síntesis bioasistida, <i>Eichhornia crassipes</i>, quitosano</p>

REFERENCIAS ANEXOS

- Almeida Ramón, L. (2012). Síntesis y evaluación de la actividad citotóxica *in vitro* de nanopartículas de ZnO funcionalizado con moléculas orgánicas, para el tratamiento de cáncer [Disertación de maestría]. Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, División Académica de Ingeniería y Arquitectura.
- Amanulla, A. M., & Sundaram, R. (2019b). Green synthesis of TiO₂ nanoparticles using orange peel extract for antibacterial, cytotoxicity and humidity sensor applications. *Materials Today: Proceedings*, 8, 323-331. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2019.02.118>
- Chan, Y. Y., Pang, Y. L., Lim, S., & Chong, W. C. (2021). Facile green synthesis of ZnO nanoparticles using natural-based materials: Properties, mechanism, surface modification and application. *Journal Of Environmental Chemical Engineering*, 9(4), 105417. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2021.105417>
- Devi, P. G., & Velu, A. S. (2016). Structural, optical and photoluminescence properties of copper and iron doped nanoparticles prepared by co-precipitation method. *Journal of Materials Science. Materials in Electronics*, 27(10), 10833-10840. <https://doi.org/10.1007/s10854-016-5190-1>
- Elagib, S. M. (2020). Antiparasitic activity of *Eichhornia crassipes* leaves extract. *Biocatalysis And Agricultural Biotechnology*, 24, 101556. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101556>
- Espinoza-Acosta, J. L., Montaña-Leyva, B., Valencia-Rivera, D. E., Ledesma-Osuna, A. I., & Vega-Rios, A. (2022). Extracción, caracterización y actividad antioxidante de lignina de lirio acuático (*Eichhornia crassipes*) y cáscara de nuez pecanera (*Carya illinoensis*). *Biotecnia*, 24(2), 94-103. <https://doi.org/10.18633/biotecnia.v24i2.1642>
- Gupta, D., Dubey, J., & Kumar, M. (2016). Phytochemical analysis and antimicrobial activity of some medicinal plants against selected common human pathogenic microorganisms. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(1), 15-20. [https://doi.org/10.1016/s2222-1808\(15\)60978-1](https://doi.org/10.1016/s2222-1808(15)60978-1)

- Hitkari, G., Singh, S., & Pandey, G. (2017b). Structural, optical, and photocatalytic study of ZnO and ZnO–ZnS synthesized by chemical method. *Nanostructures & Nano-objects*, 12, 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2017.08.007>
- Horzum, N., Hilal, M. E., & Isik, T. (2018). Enhanced bactericidal and photocatalytic activities of ZnO nanostructures by changing the cooling route. *New Journal Of Chemistry*, 42(14), 11831-11838. <https://doi.org/10.1039/c8nj01849a>
- Jurasekova, Z., Garcia-Ramos, J. V., Domingo, C., & Sanchez-Cortes, S. (2006). Surface-enhanced Raman scattering of flavonoids. *Journal Of Raman Spectroscopy*, 37(11), 1239-1241. <https://doi.org/10.1002/jrs.1634>
- Khalil, K. M., Baird, T., Zaki, M. I., El-Samahy, A. A., & Awad, A. M. (1998b). Synthesis and characterization of catalytic titanias via hydrolysis of titanium (IV) isopropoxide. *Colloids And Surfaces. A, Physicochemical and Engineering Aspects*, 132(1), 31-44. [https://doi.org/10.1016/s0927-7757\(97\)00156-8](https://doi.org/10.1016/s0927-7757(97)00156-8)
- Khalil, M. I., Al-Qunaibit, M. M., Al-Zahem, A. M., & Labis, J. P. (2014). Synthesis and characterization of ZnO nanoparticles by thermal decomposition of a curcumin zinc complex. *Arabian Journal of Chemistry*, 7(6), 1178-1184. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2013.10.025>
- Lara-Serrano J., Fileto-Pérez H., López-Miranda J., Rutiaga-Quiñones O. y Rutiaga-Quiñones J. Composición química básica del lirio acuático.
- Leal V., Cruz K., Robles M., Navarro M. y Gómez M. (2023). Estudio de la temperatura como factor determinante en el tamaño y actividad fotocatalítica de ZnO-Ps. Libro de Resúmenes XXIII CAFQI
- Muñoz-Bernal, Ó. A., Torres-Aguirre, G. A., Núñez-Gastélum, J. A., De la Rosa, L. A., Rodrigo-García, J., Ayala-Zavala, J. F., & Álvarez-Parrilla, E. (2017). NUEVO ACERCAMIENTO a LA INTERACCIÓN DEL REACTIVO DE FOLIN-CIOCALTEU CON AZÚCARES DURANTE LA CUANTIFICACIÓN DE POLIFENOLES TOTALES. TIP/Tip *Revista Especializada En Ciencias Químico-biológicas*, 20(2), 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.recqb.2017.04.003>

- Oluwafemi, O. S., Anyik, J. L., Zikalala, N. E., & Sakho, E. H. M. (2019b). Biosynthesis of silver nanoparticles from water hyacinth plant leaves extract for colourimetric sensing of heavy metals. *Nanostructures & Nano-objects*, 20, 100387. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2019.100387>
- Pathinti R., Gollapelli B., Jakka S. y Vallamkondu J. (2021). Green synthesized TiO₂ nanoparticles dispersed cholesteric liquid crystal systems for enhanced optical and dielectric properties. *J MOL LIQ*, 336.
- Petrović, Ž., Ristić, M., Musić, S., Sepiol, B., & Peterlik, H. (2015). The formation of ZnO nanoparticles from zinc gluconate. *Ceramics International*, 41(3), 4975-4981. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.12.061>
- Pragathiswaran, C., Smitha, C., Abubakkar, B. M., Govindhan, P., & Krishnan, N. A. (2021b). Synthesis and characterization of TiO₂/ZnO–Ag nanocomposite for photocatalytic degradation of dyes and anti-microbial activity. *Materials Today: Proceedings*, 45, 3357-3364. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.12.664>
- Raj, N. B., PavithraGowda, N., Pooja, O., Purushotham, B., Kumar, A., Sukrutha, S., Ravikumar, C., Nagaswarupa, H., Murthy, H. A., & Boppana, S. B. (2021). Harnessing ZnO nanoparticles for antimicrobial and photocatalytic activities. *Journal of Photochemistry and Photobiology*, 6, 100021. <https://doi.org/10.1016/j.jpap.2021.100021>
- Rodríguez-Félix, F., López-Cota, A. G., Moreno-Vásquez, M. J., Graciano-Verdugo, A. Z., Quintero-Reyes, I. E., Del-Toro-Sánchez, C. L., & Tapia-Hernández, J. A. (2021). Sustainable-green synthesis of silver nanoparticles using safflower (*Carthamus tinctorius L.*) waste extract and its antibacterial activity. *Heliyon*, 7(4), e06923. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e06923>
- Senhaji, S., Lamchouri, F., & Toufik, H. (2020). Phytochemical Content, Antibacterial and Antioxidant Potential of Endemic Plant *Anabasis aretioides* Coss. & Moq. (*Chenopodiaceae*). *BioMed Research International*, 2020, 1-16. <https://doi.org/10.1155/2020/6152932>

- Sethy, N. K., Arif, Z., Mishra, P. K., & Kumar, P. (2020b). Green synthesis of TiO₂ nanoparticles from *Syzygium cumini* extract for photo-catalytic removal of lead (Pb) in explosive industrial wastewater. *Green Processing and Synthesis*, 9(1), 171-181. <https://doi.org/10.1515/gps-2020-0018>
- Silva, R. P., De Melo, M. M., Silvestre, A. J., & Silva, C. M. (2015). Polar and lipophilic extracts characterization of roots, stalks, leaves and flowers of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*), and insights for its future valorization. *Industrial Crops And Products*, 76, 1033-1038. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.07.055>
- Sukarni, S., Widiono, A. E., Sumarli, S., Wulandari, R., Nauri, I. M., & Permanasari, A. A. (2018). Thermal decomposition behavior of water hyacinth (*Eichhornia crassipes*) under an inert atmosphere. *MATEC Web of Conferences*, 204, 00010. <https://doi.org/10.1051/mateconf/201820400010>
- Sukri, S. N. A. M., Shameli, K., Wong, M. M., Teow, S., Chew, J., & Ismail, N. A. (2019). Cytotoxicity and antibacterial activities of plant-mediated synthesized zinc oxide (ZnO) nanoparticles using Punica granatum (pomegranate) fruit peels extract. *Journal Of Molecular Structure*, 1189, 57-65. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2019.04.026>
- Uribe-López, M., Hidalgo-López, M., López-González, R., Frías-Márquez, D., Núñez-Nogueira, G., Hernández-Castillo, D., & Álvarez-Lemus, M. (2021b). Photocatalytic activity of ZnO nanoparticles and the role of the synthesis method on their physical and chemical properties. *Journal Of Photochemistry and Photobiology. A, Chemistry*, 404, 112866. <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112866>
- Yuan W., Fan W., Mu Y., Meng D., Yan Z., Li Y. y Ly Z. (2021). Baking intervention for the interaction behaviours between bamboo (*Phyllostachys heterocycle*) leaf flavonoids and gliadin. *IND CROP PROD.* 164.
- Yunitasari, N., Swasono, R. T., Pranowo, H. D., & Raharjo, T. J. (2022). Phytochemical screening and metabolomic approach based on Fourier transform infrared (FTIR): Identification of α -amylase inhibitor metabolites in Vernonia

amygdalina leaves. *Journal Of Saudi Chemical Society*, 26(6), 101540.
<https://doi.org/10.1016/j.jscs.2022.101540>

Zak, A. K., Abrishami, M. E., Majid, W. A., Yousefi, R., & Hosseini, S. (2011). Effects of annealing temperature on some structural and optical properties of ZnO nanoparticles prepared by a modified sol–gel combustion method. *Ceramics International*, 37(1), 393-398. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2010.08.017>

Zhao, X., Li, M., & Lou, X. (2014b). Sol–gel assisted hydrothermal synthesis of ZnO microstructures: Morphology control and photocatalytic activity. *Advanced Powder Technology*, 25(1), 372-378. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2013.06.004>

Zhu, H., Wang, Y., Liu, Y., Xia, Y., & Tang, T. (2009). Analysis of Flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by UV–Vis Spectrophotometry with Comparative Study on Different Extraction Technologies. *Food Analytical Methods*, 3(2), 90-97. <https://doi.org/10.1007/s12161-009-9091-2>