



Universidad Autónoma de Baja California
Facultad de Ingeniería, Arquitectura y Diseño



Síntesis de nanopartículas semiconductoras de ZnO: Estudio del efecto del extracto en las propiedades ópticas, estructurales y sus aplicaciones.

TESIS

para obtener el título de
BIOINGENIERO

Presenta:

Daniela Santana Camacho

Director de tesis:

Dr. Priscy Alfredo Luque Morales

Co-directora:

Dra. Reina Vianey Quevedo Robles

Ensenada, B. C., a marzo de 2023

UNIVERSIDAD AUTONOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERIA, ARQUITECTURA Y DISEÑO

**Síntesis de nanopartículas semiconductoras de ZnO: Estudio del efecto del
extracto en las propiedades ópticas, estructurales y sus aplicaciones.**

TESIS


para cubrir los requisitos necesarios para obtener el título de

BIOINGENIERO

Presenta:

Daniela Santana Camacho

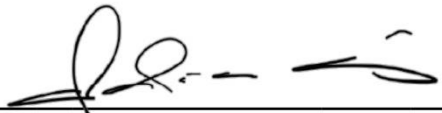
Aprobada por:



Dr. Priscy Alfredo Luque Morales
Director de tesis




Dra. Reina Vianey Quevedo Robles
Co-directora de tesis



Dra. Claudia Mariana Gómez Gutiérrez
Miembro del comité



Dr. Rubén César Villarreal Sánchez
Miembro del comité




Dr. Osvaldo Jesús Nava Olivas
Miembro del comité

Resumen

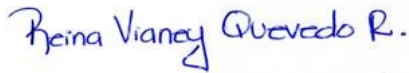
De la tesis de Daniela Santana Camacho, presentada como requisito para la obtención del título de bioingeniero. Ensenada, Baja California, marzo 2023.

Síntesis de nanopartículas semiconductoras de ZnO: Estudio del efecto de extracto en las propiedades ópticas, estructurales y sus aplicaciones.

Resumen aprobado por:



Dr. Priscy Alfredo Luque Morales
Director de tesis



Dra. Reina Vianey Quevedo Robles
Co-directora de tesis

En el presente trabajo se obtuvieron nanopartículas de óxido de zinc mediante un proceso de biosíntesis utilizando extractos de los tés antioxidantes *Ternstroemia pringlei* Rose, *Turnera diffusa Willd* y *Agastache mexicana* a una concentración del 8% masa/volumen como agentes estabilizadores. En el análisis fisicoquímico se obtuvo una banda a 397 cm^{-1} que confirma la presencia de ZnO. Se obtuvieron valores de banda prohibida de 2.84 eV para ZnO-DC, 2.86 eV para ZnO-TM y 3.01 eV para ZnO-FT. En cuanto a la estructura cristalina del material todas las muestras presentaron una estructura cristalina Wurtzita y un tamaño de cristalita de 10.52 nm para ZnO-FT, 10.02 nm para ZnO-DC y 12.97 nm para ZnO-TM. Para la evaluación de la actividad fotocatalítica se degradó azul de metileno (MB) bajo irradiación de luz UV con lámparas, donde se presentó una degradación total (100%) con ZnO-DC y ZnO-TM en 90 minutos, y del 93.31% en 390 minutos con ZnO-FT. La actividad antimicrobiana fue evaluada ante *E. coli* mediante el método de difusión disco-placa, donde ninguna de las muestras presentó actividad.

Palabras clave: nanopartículas, óxido de zinc, biosíntesis, fotocatalisis, inhibición microbiana

Dedicatoria y agradecimientos

Dedicado a mis padres Elida y Daniel, y a mis hermanos Eduardo y Nicolas.

Agradezco al Dr. Priscy Alfredo Luque Morales, por permitirme formar parte de su grupo de trabajo y contribuir en mi crecimiento profesional.

A la Dra. Reina Vianey Quevedo Robles por su tiempo, apoyo y paciencia en el trabajo de investigación y el desarrollo de la tesis.

A los miembros del comité por sus comentarios y sugerencias.

A mis compañeros de clase por hacer amena la carrera.

A los integrantes del laboratorio por el apoyo durante estos meses.

Al proyecto Biosíntesis de nanopartículas para la degradación de contaminantes del agua.

Índice

1. Introducción.....	1
2. Antecedentes	4
2.1 Estado del arte.....	5
3. Marco teórico	7
3.1 Contaminación del agua	7
3.2 Resistencia antimicrobiana	9
3.3 Fotocatálisis heterogénea.....	10
3.3.1 Ensayos.....	11
3.4 Inhibición microbiana	11
3.4.1 Métodos de difusión.....	11
3.4.2 Métodos de dilución.....	12
3.5 Síntesis verde	13
3.6 Nanopartículas de ZnO.....	15
4. Hipótesis	18
5. Objetivos	19
5.1 Objetivo General	19
5.2 Objetivos específicos	19
6. Metodología	20
6.1 Materiales.....	20
6.2 Obtención de extractos	21
6.3 Síntesis verde de NPs de ZnO.....	22
6.4 Evaluación fotocatalítica	23
6.6 Evaluación antimicrobiana	24
7. Resultados y discusión.....	25
7.1 Síntesis de nanopartículas.....	25
7.2 Caracterización	26

7.2.1 FTIR.....	27
7.2.2 DRX.....	29
7.2.3 Banda prohibida.....	31
7.3 Actividad fotocatalítica	33
7.3.1 Degradación de azul de metileno.	33
7.3.2 Propuesta de mecanismo de degradación.....	36
7.4 Actividad antimicrobiana	37
7.4.1 Antibiogramas.....	37
7.4.2 Propuesta de mecanismos de inhibición.	38
8. Conclusiones.....	39
9. Referencias	40

Índice de Figuras

Figura 1. <i>Ternstroemia pringlei</i> Rose (A), <i>Agastache mexicana</i> (B) y <i>Turnera diffusa</i> Willd (C). Fuente [16]–[18].	3
Figura 2. Aplicaciones de la ZnO NPs. Fuente [21].	4
Figura 3. Utilización de colorantes en las diferentes industrias. Fuente [42].	7
Figura 4. Esquema de fotocatalisis heterogénea. Fuente [58].	10
Figura 5. Métodos de difusión disco-placa (A) y gradual (B). Fuente [64].	12
Figura 6. Esquemas de métodos de macrodilución (A) y microdilución (B) para determinación de CMI. Fuente [65].	13
Figura 7. Enfoques químicos y físicos de síntesis. Fuente [77].	14
Figura 8. Estructura cristalina Wurtzita de vista lateral (A) y superior (B). Fuente [82].	16
Figura 9. Diagrama de metodología para la obtención de extractos.	21
Figura 10. Procedimiento experimental; obtención de extractos.	21
Figura 11. Diagrama de metodología de síntesis de nanopartículas.	22
Figura 12. Procedimiento experimental; síntesis de nanopartículas.	22
Figura 13. Diagrama de metodología para la evaluación de actividad fotocatalítica.	23
Figura 14. Procedimiento experimental; evaluación fotocatalítica de las nanopartículas.	23
Figura 15. Diagrama de metodología para la evaluación de propiedades antimicrobianas.	24
Figura 16. Procedimiento experimental; evaluación antimicrobiana de las NPs.	24
Figura 17. Nanopartículas de ZnO obtenidas por medio de síntesis verde	25
Figura 18. Mecanismo propuesto de formación de nanopartículas de ZnO.	26
Figura 19. Espectro FTIR de las fuentes utilizadas e identificación de enlaces.	27
Figura 20. Espectro FTIR de las NPs e identificación de enlaces.	28
Figura 21. Patrón DRX de ZnO NPs sintetizadas con diferentes extractos.	29
Figura 22. Ajuste del pico de mayor intensidad para cálculo de β y θ , para las muestras ZnO-FT (A), ZnO-DC (B) y ZnO-TM (C).	30
Figura 23. Espectro de absorción de las NPs de ZnO.	31
Figura 24. Gráfica de TAUC para cálculo de banda prohibida de las NPs de ZnO.	32

Figura 25. Espectro de absorbancia de MB y su degradación en relación al tiempo, evaluado con ZnO-FT (A), ZnO-DC (B) y ZnO-TM (C).....	33
Figura 26. Porcentaje de degradación de MB con los diferentes catalíticos.	35
Figura 27. Velocidad de degradación de azul de metileno.....	35
Figura 28. Diagrama de propuesta de mecanismo de fotocátalisis para degradación de azul de metileno haciendo uso de ZnO NPs como fotocatalizador.	36
Figura 29. Resultados de antibiogramas realizados con ZnO-FT (A), ZnO-DC (B) y ZnO-TM (C).....	37
Figura 30. Diagrama de propuesta de mecanismos de inhibición microbiana.	38

Índice de Tablas

Tabla 1. Rendimiento másico de las nanopartículas de ZnO obtenidas, por extracto... 25	25
Tabla 2. Bandas obtenidas en FTIR y su identificación..... 28	28
Tabla 3. Valores de 2θ y β de cada muestra y tamaño de cristalita calculados. 30	30
Tabla 4. Porcentajes de degradación por fotocatalisis de azul de metileno. 34	34

1.Introducción

Los colorantes son utilizados a nivel mundial desde industrias pequeñas hasta gran escala, incluyendo sectores industriales de curtiduría, alimenticia, médica y textil, con una producción de 1'000,000 de toneladas a nivel mundial, siendo la textil la que representa el mayor porcentaje de emisiones al ecosistema descargando alrededor de 7.5 toneladas de colorantes al año [1].

En la industria se utiliza una gama de clases de colorantes, estos se caracterizan por ser reactivos, básicos y ácidos altamente solubles en agua y persistentes en el ambiente lo cual los hace difícil de eliminar de los efluentes mediante procesos de separación convencionales [2]. Si estos residuos son desechados sin un tratamiento previo, los colorantes sintéticos pueden permanecer en el medio ambiente por un periodo largo de tiempo, causando problemas graves como el impedimento de la penetración de luz solar en los ecosistemas acuáticos, lo que provoca una disminución de los procesos de fotosíntesis y por lo tanto los niveles de oxígeno disuelto en agua también se ven reducidos. Igualmente generan efectos negativos por su características como agentes tóxicos, mutagénicos y cancerígenos [3].

Años atrás se ha venido estudiado la aplicación de nanopartículas (NPs) metálicas semiconductoras como una alternativa para la degradación de estos colorantes, esto mediante un proceso de degradación fotocatalítica. La fotocatalisis, aceleración de la fotoreacción con aplicación de un catalizador, se ha presentado como una alternativa atractiva, limpia y eficiente para la eliminación de compuestos orgánicos y la degradación de productos dañinos y contaminantes del agua como los colorantes industriales [4].

Diferentes semiconductores pueden actuar como catalizadores en reacciones redox inducidas por luz debido a la estructura y distribución de sus electrones, caracterizada por dos bandas energéticas, la de valencia que se encuentra completa y la de conducción vacía, separadas por una brecha energética conocida como banda prohibida [5]. Tras la irradiación de luz, los electrones que se encuentran en la banda de valencia son promovidos creando un hueco y migrando a la banda de conducción que ahora posee un electrón. Estos pares electrón-hueco pueden interactuar por separado con otras moléculas. Los huecos pueden reaccionar con donantes de electrones en la

solución o con iones de hidróxido para producir especies altamente oxidantes como iones hidroxilo o radicales superóxido [6].

Por otra parte, la resistencia antimicrobiana es una amenaza global que debe atenderse de carácter urgente ya que atenta contra la salud pública mundial, se estima que ha sido causante de la muerte de al menos 1.27 millones de alrededor del mundo, tan solo en 2019, 5 millones de muertes fueron asociadas a la resistencia a antibióticos [7]. El entendimiento de los mecanismos que inducen la muerte celular se centra en la funciones celulares inhibidas que resultan de la interacción de los fármacos y el microorganismo diana, es por ello, que se clasifican según el sistema o componente sobre el que actúan [8]. Actualmente hay una necesidad mundial y oportunidad de desarrollo de agentes antimicrobianos específicos para diversos patógenos [9].

El óxido de zinc exhibe propiedades de semiconducción, piezoelectricidad, piroelectricidad y propiedades antimicrobianas, se han sintetizado diferentes nanoestructuras bajo diversas técnicas y variaciones en las condiciones de crecimiento, estructura y morfología, lo que demuestra que el ZnO es una de las familias más ricas en cuanto a estructura y propiedades dentro de los nanomateriales [10].

En la actualidad se tiene registro de diversos métodos físicos y químicos para la síntesis de NPs de ZnO, sin embargo, los primeros son costosos y consumen altos niveles energía. Por otra lado, los métodos químicos son procesos largos que hacen uso de reactivos tóxicos y generan residuos dañinos para el medio ambiente [11]. Es por ello que la obtención de estas NPs a partir de procesos de química verde como la biosíntesis es una área prometedora ya que es una opción amigable con el medio ambiente que no requiere una grande inversión de tiempo y dinero [12].

Existen varios reportes en la literatura sobre biosíntesis de ZnO NPs utilizando extractos de origen natural, aplicando un proceso amigable y sostenible con el ambiente [13]–[15].

Este trabajo plantea la obtención de nanopartículas (NPs) de óxido de zinc (ZnO) por medio de biosíntesis, producidas a partir de tés antioxidantes como precursores; *Ternstroemia pringlei* Rose, *Agastache mexicana* y *Turnera diffusa* Willd.

Ternstroemia pringlei Rose es un árbol que llega hasta 15 m de altura, presenta hojas alargadas de bordes dentados y textura de cuero. Sus flores son blancas y frutos

color café. Es una planta silvestre de origen desconocido que crece a lo largo de caminos asociada a climas cálidos, semicálidos y templados entre los 300 y 1,000 msnm (metros sobre el nivel del mar) [16].

Agastache mexicana es una hierba de unos 40 a 60 cm con tallos cuadrados y hojas con bordes dentados y pelos en el envés. Sus flores se encuentran en racimos terminales, son de forma tubular y color rojo con frutos color café. Es una hierba originaria de México asociada a bosques, la cual habita en climas cálidos, semicálidos y templados entre los 0 y los 780 msnm y desde los 1600 a los 3900 msnm. [17].

Turnera diffusa Willd es un arbusto que llega a medir hasta 1.5 m de altura, está muy ramificado, sus tallos rojizos con hojas pequeñas, arrugadas y bordes dentados. Sus flores son amarillas con forma de estrella y sus frutos son unas cápsulas. Es una planta silvestre originaria de Brasil, está asociada a bosques tropicales en climas semiseco y templado a 1000-2100 msnm [18].

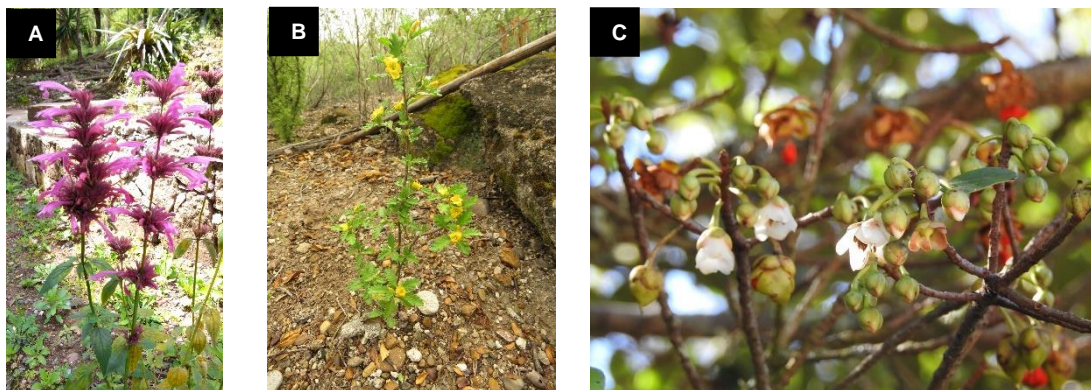


Figura 1. *Ternstroemia pringlei* Rose (A), *Agastache mexicana* (B) y *Turnera diffusa* Willd (C). Fuente [16]–[18].

Las NPs obtenidas fueron caracterizadas para el análisis de sus propiedades fisicoquímicas, estructurales y ópticas por medio de FTIR, DRX y UV-Vis respectivamente. Además, fueron evaluadas sus aplicaciones como fotocatalizador en la degradación del colorante azul de metileno (MB) bajo la irradiación de luz UV y como inhibidor de actividad microbiana de *Escherichia coli* (*E. coli*) a través del método de difusión disco-placa.

2. Antecedentes

Recientemente en áreas como la biología, química, física e ingeniería, la nanociencia y nanotecnología son uno de los campos con mayor interés [19]. Entre los nanomateriales de mayor interés se encuentra en óxido de zinc (ZnO), un material inorgánico prometedor [20]. En virtud de sus propiedades ópticas y eléctricas las nanoestructuras de ZnO son consideradas una de los mejores óxidos metálicos, es por ello que tiene diversas aplicaciones en electrónica, óptica, celdas solares, catálisis, nanomedicina, farmacología y cosmetología [19].

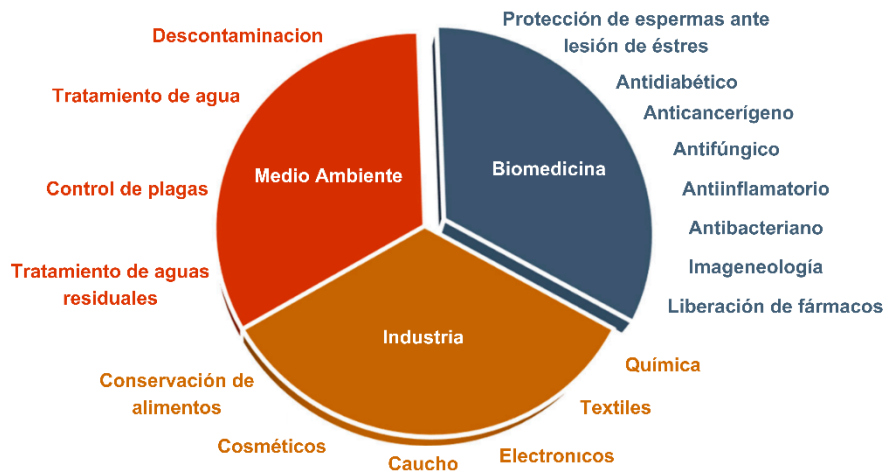


Figura 2. Aplicaciones de la ZnO NPs. Fuente [21].

Las propiedades físicas y químicas de este semiconductor han generado un interés en su aplicación para la solución de problemáticas medioambientales, investigadores han reportado su aplicación en procesos fotocatalíticos para la eliminación de colorantes industriales presentes en aguas residuales, favorecido por su capacidad de producir pares hueco-electrón y especies reactivas de oxígeno (ROS) que reducen y oxidan los contaminantes orgánicos [22].

Las ZnO NPs exhiben propiedades antibacterianas atractivas, cuyos mecanismos son atribuidos al aumento del área de superficie específica, ya que la reducción en el tamaño de partícula conduce a una mayor reactividad, mostrando actividad antimicrobiana en dosis pequeñas [23]. Se ha demostrado la inhibición del crecimiento de un espectro de bacterias (Gram positivas y negativas) con ZnO NPs de diferentes características morfológicas [24].

2.1 Estado del arte

En grupos de investigación alrededor del mundo se han sintetizado NPs de ZnO a partir del uso de materia orgánica, las cuales son caracterizadas y estudiadas para su utilización en diversas aplicaciones.

En cuanto a la evaluación de sus propiedades como catalizador en procesos de fotodegradación, Chen et al. sintetizaron ZnO por el método sol-gel usando acetato de zinc como precursor, el ZnO fue sintetizado variando la temperatura de calcinación y los radios de composición, oscilando de 2 a 5 y manteniendo la razón de acetato de zinc a 0.01 molar, posteriormente el ZnO fue caracterizado y evaluado en la fotodegradación de naranja de metilo (MO) a una concentración 200 mg/L bajo luz UV. Se obtuvo un mayor porcentaje de degradación (99.70%) con calcinación a 400 °C, la eficiencia se obtuvo de la siguiente manera 400 °C > 500 °C > 600 °C > 300 °C. En cuanto al estudio de la composición, se observó un aumento en la degradación resultado del incremento del radio, 2:1, 3:1 y 4:1, pero en 5:1 disminuyó la degradación. Esto se adjudica a la necesidad de determinar un radio apropiado de composición para mejorar el tamaño y cristalinidad de las partículas que optimicen la degradación [25].

Udayabhanu et al., utilizaron cáscara de *Vitis labruska* como fuente para la síntesis verde de superestructuras de ZnO, las cuales presentaron una estructura cristalina hexagonal Wurtzita con tamaño promedio de 50 nm, mostró una banda de absorción infrarroja a 532 cm^{-1} característica de este semiconductor y un valor de banda prohibida de 3.26 eV, se confirmó la formación de diferentes morfologías y se observó un espacio de red de 0.29 nm correspondiente al plano (002) de ZnO. Estas superestructuras fueron evaluadas por su actividad fotocatalítica hacia la degradación del azul de metileno (MB) con irradiando luz con una lámpara de mercurio a 120 W, en el estudio, se varió la concentración de MB (5, 10, 15 y 20 ppm) así como la cantidad de catalizador (50, 100, 150 y 200 mg). Se encontró que con un aumento en la concentración del colorante la degradación disminuye, por el contrario, un aumento en la cantidad de catalizador añadido mejora el porcentaje de degradación [26].

Entre otros autores que han evaluado la actividad fotocatalítica de ZnO NPs obtenidas por medio de biosíntesis se encuentran El Golli et al. [27], Shim et al. [28], Mirzaeifard et al. [29], Noman et al. [30], Rodrigues et al. [31] y Pare et al. [32].

Por otro lado, para el análisis de la actividad antimicrobiana se han obtenido NPs de ZnO a partir de *Aloysia triphylla* [14], obteniendo nanoestructuras con una morfología definida, similar a una flor con un tamaño de 200 a 400 nm. Se evaluó su actividad antibacteriana ante *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 1338) y *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), se suspendieron las nanoflores en PBS/Tween 80 a diferentes concentraciones (100, 200, 400, 800, 1600, 3200, 6400 µg/mL), se colocó un mismo volumen de bacteria y suspensión de NPs en tubos, solución que fue incubada a 37 °C a 150 rpm, posteriormente una alícuota fue colocada en una placa con agar LB. Las NPs de ZnO mostraron una mayor actividad antibacteriana ante *S. aureus* en comparación con *P. aeruginosa*, este comportamiento se atribuyó a la combinación de cargas, carga positiva de las NPs y carga negativa de *S. aureus* [33].

Jafarirad et al. (2016) estudiaron la actividad antimicrobiana de nanoestructuras de ZnO obtenidas mediante el método de síntesis de calentamiento convencional (CH) e irradiación de microondas (MI) utilizando *Rosa canina* como precursor, actuando como agente reductor y estabilizador, se obtuvieron NPs casi idénticas en cuanto a tamaño y forma. La actividad antimicrobiana se evaluó ante *Listeria monocytogenes*, *Escherichia coli* y *Salmonella typhimurium* por difusión en disco-placa de agar, donde se presentó una inhibición que aumenta con un incremento en la concentración de NPs. Adicionalmente, se evaluaron las propiedades citotóxicas de las nanoestructuras ante la línea celular cancerígena A549 adenocarcinoma alveolar con el método de viabilidad celular MTT en donde concentraciones de 0.05 y 0.1 mg/mL indujeron poca toxicidad [34].

Se han estudiado otras fuentes como agentes estabilizadores en la síntesis de ZnO NPs para la evaluación de su actividad antimicrobiana como *Zingiber officinale* [13], *Vaccinium arctostaphylos* L. [35], *Laurus nobilis* [19], *Camellia sinensis* L. [36], *Ocimum basilicum* [37], *Medicago sativa* L.[38], *Moringa oleífera* [39], *Silybum marianum* [40], *Cinnamomum verum* [15], *Trifolium pratense* [41], entre otros.

3. Marco teórico

3.1 Contaminación del agua

Diversas industrias utilizan y desechan colorantes industriales que contaminan los cuerpos de agua (Figura 3) [42]. Una de las mayores fuentes de contaminación global del agua es la industria textil y sus efluentes que contienen residuos de colorantes, se estima que se utilizan cerca de 100,000 colorantes y pigmentos textiles distintos con una producción anual de 700,000 toneladas comercializadas alrededor del mundo. Su alta producción y concentración los hacen el mayor grupo contaminante de efluente industriales, teniendo así, un mayor impacto negativo en el medio ambiente [43].

Alrededor del 10-25% de los colorantes textiles son perdidos durante el proceso de tinción y 2-20% son desechados directamente como efluentes en el medio ambiente. En particular, su descarga hacia los cuerpos de agua es no deseada, no solo por el cambio de color que ocasiona, sino porque generan una alteración en el ecosistema. Tanto los colorantes como sus productos de degradación son considerados tóxicos, cancerígenos o mutagénicos para distintas formas de vida debido a la presencia de bencidina, naftalina y otros compuestos aromáticos [44].

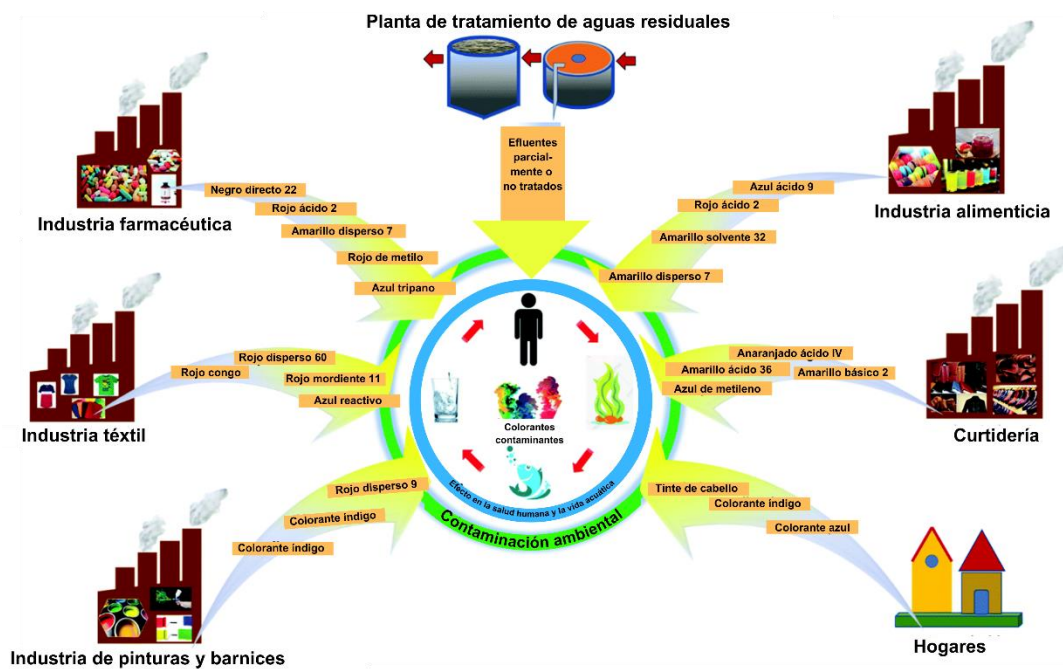


Figura 3. Utilización de colorantes en las diferentes industrias. Fuente [42].

Los colorantes usualmente tienen un origen sintético y estructuras moleculares aromáticas complejas que les proporcionan mayor estabilidad haciéndolos difíciles de degradar. La eliminación de colorantes del agua residual es un problema complejo debido a la dificultad que representa el tratar grandes y peligrosas cantidades por métodos de tratamiento convencionales, por lo cual se ha convertido en un mayor problema la búsqueda de soluciones de degradación de estos compuestos y sustancias tóxicas [45]. Se han aplicado métodos químicos, físicos y combinación de ambos para la degradación de residuos industriales sin ser completamente satisfactorios, además de ser costosos, requerir de mucha energía y generar subproductos peligrosos. Por tanto, en la última década se ha generado un nuevo enfoque hacia la generación de métodos biológicos para la degradación de estas sustancias y compuestos químicos dañinos [46].

El almacenamiento de oxígeno y la capacidad de reoxigenación de los cuerpos de agua se ve altamente afectada por la presencia de colorantes. Con mayor relevancia representan un impedimento para la penetración de luz solar, alteran la actividad biológica del ecosistema acuático y afectan directamente los procesos de fotosintéticos [47]. La presencia de colorantes orgánicos estimula el crecimiento de microorganismos acuáticos letales para la vida marina e incluso el ser humano. Los efectos negativos que generan en el agua también se relacionan a efectos tóxicos por la presencia prolongada de los colorantes en el medio, su acumulación y sedimentación en el medio y en los organismos a través de la biomagnificación [44].

En cuanto a los efectos negativos que representan para el ser humano, estos colorantes tienen actividad cancerígena, causan alergias, dermatitis o diferentes cambios en tejido tisular. El riesgo potencial a la salud es causado por la absorción de colorantes azoicos y sus productos de degradación (aminas tóxicas) por el tracto gastrointestinal, piel y pulmones [48].

Actualmente los residuos industriales con presencia de colorantes son uno de los problemas principales de contaminación del agua, es por ello que el tratamiento de agua residual con altas concentraciones de colorantes es una necesidad creciente [44] y necesaria para un desarrollo sostenible.

3.2 Resistencia antimicrobiana

El descubrimiento de los antibióticos fue un momento definitorio en la historia del ser humano que revolucionó la medicina y salvó un sinnúmero de vidas. Desafortunadamente, estos fármacos han sido acompañados por el surgimiento de cepas de patógenos resistentes [49]. El auge del desarrollo de antibióticos llegó a su fin debido a la inhabilidad de los investigadores de mantener el ritmo del descubrimiento de nuevos antibióticos ante el surgimiento de patógenos resistentes a estos [50].

Décadas después de que el primer paciente fue tratado con antibióticos las infecciones bacterianas han comenzado a volverse una amenaza. La resistencia antibiótica se atribuye al sobreuso y uso inadecuado de estos, así como el poco o lento desarrollo de nuevos fármacos resultado de la disminución en los estímulos económicos y el aumento de los requerimientos regulatorios en la industria [51]. Asimismo, se adjudica a la sobrepoblación, poca sanidad, propagación de vida silvestre y un sistema deficiente de alcantarillado [52].

Las enfermedades causadas por bacterias son un problema serio de salud a nivel global que han llamado la atención como una amenaza de salud pública. Esta situación ha sido declarada así por el incremento en los brotes e infecciones por cepas patogénicas, la resistencia antibiótica, la aparición de nuevas mutaciones, la poca disponibilidad de vacunas en países subdesarrollados y las infecciones nosocomiales [24].

Importantes organizaciones a nivel mundial como la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Foro Económico Mundial, el Centro de Control y Prevención de Enfermedades (CDC) y la Sociedad Americana de Enfermedades Infecciosas han declarado la resistencia antibiótica un “problema de salud pública global” [53]. Se debe al surgimiento, propagación y persistencia de bacterias con resistencia a múltiples fármacos también conocida como “superbugs” [54].

El desarrollo de nuevos agentes antimicrobianos ante cepas bacterianas se ha convertido en un reto debido a la resistencia antibiótica y mutaciones que conllevan a nuevas cepas de un patógeno [55]. Es por ello que es necesario abarcar esta problemática desde un enfoque distinto.

3.3 Fotocatálisis heterogénea

La fotocatálisis heterogénea puede ser descrita como la aceleración de las fotorreacciones en presencia de catalizadores. Es un proceso clasificado como un proceso avanzado de oxidación que utiliza irradiación de luz con energía fotónica mayor o igual al valor de la banda prohibida del material para causar que los electrones emigren de una banda (VB) a otra (CB) [56]. Cada fotón absorbido es capaz de generar un par hueco-electrón (h^+/e^-) que puede ser aprovechado eficientemente solo si es separado espacialmente y transferido a especies con un potencial redox apropiado, de otra forma, la recombinación resulta en una pérdida de energía significativa [57]. Posteriormente, reacciones entre estos pares y oxígeno o agua pueden producir especies reactivas de oxígeno que actúan como agentes oxidantes con la habilidad de degradar diversos contaminantes [56].

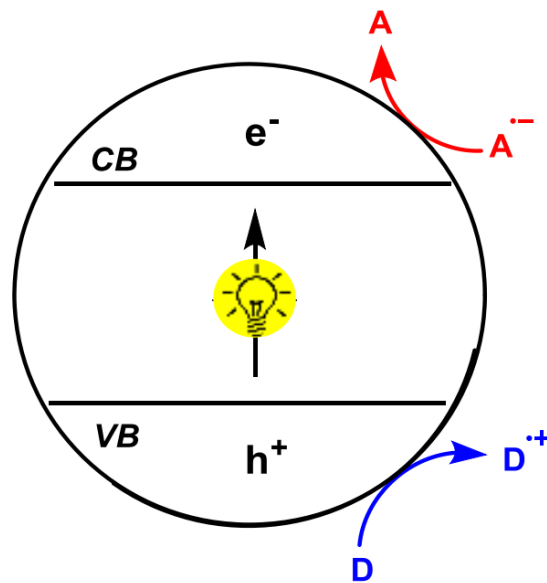


Figura 4. Esquema de fotocatálisis heterogénea. Fuente [58].

La principal limitación de este proceso avanzado de oxidación es la poca eficiencia fotónica, es decir, el radio de la razón de fotorreacción medida para un intervalo de tiempo específico. La fotocatálisis ideal debe ser altamente fotoactiva, estable ante fotocorrosión, inofensiva, de bajo costo y químicamente inerte. Además, de ser posible, bajo el espectro UV y visible, es por ello que la fuente de irradiación de luz es un factor importante que debe considerarse en un sistema de ensayo fotocatalítico [59].

3.3.1 Ensayos

La evaluación de la actividad fotocatalítica puede llevarse a cabo bajo diferentes condiciones, una de los factores importantes y el cual puede modificarse es la fuente de irradiación de luz. Para la excitación de los electrones de las nanopartículas como catalizadores, es necesario irradiar la muestra con luz ultravioleta. Esta se encuentra en el intervalo de 4 a 400 nm, hay dos fuentes principales de luz UV, el sol y lámparas UV. La que proviene del sol va de 180 a 400 nm y se clasifica en UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm) y UVC (180-290) [60].

La experimentación bajo luz solar debe realizarse con cautela ya que hay muchos factores involucrados que influyen en los resultados, como la ubicación y tiempo en que se realiza y las condiciones del tiempo. Por otro lado, existen cinco principales tipos de lámparas clasificadas por el tipo de fuente de irradiación: lámparas de arco, lámparas fluorescentes, lámparas incandescentes, LEDs y láseres [59].

3.4 Inhibición microbiana

La susceptibilidad de los microorganismos a los agentes antimicrobianos se estudia mediante pruebas de sensibilidad también conocidas como antibiogramas, pruebas que tienen como objetivo evaluar la respuesta *in vitro* de los microorganismos frente a agentes antimicrobianos, con el fin de traducir los resultados en predictores de eficacia clínica. El antibiograma refleja la capacidad de inhibición de los antibióticos ante el crecimiento de un microorganismo específico [61]. Las pruebas de susceptibilidad deben estar adecuadamente estandarizadas y sujetas a procesos controlados que aseguren la reproducibilidad. Existen diversos métodos, con algunos se obtienen resultados cuantitativos y con todos resultados cualitativos utilizando las categorías, susceptible (S), intermedio (I) o resistente (R) [62].

3.4.1 Métodos de difusión.

3.4.1.1 Método disco-placa.

Método basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores, es una técnica estandarizada para el análisis de patógeno de rápido crecimiento recomendada por el *Instituto de Estándares Clínicos y de Laboratorio* (CLSI, por sus siglas en inglés). Este método consiste en inocular la superficie del agar Mueller-Hinton con organismos en fase

logarítmica a una concentración de $1-2 \times 10^8$ CFU/mL y depositar en la superficie discos de papel filtro impregnados con antibióticos, los cuales se difunden al entrar en contacto el disco con la superficie húmeda del agar. La zona de inhibición es medida posterior a la incubación de 18-24 h (Figura 5A). Cada agente antimicrobiano tiene un diámetro de inhibición en mm estandarizado; las lecturas se interpretan como resistente (R), intermedia (I) y sensible (S) de acuerdo a los establecido por el CLSI [63].

3.4.1.2 Método de difusión gradual.

El principio del método Epsilon aplica la técnica de difusión en placa, se hace uso de tiras de plástico no poroso que incorporan un gradiente predeterminado correspondiente a 15 diluciones del antibiótico a evaluar. Una vez se ha inoculado el agar, la tira Etest es colocada sobre la superficie produciendo un gradiente exponencial a través de la tira debido a la difusión del antibiótico. Después de incubar las placas, se obtiene una zona de inhibición elipsoidal y simétrica (Figura 5B), el valor de la concentración mínima inhibitoria (CMI) es el punto donde el extremo inhibidor de crecimiento cruza con la tira Etest [62].

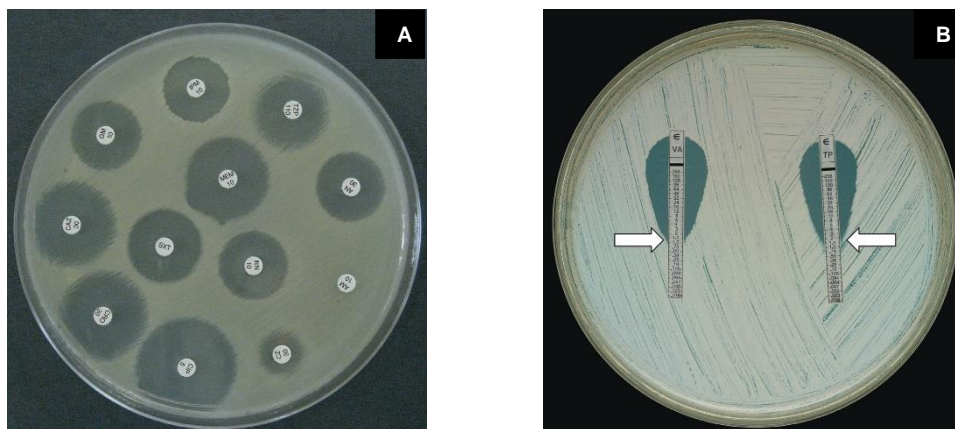


Figura 5. Métodos de difusión disco-placa (A) y gradual (B). Fuente [64].

3.4.2 Métodos de dilución.

Se basan en determinar el crecimiento de microorganismos en presencia de concentraciones crecientes de antibiótico diluido en un medio de cultivo. Se preparan diluciones base 2 del antimicrobiano en medio de cultivo idóneo para la bacteria; después se inocula el medio y, una vez ha crecido tras el tiempo en incubación, las muestras son

leídas para determinar que concentración provoca la inhibición del crecimiento del microorganismo. Las primeras pruebas basadas en este método se realizaban en batería de tubos conocida como macrodilución (Figura 6A), el uso de micropipeta y placas de microtitulación han facilitado la aplicación del método de microdilución con caldo (Figura 6B), además del uso de métodos automatizados comerciales. En cuanto la microdilución en agar, el uso de sistemas de inoculación múltiple permite la evaluación simultánea de muchos organismos y/o agentes antimicrobianos [62].

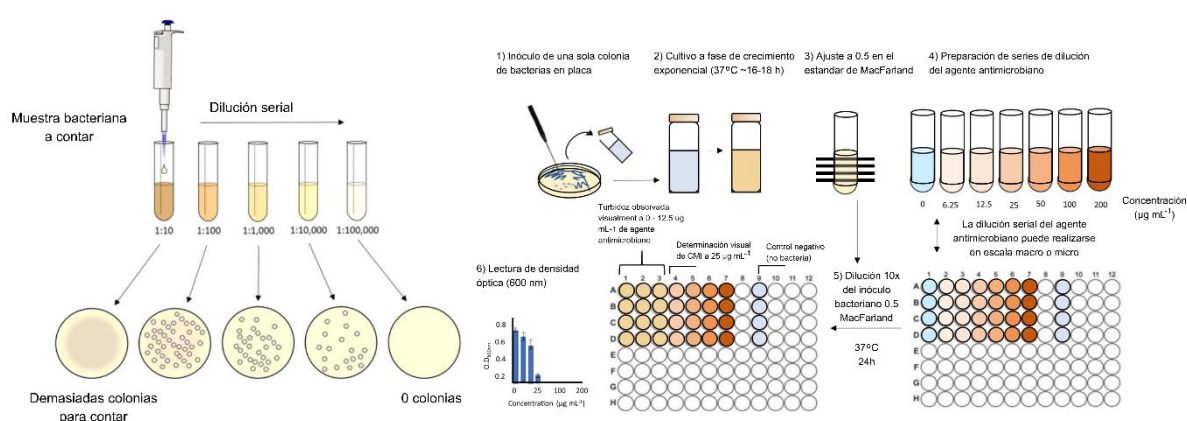


Figura 6. Esquemas de métodos de macrodilución (A) y microdilución (B) para determinación de CMI.

Fuente [65].

3.5 Síntesis verde

La síntesis de nanopartículas puede realizarse a través de diversos métodos, físicos y químicos. Los métodos físicos tienen un enfoque de arriba hacia abajo, donde se reduce el tamaño de la materia prima a la nanoescala. Estos incluyen procesos como la pirolisis con llama [66], descarga eléctrica [67], molienda [68] y ablación con láser [69], estas metodologías requieren de una gran cantidad de material, altas temperaturas y presiones, consumiendo altos niveles de energía y haciéndolos no viables en el ámbito ecológico y económico [70].

Actualmente los métodos químicos con un enfoque de abajo hacia arriba están ganando popularidad. Los solventes, agentes reductores y estabilizadores utilizados en la síntesis química tienen un impacto sobre las propiedades de las nanopartículas, por lo cual su elección es importante para la obtención del material deseado. Los protocolos de

síntesis son simples, sin embargo, los solventes y reactivos usados son altamente tóxicos y difíciles de degradar por lo que permanecen en el ambiente por años [70].

Métodos químicos de síntesis de nanopartículas como sol-gel [71], solvotermal [72], hidrotermal [73], precipitación [74], microemulsión [75], fase gaseosa [76] deben llevarse a cabo a altas temperaturas y hacen uso de agentes estabilizadores hidrofóbicos que requieren el uso solventes tóxicos orgánicos en el procesos. Estos solventes son cancerígenos, peligrosos para la salud y corrosivos en la naturaleza [70].

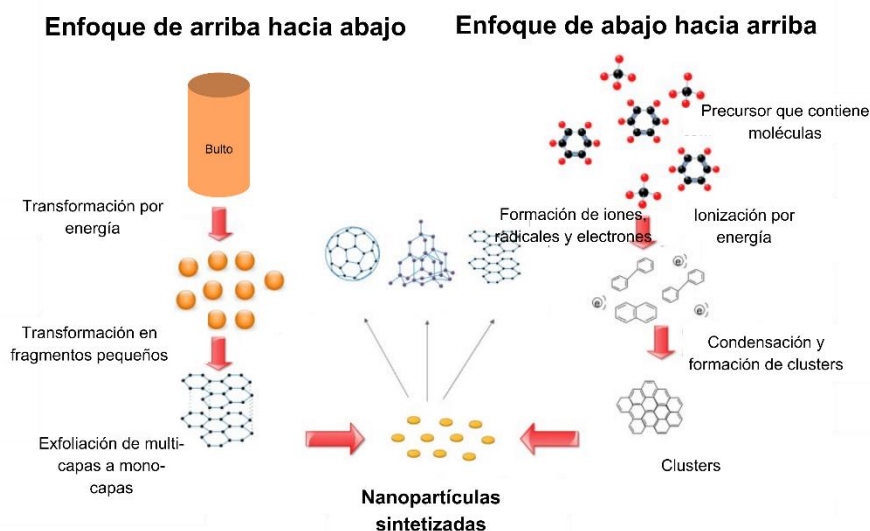


Figura 7. Enfoques químicos y físicos de síntesis. Fuente [77].

La naturaleza de la ingeniería de nanomateriales y sus aplicaciones propuestas justifican la implementación de química verde para el desarrollo de estos materiales y aplicaciones. La química verde aplica principios que buscan disminuir o eliminar el uso o generación de sustancias nocivas en procesos de diseño, producción y uso de productos químicos, que sigue los doce principios definidos por Anastas y Warner: 1) prevenir desechos; 2) economía del átomo; 3) síntesis menos peligrosa; 4) diseño de sustancias seguras; 5) solventes y sus reacciones seguras; 6) diseño de energía eficiente; 7) materia prima renovable; 8) reducir derivados; 9) catálisis, 10) diseños de degradación; 11) monitoreo y control de procesos; 12) química intrínsecamente segura [78].

La nanociencia verde es la aplicación de la química verde y sus principios para el diseño de productos a una escala nanométrica, el desarrollo de métodos de producción y la aplicación de los nanomateriales. Este enfoque busca el entendimiento de las

propiedades de estos materiales para su implementación en productos y procesos representado un riesgo bajo o nulo tanto para el medio ambiente como para la salud humana. Busca desarrollar métodos de síntesis o producción que eliminen el uso de reactivos peligrosos y mejorar la eficiencia de los métodos con el objetivo de maximizar el beneficio social de la nanociencia disminuyendo el impacto en el ecosistema. Logrando así definir seis objetivos de la nanociencia que aplican los principios de la química verde [79].

1. Diseño de nanomateriales seguros; principios 1 y 12.
2. Diseño para reducir el impacto ambiental; principios 7 y 10.
3. Diseño para la reducción de desechos; principios 1, 5 y 8.
4. Diseño de procesos seguros; principios 3, 5, 7 y 12.
5. Diseño de materiales eficientes; principios 2, 5, 9 y 11.
6. Diseño de energía eficiente; principios 6, 9 y 11.

La síntesis de los nanomateriales implementa el uso de químicos peligrosos, conversiones bajas del material, altos requerimientos energéticos y desechos difíciles de degradar. La química verde provee ventajas en el desarrollo de estos procesos al aplicar sus principios en la producción de nanomateriales [79].

En los últimos años se ha reportado la implementación de plantas, frutos y raíces de diversa naturaleza como agentes reductores y estabilizadores para la síntesis de nanomateriales a partir de precursores, esto elimina el uso de reactivos y solventes peligrosos. Algunas especies reportadas incluyen *Vitis labruska* [26], *Aloysia triphylla* [14], *Rosa canina* [34], *Zingiber officinale* [13], *Vaccinium arctostaphylos L.* [35], *Laurus nobilis* [19], *Camellia sinensis L.* [36], *Ocimum basilicum* [37], *Medicago sativa L.* [38], *Moringa oleífera* [39], *Silybum marianum* [40], *Cinnamomum verum* [15], entre otros.

3.6 Nanopartículas de ZnO

El material óxido de zinc (ZnO) ha sido investigado desde 1912 con el comienzo de la era de los semiconductores posterior a la invención del transistor, sus propiedades piezoeléctricas fueron descubiertas en 1960, lo que dio pie a su primera aplicación electrónica en dispositivos acústicos. ZnO es un óxido que se presenta en la naturaleza

como el mineral *zincita*, descubierto en 1810 por Bruce en Franklin, Nueva Jersey, es un compuesto de color rojizo o anaranjado debido a sus impurezas de manganeso [80].

ZnO es un semiconductor con banda energética prohibida directa de 3.37 eV y una energía de excitación de 60 meV a temperatura ambiente. Una banda prohibida directa está caracterizada por un vector k aproximadamente igual para los estados más altos de la banda de valencia y para los estados más bajos de la banda de conducción, en magnitud y dirección, lo que hace posible transiciones ópticas en el punto en que el fotón excede a la banda prohibida en valores energéticos [81]. Es un semiconductor tipo n debido a la desviación de la estequiometría y la existencia de defectos intrínsecos como intersticiales de zinc y vacantes de zinc y de oxígeno [82].

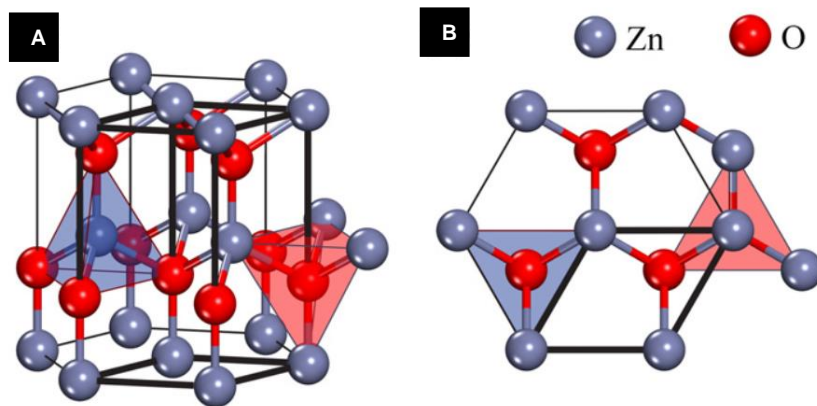


Figura 8. Estructura cristalina Wurtzita de vista lateral (A) y superior (B). Fuente [82].

Su estructura termodinámicamente estable es la estructura hexagonal Wurtzita descrita en 1920 por Bragg mediante difracción de rayos X, con ionicidad en el límite entre semiconductores covalente y iónicos. La celda unitaria contiene dos unidades, una con un átomo de zinc rodeado de cuatro iones de oxígeno y la otra con un átomo de oxígeno rodeado de cuatro iones de zinc, ambas en una configuración casi tetraédrica (Figura 8) [82].

Entre otras características, tiene un punto de fusión de 1975°C y una densidad de 5.67 g/cm³ [83]. Es un material que gracias a su eficiencia cuántica y estructura eléctrica evita las posibilidades de recombinación de electrones/carga [82].

Entre los materiales semiconductores es uno de los de mayor interés a causa de sus propiedades piezoeléctricas y optoelectrónicas, biocompatibilidad, amigable con el medio ambiente y estabilidad térmica [82]. Además, el ZnO ha demostrado ser un

fotocatalizador eficaz para la degradación de diversos contaminantes [25]–[27] y como agente antimicrobiano [33]–[35].

Este trabajo presenta la biosíntesis de nanopartículas de óxido de zinc a haciendo uso de extractos de té antioxidantes como agentes estabilizadores. Las NPs son caracterizadas para el análisis de sus propiedades fisicoquímicas, ópticas y estructurales por medio de las técnicas de caracterización FTIR, UV-Vis y DRX respectivamente. Además, se evaluó su aplicación como fotocatalizador en la degradación del colorante azul de metileno (MB) exponiéndolo a luz UV y su capacidad para inhibir la actividad microbiana de *Escherichia coli* (*E. coli*) a través del método de difusión disco-placa.

4. Hipótesis

Las NPs de ZnO obtenidas a través de biosíntesis utilizando téis antioxidantes como agentes estabilizadores, efectuarán degradación fotocatalítica de colorantes industriales bajo irradiación de rayos UV.

5. Objetivos

5.1 Objetivo General

Sintetizar aplicando una metodología verde, nanopartículas (NPs) de óxido de zinc (ZnO) partiendo de tés antioxidantes como extractos naturales y evaluar tanto su actividad antimicrobiana como su actividad fotocatalítica.

5.2 Objetivos específicos

1. Obtener extractos a partir de las infusiones de té.
2. Biosintetizar nanopartículas de ZnO utilizando los extractos obtenidos.
3. Estudiar las propiedades de las NPs de ZnO por medio de técnicas de caracterización como espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos-X (DRX) y espectroscopía ultravioleta visible (UV-Vis),
4. Realizar estudios de degradación fotocatalítica del colorante orgánico azul de metileno (MB) aplicando radiación UV.
5. Evaluar la actividad antimicrobiana de las NPs de ZnO ante bacterias Gram negativas.

6. Metodología

6.1 Materiales

Para la biosíntesis de las nanopartículas se utilizaron infusiones de té de *Ternstroemia pringlei* Rose, *Agastache mexicana* y *Turnera diffusa* Willd de la marca comercial Therbal, la sal metálica precursora $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (98%) marca Sigma-Aldrich y agua desionizada. En la evaluación de actividad fotocatalítica se hizo uso de azul de metileno (MB). Finalmente, para evaluar la actividad antimicrobiana se utilizó *E. coli* en medio BHI y el antibiótico Penicilina-estreptomina.

6.2 Obtención de extractos

Siguiendo la metodología mostrada en la Figura 9, se obtuvieron extractos a una concentración del 8% m/v (masa/volumen) a partir de tres fuentes distintas; *Ternstroemia pringlei* Rose (Flor de Tila "FT"), *Turnera diffusa* Willd (Damiana de California "DC") y *Agastache mexicana* (Toronjil morado "TM"). Se suspendieron 4 g de la fuente en 50 mL de agua desionizada y se agitaron a 400 rpm durante 2 h a temperatura ambiente. Seguidamente se colocaron en baño térmico a 60°C por 1 h. Retiradas las soluciones del baño, se filtraron a través de un papel Whatman #4 por gravedad. Los extractos obtenidos son almacenados en tubos falcón para su posterior uso.

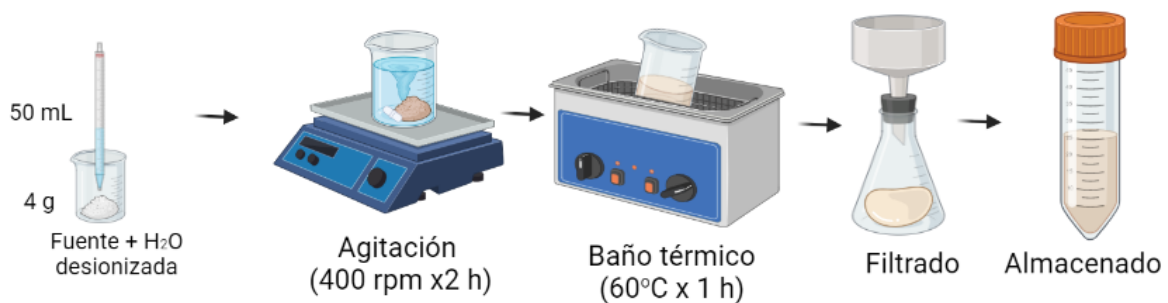


Figura 9. Diagrama de metodología para la obtención de extractos.

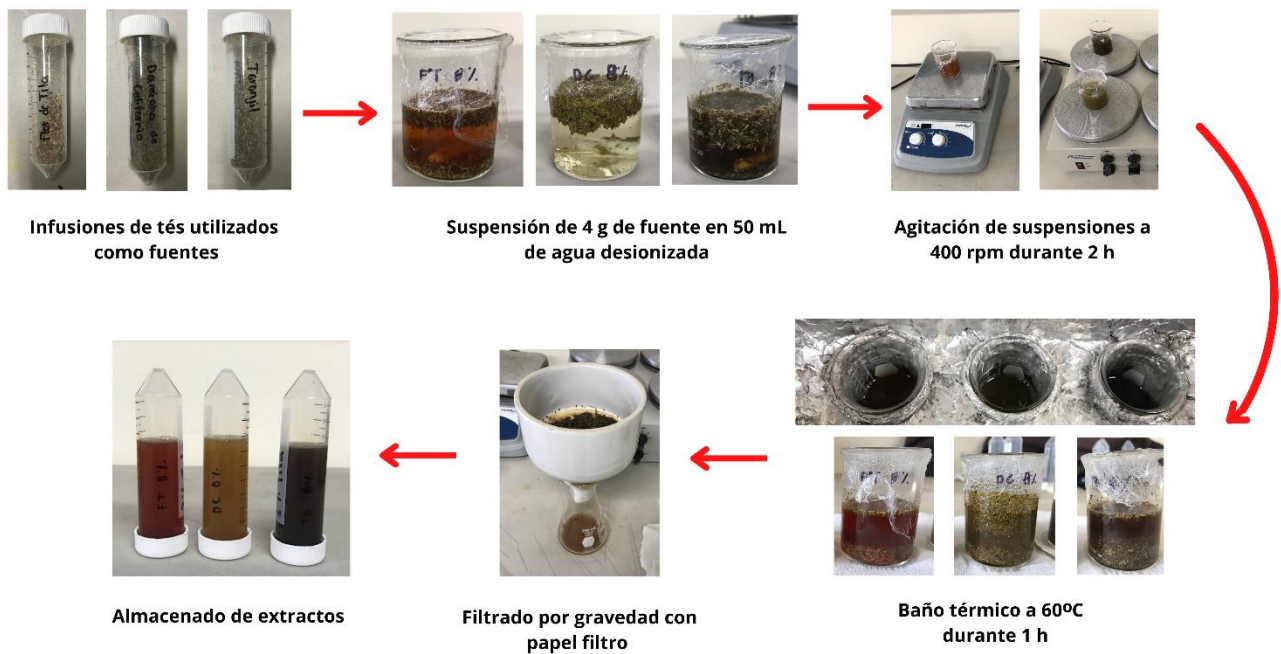


Figura 10. Procedimiento experimental; obtención de extractos.

6.3 Síntesis verde de NPs de ZnO

El extracto obtenido fungió como estabilizador de la sal precursora $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ suspendiendo 2 g de ésta en 40 mL de extracto, la suspensión se agitó a 400 rpm por 1 h y posteriormente se colocó en un baño térmico a 60 °C por 12 h. Una vez obtenida una consistencia pastosa tras la eliminación del exceso de agua, el material fue distribuido en capsulas de porcelana para su calcinación a 400 °C por 1 h. Tras el tratamiento térmico, las muestras a temperatura ambiente fueron pulverizadas para la homogenización.

Se obtuvieron tres muestras; ZnO-FT, ZnO-DC y ZnO-TM a partir de los tres extractos. Se determinó su rendimiento másico y se almacenaron en microtubos para su posterior análisis, caracterización y estudio de sus propiedades fotocatalíticas y antimicrobianas.



Figura 11. Diagrama de metodología de síntesis de nanopartículas.

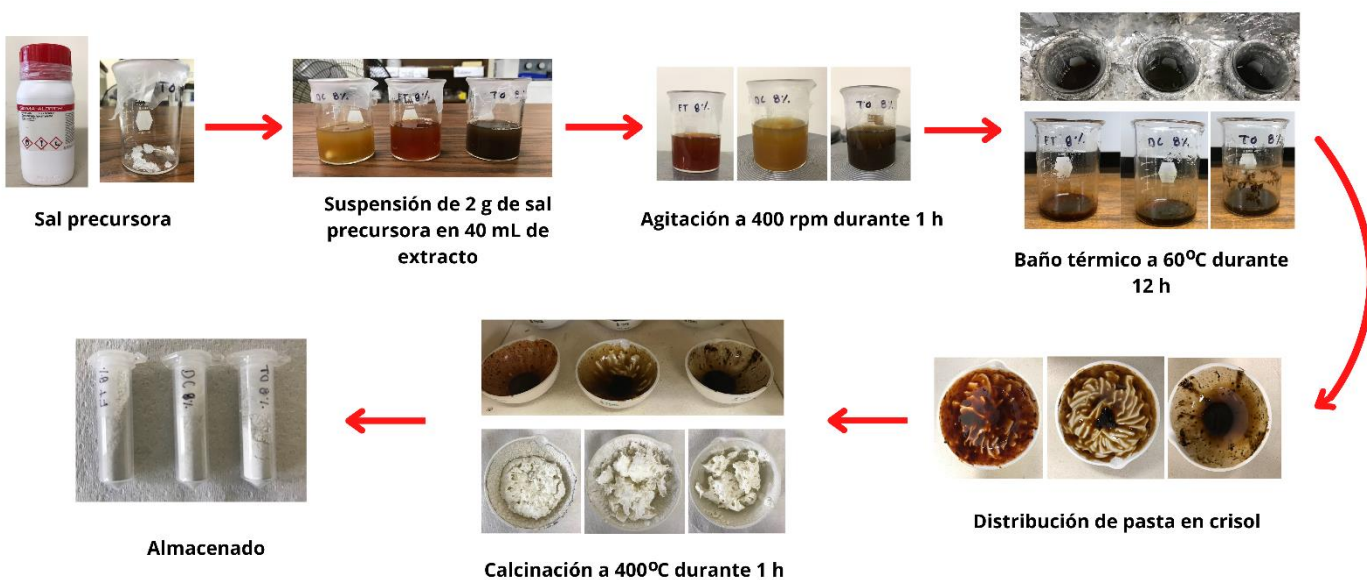


Figura 12. Procedimiento experimental; síntesis de nanopartículas.

6.4 Evaluación fotocatalítica

Primeramente, se preparó el colorante a evaluar, se preparó 1 L de azul de metileno (MB) a una concentración de 15 ppm diluyendo 15 mg de colorante en 1 L de agua destilada. Para las pruebas se aplicó la metodología de la Figura 13, se suspendieron 50 mg de muestra de nanopartículas en 50 mL del colorante previamente preparado y se agitaron en oscuridad a 400 rpm durante 30 min. La solución se vertió en el reactor donde fueron expuestos a lámparas de luz UV de 10 W a 18 mJ/cm^2 . Se tomaron alícuotas de 1.5 mL cada 10 min durante 30 min, y más adelante cada 30 min hasta alcanzar un tiempo de 3 h. Las muestras de degradación fueron medidas en un espectrofotómetro UV-Vis para la determinación de concentración del colorante en los diferentes tiempos.



Figura 13. Diagrama de metodología para la evaluación de actividad fotocatalítica.

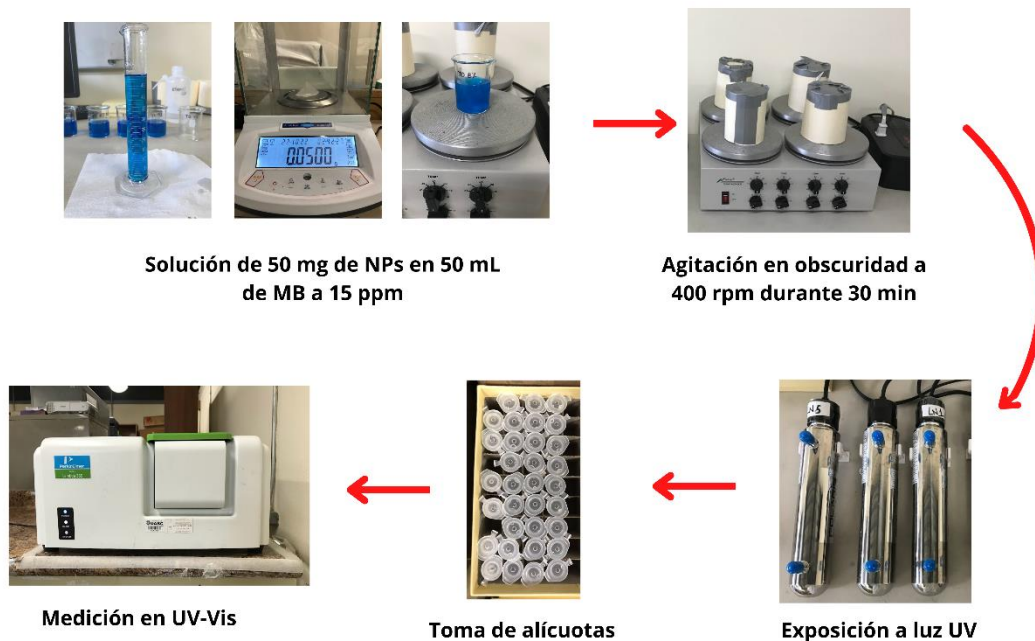


Figura 14. Procedimiento experimental; evaluación fotocatalítica de las nanopartículas.

6.6 Evaluación antimicrobiana

Se utilizó el método de difusión de discos-placa para el estudio de la susceptibilidad microbiana. El inóculo inicial se reactivó inoculando en caldo de infusión de corazón y cerebro (BHI por sus siglas en inglés) e incubando en agitación a 37°C por 24h, posteriormente se centrifugo a 400 rpm durante 15 min, se decantó y resuspendió el pellet en 10 mL de PBS, se repitió este procedimiento resuspendiendo en 1 mL de PBS. Se colocó en un matraz 10 mL de PBS y 200 uL del inóculo y se ajustó hasta obtener una densidad óptica a 600nm de 0.1 equivalente a una concentración de 10^5 CFU/mL. Posteriormente, se inoculó el agar BHI al 1% en una proporción 1:10 para después prepararse las cajas Petri de 4 mm de grosor, una vez gelificadas se incubaron a 37°C durante 24h. Los discos de papel filtro fueron colocados sobre el agar e impregnados con 10 μ L de suspensiones de ZnO NPs a concentraciones de 2 y 4 mg/mL, así como uno impregnado con 10 μ L del antibiótico y uno sin impregnar, utilizados como controles. Nuevamente se incubaron las muestras a 37°C por 24 h y finalmente los halos de inhibición fueron medidos para el análisis de resultados.

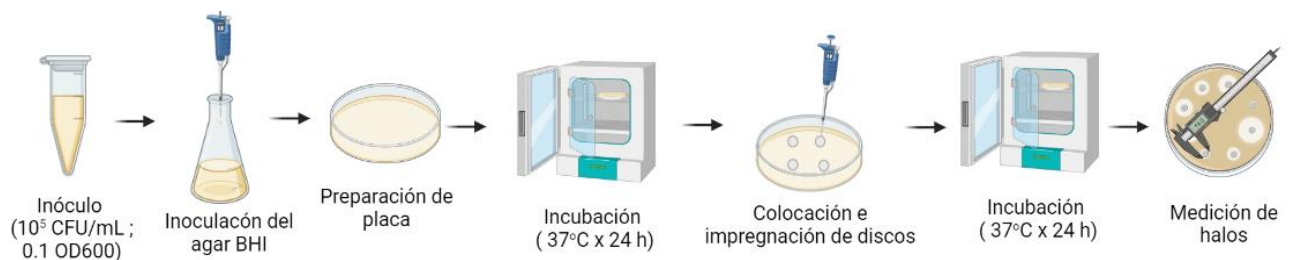


Figura 15. Diagrama de metodología para la evaluación de propiedades antimicrobianas.

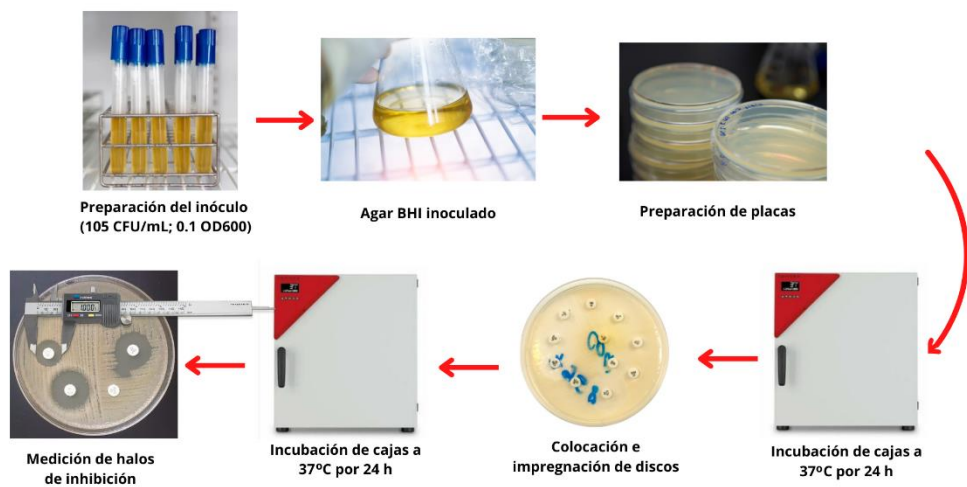


Figura 16. Procedimiento experimental; evaluación antimicrobiana de las NPs.

7. Resultados y discusión

7.1 Síntesis de nanopartículas

Tras la síntesis de las nanopartículas y su pulverización, se obtuvo un polvo blanco (Figura 17). La cantidad de nanopartículas obtenidas para cada extracto se reportan en la Tabla 1, sintetizando cantidades similares para cada uno de ellos. Las propiedades las muestras obtenidas se estudiaron por medio de las siguientes técnicas de caracterización; espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos-X (DRX) y espectroscopía ultravioleta visible (UV-Vis).

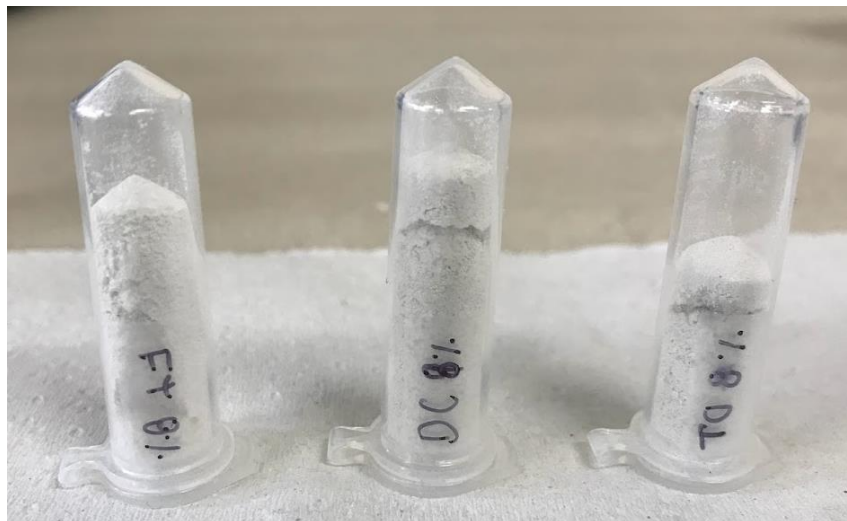


Figura 17. Nanopartículas de ZnO obtenidas por medio de síntesis verde

Tabla 1. Rendimiento másico de las nanopartículas de ZnO obtenidas, por extracto.

Extracto	Muestra	NPs (mg)
<i>Ternstroemia pringlei</i> Rose	ZnO-FT	503.5
<i>Turnera diffusa</i> Willd.	ZnO-DC	548.8
<i>Agastache mexicana</i>	ZnO-TM	516.8

Basándose en la literatura, se propone un mecanismo de formación de nanopartículas a partir del uso de fuentes con altos contenido de polifenoles (Figura 18), donde los grupos hidroxilo enlazados a los anillos aromáticos de las biomoléculas se ligan con las sales precursoras. Por medio de la hidrólisis, los iones de los grupos hidroxilo son liberados y se ligan con los iones de zinc para la formación de complejos elongados de zinc [84]. Este sistema sufre una descomposición directa y la eliminación de una parte de la materia orgánica cuando se calcina a 400 °C, lo que conduce a la liberación de las NPs de ZnO del sistema complejo [85], [86].

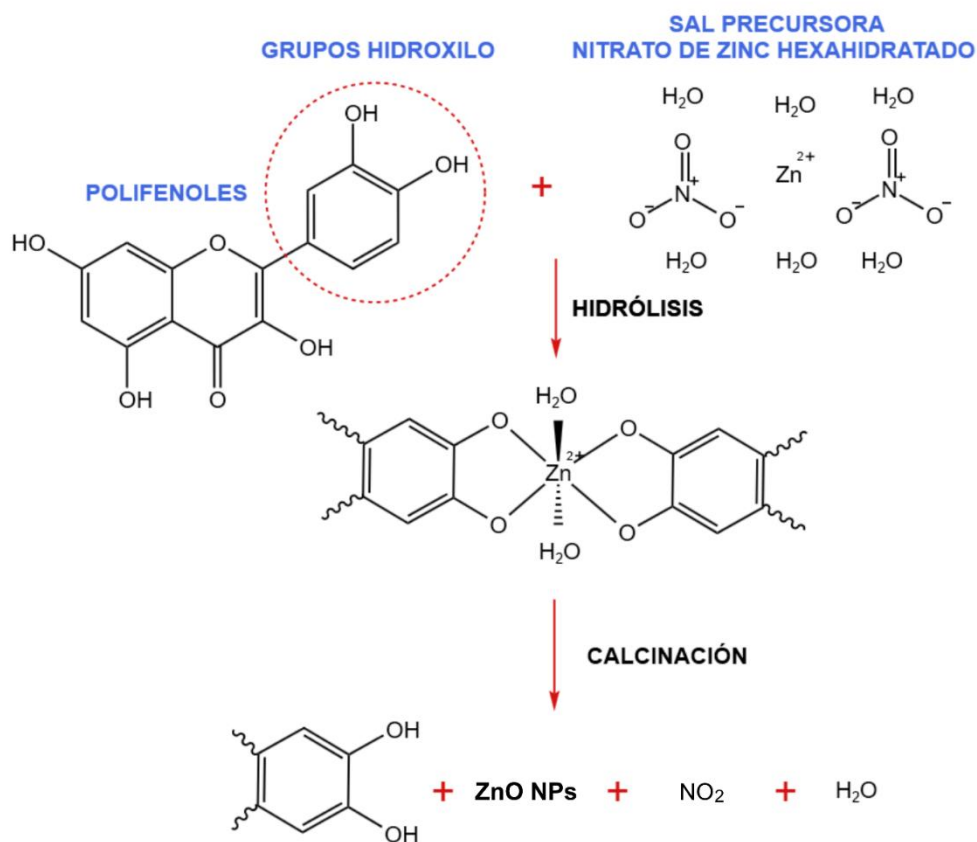


Figura 18. Mecanismo propuesto de formación de nanopartículas de ZnO.

7.2 Caracterización

El análisis de las propiedades de las NPs de ZnO obtenidas se realizó a través de la aplicación de las técnicas de caracterización: espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) para análisis fisicoquímico; difracción de rayos-X (DRX) para el análisis de la estructura cristalina y espectroscopía ultravioleta visible (UV-Vis) para la determinación del ancho de banda prohibida.

7.2.1 FTIR.

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier es una espectroscopía vibracional que se basa en la interacción de los grupos funcionales de la muestra con la radiación electromagnética resultante de los niveles de energía vibracional [87]. La absorción vibracional es medida como una función de longitud de onda obteniendo un espectro IR, esta señal bruta es transformada por Fourier (FT) para la obtención de una representación IR en función del número de onda [88].

La Figura 19 muestra el espectro FTIR, medido en el rango de 350 hasta 4000 cm^{-1} , de los tés a partir de los cuales se obtuvieron los extractos que funcionan como agentes estabilizadores en el proceso de biosíntesis. Se observan bandas asociadas a diferentes enlaces: 3326 cm^{-1} a O-H, 2916 cm^{-1} a C-H, 2849 cm^{-1} a C-H, 1733 cm^{-1} a C=O, 1612 cm^{-1} a C=C y 1023 cm^{-1} a C-O, todas ellas asociadas a vibraciones de tensión.

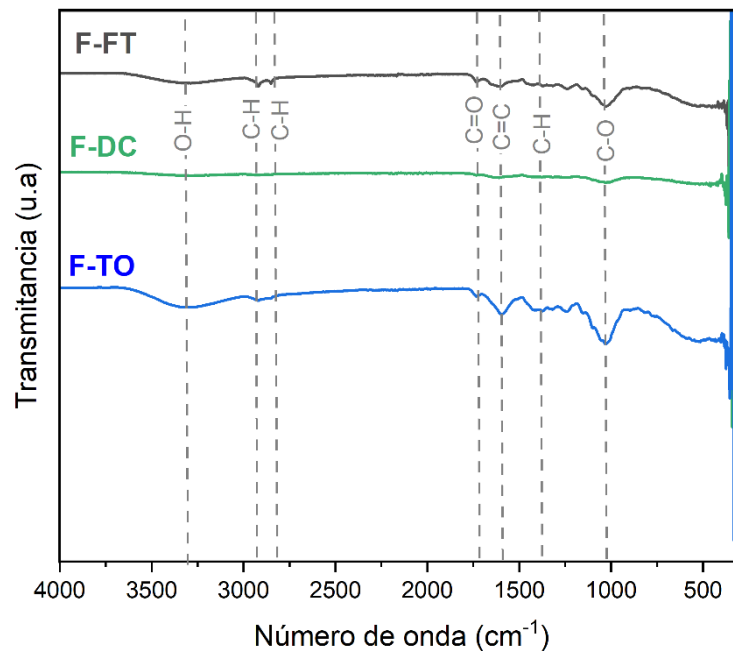


Figura 19. Espectro FTIR de las fuentes utilizadas e identificación de enlaces.

En el espectro FTIR de las ZnO-NPs sintetizadas medido en el rango 350-4000 cm^{-1} (Figura 20), la banda observada en 3430 cm^{-1} corresponde a la vibración de tensión del enlace O-H asociado a los polifenoles de los extractos, las bandas observadas en el rango 860-1730 cm^{-1} corresponden a impurezas de la materia orgánica presente en las muestras proveniente de los extractos utilizados, con picos en 1730, 1500, 1380, 1115 y

860 cm^{-1} asociados a vibraciones de tensión de C=O, N-O, C-N, C-O y CH, respectivamente. En todas las muestras se presentó una banda a 397 cm^{-1} representativa de la vibración de tensión del enlace Zn-O [89], confirmando así la presencia y naturaleza del material sintetizado [90]. La identificación de estas bandas se muestra en la Tabla 2.

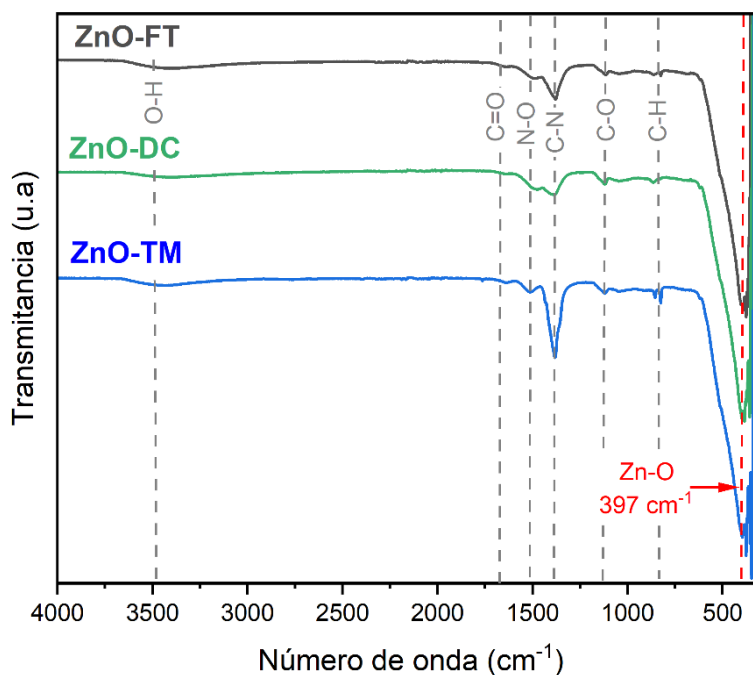


Figura 20. Espectro FTIR de las NPs e identificación de enlaces.

Tabla 2. Bandas obtenidas en FTIR y su identificación.

Número de onda (cm^{-1})	Grupo	Vibración	Compuesto
3430	O-H	tensión	Polifenol
1730	C=O	tensión	Ac. carboxílico
1500	N-O	tensión	Nitrocompuesto
1380	C-N	tensión	Amina aromática
1115	C-O	tensión	Aromático
860	C-H	tensión	Aromático
397	Zn-O	tensión	Óxido de zinc

7.2.2 DRX.

La difracción de rayos X (DRX) hace pasar un haz de rayos X a través de una muestra, los rayos son difractados en un patrón determinado por la posición, arreglo y tamaño de los constituyentes del cristal. La interferencia que sufren los fotones genera un patrón de difracción característico y específico para la muestra que se observa aplicando la ley de Bragg y que permite determinar características de la estructura cristalina del material [91]-[92].

Los patrones de DRX para las nanopartículas de ZnO sintetizadas son presentados en la Figura 21. Se observan picos en 31.7°, 34.46°, 36.27°, 47.45°, 56.47°, 62.97° y 67.91°, de acuerdo a JCPDS 36-1451 correspondiente a los planos cristalinos (100), (102), (101), (102), (110), (103) y (112), respectivamente. Por lo tanto, todas las muestras exhiben una estructura cristalina Wurtzita característica de este material [93].

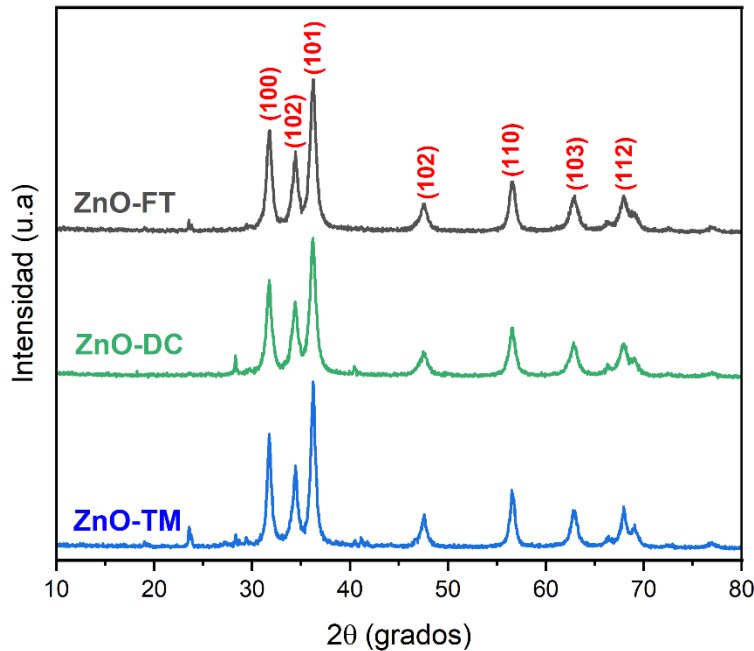


Figura 21. Patrón DRX de ZnO NPs sintetizadas con diferentes extractos.

El tamaño de cristalita fue calculado con la ecuación Debye-Scherrer $\tau = \frac{K \cdot \lambda}{\beta \cos(\theta)}$, donde τ representa el tamaño de cristalita, K es la constante de Scherrer (~ 0.94), λ es la longitud de onda de rayos X utilizada (0.15406), β es el ancho del pico DRX a media altura y θ es el ángulo de difracción de Bragg. Los valores de β y θ se obtuvieron a partir de un ajuste en los difractogramas DRX (Figura 22) y se convirtieron a radianes

obteniendo los valores mostrados en la Tabla 3, a partir de los cuales se calculó el tamaño de cristalita, obteniendo valores de 10.52 nm para ZnO-FT, 10.02 nm para ZnO-DC y 12.97 nm para ZnO-TM [94].

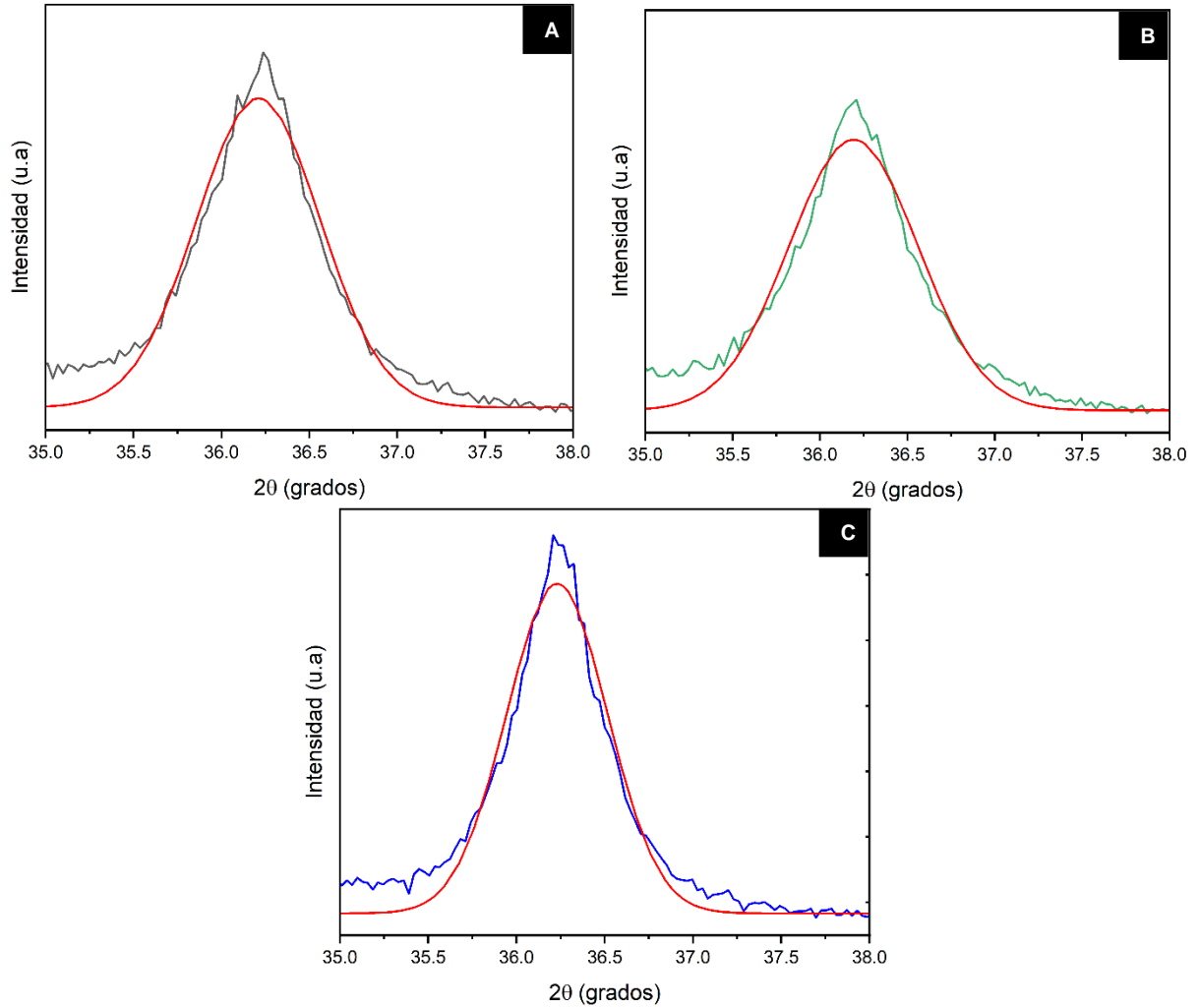


Figura 22. Ajuste del pico de mayor intensidad para cálculo de β y θ , para las muestras ZnO-FT (A), ZnO-DC (B) y ZnO-TM (C).

Tabla 3. Valores de 2θ y β de cada muestra y tamaño de cristalita calculados.

Muestra	2θ		β		τ
	grados	radianes	grados	radianes	nm
ZnO-FT	36.21	0.6320	0.8302	0.0145	10.5155
ZnO-DC	36.19	0.6316	0.8713	0.0152	10.0183
ZnO-TM	36.23	0.6323	0.6733	0.118	12.9661

7.2.3 Banda prohibida.

La energía mínima requerida para que un electrón sea excitado y pase de la banda de valencia a la banda de conducción se conoce como banda prohibida. Los cálculos parten del espectro de absorción de las NPs de ZnO sintetizadas (Figura 23), haciendo uso de la espectroscopía UV-Vis, los espectros UV-Vis fueron adquiridos desde los 2200 hasta los 800 nm para todas las muestras. Los picos de máxima absorción se encuentran en 361 nm para ZnO-DC, 362 nm para ZnO-FT y 367 nm para ZnO-TM, valores menores a los reportados en la literatura y los cuales representan la absorción típica de banda prohibida de ZnO [14], [15], [39].

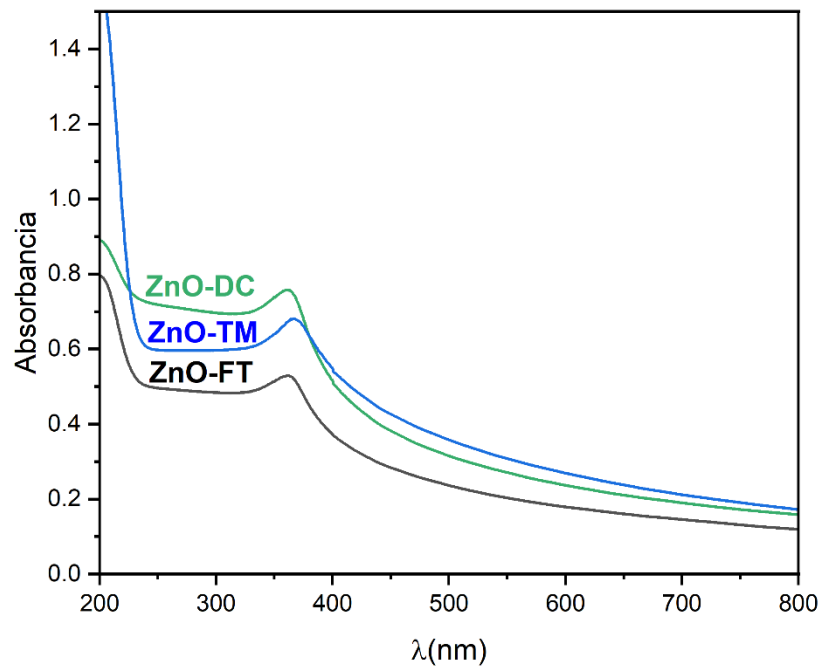


Figura 23. Espectro de absorción de las NPs de ZnO.

El estudio de la banda prohibida se calculó aplicando en modelo TAUC a partir de la siguiente ecuación:

$$(\alpha h\nu)^{\frac{1}{n}} = B(h\nu - E_g) \quad (1)$$

Donde $\alpha(\nu)$ es el coeficiente de absorción (Lambert-Beer), $h\nu$ es la energía de incidencia del fotón, B es una constante, E_g es la energía de la banda prohibida y el valor n corresponde al tipo de transición electrónica del material, en este caso $n = 1/2$. A partir de estos valores se obtiene una gráfica TAUC graficando $(\alpha h\nu)^2$ y energía $h\nu$ (Figura

24) [95], se traza una línea recta partiendo del primer segmento recto observado en el espectro y su intersección con el eje x (energía) indica el valor de la banda prohibida.

Se obtuvieron valores de banda prohibida de 2.84 eV para ZnO-DC, 2.86 eV para ZnO-TM y 3.01 eV ZnO-FT, los dos primeros menores al rango de los valores reportados anteriormente en la literatura [15], [27], [96]. El extracto utilizado tiene un efecto en la los valores obtenidos de banda prohibida, lo que puede deberse a la composición química de estos.

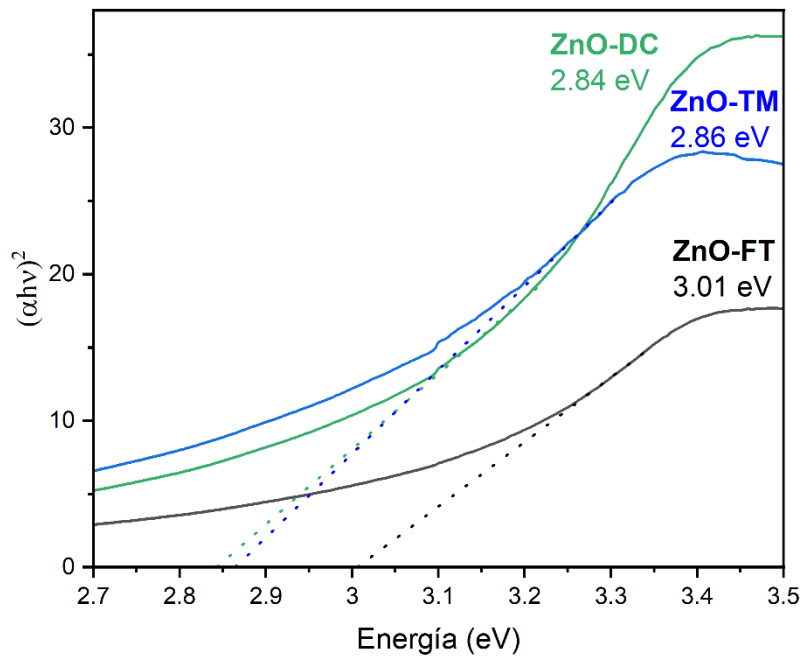


Figura 24. Gráfica de TAUC para cálculo de banda prohibida de las NPs de ZnO.

7.3 Actividad fotocatalítica

7.3.1 Degradación de azul de metileno.

La evaluación de la actividad fotocatalítica de las nanopartículas de ZnO obtenidas se realizó con el colorante azul de metileno (MB) bajo irradiación de luz UV con lámparas. Para la cuantificación y análisis de las alícuotas tomadas en el ensayo se utilizó espectroscopía UV-Vis en el rango de 800 a 400 nm. La Figura 25 expone el espectro de absorción medido para las alícuotas tomadas en los tiempos 0, 10, 20, 30, 60, 120, 150 y 180 min, para ZnO-DC y ZnO-TM, mientras que para ZnO-FT se continuó tomando alícuotas hasta observar una degradación total del colorante, lo cual se obtuvo en un tiempo de 390 min.

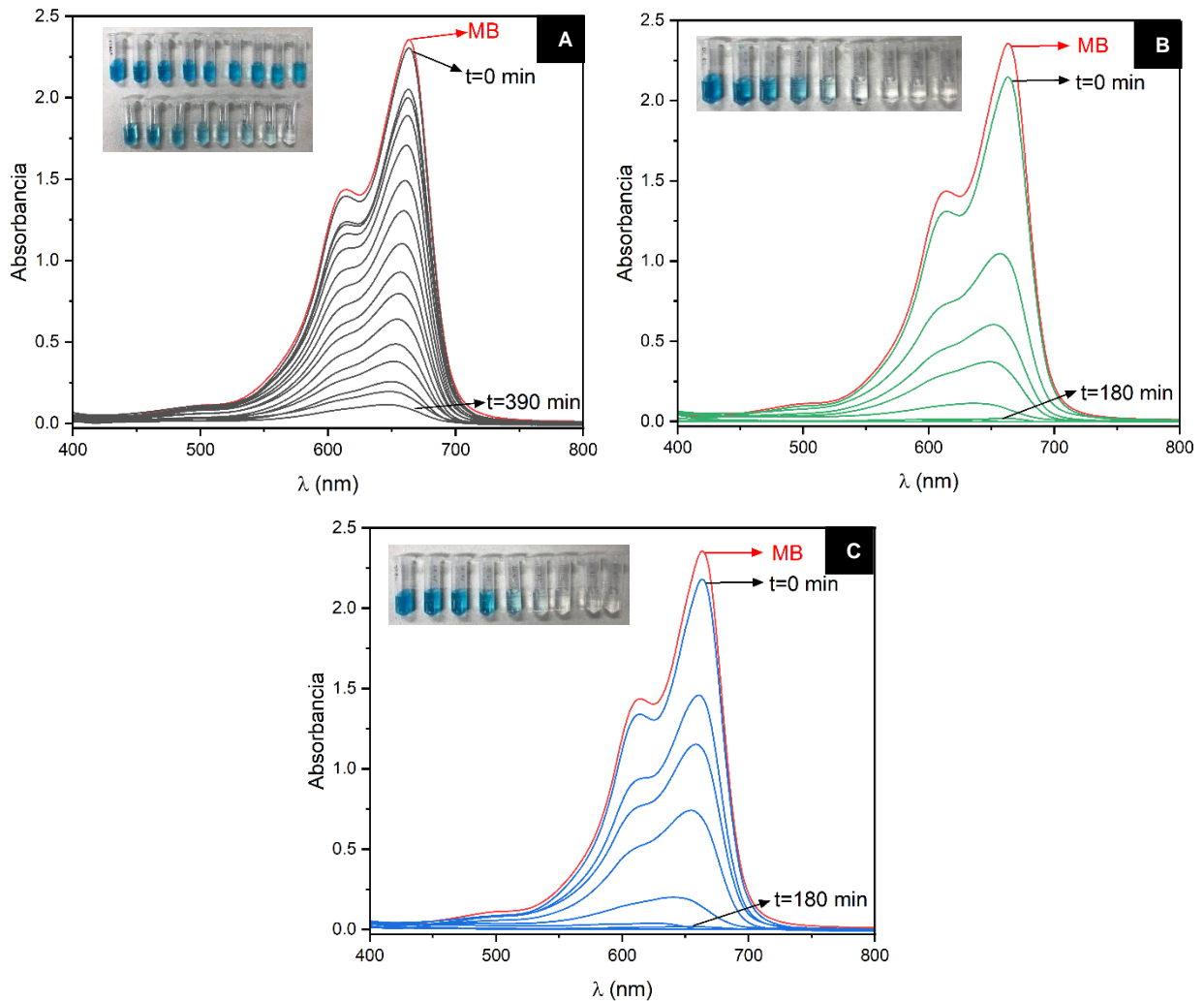


Figura 25. Espectro de absorción de MB y su degradación en relación al tiempo, evaluado con ZnO-FT (A), ZnO-DC (B) y ZnO-TM (C).

La etiqueta MB representa la absorción del colorante inicial y t=0 min la absorción 30 minutos después de añadir las muestras de ZnO NPs al colorante, la diferencia de absorbancia entre estos espectros nos indica la adsorción de MB durante agitación previo a su exposición a luz UV. Se observa una adsorción similar para las tres muestras ZnO-FT, ZnO-DC y ZnO-TM con porcentajes de 6.20%, 8.92% y 7.49%, respectivamente.

Los porcentajes de degradación de azul de metileno por fotocátalisis bajo luz UV usando ZnO NPs se muestra en la Tabla 4. Todas las muestras evaluadas degradaron el colorante, teniendo ZnO-DC y ZnO-TM un comportamiento similar logrando la degradación total (100%) en un tiempo de 90 min, la primera presentó un mayor porcentaje de degradación en los primeros 30 min. Por otro lado, la muestra ZnO-FT degradó un 96.31% en un tiempo de 390 min.

Tabla 4. Porcentajes de degradación por fotocátalisis de azul de metileno.

Tiempo	FT	DC	TO
0	6.20%	8.92%	7.49%
10	16.52%	57.21%	38.72%
20	18.67%	77.05%	52.30%
30	23.24%	86.74%	70.73%
60	30.84%	96.82%	94.08%
90	39.97%	100.00%	100.00%
120	47.90%	100.00%	100.00%
150	56.36%	100.00%	100.00%
180	63.79%	100.00%	100.00%
210	69.37%	-	-
240	75.85%	-	-
270	82.04%	-	-
300	86.23%	-	-
330	91.13%	-	-
360	93.37%	-	-
390	96.31%	-	-

La concentración de colorante respecto al tiempo de exposición se presenta en la Figura 26, donde se representa la absorción del colorante previo a la exposición a luz UV como se mencionó anteriormente.

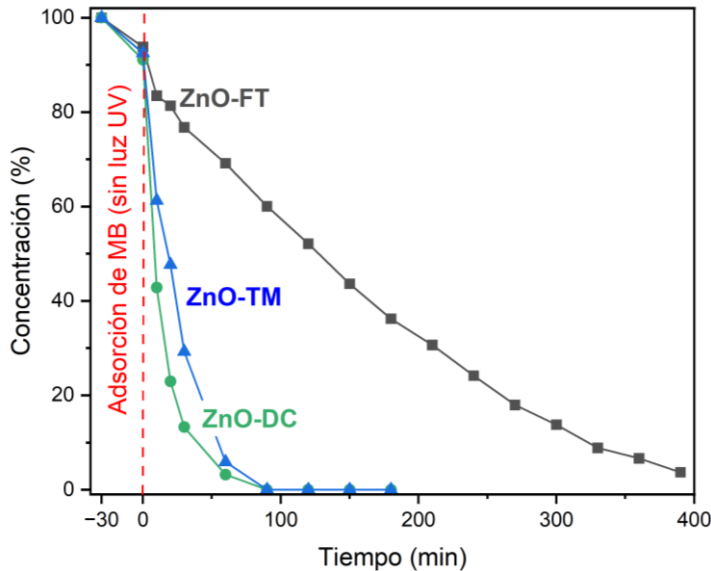


Figura 26. Porcentaje de degradación de MB con los diferentes catalíticos.

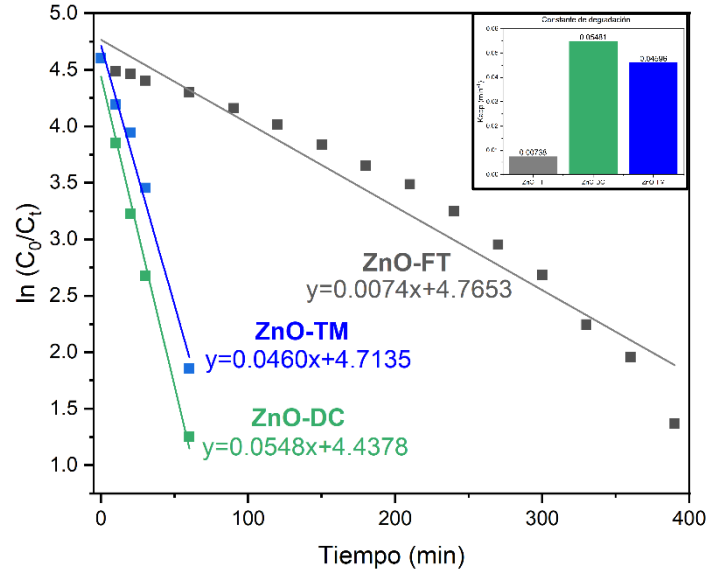


Figura 27. Velocidad de degradación de azul de metileno.

Se calculó la velocidad de degradación obteniendo una regresión lineal a partir del espectro de absorbancia del colorante tras la evaluación de cada una de las muestras (Figura 27). Se utilizó la ecuación $\ln(C/C_0) = kt$, donde C es la concentración del colorante en diferentes tiempos, C_0 es la concentración del colorante en $t = 0$, t es el tiempo de exposición a luz UV y k es la constante [22], [25]. La muestra ZnO-DC presentó una mayor constante de degradación con un valor de 0.05481 seguida por ZnO-TM con 0.04596, por último, ZnO-FT con 0.00738 siendo 6.23 y 7.43 veces menor que las constantes de ZnO-TM y ZnO-DC respectivamente. Todos los coeficientes de correlación (R^2) son mayores a 0.95326, lo indica que la fotodegradación sigue el modelo cinético.

La diferencia entre muestras se atribuye a la diferencia en los valores de banda prohibida, teniendo el extracto un efecto en los valores obtenidos lo cual puede deberse a su diferente composición química.

7.3.2 Propuesta de mecanismo de degradación.

Se propone un mecanismo de degradación del colorante azul de metileno (MB) por medio de fotocatalisis heterogénea bajo luz UV empleando nanopartículas de ZnO como fotocatalizador (Figura 28), esto basándose en la literatura [5], [82], [97]. El primer paso de este mecanismo es la irradiación de luz UV a la muestra con una energía mayor igual al ancho de banda prohibida (1), lo que provoca la excitación de los electrones de la banda de valencia (VB) hacia la banda de conducción (CB) formando pares electrón-hueco (e^-/h^+) (2), estos reaccionan con agua y oxígeno, h^+ da inicio a procesos de oxidación y e^- de reducción obteniendo especies reactivas de oxígeno (ROS) como productos (3), finalmente estas ROS interactúan con el colorante MB que da pie a su degradación (4). La formación y participación de los radicales ROS se produce a través de las siguientes reacciones:

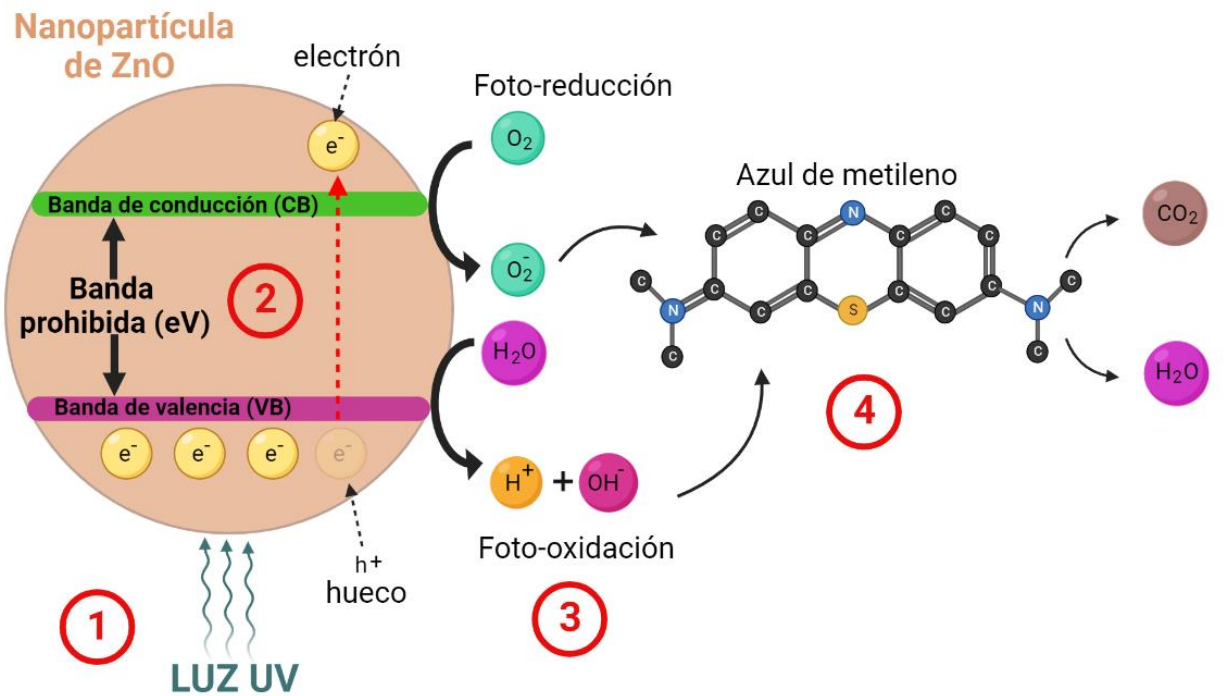
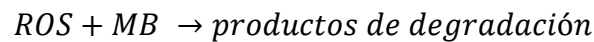
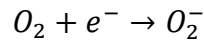
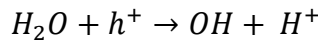
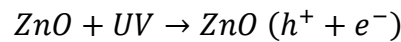


Figura 28. Diagrama de propuesta de mecanismo de fotocatalisis para degradación de azul de metileno haciendo uso de ZnO NPs como fotocatalizador.

7.4 Actividad antimicrobiana

7.4.1 Antibiogramas

La evaluación de la actividad antimicrobiana se realizó ante *E.coli* aplicando el método de difusión disco-placa con medio BHI. Se colocó un control negativo colocando un disco impregnando con el antibiótico Penicilina-estreptomicina. En la Figura 29 se muestran los antibiogramas obtenidos. Ninguna de las muestras presentó actividad al no formarse halos de inhibición sobre los discos impregnados con la suspensión de nanopartículas a concentraciones de 2 y 4 mg/mL mientras que el control negativo del antibiótico si presentó el halo esperado.

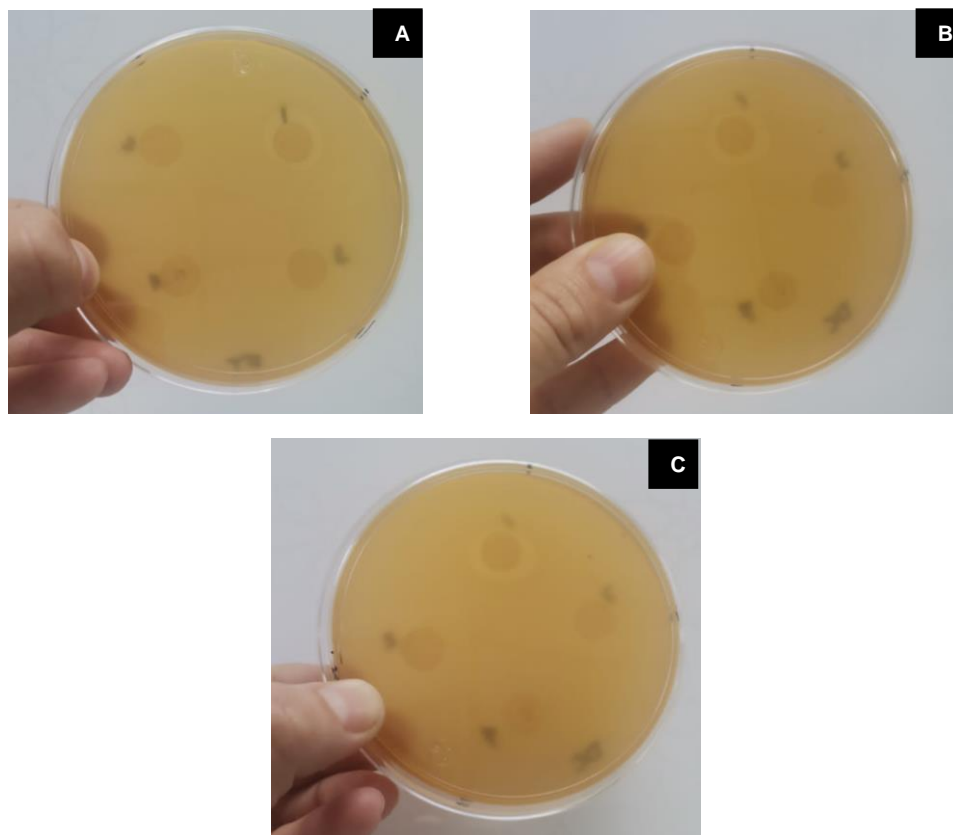


Figura 29. Resultados de antibiogramas realizados con ZnO-FT (A), ZnO-DC (B) y ZnO-TM (C).

La nula actividad antimicrobiana presentada se puede atribuir a la presencia de materia orgánica en las muestras recubriendo las NPs, materia orgánica proveniente de los extractos naturales, lo cual se puede justificar con los resultados obtenidos en el espectro FTIR.

7.4.2 Propuesta de mecanismos de inhibición.

Basándose en la literatura se propone un esquema de cuatro principales mecanismos de inhibición microbiana de las nanopartículas de ZnO (Figura 30), estos mecanismos dependen de las propiedades fisicoquímicas de las NPs, sus características morfológicas y estructurales [14], [65], [98].

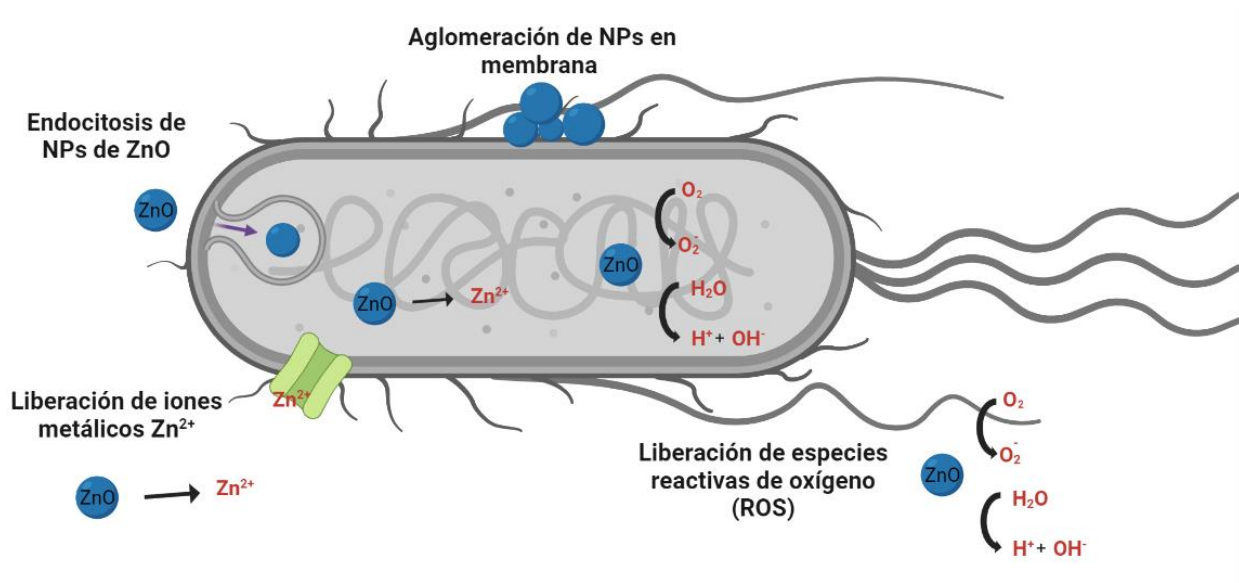


Figura 30. Diagrama de propuesta de mecanismos de inhibición microbiana.

1. Especies reactivas de oxígeno (ROS): se debe a la intensificación de reacciones redox por la presencia de ZnO NPs produciendo ROS tanto en el espacio intra como extracelular, que genera un estrés oxidativo que puede resultar en apoptosis.
2. Iones metálicos (Zn²⁺): generación de cationes metálicos por la disociación de las nanopartículas de ZnO en el espacio intracelular y extracelular.
3. Internalización de NPs: las NPs de menor tamaño pueden entrar al espacio intracelular por endocitosis.
4. Cambios en la membrana celular: se da por la aglomeración de NPs en la membrana por interacción electrostática y la peroxidación lipídica de ácidos grasos poliinsaturados por ROS y iones metálicos.

8. Conclusiones

En el presente trabajo se obtuvieron nanopartículas de óxido de zinc mediante un proceso de biosíntesis haciendo uso de extractos de té antioxidantes a una concentración del 8% masa/volumen como agentes estabilizadores. Se obtuvieron tres muestras de ZnO NPs a partir de *Ternstroemia pringlei* Rose, *Turnera diffusa* Willd y *Agastache mexicana*.

En el análisis fisicoquímico obtenido con espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) se observaron bandas entre 1730 y 860 cm^{-1} asociadas a compuestos orgánicos y una banda a 397 cm^{-1} que confirma la naturaleza del ZnO. La banda prohibida del semiconductor se determinó a partir de la espectroscopía ultravioleta visible (UV-Vis), obtenido valores de banda prohibida de 2.84 eV para ZnO-DC, 2.86 eV para ZnO-TM y 3.01 eV ZnO-FT, los dos primeros menores al rango de los valores reportados anteriormente en la literatura. La estructura cristalina del material se estudió a partir de la difracción de rayos-X (DRX) donde todas las muestras presentaron una estructura cristalina Wurtzita determinada por los picos observados en 31.7°, 34.46°, 36.27°, 47.45°, 56.47°, 62.97° y 67.91°, y un tamaño de cristalita 10.52 nm para ZnO-FT, 10.02 nm para ZnO-DC y 12.97 nm para ZnO-TM.

En cuanto a su actividad fotocatalítica se degradó azul de metileno (MB) bajo irradiación de luz UV con lámparas, logrando una degradación total (100%) con ZnO-DC y ZnO-TM en 90 minutos, y del 93.31% en 390 minutos para ZnO-FT. Con constantes de degradación de 0.05481, 0.04596 y 0.00738, respectivamente. La actividad antimicrobiana de las ZnO NPs fue evaluada ante *E. coli* mediante el método de difusión disco-placa utilizando medio BHI, donde ninguna de las muestras presentó actividad.

Con base a los resultados obtenidos podemos afirmar que los extractos utilizados fungen de manera satisfactoria como agentes estabilizadores en la síntesis verde de nanopartículas de óxido de zinc, aplicando los principios de la química verde sin el uso o generación de agentes dañinos para el ser humano y/o el medio ambiente. Además de proveer a las NPs con características de banda prohibida y tamaño de cristalita con valores menores a los reportados en la literatura, lo representa una mejora en cuanto a su actividad fotocatalítica logrando degradar el colorante azul de metileno (MB), por lo cual hace posible su aplicación en el tratamiento de agua.

9. Referencias

- [1] K. Maheshwari, M. Agrawal, y A. B. Gupta, "Dye Pollution in Water and Wastewater", en *Novel Materials for Dye-containing Wastewater Treatment*, S. S. Muthu y A. Khadir, Eds. Singapore: Springer, 2021, pp. 1–25. doi: 10.1007/978-981-16-2892-4_1.
- [2] M. M. Hassan y C. M. Carr, "A critical review on recent advancements of the removal of reactive dyes from dyehouse effluent by ion-exchange adsorbents", *Chemosphere*, vol. 209, pp. 201–219, oct. 2018, doi: 10.1016/j.chemosphere.2018.06.043.
- [3] J. M. Aquino, R. C. Rocha-Filho, L. A. M. Ruotolo, N. Bocchi, y S. R. Biaggio, "Electrochemical degradation of a real textile wastewater using β -PbO₂ and DSA® anodes", *Chem. Eng. J.*, vol. 251, pp. 138–145, sep. 2014, doi: 10.1016/j.cej.2014.04.032.
- [4] A. Rafiq *et al.*, "Photocatalytic degradation of dyes using semiconductor photocatalysts to clean industrial water pollution", *J. Ind. Eng. Chem.*, vol. 97, feb. 2021, doi: 10.1016/j.jiec.2021.02.017.
- [5] D. Ayodhya y G. Veerabhadram, "A review on recent advances in photodegradation of dyes using doped and heterojunction based semiconductor metal sulfide nanostructures for environmental protection", *Mater. Today Energy*, vol. 9, pp. 83–113, sep. 2018, doi: 10.1016/j.mtener.2018.05.007.
- [6] S. Chakrabarti y B. K. Dutta, "Photocatalytic degradation of model textile dyes in wastewater using ZnO as semiconductor catalyst", *J. Hazard. Mater.*, vol. 112, núm. 3, pp. 269–278, ago. 2004, doi: 10.1016/j.jhazmat.2004.05.013.
- [7] CDC, "What Exactly is Antibiotic Resistance?", *Centers for Disease Control and Prevention*, el 21 de julio de 2022. <https://www.cdc.gov/drugresistance/about.html> (consultado el 21 de septiembre de 2022).
- [8] C. Walsh, "Antibiotics: actions, origins, resistance.", *Antibiot. Actions Orig. Resist.*, 2003, Consultado: el 21 de septiembre de 2022. [En línea]. Disponible en: <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20043133125>
- [9] M. C. Fisher *et al.*, "Threats Posed by the Fungal Kingdom to Humans, Wildlife, and Agriculture", *mBio*, vol. 11, núm. 3, pp. e00449-20, may 2020, doi: 10.1128/mBio.00449-20.
- [10] Z. L. Wang, "Nanostructures of zinc oxide", *Mater. Today*, vol. 7, núm. 6, pp. 26–33, jun. 2004, doi: 10.1016/S1369-7021(04)00286-X.
- [11] O. J. Nava *et al.*, "Fruit peel extract mediated green synthesis of Zinc Oxide nanoparticles", *J. Mol. Struct.*, vol. 1147, jun. 2017, doi: 10.1016/j.molstruc.2017.06.078.
- [12] L. Hernández-Morales *et al.*, "Study of the green synthesis of silver nanoparticles using a natural extract of dark or white *Salvia hispanica* L. seeds and their antibacterial application", *Appl. Surf. Sci.*, vol. 489, pp. 952–961, sep. 2019, doi: 10.1016/j.apsusc.2019.06.031.
- [13] N. S. Al-Radadi *et al.*, "Zingiber officinale driven bioproduction of ZnO nanoparticles and their anti-inflammatory, anti-diabetic, anti-Alzheimer, anti-oxidant, and anti-microbial applications", *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 140, p. 109274, jun. 2022, doi: 10.1016/j.inoche.2022.109274.

- [14] J. L. López-Miranda, B. L. España Sánchez, R. Esparza, y M. Estévez, “Self-assembly of ZnO nanoflowers synthesized by a green approach with enhanced catalytic, and antibacterial properties”, *Mater. Chem. Phys.*, vol. 289, p. 126453, sep. 2022, doi: 10.1016/j.matchemphys.2022.126453.
- [15] M. A. Ansari *et al.*, “Cinnamomum verum Bark Extract Mediated Green Synthesis of ZnO Nanoparticles and Their Antibacterial Potentiality”, *Biomolecules*, vol. 10, núm. 2, p. E336, feb. 2020, doi: 10.3390/biom10020336.
- [16] Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, :: “Términos - Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana :: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana”, *Tila*, 2009.
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/> (consultado el 3 de octubre de 2022).
- [17] Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, :: “Términos - Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana :: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana”, *Damiana*, 2009.
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/> (consultado el 3 de octubre de 2022).
- [18] Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana, :: “Términos - Atlas de las Plantas de la Medicina Tradicional Mexicana :: Biblioteca Digital de la Medicina Tradicional Mexicana”, *Toronjil*, 2009.
<http://www.medicinatradicionalmexicana.unam.mx/> (consultado el 3 de octubre de 2022).
- [19] H. Chemingui *et al.*, “Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles (ZnO NPs): antibacterial and photocatalytic activities”, *Mater. Res. Express*, vol. 6, núm. 10, p. 1050b4, sep. 2019, doi: 10.1088/2053-1591/ab3cd6.
- [20] S. Gunalan, R. Sivaraj, y V. Rajendran, “Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens”, *Prog. Nat. Sci. Mater. Int.*, vol. 22, núm. 6, pp. 693–700, dic. 2012, doi: 10.1016/j.pnsc.2012.11.015.
- [21] A. R. Pinho, S. Rebelo, y M. de L. Pereira, “The Impact of Zinc Oxide Nanoparticles on Male (In)Fertility”, *Materials*, vol. 13, núm. 4, Art. núm. 4, ene. 2020, doi: 10.3390/ma13040849.
- [22] S. Akir, A. Hamdi, A. Addad, Y. Coffinier, R. Boukherroub, y A. Dakhlaoui Omrani, “Facile synthesis of carbon-ZnO nanocomposite with enhanced visible light photocatalytic performance”, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 400, pp. 461–470, abr. 2017, doi: 10.1016/j.apsusc.2016.12.212.
- [23] B. Lallo da Silva, B. L. Caetano, B. G. Chiari-Andréo, R. C. L. R. Pietro, y L. A. Chiavacci, “Increased antibacterial activity of ZnO nanoparticles: Influence of size and surface modification”, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 177, pp. 440–447, may 2019, doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.02.013.
- [24] A. Sirelkhatim *et al.*, “Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism”, *Nano-Micro Lett.*, vol. 7, núm. 3, pp. 219–242, 2015, doi: 10.1007/s40820-015-0040-x.
- [25] X. Chen, Z. Wu, D. Liu, y Z. Gao, “Preparation of ZnO Photocatalyst for the Efficient and Rapid Photocatalytic Degradation of Azo Dyes”, *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 12, núm. 1, p. 143, feb. 2017, doi: 10.1186/s11671-017-1904-4.

- [26] Udayabhanu *et al.*, “Vitis labruska skin extract assisted green synthesis of ZnO super structures for multifunctional applications”, *Ceram. Int.*, vol. 43, núm. 15, pp. 11656–11667, oct. 2017, doi: 10.1016/j.ceramint.2017.05.351.
- [27] A. El Golli, M. Fendrich, N. Bazzanella, C. Dridi, A. Miotello, y M. Orlandi, “Wastewater remediation with ZnO photocatalysts: Green synthesis and solar concentration as an economically and environmentally viable route to application”, *J. Environ. Manage.*, vol. 286, p. 112226, may 2021, doi: 10.1016/j.jenvman.2021.112226.
- [28] Y. J. Shim *et al.*, “Zinc oxide nanoparticles synthesized by Suaeda japonica Makino and their photocatalytic degradation of methylene blue”, *Optik*, vol. 182, pp. 1015–1020, abr. 2019, doi: 10.1016/j.ijleo.2018.11.144.
- [29] Z. Mirzaeifard, Z. Shariatnia, M. Jourshabani, y S. M. Rezaei Darvishi, “ZnO Photocatalyst Revisited: Effective Photocatalytic Degradation of Emerging Contaminants Using S-Doped ZnO Nanoparticles under Visible Light Radiation”, *Ind. Eng. Chem. Res.*, vol. 59, núm. 36, pp. 15894–15911, sep. 2020, doi: 10.1021/acs.iecr.0c03192.
- [30] M. T. Noman, N. Amor, M. Petru, A. Mahmood, y P. Kejzlar, “Photocatalytic Behaviour of Zinc Oxide Nanostructures on Surface Activation of Polymeric Fibres”, *Polymers*, vol. 13, núm. 8, p. 1227, abr. 2021, doi: 10.3390/polym13081227.
- [31] J. Rodrigues, T. Hatami, J. M. Rosa, E. B. Tambourgi, y L. H. I. Mei, “Photocatalytic degradation using ZnO for the treatment of RB 19 and RB 21 dyes in industrial effluents and mathematical modeling of the process”, *Chem. Eng. Res. Des.*, vol. 153, pp. 294–305, ene. 2020, doi: 10.1016/j.cherd.2019.10.021.
- [32] B. Pare, S. B. Jonnalagadda, H. Tomar, P. Singh, y V. W. Bhagwat, “ZnO assisted photocatalytic degradation of acridine orange in aqueous solution using visible irradiation”, *Desalination*, vol. 232, núm. 1, pp. 80–90, nov. 2008, doi: 10.1016/j.desal.2008.01.007.
- [33] G. A. Molina *et al.*, “Green synthesis of Ag nanoflowers using Kalanchoe Daigremontiana extract for enhanced photocatalytic and antibacterial activities”, *Colloids Surf. B Biointerfaces*, vol. 180, pp. 141–149, ago. 2019, doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.04.044.
- [34] S. Jafarirad, M. Mehrabi, B. Divband, y M. Kosari-Nasab, “Biofabrication of zinc oxide nanoparticles using fruit extract of Rosa canina and their toxic potential against bacteria: A mechanistic approach”, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 59, pp. 296–302, feb. 2016, doi: 10.1016/j.msec.2015.09.089.
- [35] R. Mohammadi-Aloucheh, A. Habibi-Yangjeh, A. Bayrami, S. Latifi-Navid, y A. Asadi, “Enhanced anti-bacterial activities of ZnO nanoparticles and ZnO/CuO nanocomposites synthesized using Vaccinium arctostaphylos L. fruit extract”, *Artif. Cells Nanomedicine Biotechnol.*, vol. 46, pp. 1–10, mar. 2018, doi: 10.1080/21691401.2018.1448988.
- [36] M. Akbarian, S. Mahjoub, S. M. Elahi, E. Zabihi, y H. Tashakkorian, “Appraisal of the biological aspect of Zinc oxide nanoparticles prepared using extract of *Camellia sinensis* L.”, *Mater. Res. Express*, vol. 6, núm. 9, p. 095022, jul. 2019, doi: 10.1088/2053-1591/ab2c49.

- [37] H. Abdul Salam, R. Sivaraj, y R. Venckatesh, “Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles from *Ocimum basilicum* L. var. *purpurascens* Benth.-Lamiaceae leaf extract”, *Mater. Lett.*, vol. 131, pp. 16–18, sep. 2014, doi: 10.1016/j.matlet.2014.05.033.
- [38] A. Król, V. Railean-Plugaru, P. Pomastowski, y B. Buszewski, “Phytochemical investigation of *Medicago sativa* L. extract and its potential as a safe source for the synthesis of ZnO nanoparticles: The proposed mechanism of formation and antimicrobial activity”, *Phytochem. Lett.*, vol. 31, pp. 170–180, jun. 2019, doi: 10.1016/j.phytol.2019.04.009.
- [39] N. Matinise, X. G. Fuku, K. Kaviyarasu, N. Mayedwa, y M. Maaza, “ZnO nanoparticles via *Moringa oleifera* green synthesis: Physical properties & mechanism of formation”, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 406, pp. 339–347, jun. 2017, doi: 10.1016/j.apsusc.2017.01.219.
- [40] F. Mohammadi Arvanag, A. Bayrami, A. Habibi-Yangjeh, y S. Rahim Pouran, “A comprehensive study on antidiabetic and antibacterial activities of ZnO nanoparticles biosynthesized using *Silybum marianum* L seed extract”, *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 97, pp. 397–405, abr. 2019, doi: 10.1016/j.msec.2018.12.058.
- [41] R. Dobrucka y J. Długaszewska, “Biosynthesis and antibacterial activity of ZnO nanoparticles using *Trifolium pratense* flower extract”, *Saudi J. Biol. Sci.*, vol. 23, núm. 4, pp. 517–523, jul. 2016, doi: 10.1016/j.sjbs.2015.05.016.
- [42] S. Dutta, B. Gupta, S. K. Srivastava, y A. K. Gupta, “Recent advances on the removal of dyes from wastewater using various adsorbents: a critical review”, *Mater. Adv.*, vol. 2, núm. 14, pp. 4497–4531, jul. 2021, doi: 10.1039/D1MA00354B.
- [43] T. Robinson, G. McMullan, R. Marchant, y P. Nigam, “Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative”, *Bioresour. Technol.*, vol. 77, núm. 3, pp. 247–255, may 2001, doi: 10.1016/S0960-8524(00)00080-8.
- [44] A. H. Shalla, M. A. Bhat, y Z. Yaseen, “Hydrogels for removal of recalcitrant organic dyes: A conceptual overview”, *J. Environ. Chem. Eng.*, vol. 6, núm. 5, pp. 5938–5949, oct. 2018, doi: 10.1016/j.jece.2018.08.063.
- [45] Z. Aksu y S. Tezer, “Biosorption of reactive dyes on the green alga *Chlorella vulgaris*”, *Process Biochem.*, vol. 40, núm. 3, pp. 1347–1361, mar. 2005, doi: 10.1016/j.procbio.2004.06.007.
- [46] G. Arya *et al.*, “Degradation of anthropogenic pollutant and organic dyes by biosynthesized silver nano-catalyst from *Cicer arietinum* leaves”, *J. Photochem. Photobiol. B*, vol. 174, pp. 90–96, sep. 2017, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.07.019.
- [47] U. G. Akpan y B. H. Hameed, “Parameters affecting the photocatalytic degradation of dyes using TiO₂-based photocatalysts: A review”, *J. Hazard. Mater.*, vol. 170, núm. 2, pp. 520–529, oct. 2009, doi: 10.1016/j.jhazmat.2009.05.039.
- [48] T. Reemtsma y M. Jekel, *Organic Pollutants in the Water Cycle: Properties, Occurrence, Analysis and Environmental Relevance of Polar Compounds*. John Wiley & Sons, 2006.
- [49] J. Davies y D. Davies, “Origins and Evolution of Antibiotic Resistance”, *Microbiol. Mol. Biol. Rev. MMBR*, vol. 74, núm. 3, pp. 417–433, sep. 2010, doi: 10.1128/MMBR.00016-10.

- [50] C. Nathan, “Antibiotics at the crossroads”, *Nature*, vol. 431, núm. 7011, pp. 899–902, oct. 2004, doi: 10.1038/431899a.
- [51] C. L. Ventola, “The Antibiotic Resistance Crisis”, *Pharm. Ther.*, vol. 40, núm. 4, pp. 277–283, abr. 2015.
- [52] A. C. Singer, H. Shaw, V. Rhodes, y A. Hart, “Review of Antimicrobial Resistance in the Environment and Its Relevance to Environmental Regulators”, *Front. Microbiol.*, vol. 7, 2016, Consultado: el 16 de noviembre de 2022. [En línea]. Disponible en: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fmicb.2016.01728>
- [53] B. Spellberg, A. Srinivasan, y H. F. Chambers, “New Societal Approaches to Empowering Antibiotic Stewardship”, *JAMA*, vol. 315, núm. 12, pp. 1229–1230, mar. 2016, doi: 10.1001/jama.2016.1346.
- [54] T. P. Van Boeckel *et al.*, “Global trends in antimicrobial use in food animals”, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 112, núm. 18, pp. 5649–5654, may 2015, doi: 10.1073/pnas.1503141112.
- [55] B. Aslam *et al.*, “Antibiotic resistance: a rundown of a global crisis”, *Infect. Drug Resist.*, vol. Volume 11, pp. 1645–1658, oct. 2018, doi: 10.2147/IDR.S173867.
- [56] A. V. Emeline, V. N. Kuznetsov, V. K. Ryabchuk, y N. Serpone, “Chapter 1 - Heterogeneous Photocatalysis: Basic Approaches and Terminology”, en *New and Future Developments in Catalysis*, S. L. Suib, Ed. Amsterdam: Elsevier, 2013, pp. 1–47. doi: 10.1016/B978-0-444-53872-7.00001-7.
- [57] D. D. Dionysiou, M. T. Suidan, I. Baudin, y J.-M. Laîné, “Effect of hydrogen peroxide on the destruction of organic contaminants-synergism and inhibition in a continuous-mode photocatalytic reactor”, *Appl. Catal. B Environ.*, vol. 50, núm. 4, pp. 259–269, jul. 2004, doi: 10.1016/j.apcatb.2004.01.022.
- [58] S. Gisbertz y B. Pieber, “Heterogeneous Photocatalysis in Organic Synthesis”, *ChemPhotoChem*, vol. 4, núm. 7, pp. 456–475, 2020, doi: 10.1002/cptc.202000014.
- [59] F. Parrino, V. Loddo, V. Augugliaro, G. Camera-Roda, L. Palmisano, y S. Yurdakal, “Heterogeneous photocatalysis: guidelines on experimental setup, catalyst characterization, interpretation, and assessment of reactivity”, *Catal. Rev.*, vol. 61, pp. 1–51, nov. 2018, doi: 10.1080/01614940.2018.1546445.
- [60] S. I. Ahmad, L. Christensen, y E. Baron, “History of UV Lamps, Types, and Their Applications”, en *Ultraviolet Light in Human Health, Diseases and Environment*, S. I. Ahmad, Ed. Cham: Springer International Publishing, 2017, pp. 3–11. doi: 10.1007/978-3-319-56017-5_1.
- [61] N. G. Fernández, A. D. Magdalena, J. García, y J. J. Aroca, “Estudio de sensibilidad a los agentes antimicrobianos”, p. 26, 2012.
- [62] J. H. Jorgensen y M. J. Ferraro, “Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices”, *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 49, núm. 11, pp. 1749–1755, dic. 2009, doi: 10.1086/647952.
- [63] S. S. Long, C. G. Prober, y M. Fischer, Eds., “Front Matter”, en *Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edition)*, Elsevier, 2018, pp. i–ii. doi: 10.1016/B978-0-323-40181-4.00297-8.
- [64] “Antimicrobial Susceptibility Testing”, pp. 166–175, ene. 2019, doi: 10.1016/B978-0-12-801238-3.02486-7.

- [65] G. C. Cotton, N. R. Lagesse, L. S. Parke, y C. J. Meledandri, “3.04 - Antibacterial Nanoparticles”, en *Comprehensive Nanoscience and Nanotechnology (Second Edition)*, D. L. Andrews, R. H. Lipson, y T. Nann, Eds. Oxford: Academic Press, 2019, pp. 65–82. doi: 10.1016/B978-0-12-803581-8.10409-6.
- [66] R. Mueller, L. Mädler, y S. E. Pratsinis, “Nanoparticle synthesis at high production rates by flame spray pyrolysis”, *Chem. Eng. Sci.*, vol. 58, núm. 10, pp. 1969–1976, may 2003, doi: 10.1016/S0009-2509(03)00022-8.
- [67] A. Hamdan, D. E. Abiad, y M. S. Cha, “Synthesis of Silicon and Silicon Carbide Nanoparticles by Pulsed Electrical Discharges in Dielectric Liquids”, *Plasma Chem. Plasma Process.*, vol. 41, núm. 6, pp. 1647–1660, nov. 2021, doi: 10.1007/s11090-021-10205-3.
- [68] N. Salah *et al.*, “High-energy ball milling technique for ZnO nanoparticles as antibacterial material”, *Int. J. Nanomedicine*, vol. 6, pp. 863–869, 2011, doi: 10.2147/IJN.S18267.
- [69] S. I. Dolgaev, A. V. Simakin, V. V. Voronov, G. A. Shafeev, y F. Bozon-Verduraz, “Nanoparticles produced by laser ablation of solids in liquid environment”, *Appl. Surf. Sci.*, vol. 186, núm. 1, pp. 546–551, ene. 2002, doi: 10.1016/S0169-4332(01)00634-1.
- [70] U. Shanker, V. Jassal, M. Rani, y B. S. Kaith, “towards green synthesis of nanoparticles from bioassisted to benign solvents: review”, *Int. J. Environ. Anal. Chem.*, vol. 96, jul. 2016, doi: 10.1080/03067319.2016.1209663.
- [71] D.-H. Chen y X.-R. He, “Synthesis of nickel ferrite nanoparticles by sol-gel method”, *Mater. Res. Bull.*, vol. 36, núm. 7, pp. 1369–1377, may 2001, doi: 10.1016/S0025-5408(01)00620-1.
- [72] M. J. Rosemary y T. Pradeep, “Solvothermal synthesis of silver nanoparticles from thiolates”, *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 268, núm. 1, pp. 81–84, dic. 2003, doi: 10.1016/j.jcis.2003.08.009.
- [73] J. A. Darr, J. Zhang, N. M. Makwana, y X. Weng, “Continuous Hydrothermal Synthesis of Inorganic Nanoparticles: Applications and Future Directions”, *Chem. Rev.*, vol. 117, núm. 17, pp. 11125–11238, sep. 2017, doi: 10.1021/acs.chemrev.6b00417.
- [74] L. Shen *et al.*, “Facile co-precipitation synthesis of shape-controlled magnetite nanoparticles”, *Ceram. Int.*, vol. 40, núm. 1, Part B, pp. 1519–1524, ene. 2014, doi: 10.1016/j.ceramint.2013.07.037.
- [75] W. Zhang, X. Qiao, y J. Chen, “Synthesis of silver nanoparticles—Effects of concerned parameters in water/oil microemulsion”, *Mater. Sci. Eng. B*, vol. 142, núm. 1, pp. 1–15, ago. 2007, doi: 10.1016/j.mseb.2007.06.014.
- [76] J.-G. Mattei *et al.*, “Gas-Phase Synthesis of Trimetallic Nanoparticles”, *Chem. Mater.*, vol. 31, núm. 6, pp. 2151–2163, mar. 2019, doi: 10.1021/acs.chemmater.9b00129.
- [77] K. Habiba, V. Makarov, B. Weiner, y G. Morell, “Fabrication of Nanomaterials by Pulsed Laser Synthesis”, 2014, pp. 263–291. doi: 10.13140/RG.2.2.16446.28483.
- [78] P. T. Anastas y J. C. Warner, *Green chemistry: theory and practice*. Oxford [England]; New York: Oxford University Press, 1998.
- [79] J. A. Dahl, B. L. S. Maddux, y J. E. Hutchison, “Toward Greener Nanosynthesis”, *Chem. Rev.*, vol. 107, núm. 6, pp. 2228–2269, jun. 2007, doi: 10.1021/cr050943k.

- [80] K. Ellmer, A. Klein, y B. Rech, *Transparent Conductive Zinc Oxide: Basics and Applications in Thin Film Solar Cells*. Springer Science & Business Media, 2007.
- [81] A. Chaves *et al.*, “Bandgap engineering of two-dimensional semiconductor materials”, *Npj 2D Mater. Appl.*, vol. 4, núm. 1, Art. núm. 1, ago. 2020, doi: 10.1038/s41699-020-00162-4.
- [82] M. Samadi, M. Zirak, A. Naseri, E. Khorashadizade, y A. Z. Moshfegh, “Recent progress on doped ZnO nanostructures for visible-light photocatalysis”, *Thin Solid Films*, vol. 605, pp. 2–19, abr. 2016, doi: 10.1016/j.tsf.2015.12.064.
- [83] P. A. Rodnyi y I. V. Khodyuk, “Optical and luminescence properties of zinc oxide (Review)”, *Opt. Spectrosc.*, vol. 111, núm. 5, pp. 776–785, nov. 2011, doi: 10.1134/S0030400X11120216.
- [84] T. Karnan y S. A. S. Selvakumar, “Biosynthesis of ZnO nanoparticles using rambutan (*Nephelium lappaceum*L.) peel extract and their photocatalytic activity on methyl orange dye”, *J. Mol. Struct.*, vol. 1125, pp. 358–365, dic. 2016, doi: 10.1016/j.molstruc.2016.07.029.
- [85] H. Çolak y E. Karaköse, “Green synthesis and characterization of nanostructured ZnO thin films using *Citrus aurantifolia* (lemon) peel extract by spin-coating method”, *J. Alloys Compd.*, vol. 690, pp. 658–662, ene. 2017, doi: 10.1016/j.jallcom.2016.08.090.
- [86] S. Shamaila *et al.*, “Advancements in nanoparticle fabrication by hazard free eco-friendly green routes”, *Appl. Mater. Today*, vol. 5, pp. 150–199, dic. 2016, doi: 10.1016/j.apmt.2016.09.009.
- [87] A. Rohman *et al.*, “Comprehensive Review on Application of FTIR Spectroscopy Coupled with Chemometrics for Authentication Analysis of Fats and Oils in the Food Products”, *Mol. Basel Switz.*, vol. 25, núm. 22, p. E5485, nov. 2020, doi: 10.3390/molecules25225485.
- [88] C. Berthomieu y R. Hienerwadel, “Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy”, *Photosynth. Res.*, vol. 101, pp. 157–70, jul. 2009, doi: 10.1007/s11120-009-9439-x.
- [89] M. A. Vargas, E. M. Rivera-Muñoz, J. E. Diosa, E. E. Mosquera, y J. E. Rodríguez-Páez, “Nanoparticles of ZnO and Mg-doped ZnO: Synthesis, characterization and efficient removal of methyl orange (MO) from aqueous solution”, *Ceram. Int.*, vol. 47, núm. 11, pp. 15668–15681, jun. 2021, doi: 10.1016/j.ceramint.2021.02.137.
- [90] Nagaraju G., Shivaraju G.C., Banuprakash G., y Rangappa Dinesh, “Photocatalytic Activity of ZnO Nanoparticles: Synthesis via Solution Combustion Method”, *Mater. Today Proc.*, vol. 4, núm. 11, pp. 11700–11705, ene. 2017, doi: 10.1016/j.matpr.2017.09.085.
- [91] T. Tamiri y S. Zitrin, “Explosives: Analysis”, en *Encyclopedia of Forensic Sciences (Second Edition)*, J. A. Siegel, P. J. Saukko, y M. M. Houck, Eds. Waltham: Academic Press, 2013, pp. 64–84. doi: 10.1016/B978-0-12-382165-2.00083-0.
- [92] N. Raval, R. Maheshwari, D. Kalyane, S. R. Youngren-Ortiz, M. B. Chougule, y R. K. Tekade, “Chapter 10 - Importance of Physicochemical Characterization of Nanoparticles in Pharmaceutical Product Development”, en *Basic Fundamentals of Drug Delivery*, R. K. Tekade, Ed. Academic Press, 2019, pp. 369–400. doi: 10.1016/B978-0-12-817909-3.00010-8.

- [93] H. F. McMurdie *et al.*, “Standard X-Ray Diffraction Powder Patterns from the JCPDS Research Associateship”, *Powder Diffr.*, vol. 1, núm. 2, pp. 64–77, jun. 1986, doi: 10.1017/S0885715600011593.
- [94] A. Hussein *et al.*, “Steps Toward the Band Gap Identification in Polystyrene Based Solid Polymer Nanocomposites Integrated with Tin Titanate Nanoparticles”, *Polymers*, vol. 12, p. 2320, oct. 2020, doi: 10.3390/polym12102320.
- [95] B. Albiss y M. Abu-Dalo, “Photocatalytic Degradation of Methylene Blue Using Zinc Oxide Nanorods Grown on Activated Carbon Fibers”, *Sustainability*, vol. 13, núm. 9, Art. núm. 9, ene. 2021, doi: 10.3390/su13094729.
- [96] M. Nafees, W. Liaqut, S. Ali, y M. A. Shafique, “Synthesis of ZnO/Al:ZnO nanomaterial: structural and band gap variation in ZnO nanomaterial by Al doping”, *Appl. Nanosci.*, vol. 3, núm. 1, pp. 49–55, feb. 2013, doi: 10.1007/s13204-012-0067-y.
- [97] L. Alcaraz *et al.*, “New photocatalytic materials obtained from the recycling of alkaline and Zn/C spent batteries”, *J. Mater. Res. Technol.*, vol. 8, núm. 3, pp. 2809–2818, may 2019, doi: 10.1016/j.jmrt.2019.04.020.
- [98] X. Yang, E. Chung, I. Johnston, G. Ren, y Y.-K. Cheong, “Exploitation of Antimicrobial Nanoparticles and Their Applications in Biomedical Engineering”, *Appl. Sci.*, vol. 11, núm. 10, Art. núm. 10, ene. 2021, doi: 10.3390/app11104520.