



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA
CALIFORNIA**

**MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA
FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO**

**INFLUENCIA DE LA CAPSAICINA EN LAS PROPIEDADES
ÓPTICAS DE NANOPARTÍCULAS SEMICONDUCTORAS DE ZnO**

T E S I S

**QUE PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER
EL GRADO DE:**

MAESTRO EN INGENIERÍA

PRESENTA:

BIOING. JOSÉ ALEJANDRO VILLEGAS FUENTES

DIRECTOR:

DR. PRISCY ALFREDO LUQUE MORALES

ENSENADA, B.C. A JULIO DEL 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

FACULTAD DE INGENIERÍA, ARQUITECTURA Y DISEÑO

MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA

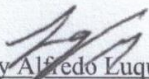
**INFLUENCIA DE LA CAPSAICINA EN LAS
PROPIEDADES ÓPTICAS DE NANOPARTÍCULAS
SEMICONDUCTORAS DE ZnO**

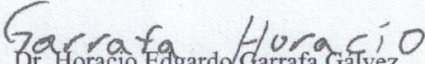
TESIS

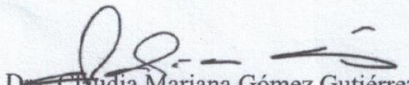
Que para obtener el grado de maestría en ingeniería presenta:

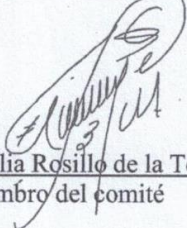
José Alejandro Villegas Fuentes

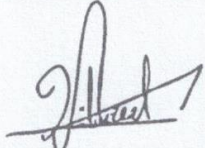
Aprobada por:


Dr. Priscy Alfredo Luque Morales
Director de tesis


Dr. Horacio Edgardo Garrafa Gálvez
Miembro del comité


Dra. Claudia Mariana Gómez Gutiérrez
Miembro del comité


Dra. Argelia Rosillo de la Torre
Miembro del comité


Dr. Rubén César Villarreal Sánchez
Miembro del comité

Ensenada Baja California, México. Julio 2023

Resumen de la tesis de José Alejandro Villegas Fuentes, presentada como requisito para la obtención del grado de MAESTRO EN INGENIERÍA, Ensenada B.C. a julio del 2023.

INFLUENCIA DE LA CAPSAICINA EN LAS PROPIEDADES ÓPTICAS DE NANOPARTÍCULAS SEMICONDUCTORAS DE ZnO

Aprobado por:



Dr. Priscy Alfredo Luque Morales

Director de tesis

Resumen:

En el siguiente trabajo se sintetizaron nanopartículas semiconductoras de óxido de zinc (ZnO) empleando extractos de tres distintas variedades de pimientos (poblano, morita y fantasma) con una distinta concentración de capsaicina entre cada uno según la escala Scoville, con la finalidad de observar el efecto de la capsaicina sobre las propiedades del material. El proceso de síntesis se realizó empleando una metodología de síntesis verde en la que se obtuvo un extracto de cada variedad de pimiento el cual tiene la función de estabilizar la síntesis de nanopartículas a partir de un precursor de zinc. Los materiales obtenidos se caracterizaron por diversas técnicas, empleando espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) se encontró el enlace Zn-O en $\sim 620\text{ cm}^{-1}$ para las tres síntesis, confirmando la formación de ZnO. Un análisis de difracción de rayos X (XRD) reveló una estructura cristalina de tipo hexagonal wurtzita con ausencia de impurezas. La morfología superficial y la composición elemental fue analizada mediante microscopía electrónica de barrido (SEM). Se realizaron pruebas de fotocatalisis para degradar azul de metileno (MB), rodamina B (RB) y naranja de metilo (MO) bajo luz ultravioleta (UV) y solar; todas las síntesis fueron capaces de degradar MB en un 100% bajo ambas fuentes de luz. Se realizaron ensayos antimicrobianos contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas a distintas concentraciones, todas las nanopartículas presentaron actividad antimicrobiana.

Palabras clave: Nanopartículas; óxido de zinc; capsaicina, fotocatalisis; antimicrobiano.

Dedicatoria

A mi madre, **Edilia Fuentes Noriega** y mi tía, **Myrna Fuentes Noriega**.

No hay palabras para describir lo bonita que hacen mi vida, gracias por todo su apoyo y consejos, sin ustedes no sería lo que soy el día de hoy.

A mi novia **Andrea Barrios Navarro**

Gracias por siempre confiar en mí incluso en los momentos que yo no lo hacía, a tu lado los grandes retos se vuelvan fáciles.

Agradecimientos

“Tal vez la gratitud no sea la virtud más importante, pero si es la madre de todas las demás”.

-Marco Tulio Cicerón

A mi director de tesis, Dr. Priscy Alfredo Luque Morales por todo su apoyo y motivación. Espero un día encontrar las palabras para expresar mi agradecimiento por ayudarme a encontrar mi camino.

A mi comité: Dr. Horacio Edgardo Garrafa Gálvez, Dra. Argelia Rosillo de la Torre, Dr. Rubén César Villarreal Sánchez y Dra. Claudia Mariana Gómez Gutiérrez por su dedicación y consejos brindados para la realización de este trabajo.

A la Universidad Autónoma de Baja California y a todas las personas que trabajan en esta gran institución que se desempeñan de manera excepcional formando profesionistas de calidad.

Un especial agradecimiento a la Dra. Argelia Rosillo de la Torre y Dra. Laura Edith Castellanos por permitirme realizar una estancia en la Universidad de Guanajuato y brindarme lo necesario para llevar a cabo esta investigación.

Al Dr. Horacio Edgardo Garrafa Gálvez por las enseñanzas y buenos consejo a desde mi etapa de licenciatura hasta el día de hoy.

A la Dra. Reina Vianey Quevedo Robles por su amabilidad, apoyo y dedicación al apoyarme durante mi formación.

A mis compañeros de laboratorio Fernando, Aleksy, Daniela y Mizaél por hacer amenos los días y todos los buenos momentos.

A Melón y Úrsula por todo el apoyo, amistad y los buenos momentos durante mi estancia en León.

A Miguel Ángel Castañeda Ramos por su incondicional amistad.

Índice

1.	Introducción.....	1
2.	Marco teórico.....	3
2.1.	Semiconductores	3
2.2.	Fundamentos de caracterización	5
2.2.1.	Espectroscopía de ultravioleta-visible	5
2.2.2.	Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier	8
2.2.3.	Difracción de rayos-X	10
2.2.4.	Espectroscopía de fotolumiscencia.....	11
2.2.5.	Microscopía electrónica de barrido	13
2.2.6.	Microscopía electrónica de transmisión	15
2.3.	Síntesis verde de nanopartículas de ZnO	17
2.4.	Pimientos y su concentración de capsaicina	19
3.	Antecedentes.....	22
4.	Hipótesis	26
5.	Objetivos.....	27
5.1.	Objetivo general.....	27
5.2.	Objetivos específicos	27
6.	Materiales y metodología	28
6.1.	Materiales.....	28
6.2.	Obtención de los extractos	28
6.3.	Síntesis verde de nanopartículas de ZnO	29
6.4.	Caracterización	29
6.5.	Pruebas de fotocatalisis.....	30
6.6.	Evaluación de la actividad antibacteriana de las nanopartículas	31
6.7.	Evaluación de la actividad metabólica inducida por las nanopartículas mediante un ensayo MTT.....	32
7.	Resultados y discusiones	34
7.1.	Espectroscopia de UV-Vis.....	34
7.2.	FTIR.....	36
7.3.	XRD.....	37

7.4.	PL.....	40
7.5.	SEM/EDS.....	41
7.6.	TEM.....	43
7.7.	Degradación fotocatalítica.....	46
7.7.1.	Mecanismo de degradación.....	48
7.8.	Actividad antibacteriana.....	49
7.9.	Mecanismos antimicrobianos.....	53
7.10.	Actividad metabólica.....	55
8.	Conclusiones.....	58
9.	Referencias.....	60

Lista de tablas

Tabla 1. Equipos usados en la caracterización de las nanopartículas sintetizadas.	30
Tabla 2. Condiciones experimentales en discos de sensibilidad para pruebas antibacterianas.	32
Tabla 3. Bandas de emisión obtenidas mediante espectroscopía de fotoluminiscencia.	41
Tabla 4. Valores de degradación bajo luz UV y solar.	48
Tabla 5. Imágenes representativas de los ensayos antibacterianos realizados con nanopartículas de ZnO.	50
Tabla 6. Zonas de inhibición en mm de las nanopartículas sintetizadas usando el método de difusión de disco. Los datos se presentan en promedio \pm DE.	52

Lista de figuras

Fig. 1. Niveles de energía basado en la teoría de bandas [24].	4
Fig. 2. Esquema representativo de los orbitales moleculares HOMO y LUMO durante un proceso de fotoexcitación [29].	6
Fig. 3. Transiciones electrónicas en moléculas orgánicas [32].	7
Fig. 4. Tipos de vibraciones moleculares generadas por radiación IR [35].	9
Fig. 5. Análisis de una muestra mediante FTIR.	9
Fig. 6. Ley de Bragg y difracción de rayos X incidentes a una muestra [38].	11
Fig. 7. Diagrama de Jablonski en procesos de absorción molecular de fluorescencia y fosforescencia [44].	13
Fig. 8. Esquema de los elementos que conforman un microscopio electrónico de barrido.	14
Fig. 9. Electrones generados en SEM.	15
Fig. 10. Electrones generados al analizar muestras mediante TEM.	16
Fig. 11. Propuesta de formación de nanopartículas de ZnO empleando síntesis verde.	19
Fig. 12. Estructura química de la capsaicina [66].	20
Fig. 13. Representación esquemática de la escala Scoville y su relación con la pungencia de distintos pimientos en SHU.	21
Fig. 14. Diagrama de obtención de extractos usados durante el proceso de síntesis.	28
Fig. 15. Diagrama de síntesis de nanopartículas.	29
Fig. 16. Metodología de fotocatalisis empleando nanopartículas de ZnO.	31
Fig. 17. Representación esquemática de la metodología usada para evaluar la actividad antibacteriana basada por el método de difusión de disco.	32
Fig. 18. Metodología de ensayo MTT para la evaluación de actividad metabólica de células ante un estímulo de nanopartículas de ZnO.	33
Fig. 19. Espectro de absorbancia de UV-vis de las nanopartículas sintetizadas (a) y cálculo del band gap empleando el modelo de TAUC para CP, CM y CF (b-d), respectivamente.	34
Fig. 20. Espectro FTIR de las nanopartículas sintetizadas.	37
Fig. 21. Patrón de XRD de las nanopartículas sintetizadas.	38
Fig. 22. Espectro de fotoluminiscencia de las nanopartículas sintetizadas.	40
Fig. 23. Micrografías obtenidas mediante SEM y análisis EDS de las nanopartículas sintetizadas, CP (a y b), CM (c y d) y CF (e y f).	43
Fig. 24. Micrografías obtenidas mediante TEM e histogramas de distribución de tamaño para CP (a), CM (b) y CF (c).	44
Fig. 25. HRTEM y patrones de SAED de las nanopartículas sintetizadas. (a y b) para CP, (c y d) para CM y (e y f) para CF.	45
Fig. 26. Degradación fotocatalítica empleando nanopartículas de ZnO. MB bajo luz UV (a) y bajo luz solar (b). RB bajo luz UV (c) y bajo luz solar (d). MO bajo luz UV (e) y bajo luz solar (f).	47
Fig. 27. Esquema representativo del mecanismo general para la foto degradación de colorantes orgánicos empleando nanopartículas semiconductoras de ZnO.	49
Fig. 28. Esquema representativo de los mecanismos antimicrobianos de las nanopartículas (NPs) de ZnO.	54

Fig. 29. Reducción de MTT a formazan catalizado por NADPH.	55
Fig. 30. Esquema del acomodo de pozos en ensayos MTT empleando nanopartículas de ZnO.	56
Fig. 31. Actividad metabólica de células RAW 264.7 estimuladas con nanopartículas de ZnO a distintas concentraciones analizadas mediante un ensayo MTT.	57

Lista de abreviaciones

ZnO	Óxido de zinc
CP	Pimiento poblano
CM	Pimiento morita
CF	Pimiento fantasma
Fig.	Figura
UV-Vis	Espectroscopía de ultravioleta-visible
FTIR	Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier
XRD	Difracción de rayos X
PL	Espectroscopía de fotolumiscencia
SEM/EDS	Microscopía electrónica de barrido/Espectroscopía de rayos-X de energía dispersiva
TEM/SAED	Microscopía electrónica de transmisión/Difracción de área selecta
MB	Azul de metileno
RB	Rodamina B
MO	Naranja de metilo
BV	Banda de valencia
BC	Banda de conducción
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<i>B. subtilis</i>	<i>Bacillus subtilis</i>
LB	Luria-Bertani
AHM	Agar Hinton-Müller
SFB	Suero fetal bovino
UV	Ultravioleta
ROS	Especies reactivas de oxígeno
FWHM	Ancho de la altura media

1. Introducción

El constante crecimiento y desarrollo de la sociedad ha conllevado un aumento en las necesidades del ser humano y por ende de los materiales que sean capaces de satisfacerlas. Entre las opciones que han ganado un especial interés se encuentran los nanomateriales los cuales son aquellos materiales con un tamaño entre 1 y 100 nm. La principal razón del reciente auge de los nanomateriales es resultado de la mejora de las propiedades ópticas, químicas, físicas, entre otras, a diferencia de su tamaño en bulto [1]. La mejora de las propiedades en los nanomateriales se debe principalmente al aumento del área superficial con un mayor número de zonas activas y el confinamiento cuántico de los electrones [2]. Existen diversos tipos de estructuras en escala nanométrica tales como: puntos cuánticos, nanotubos, nanoflores, nanohojas o nanopartículas.

Las nanopartículas son un candidato para resolver las necesidades del ser humano, entre los diferentes tipos de nanopartículas encontramos de plata (Ag), dióxido de titanio (TiO₂), cobre (Cu), oro (Au), óxido de zinc (ZnO), entre muchos otros tipos de nanopartículas [3]. Se destacan las nanopartículas de ZnO el cual es un material inorgánico semiconductor de tipo *n* que ha destacado y ganado un creciente interés en el área de investigación de materiales debido a su alta estabilidad química, su amplio rango de absorción espectral, por presentar baja o nula toxicidad y por sus propiedades de fotocatalisis, antibacteriana y fungicida [4]. Gracias a sus sobresalientes propiedades, las nanopartículas de ZnO se pueden emplear en diversas áreas como fotocatalisis, dispositivos médicos, sensores, dispositivos electrónicos o celdas solares [5]. El proceso de obtención de las nanopartículas es fundamental e impacta de manera directa en sus propiedades. Existen diversas metodologías convencionales que se emplean para obtener nanopartículas, entre las cuales se pueden mencionar la de composición termal [6], reducción de sales en medio acuoso [7], pirolisis [8] o por microondas [9]. Sin embargo, los métodos convencionales para la síntesis de nanopartículas emplean químicos tóxicos, además de altas presiones y temperaturas; lo que conlleva a complejos procesos de síntesis que resultan contaminantes y poco amigables con el medio ambiente [10]. Entre las alternativas para sustituir a los métodos convencionales se encuentra la síntesis verde, la cual busca reducir el uso de condiciones que dañen el medio ambiente al emplear especies vegetales, levaduras, algas, microorganismos para sintetizar nanopartículas [11]; emplear

síntesis verde presenta ventajas sobre las metodologías convencionales tales como un proceso libre de desechos tóxicos, bajo costo, biocompatible y de alto rendimiento [12]. Se destaca el uso de extractos obtenidos a partir de plantas, flores o frutos para obtener nanopartículas; estos extractos poseen metabolitos como alcaloides, proteínas, flavonoides, terpenoides y/o polifenoles los cuales actúan como estabilizantes durante el proceso de síntesis, además de permitir controlar las propiedades del material como el tamaño o morfología [13].

Los pimientos o chiles son los frutos de las plantas del género *Capsicum* que pertenecen a la familia *Solanaceae*, son populares por su color, sabor y amplio uso en la cocina, lo que los ha llevado a formar parte de la cultura e idiosincrasia de algunas culturas como la mexicana [14]. También son conocidos por sus propiedades antioxidantes, antiinflamatorias, anticancerígenas o su uso en el tratamiento de padecimientos degenerativos como enfermedades cardiovasculares o diabetes [15], [16]. Las sobresalientes propiedades y aplicaciones de los pimientos se deben a su composición fitoquímica la cual es rica en metabolitos como flavonoides, alcaloides, terpenos, carotenoides, polifenoles y otros metabolitos secundarios [17]. Entre las moléculas que constituyen a los pimientos se encuentra la capsaicina, la cual es el principal ingrediente activo responsable de la pungencia o sensación de ardor al consumir los pimientos; además de su amplio impacto en el área gastronómica, la capsaicina ha sido estudiada por su uso como analgésico y para el tratamiento de soriasis, desordenes gastrointestinales, obesidad, entre muchos otros beneficios [18]. La pungencia de los pimientos se puede medir empleando la escala Scoville, entre mayor sea la escala mayor será la pungencia del pimiento y tendrá una mayor cantidad de capsaicina presente en su composición fitoquímica [19].

El presente trabajo propone la síntesis de nanopartículas semiconductoras de ZnO empleando extractos de tres variedades de pimientos que contienen una distinta concentración de capsaicina según la escala Scoville; el análisis de sus propiedades físicas, químicas y ópticas mediante distintas técnicas de caracterización con la finalidad de relacionar los resultados con la concentración de capsaicina; finalmente, analizar el potencial de fotocatalisis, antimicrobiano y la influencia en la actividad metabólica de las nanopartículas sintetizadas.

2. Marco teórico

2.1. Semiconductores

Dependiendo de la conductividad eléctrica, los materiales electrónicos pueden ser aislantes, conductores o semiconductores. Se denomina aislante a un material que no permite el flujo de una corriente eléctrica, mientras que, de manera contraria, un material conductor permite el flujo libre de electrones a través de él. Por lo tanto, un semiconductor es un material que posee características tanto de conductor como de aislante de corriente eléctrica, sin embargo, su conductividad depende de un estímulo como una diferencia de potencial, radiación o temperatura. Los semiconductores son ampliamente usados para el diseño de circuitos integrados, transistores, entre muchos otros dispositivos electrónicos.

Se considera como semiconductores intrínsecos a aquellos que están formados por un solo tipo de átomos y se unen mediante enlaces covalentes, sus propiedades no dependen de un dopaje. A temperatura ambiente algunos de los electrones son capaces de moverse a través de la red cristalina, si a estos electrones se les aplica una diferencia de potencial habrá un flujo de electrones, entre los semiconductores intrínsecos más conocidos se encuentran el silicio y el germanio, la conductividad de estos materiales está fuertemente influenciada por la temperatura, al aumentar la temperatura, la resistividad también lo hará [20].

Los semiconductores extrínsecos son aquellos que han sido sometidos a un proceso de dopaje y sus propiedades son controlables al introducir impurezas conocidas como dopajes, eliminando la influencia de la temperatura sobre la conductividad del material, en este caso la conductividad del material está relacionado con la cantidad de impurezas que se le introduzcan al semiconductor. Los semiconductores extrínsecos pueden a su vez dividirse en tipo *n* y *p* [21].

- Tipo *n*: Tienen la capacidad de donar electrones al poseen electrones no enlazados que se mueven libremente por la red cristalina que aumentan su conductividad.
- Tipo *p*: Estos semiconductores poseen huecos que son capaces de aceptar electrones que no pertenecen a su estructura original.

La conductividad de un material puede ser explicado por la teoría de bandas como se muestra en la Fig. 1, gracias al principio de exclusión de Pauli se sabe que dos electrones no pueden ocupar el mismo nivel de energía. Cuando a un átomo se le aplica suficiente energía hay una promoción de un estado basal a un estado excitado; cuando se junta una pequeña cantidad de átomos se sigue cumpliendo el principio de exclusión de Pauli por lo que se forman nuevos niveles de energía, evitando que puedan existir dos electrones en el mismo nivel de energía; al haber una gran cantidad de átomos y se generarse un sólido, se forman muchos niveles de energía basales y de excitación y la separación entre los niveles de energía es cada vez más fina formando bandas de energía, se denomina banda de valencia (BV) al conjunto de niveles energéticos donde los electrones se encuentran en estado basal y banda de conducción (BC) al conjunto de niveles energéticos donde los electrones se encuentran en un estado excitado, la energía necesaria para lograr una promoción de un electrón de la BV a la BC se le denomina banda de energía prohibida o también conocida como band gap (E_g) [22], [23].

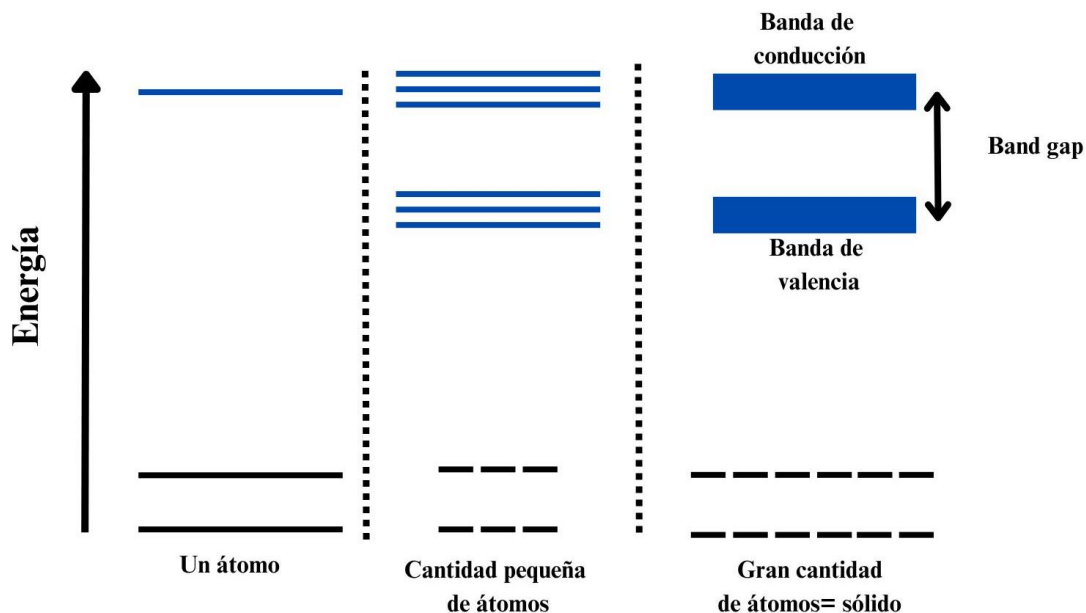


Fig. 1. Niveles de energía basado en la teoría de bandas [24].

En el caso de los semiconductores la BV se encuentra llena de electrones y la BC vacía y no hay conductividad, la banda de energía separa ambas bandas, si la energía necesaria para realizar una transición de la BV a la BC es menor a 4.0 eV se les considera materiales

semiconductores. En el caso de los aislantes la BC y la BV se encuentran más separadas, si la energía para realizar una transición es mayor a 4.0 eV, se le considera un aislante. Por último, los conductores tienen sus bandas traslapadas por lo que siempre habrá conductividad.

El ZnO es un semiconductor de tipo *n* con un valor de band gap de ~3.37 eV que ha ganado un especial interés debido a sus propiedades como su amplio band gap, su absorción espectral cercana a la región UV, su gran energía de unión de excitones de 60 meV, propiedades piezoeléctricas, su habilidad de formar monocristales grandes, entre muchas otras propiedades que derivan en su amplio uso en dispositivos electrónicos como diodos emisores de luz, fotosensores o películas delgadas. Sin embargo, el ZnO no solo ha ganado interés por sus propiedades electrónicas, además se ha realizado investigación en el área biomédica debido a su actividad antibacteriana, aplicaciones en la liberación de fármacos o como biosensores. Adicionalmente, este material es capaz de generar diversas nanoestructuras como nanopartículas, nanofibras o nanotubos [25], [26].

2.2. Fundamentos de caracterización

Para poder entender el comportamiento de las nanopartículas es necesario realizar múltiples estudios de caracterización que permiten conocer sus propiedades ópticas, físicas, químicas y entre muchas otras características de las nanopartículas que impactan de manera directa con las aplicaciones que se les puedan dar, a continuación, se describen los fundamentos de cada técnica empleada para caracterizar los materiales obtenidos en este trabajo.

2.2.1. Espectroscopía de ultravioleta-visible

La espectroscopía de ultravioleta-visible (UV-Vis) es una técnica de caracterización basada en la capacidad de las moléculas de absorber radiación dentro del espectro ultravioleta (UV) y visible. En este análisis se irradia una muestra con energía electromagnética con longitudes de onda en el rango ultravioleta (160-400 nm) y en el rango visible (400-800 nm) del espectro electromagnético [27]. Cuando la radiación interactúa con la materia pueden ocurrir los siguientes distintos procesos: Reflexión, refracción, absorción, emisión o dispersión. Para la espectroscopía de UV-Vis los principales fenómenos que ocurren al interactuar la radiación con la materia son de absorción y emisión:

- Absorción: Ocurre cuando parte de la energía es absorbida por la muestra, si el analito posee un nivel energético que corresponda a la frecuencia con la que se está irradiando, pasará de un estado basal a un estado excitado. La energía total de una molécula incluye sus componentes electrónicos, rotacionales y vibracionales.
- Emisión: Es el proceso contrario a la absorción, la molécula o átomo pasa de un estado excitado a un estado basal y al retornar a su estado basal o a un nivel energético menor, lo realiza emitiendo fotones.

Al interactuar un fotón con una longitud de onda determinada puede excitar un electrón desde un estado basal o fundamental que se encuentra en el orbital molecular más alto ocupado (HOMO, por sus siglas en inglés), a un estado electrónico excitado en el orbital molecular más bajo desocupado (LUMO, por sus siglas en inglés), para que ocurra una transición, la energía incidente debe ser igual o mayor que la diferencia de energía que existe entre ambos niveles de energía. Los orbitales moleculares son ejemplificados en la Fig. 2 [28].

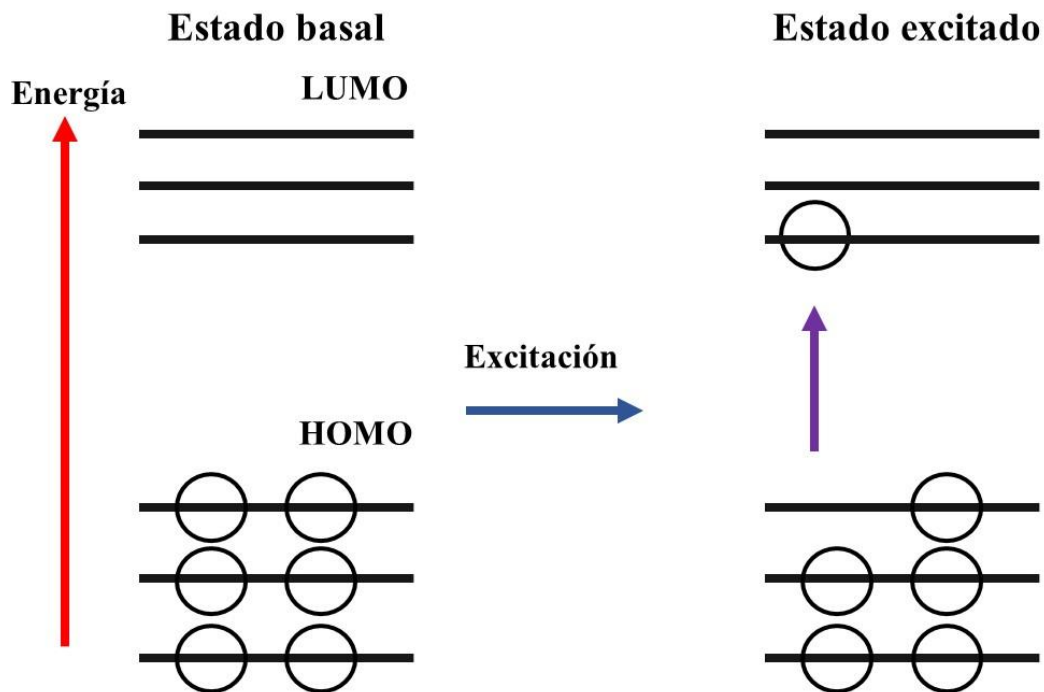


Fig. 2. Esquema representativo de los orbitales moleculares HOMO y LUMO durante un proceso de fotoexcitación [29].

Al trabajar con semiconductores, no se puede aplicar la teoría de orbitales moleculares, sin embargo, la BV es equivalente al nivel HOMO y la BC al nivel energético LUMO. La energía que se necesita para promover un electrón desde la BV a la BC se denomina brecha energética prohibida o también llamada band gap.

Las transiciones electrónicas que se pueden llevar a cabo en moléculas orgánicas son presentadas en la Fig. 3. Los orbitales σ , π y n son enlazantes, éstos se forman cuando dos átomos se juntan generando una interferencia constructiva, la energía del orbital enlazante siempre es menor que la energía de los orbitales que se combinan. Cuando los orbitales se superponen fuera de fase, la interacción reduce la probabilidad de encontrar electrones en los núcleos generando un orbital anti enlazante que es de mayor energía y menos estable, entre los orbitales de anti enlace se encuentran π^* y σ^* [30], [31].

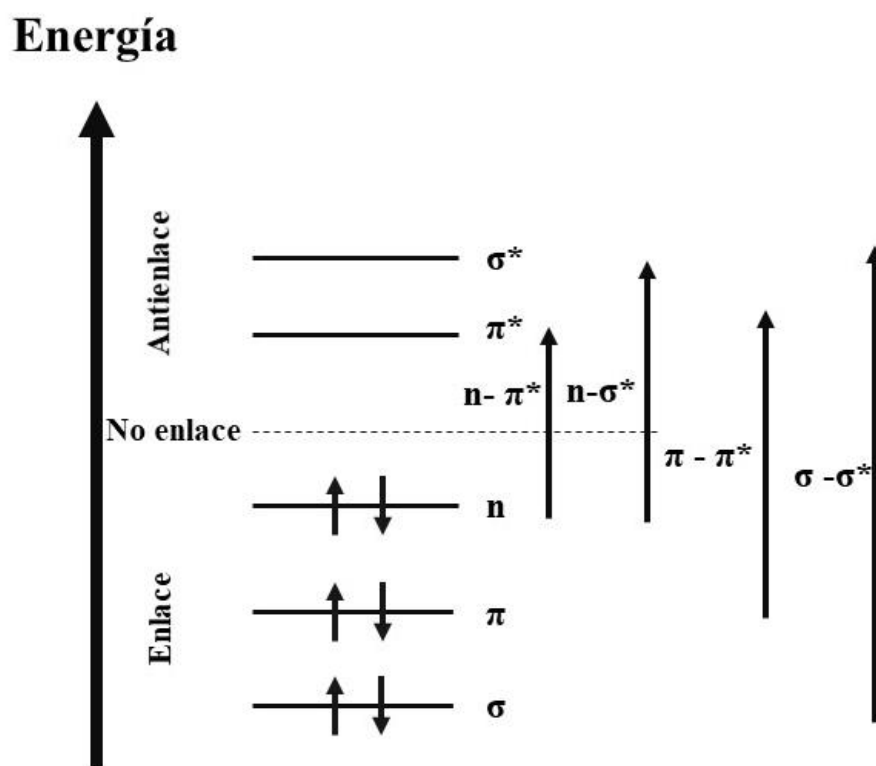


Fig. 3. Transiciones electrónicas en moléculas orgánicas [32].

- Transiciones $n-\pi^*$ y $\pi-\pi^*$: Se dan en el rango de 200-700 nm, la mayor parte de moléculas orgánicas presentan este tipo de transiciones. Estas transiciones necesitan que los grupos insaturados de la molécula provean de electrones tipo π .

- Transiciones n- σ^* : Se presentan en compuestos saturados con pares de átomos no apareados en la región de 150-250 nm.
- Transiciones σ - σ^* : La energía que se requiere para estas transiciones es grande en la región del ultravioleta de vacío (150 nm), ocurre principalmente en hidrocarburos.

2.2.2. Espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier

La espectroscopía de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) es un análisis que permite identificar los grupos funcionales de los constituyentes una muestra. Esta técnica se basa en irradiar una muestra con radiación electromagnética en el rango infrarrojo ($4000-400\text{ cm}^{-1}$), una parte de la radiación es transmitida y otra parte es absorbida por la muestra, si bien los fotones en este rango del espectro electromagnético no poseen la suficiente energía para lograr transiciones electrónicas, pueden generar vibraciones en los enlaces de las moléculas presentes, estas vibraciones generan una huella molecular única; permitiendo identificar materiales desconocidos, calidad de la muestra o estructura molecular [33].

Existen diversas vibraciones que pueden sufrir las moléculas al entrar en contacto con radiación IR como se muestran en la Fig. 4. Primeramente, se encuentran las vibraciones de tensión, las cuales consisten en el cambio de la distancia atómica que puede crecer o decrecer; cuando los átomos se acercan o alejan del átomo central sin cambiar el eje de enlace, los dos enlaces aumentan o disminuyen simultáneamente y se conoce como tensión simétrica; a diferencia de la tensión asimétrica donde un enlace aumenta y el otro disminuye. Además, se encuentran las vibraciones de flexión las cuales pueden ser: flexión de balanceo en el plano en donde es aumentado o disminuido el ángulo cuando el átomo central se aleja de alguno de los átomos que se encuentran en los extremos; el tijereteo en el plano en donde los átomos de los extremos acortan su distancia entre sí, disminuyendo el ángulo de enlace; la flexión por aleteo fuera del plano ocurre si el ángulo de enlace aumenta y disminuye cuando el átomo central se encuentra más cerca de uno de los átomos de los extremos, estos movimientos se dan fuera del plano formado por los átomos y finalmente, la flexión de torsión fuera del plano ocurre cuando los átomos extremos se acercan, fuera del plano formado tanto por los átomos de los extremos como por el átomo central [34].

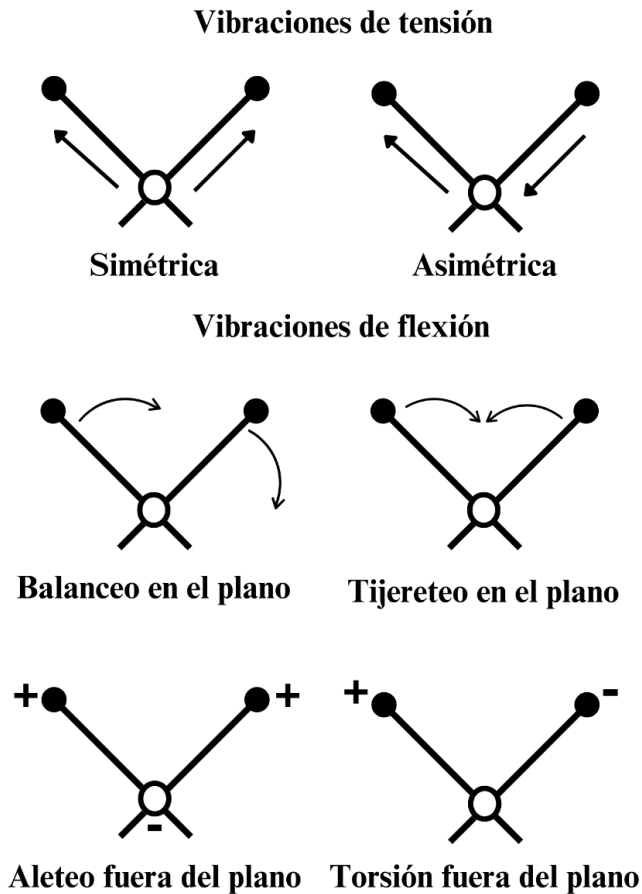


Fig. 4. Tipos de vibraciones moleculares generadas por radiación IR [35].

El proceso por el cual se analiza una muestra consta de cuatro componentes principales y es ejemplificado en la Fig. 5. La fuente de luz IR genera la radiación necesaria para llevar a cabo el análisis, posteriormente la luz generada atraviesa un interferómetro que permite modular la longitud de onda hasta que llega a la muestra en donde se llevarán a cabo las interacciones entre las moléculas y la luz IR, generando las señales que serán analizadas por un detector que analizará y generará el espectro de la muestra [36].

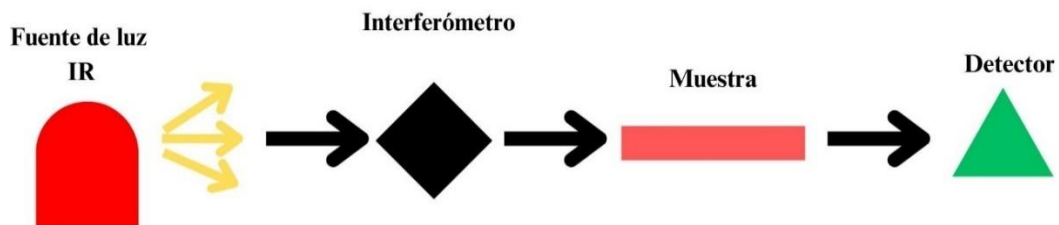


Fig. 5. Análisis de una muestra mediante FTIR.

2.2.3. Difracción de rayos-X

La estructura cristalina y las fases de una muestra policristalina puede ser estudiada mediante difracción de rayos-X (XRD), es un análisis no destructivo que tiene como fundamento la dispersión coherente o de Rayleigh de un haz de rayos-X; la cual ocurre cuando los rayos-X incidentes provocan una oscilación a la misma frecuencia del haz incidido, el átomo irradiado libera el haz incidido sin transferencia de energía, pero con un cambio de dirección del haz saliente respecto al haz entrante, los rayos dispersados interfieren entre sí de manera constructiva o destructiva. Esta técnica está basada en la ley de Bragg, que establece la relación entre el ángulo de incidencia, la distancia entre los planos cristalinos y la longitud de onda incidente (**Eq. (1)**) como se muestra en la Fig. 6 [37].

$$n\lambda = 2d \text{ Sen}(\theta) \quad (1)$$

Para que exista difracción, las ondas dispersadas deben tener interferencia constructiva, es decir que tras la dispersión ambos haces de rayos-X sigan estando en fase. Para esto se debe de cumplir la ley de Bragg donde la sumatoria de la diferencia del recorrido de dos ondas incidentes debe de ser un número entero (n) múltiplo de la longitud de onda (λ) con un ángulo específico (θ) para dos planos separados por una distancia (d). En el esquema de la Fig. 6, se ejemplifica la diferencia de distancia recorrida de la segunda onda incidente que recorre $FG+GH$ (**Eq. (2)**). Las dos distancias pueden reescribirse en términos de funciones trigonométricas de acuerdo con ángulo que forman (**Eq. (3)** y **Eq. (4)**), la suma de las distancias da como resultado la ley de Bragg (**Eq. (1)**). Para que se exista interferencia constructiva y se cumpla la ley de Bragg n debe ser un número entero.

$$n\lambda = FG + GH \quad (2)$$

$$FG = d \text{ Sen}(\alpha) \quad (3)$$

$$GH = d \text{ Sen}(\alpha) \quad (4)$$

$$n\lambda = d \text{ Sen}(\alpha) + d \text{ Sen}(\alpha) = 2d \text{ Sen}(\alpha) \quad (1)$$

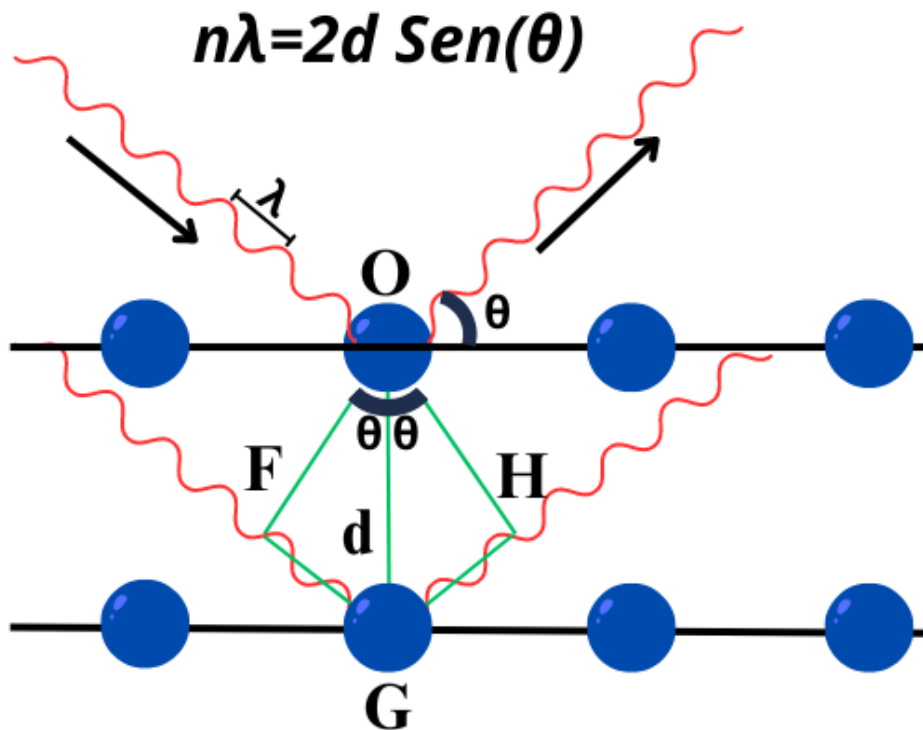


Fig. 6. Ley de Bragg y difracción de rayos X incidentes a una muestra [38].

Los rayos-X se generan en un tubo de rayos catódicos al calentar un filamento que puede ser de cobre, molibdeno o cromo, produciendo electrones que serán dirigidos a la muestra a analizar. Mientras se irradian los electrones, se varía el ángulo de incidencia (θ), la intensidad de los rayos-X difractados es graficada, generando un difractograma o patrón de difracción, el cual puede servir como huella digital de la muestra analizada, a partir de un difractograma se puede identificar un material comparándolo contra bases de datos ya existentes, para poder determinar su estructura cristalina, fase y el tamaño de cristal [39].

2.2.4. Espectroscopía de fotoluminiscencia

La espectroscopía de fotoluminiscencia (PL) es un método de caracterización no destructivo, el cual permite conocer las propiedades electrónicas de los materiales. La muestra a analizar es irradiada con luz que es absorbida haciendo que los electrones pasen a estados excitados permisibles, a este proceso se le conoce como fotoexcitación, al regresar los electrones a su estado basal, el excedente de energía absorbida es liberada y puede ocurrir emisión de energía en forma de fotones, dando lugar a la fotoluminiscencia. Existen tres tipos de

fotoluminiscencia: fluorescencia, fosforescencia y quimioluminiscencia; en las primeras dos la emisión de fotones está originada por la excitación con luz, mientras que en la quimioluminiscencia se da por reacciones químicas [40].

En la Fig. 7 se presenta un esquema representativo de un diagrama de Jablonski, donde se describen los estados electrónicos de una molécula o compuesto al ser irradiados con luz y las transiciones que se pueden producir. El proceso inicia cuando la luz incide en una muestra que se encuentra en un estado fundamental (S_0) y la energía de un fotón es transferida a un electrón, promoviendo al electrón a un orbital de mayor energía (S_1 , S_2 o S_3), a este proceso se le conoce como absorción y ocurre en un periodo de 10^{-15} segundos. Eventualmente el electrón debe disipar la energía y volver a su estado S_0 , la disipación se puede dar mediante una relajación vibracional en donde el exceso de energía es disipado a otros estados vibracionales en forma de energía cinética, éste es un proceso rápido y puede ocurrir inmediatamente después de la absorción de energía. Si los niveles de energía vibracionales se sobrepone a otros niveles energéticos, el electrón excitado puede pasar de un nivel vibracional en un estado electrónico a otro nivel vibracional en un estado electrónico menor (S_1), a este proceso se le conoce como conversión interna [41], [42].

Otro proceso por el cual el excedente de energía en las moléculas es disipado es mediante la emisión de fotones, dando paso a fenómenos de fluorescencia o fosforescencia. La fluorescencia es una transición permitida en donde no hay cambio de espín, se mantiene un estado singlete excitado en donde todos los espines electrónicos se encuentran apareados, este proceso se da principalmente entre el estado fundamental y el primer estado excitado, debido a que en niveles energéticos más grandes es más probable que la energía se disipe mediante relajación vibracional o conversión interna. El fotón que es emitido es de la misma energía que la diferencia de los estados electrónicos de transición y menor a la de los fotones excitantes, la diferencia entre la energía del fotón incidente y el emitido se disipa por medio de conversión interna y relajación vibracional [43].

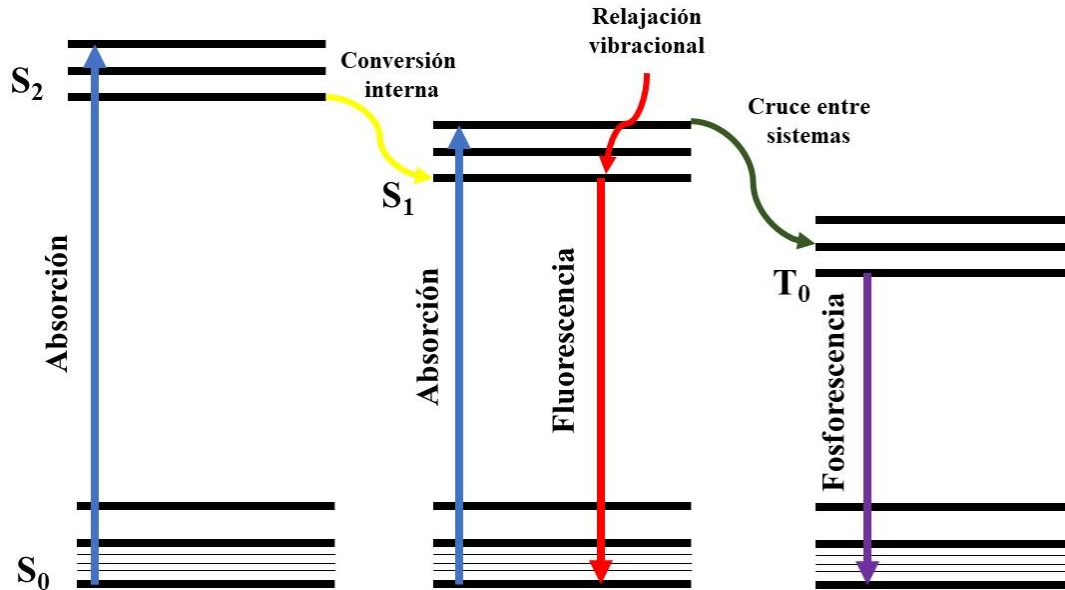


Fig. 7. Diagrama de Jablonski en procesos de absorción molecular de fluorescencia y fosforescencia [44].

Otra manera en la que el exceso de energía de un fotón incidente puede ser disipada es mediante un cruce entre sistemas, en donde existe un cambio de espín de un estado singlete excitado a un triplete excitado, esta es una transición prohibida que no debería ocurrir, pero al agregar factores de vibración, se vuelve una transición débilmente permitida, este proceso es mucho más lento en comparación al resto de procesos de disipación de energía. La diferencia fundamental entre la fluorescencia y fosforescencia es que en el primer proceso se interrumpe la emisión de fotones al dejar de recibir un estímulo, mientras que en la fosforescencia se almacena la energía y la emite poco a poco durante un periodo de tiempo, aunque la muestra se encuentre en ausencia de un estímulo [45].

2.2.5. Microscopía electrónica de barrido

Una técnica de caracterización que permite observar la morfología y microestructura de la superficie de una muestra es la microscopía electrónica de barrido (SEM, por sus siglas en inglés), ésta se basa en incidir un haz de electrones sobre la muestra que permite la generación de micrográficas a partir de la información que proveen los electrones generados durante este proceso. El funcionamiento general de un microscopio electrónico de barrido se muestra en

la Fig. 8, los electrones son generados a partir de un cátodo que principalmente son filamentos de tungsteno (W) o hexaboruro de lantano (LaB₆). En el caso de un filamento de W, la emisión de los electrones se da al calentar el filamento a aproximadamente 2700 °C en condiciones de alto vacío (10⁻⁷ Torr), generando una nube de electrones en el extremo del filamento que será atraído hacia el ánodo. Subsecuentemente, el haz de electrones pasa por los lentes condensador y de objetivo que son lentes electromagnéticas con la finalidad de colimar y enfocar los electrones hacia la muestra [46].

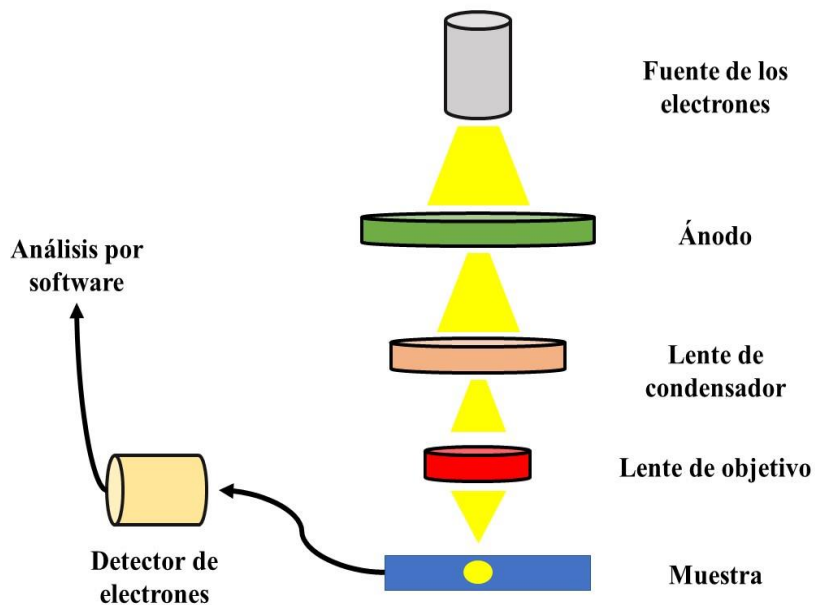


Fig. 8. Esquema de los elementos que conforman un microscopio electrónico de barrido.

Al momento de que los electrones impactan con la muestra, se generan distintos tipos de electrones y señales, esta técnica hace uso principalmente de la información generada por electrones secundarios (ES), electrones retrodispersados (ER) y rayos-X, como se muestra en la Fig. 9. Los electrones secundarios se generan cuando los electrones del haz incidente interactúan con los electrones de los átomos en la muestra, sacándolos de su órbita con una cantidad de energía cinética, como consecuencia de la baja energía de los electrones del haz incidente, solamente se emiten electrones secundarios cerca de la superficie, permitiendo conocer la topografía de la muestra. Los electrones retrodispersados se producen cuando los electrones del haz incidente interactúan con el núcleo del átomo y rebota al electrón incidente fuera de la muestra sin pérdida de energía, estos electrones son de mayor energía que los

electrones secundarios y sus señales no poseen tanta información sobre la topografía, sin embargo, permiten conocer acerca de la composición química. Por último, se genera una señal de rayos-X, estas señales son producidas cuando un electrón es desprendido de su orbital y el electrón se vuelve inestable, entonces otro electrón ocupará la vacancia, cuando se llena el hueco generado por el electrón desprendido, la diferencia de energía entre los orbitales se libera como radiación de rayos-X. A partir de la posición de los rayos-X característicos de una muestra, los elementos presentes pueden ser identificados y la intensidad de los rayos-X permite conocer de manera cuantitativa la composición de la muestra analizada, a este proceso se le conoce como espectroscopía de energía dispersiva (EDS, por sus siglas en inglés) [47]–[49].



Fig. 9. Electrones generados en SEM.

2.2.6. Microscopía electrónica de transmisión

Al igual que en SEM, la microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) emplea un haz de electrones sobre una muestra para generar imágenes hasta una escala nanométrica. El proceso para generar el haz de electrones que irradiará la muestra se puede dar de dos maneras al elevar a altas temperaturas un filamento (termoiónico) o al aplicar una diferencia de potencial (emisión de campo) [50]. En el caso de las fuentes de electrones termoiónicas los electrones se producen al calentar un filamento que puede ser de W o LaB₆, al punto en que los electrones en los orbitales más externos ganen la energía necesaria para superar la barrera de la función de trabajo y escapar del orbital. En el caso de las fuentes de electrones de emisión de campo, se aplica una diferencia de potencial a un filamento, principalmente W, generando un campo eléctrico en la punta del filamento. Para

ambas fuentes de electrones se debe de manejar condiciones de vacío de aproximadamente 10^{-6} Torr para las fuentes termoiónicas y 10^{-11} Torr para las de emisión de campo.

Los electrones generados en el filamento deben pasar por lentes electromagnéticas que permiten enfocar el haz incidente, controlar el flujo de electrones y seleccionar los rayos de electrones que contribuyan a la formación de imágenes. Un TEM cuenta principalmente con tres tipos de lentes electromagnéticas: condensadoras que tienen como función la formación del haz; de objetivo que modulan y focalizan el haz y las lentes de proyección que expanden el haz reflejado a una pantalla fluorescente la que permite reconstruir la imagen formada. Al igual que en SEM, la técnica de TEM obtiene información a partir de los ES, ER y los rayos-X, sin embargo, también se puede obtener información de otro tipo de electrones generados como los electrones Auger, electrones elásticamente dispersados y electrones inelásticamente dispersados, estos son representados en la Fig. 10 [51].

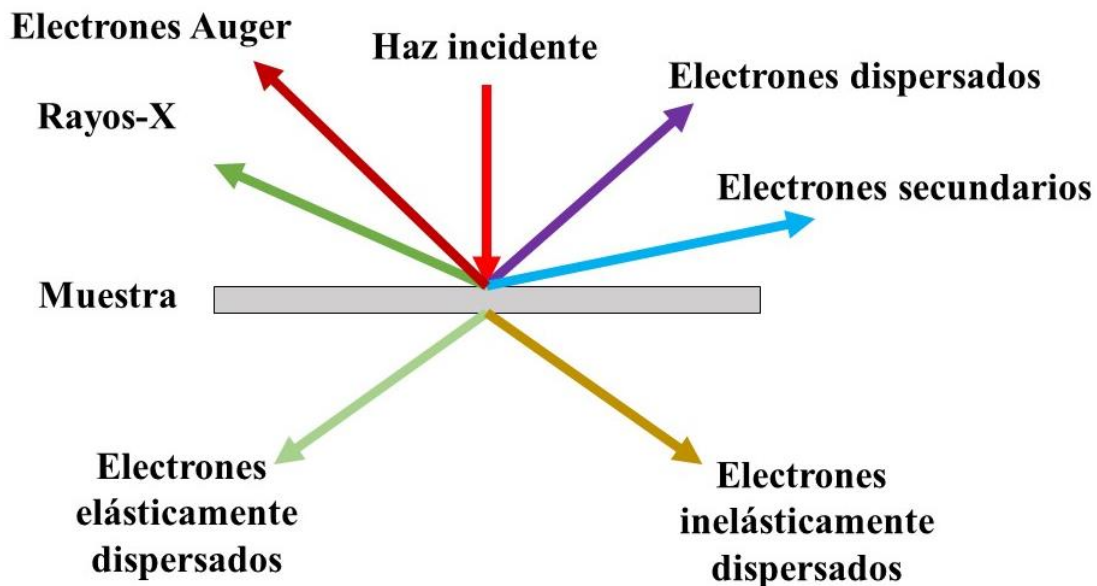


Fig. 10. Electrones generados al analizar muestras mediante TEM.

Los electrones Auger al igual que los rayos-X son generados cuando los átomos excitados de la muestra liberan un electrón y posteriormente otro electrón de un nivel de energía superior cae al nivel vacante; los electrones Auger tienen una energía específica para cada elemento de donde fue emitido, analizar la energía de este tipo de electrones permite determinar la

composición elemental de la superficie, aproximadamente de 2 a 5 nm de profundidad [52]. Al pasar el haz incidente a través de la muestra se pueden generar electrones elásticamente dispersos los cuales son consecuencia de la dispersión de los que inciden e interactúan con los átomos de la muestra, estos cambian su dirección de viaje pero no pierden energía; si se trata de una muestra cristalina, los electrones dispersados se convierten en ondas difractadas, los haces difractados en fase que satisfacen la ley de Bragg se reforzarán proyectándose como una serie de puntos brillantes generando un patrón de difracción, este proceso es conocido como difracción de electrones de área selecta (SAED, por sus siglas en inglés), pues permite elegir el área de donde se obtendrá el patrón, esta técnica proporciona información cristalográfica del material al igual que en XRD, la diferencia se encuentra en la profundidad de análisis, al usar XRD la penetración de los electrones es menor comparado con SAED. Los electrones inelásticamente dispersados son generados cuando los electrones del haz incidente interactúan con los átomos y pierden energía durante la interacción, esta pérdida de energía es característica y única para cada uno de los elementos presentes en la muestra y permiten conocer información elemental de la muestra, así como estados de oxidación [53].

Como antes se mencionó, las técnicas de caracterización descritas en esta sección permiten obtener una mayor información acerca de las nanopartículas sintetizadas, entre las nanopartículas investigadas se encuentran aquellas que pueden ser obtenidas mediante una metodología verde a continuación descrita.

2.3. Síntesis verde de nanopartículas de ZnO

Hay múltiples métodos de síntesis de nanopartículas; sin embargo, las metodologías convencionales como la pirólisis, sólido-gel, reducción química, descomposición termal o hidrotérmal presentan múltiples desventajas e inconvenientes como defectos en la formación de los materiales, bajo rendimiento de producción, costos elevados y condiciones de síntesis que involucran altas presiones y temperaturas que impactan de manera directa en el medio ambiente al generar residuos tóxicos [54]. La síntesis verde se posiciona como una alternativa competitiva contra los métodos de síntesis convencionales, ésta se basa en la química verde atendiendo algunos de los principios que la conforman como la prevención de generación de residuos, síntesis menos tóxicas, diseño de químicos seguros, reducción del consumo de energía, empleo de solventes seguros, uso de materias primas provenientes de recursos

renovables y el empleo de procesos catalíticos [55]. Las nanopartículas obtenidas mediante síntesis verde pueden tener como origen el uso de algas, bacterias, levaduras, hongos o emplear extractos de frutos, flores o plantas. Al emplear extractos naturales se aprovechan moléculas presentes en la composición fitoquímica como los terpenoides, alcaloides, flavonoides, alcaloides, aldehídos, y amidas que actúan como estabilizadores durante la síntesis [56]. Las propiedades de las nanopartículas se verán directamente afectadas por el extracto empleado, su concentración y las condiciones de síntesis como la temperatura, el pH o el precursor de iones [57]. La metodología de síntesis verde se ha empleado para la obtención de múltiples tipos de nanopartícula como plata (Ag), oro (Au), dióxido de titanio (TiO_2), cobre (Cu), dióxido de estaño (SnO_2), dióxido de hierro (FeO_2) y óxido de zinc (ZnO) [58]. El ZnO resalta de entre los materiales estudiados debido a sus prominentes propiedades que lo hacen candidato para diversas aplicaciones, por ejemplo, en el área de fotocatalisis y el campo biomédico por su actividad antibacteriana y fungicida, por su capacidad de usarse en sistemas para el transporte y liberación de fármacos o en la mejora de dispositivos optoelectrónicos [59].

En la Fig. 11 se presenta un esquema representativo de una propuesta de síntesis verde para nanopartículas de ZnO basada en el modelo presentado por *Gawade et al.* (2017). Las moléculas de un precursor de iones de zinc como el nitrato de zinc hexahidratado ($\text{ZnO}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) está en contacto con los constituyentes del extracto formando complejos ligando entre los grupos hidroxilo y los iones de zinc mediante una reacción de nucleación. Finalmente, a la calcinación de los complejos formados lleva a la obtención de nanopartículas de ZnO [60], [61].

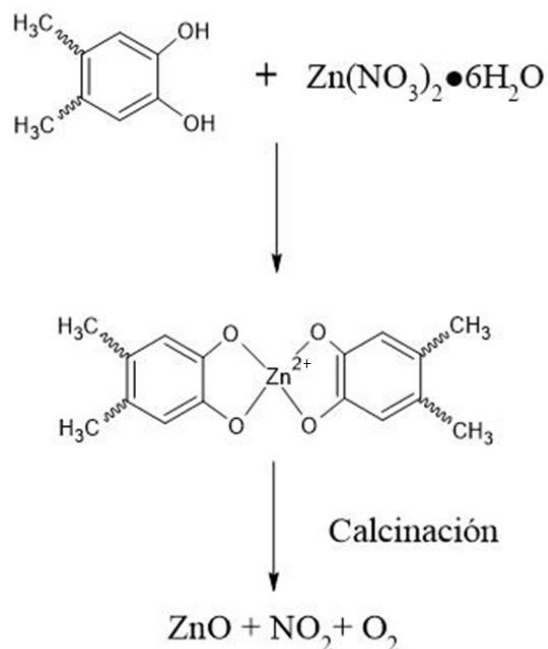


Fig. 11. Propuesta de formación de nanopartículas de ZnO empleando síntesis verde.

2.4. Pimientos y su concentración de capsaicina

Entre las fuentes de extractos que se pueden usar para obtener nanopartículas se encuentran los pimientos o popularmente conocidos como chiles son el fruto de las plantas del género *Capsicum*, este es uno de los géneros de plantas más populares y cultivados a lo largo del mundo el cual está conformado por plantas dicotiledóneas, angiospermas y arbustivas que pertenecen a la familia de las solanáceas. Más de 26 especies de plantas son agrupadas dentro del género *Capsicum*, sin embargo, solo 5 de ellas han sido domesticadas y cultivadas por el hombre (*C. annuum*, *C. baccatum*, *C. frutescens*, *C. pubescens* y *C. chinense*) [62]. Aunque las plantas del género *Capsicum* tienen como origen las zonas tropicales del centro y sur de América, su cultivo se ha extendido a lo largo del mundo formando parte de la gastronomía y cultura de muchos países. México cultiva anualmente más de 173 mil hectáreas de pimientos de distintas variedades entre las que se encuentran: jalapeño, poblano, morrón, mirasol, de árbol, entre muchas otras variedades.

Los pimientos son empleados como fuente de sabor y color en el área gastronómica y en la industria de alimentos, sin embargo, su uso no solo se limita a este sector, los pimientos también son empleados para la elaboración de pinturas, cosméticos y productos farmacéuticos. Adicionalmente, los pimientos han sido empleados en el área de la medicina para el tratamiento de desórdenes cardiovasculares o cáncer, y presentan actividad antioxidante y antiinflamatoria [63]. Las propiedades de los pimientos se obtienen de su composición fitoquímica la cual está conformada por distintos grupos de moléculas entre los que podemos encontrar: compuestos fenólicos, vitaminas C y E, flavonoides, capsaicinoides o terpenoides [64]. La popularidad de los pimientos se debe principalmente a la pungencia, que es una sensación de dolor o ardor que producen al ser consumidos, ésta es producida por los capsaicinoides. Los capsaicinoides son un grupo de moléculas fenólicas derivados de la vainillilamina entre las que se encuentra: capsaicina en un 69%, dihidrocapsaicina en un 22%, nordihidrocapsaicina en un 7% y otros capsaicinoides en menor concentración. Estas moléculas al entrar en contacto con el receptor TRPV1 (transient receptor potential vainilloid 1) genera la sensación de ardor [65]. La principal molécula que constituye los capsaicinoides es la capsaicina (8-metil-N-vainillil-6-nonenamida), su estructura se presenta en la Fig. 12.

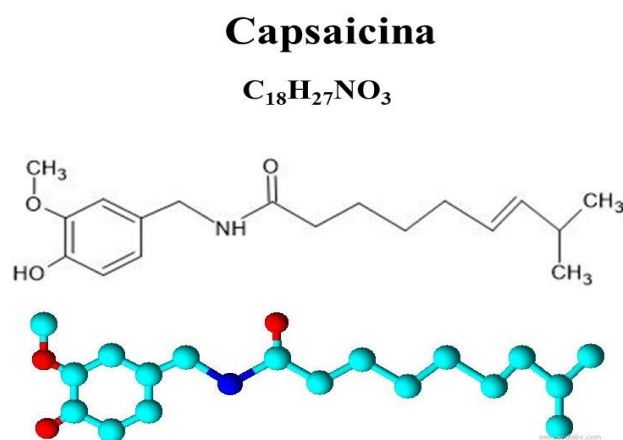


Fig. 12. Estructura química de la capsaicina [66].

Para conocer la pungencia de un pimiento se emplea la escala Scoville, propuesta por Wilbur Scoville, mide la pungencia de un pimiento en unidades de Scoville (SHU, por sus siglas en inglés), inicialmente este estudio estaba basado un análisis organoléptico en donde un

extracto de pimiento se diluía hasta que la sensación de ardor al ser probado no pudiera ser detectado, cada una de las diluciones era una SHU. En donde los pimientos sin contenido de capsaicina como el pimiento morrón cuenta con 0 SHU, mientras que la capsaicina pura cuenta con aproximadamente 15,000,000 SHU, por ende, las SHU tienen una relación directa con la concentración de capsaicina en un pimiento, por tanto, a mayor contenido de capsaicina el pimiento es más pungente y tiene más SHU en la escala Scoville. Se presenta un esquema representativo de la escala Scoville en la Fig. 13.

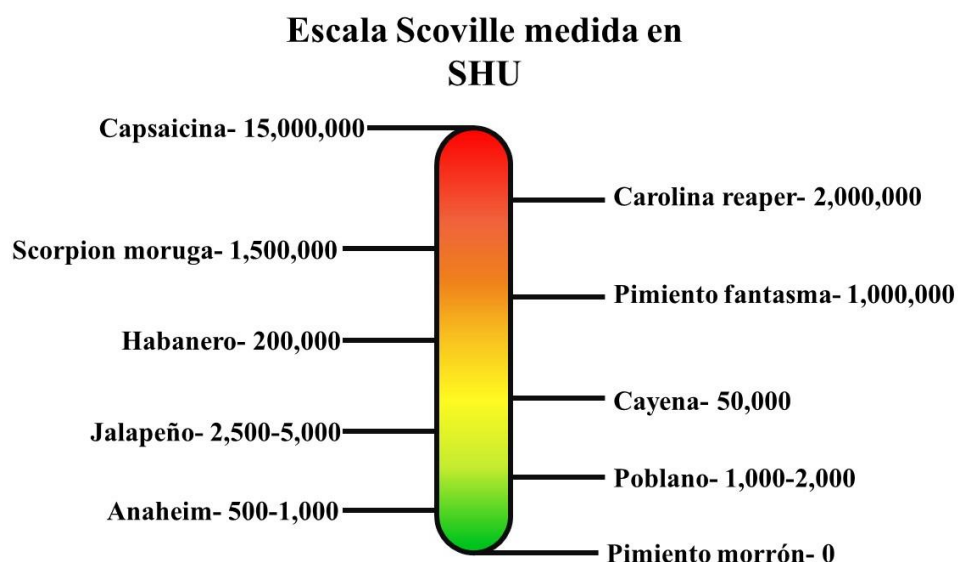


Fig. 13. Representación esquemática de la escala Scoville y su relación con la pungencia de distintos pimientos en SHU.

La escala Scoville original puede resultar subjetiva o imprecisa al tratarse de un proceso que depende de los sentidos y la tolerancia al picante de la persona que realice el ensayo, es por ello que se han realizado estudios en donde se emplean técnicas como la espectrometría de masas para estandarizar la escala Scoville. Esta investigación empleó tres tipos de pimientos: *Capsicum annum* 'Poblano' (pimiento poblano), *Capsicum annum* 'Jalapeño' (pimiento morita) y *Capsicum chinense* 'Naga jolokia' (pimiento fantasma) con una concentración de 2,000, 5,000 y 1,000,000 de SHU para cada pimiento, respectivamente.

3. Antecedentes

La síntesis verde de nanopartículas de ZnO ha ganado un especial interés debido a sus múltiples aplicaciones, a continuación, se resumen algunos trabajos en los que se han hecho uso de diversos extractos naturales para la obtención de nanopartículas de ZnO y sus diversas aplicaciones.

Sadiq *et al.* (2021) sintetizaron nanopartículas de ZnO a partir de un extracto obtenido de hojas secas de *Syzygium cumini* o también conocido como jambolán; es un árbol nativo del sudeste asiático, India y Australia; el extracto que se puede obtener a partir de sus hojas se emplea en el tratamiento de asma y bronquitis. La formación de ZnO fue analizada mediante XRD permitiendo conocer su arreglo estructural y conformación cristalina. Se realizaron pruebas de degradación de azul de metileno mediante fotocatalisis bajo luz solar, las nanopartículas fueron capaces de degradar un 91.4% del contaminante en un lapso de 180 min [67].

Rajendrachari *et al.* (2021) emplearon extracto de *Alchemilla vulgaris* (pie de león) para sintetizar nanopartículas de ZnO. Una vez sintetizadas las nanopartículas fueron analizadas mediante SEM, las micrografías mostraron una morfología de coliflor sin aglomeraciones debido al efecto del extracto en la formación de las nanopartículas; las nanopartículas presentan una estructura hexagonal y una conformación cristalina determinada por XRD, los grupos funcionales y composición química fueron determinados mediante FTIR. A partir de los estudios de morfología y estructurales se concluyó que la morfología, tamaño y estructura cristalina se pueden controlar según el extracto que se esté empleando. Posteriormente se estudió la capacidad de degradar rodamina B en aguas de desecho, el cual es un colorante recurrente en procesos de la industria textil, el material fue capaz de eliminar en un 75% el colorante bajo irradiación de luz solar [68].

Por otra parte, algunos procesos industriales generan residuos remanentes de frutos, flores o plantas que podrían aprovecharse en vez de desecharse, en el trabajo de Rambau *et al.* (2021) se reporta el uso de pulpa de desecho del dátil que crece en la palmera *Phoenix dactylifera* como un reductor natural para sintetizar nanopartículas de ZnO de forma simple y a bajo costo. La pulpa fue recolectada de una unidad productora de jarabe de dátil, la cual se empleó para sintetizar nanopartículas. El material obtenido se sometió a distintos estudios entre los

que se encuentran: FTIR para el análisis de grupos funcionales; fotoluminiscencia para el estudio de la emisión espectral; XRD para el análisis estructural y la identificación de defectos y espectroscopía de Raman para el análisis de la composición química. Posteriormente realizaron pruebas de fotocatalisis para la eliminación de colorantes provenientes de industrias textiles y farmacéuticas, el material sintetizado fue capaz de degradar azul de metileno y eosina amarillenta al 90% en un lapso de 180 min bajo luz UV [69].

La presencia de fármacos, hormonas, antibióticos o productos farmacéuticos en cuerpos de agua supone un problema ambiental debido a su difícil eliminación mediante tratamientos convencionales, la innovación de nuevos procedimientos para la eliminación de contaminantes persistentes se ha vuelto prioridad en la comunidad científica. El ZnO aparece como una alternativa debido a su actividad fotocatalítica y capacidad de generar especies reactivas de oxígeno que sean capaces de degradar y mineralizar contaminantes de difícil degradación. En el trabajo de Mohamed *et al.* (2021) se obtuvieron nanopartículas de ZnO empleando como reductor un extracto obtenido a partir de pullulan, un polisacárido producido por el hongo *Aureobasidium pullulans*. Posteriormente se realizaron pruebas de fotocatalisis para estudiar la degradación de amoxicilina y paracetamol observando degradaciones superiores al 80% [70].

Doan *et al.* (2020) emplearon extracto de la cáscara de naranja como reductor biológico para lograr una síntesis eficiente de nanopartículas de ZnO libre de tóxicos y posteriormente analizar su potencial antimicrobiano contra distintas cepas bacterianas patógenas. Una vez obtenidas las nanopartículas se sometieron a distintos estudios de caracterización de entre los que destacan el estudio de la estructura cristalina mediante XRD, el análisis de pérdida de peso durante la calcinación mediante termogravimetría y un análisis de la morfología de las nanopartículas mediante TEM, estos estudios que determinaron una relación entre la temperatura de calcinación y su morfología y tamaño. Finalmente, estudiaron el efecto antimicrobiano de las nanopartículas en los que fue capaz de reducir el crecimiento de *E. coli* en un 99% empleando el método de dilución de broth [71].

Pillai *et al.* (2020) estudiaron el potencial antibacteriano y fungicida de nanopartículas de ZnO obtenidas mediante una ruta ecológica, rápida y de bajo costo empleando los siguientes

extractos de plantas: *Beta vulgaris* (remolacha), *Cinnamomum tamala* (laurel de la India), *Cinnamomum verum* (árbol de canela) y *Brassica oleracea* var. *Italica* (planta de brócoli). Las propiedades ópticas de las nanopartículas se analizaron mediante XRD, FTIR y UV-Vis; mientras que la morfología fue estudiada mediante SEM y TEM. Las propiedades antibacterianas fueron analizadas contra *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, mientras que el potencial fungicida fue analizado contra *Candida albicans* y *Aspergillus niger*. Los resultados indican que las nanopartículas sintetizadas con extracto de planta de brócoli presentan actividad antimicrobiana y fungicida para todos los microorganismos analizados [72].

Gur *et al.* (2022) sintetizaron nanopartículas de ZnO al añadir extracto de *Thymbra spicata* L. a una solución de nitrato de zinc, la solución obtenida se dejó reaccionar a temperatura ambiente, al ocurrir un cambio de coloración resultado de la reducción de los iones de zinc, se centrifugó y la parte sólida se dejó secar en un horno a 50 °C por 48 horas. Las propiedades de las nanopartículas obtenidas fueron estudiadas mediante análisis de FTIR, UV-Vis, XRD y SEM; adicionalmente se realizaron ensayos antimicrobianos contra distintas cepas bacterianas patógenas obteniendo resultados significativos contra *Pseudomonas aeruginosa* [73].

En la investigación realizada por Selim *et al.* (2020) analizaron la actividad citotóxica de nanopartículas de ZnO sintetizadas mediante una metodología verde empleando un extracto acuoso de *Deverra tortuosa*, la cual es una planta cuyo origen está ligada a los desiertos de la eco región de Arabia conocida por su amplio uso en aplicaciones médicas como hepatitis, reumatismo, diabetes, hipertensión, entre otras aplicaciones medicinales. Estas propiedades se derivan de sus moléculas constituyentes como terpenoides, aceites esenciales, glucósidos y flavonoides. Las nanopartículas presentaron actividad citotóxica contra distintas líneas cancerígenas [74].

Jayachandran *et al.* (2021) reportaron la síntesis de nanopartículas de ZnO haciendo uso del extracto de *Cayratia pedata*, esta es una planta medicinal originaria de India, China y el sudeste asiático la cual es rica en flavonoides, polifenoles y compuestos fenólicos; además es conocida por sus propiedades antioxidantes, antimicrobianas y su uso en el tratamiento de diarrea, úlceras e inflamaciones. Las propiedades de las nanopartículas sintetizadas fueron

analizadas mediante distintas técnicas de caracterización como FTIR, SEM, UV-Vis, entre otras. Se logró la inmovilización de la enzima glucosa oxidasa utilizando las nanopartículas sintetizadas con la finalidad de ser usadas como sensores [75].

Las infecciones relacionadas con biomateriales usados en hospitales representan un riesgo de salud debido al aumento de bacterias resistentes a antibióticos, resultando en tratamientos costosos, largas recuperaciones e inclusive la muerte, Akbarian *et al.* (2020) desarrollaron un sistema de liberación de fármacos empleando nanopartículas de ZnO, con la finalidad de disminuir el riesgo de contraer enfermedades relacionadas con equipo médico. Para sintetizar las nanopartículas emplearon extracto de *Camellia sinensis L.* (té verde). Las nanopartículas fueron envueltas con una matriz de quitosano para actuar como nano acarreadores de paclitaxel, un fármaco anticancerígeno. La influencia de las nanopartículas sobre la actividad metabólica se estudió mediante ensayos de MTT empleando la línea celular RAW 264.7, los cuales demostraron que las nanopartículas presentan alta citotoxicidad en contra de las células cancerígenas y mínimos daños sobre fibroblastos. Las nanopartículas cargadas con paclitaxel fueron capaces de liberar el fármaco de manera selectiva a las células cancerígenas disminuyendo la citotoxicidad a las células no cancerígenas [76].

4. Hipótesis

La concentración de capsaicina presente en la composición fitoquímica de extractos obtenidos a partir de distintas especies de pimientos tendrá una influencia en las propiedades físicas, químicas y ópticas de nanopartículas de ZnO obtenidas mediante síntesis verde. Impactando en su actividad fotocatalítica, potencial antimicrobiano y su influencia en la actividad metabólica.

5. Objetivos

5.1. Objetivo general

Sintetizar nanopartículas de ZnO empleando extractos de distintos pimientos con la finalidad de analizar el efecto de la concentración de capsaicina sobre las propiedades físicas, químicas y ópticas del material; además de sus aplicaciones fotocatalíticas, potencial antibacteriano y su efecto sobre la actividad metabólica.

5.2. Objetivos específicos

- Sintetizar nanopartículas de ZnO usando extractos acuosos de tres pimientos: pimiento poblano (*Capsicum annuum* 'Poblano'), pimiento morita (*Capsicum annuum* 'Jalapeño') y pimiento fantasma (*Capsicum chinense* 'Naga jolokia').
- Analizar las síntesis obtenidas mediante distintas técnicas de caracterización: (UV-vis, FTIR, XRD, PL, SEM/EDS y TEM/SAED).
- Realizar ensayos de fotocátalisis mediante la degradación MB, RB y MO.
- Comprobar la actividad antibacteriana de las nanopartículas obtenidas contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. subtilis* y *S. aureus*.
- Analizar la influencia de las nanopartículas sobre la actividad metabólica mediante ensayos MTT.

6. Materiales y metodología

6.1. Materiales

La síntesis de nanopartículas de ZnO se llevó a cabo empleando tres pimientos secos (pimiento poblano, pimiento morita y pimiento fantasma), los cuales fueron comprados de tiendas locales; nitrato de zinc hexahidratado ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) como precursor de zinc, con una pureza del 99% comprado de Sigma-Aldrich y agua desionizada. Para los ensayos de fotocátalisis se utilizó MB con un 98% de pureza, RB con un 95% de pureza y naranja de metilo MO con un 99% de pureza, obtenidos de Sigma-Aldrich. Para realizar las pruebas antimicrobianas se empleó medio Luria-Bertani (LB) y medio agar Hinton-Müller (AHM). Para el ensayo MTT se empleó medio RPMI 1640, suero fetal bovino (SFB), isopropanol y sales de tetrazolio.

6.2. Obtención de los extractos

En la Fig. 14 se muestran los pasos seguidos para obtener los extractos acuosos, usados durante el proceso de síntesis. Cada pimiento seco se molió hasta obtener un fino polvo (Fig. 14a). Posteriormente fueron agregados a 50 ml de agua desionizada a una concentración 2% p/v y fueron colocados en agitación suave a temperatura ambiente por 2 h (Fig. 14b). Subsecuentemente se colocaron en un baño de agua a 60° por 1 h (Fig. 14c). Después de este proceso los extractos fueron filtrados usando una bomba de vacío, con la finalidad de separar la materia orgánica de los extractos acuosos (Fig. 14d). Finalmente, los extractos ya filtrados fueron almacenados hasta su uso (Fig. 14e). Se siguió la misma metodología para los tres tipos de pimientos usados para la síntesis.

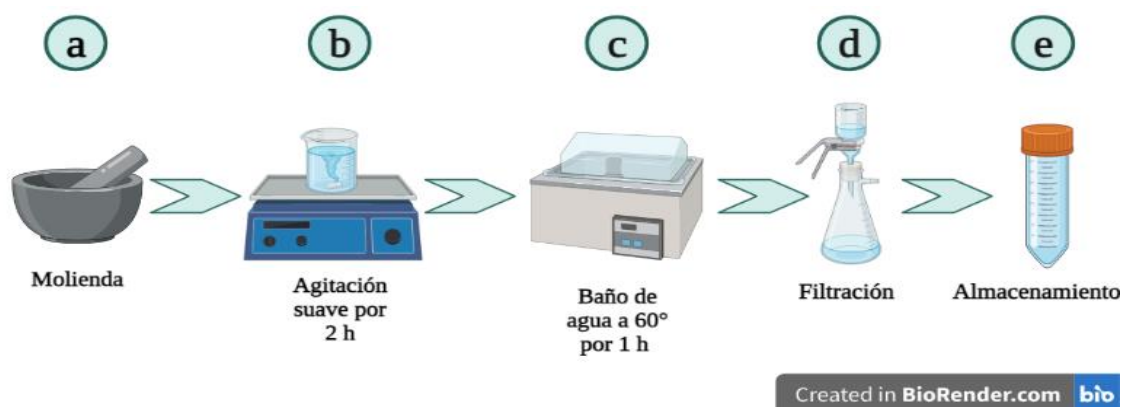


Fig. 14. Diagrama de obtención de extractos usados durante el proceso de síntesis.

6.3. Síntesis verde de nanopartículas de ZnO

Con los extractos previamente obtenidos se sintetizaron nanopartículas de ZnO como se muestra en la Fig. 15. Al extracto previamente obtenido se le agregaron 2 g del precursor de zinc ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) y se colocó en agitación en oscuridad por 1 h, hasta lograr una disolución completa del precursor en el extracto acuoso (Fig. 15a). Posteriormente la muestra se pasó a un baño de agua a 60 °C por 12 h, hasta obtener una consistencia plástica (Fig. 15b). Como paso siguiente, la síntesis se depositó en una cápsula de porcelana (Fig. 15c) y se colocó en una mufla donde se calcinó a 400 °C por 1 h (Fig. 15d). Finalmente, la síntesis calcinada se recolectó y almacenó hasta su uso (Fig. 15e). La misma metodología de síntesis se empleó para cada extracto obtenido. Los materiales obtenidos fueron etiquetados como CP, CM y CF para los pimientos poblano, morita y fantasma, respectivamente,

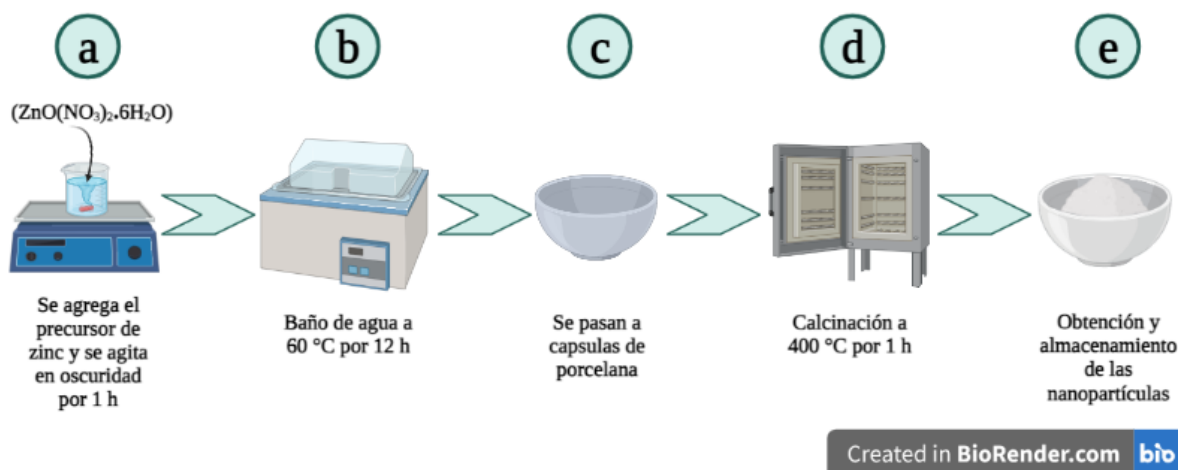


Fig. 15. Diagrama de síntesis de nanopartículas.

6.4. Caracterización

Se realizaron distintas caracterizaciones a las nanopartículas obtenidas con la finalidad de conocer sus propiedades físicas, químicas y ópticas. Las propiedades ópticas y absorción espectral fueron analizadas mediante UV-Vis. La estructura cristalina y el tamaño de cristal fueron analizados empleando XRD. Los grupos funcionales presentes en las nanopartículas sintetizadas fueron estudiados haciendo uso de FTIR. La morfología superficial y análisis elemental fueron analizados mediante SEM y EDS, respectivamente. La morfología y

tamaño de partícula fueron analizados mediante TEM. Los datos de los equipos utilizados se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. Equipos usados en la caracterización de las nanopartículas sintetizadas.

Caracterización	Equipo		
	Marca	Modelo	Parámetros de uso
UV-Vis	Perkin Elmer	Lambda 365	Velocidad de escaneo de 600 nm/min
XRD	Bruker	D2-Phase	Radiación Cu K α y una variación de ángulo 2 θ de 10° a 80°
FTIR	Perkin Elmer	Equipo de la marca	Reflectancia total atenuada, de 4500 a 350 cm ⁻¹
Fotoluminiscencia	Horiba	Nanolog	Etanol como solvente a 100 ppm
SEM/EDS	JEOL	JSM-6310LV	Distancia de trabajo de 11 mm
TEM	JEOL	JEM-2100	Aceleración de 120 kV

6.5. Pruebas de fotocatalisis

Los pasos seguidos en los estudios de degradación fotocatalítica se muestran en la Fig. 16. Se prepararon soluciones de cada uno de los tres colorantes (MB, RB y MO), a una concentración de 15 ppm (Fig. 16a). Posteriormente se utilizó una relación 1:1 entre las nanopartículas y las soluciones preparadas, añadiendo 50 mg en 50 mL de cada solución. A continuación, las muestras se dejaron en agitación constante en condiciones de ausencia de luz, con la finalidad de alcanzar un balance en el proceso de adsorción-desorción sobre la superficie de las nanopartículas (Fig. 16b). Las pruebas de fotocatalisis fueron realizadas bajo luz UV y luz solar. Las pruebas analizadas bajo luz UV fueron hechas dentro de un reactor equipado con una lámpara de luz marca Polaris modelo UV-1C que cuenta con un foco de 10 W a una energía de 18 mJ/cm² y se mantuvo en constante agitación (Fig. 16c). En el caso de las pruebas bajo luz solar, las muestras se pusieron bajo la luz directa del sol y se mantuvieron en agitación durante el proceso (Fig. 16d). Para ambas fotodegradaciones, se tomaron alícuotas cada 10 min durante los primeros 60 min del experimento y posteriormente cada 30 min hasta alcanzar un total de 180 min (Fig. 16e).

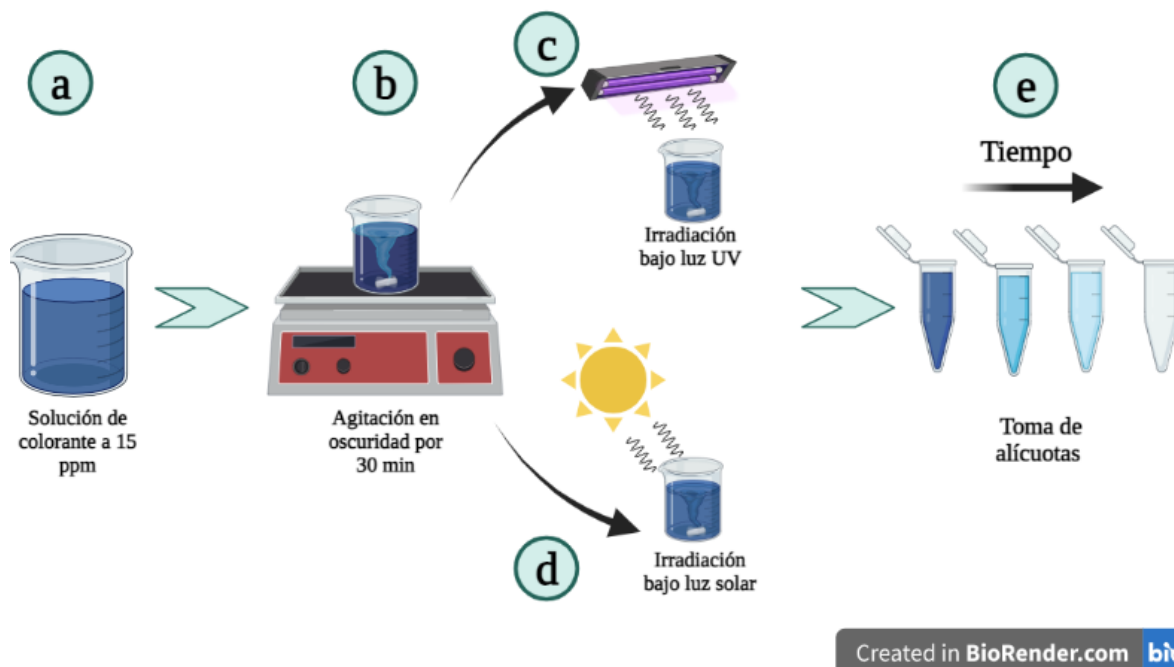


Fig. 16. Metodología de fotocatalisis empleando nanopartículas de ZnO.

6.6. Evaluación de la actividad antibacteriana de las nanopartículas

La actividad antibacteriana se evaluó sobre dos cepas de bacterias Gram-negativas: *Escherichia coli* (*E. coli*) y *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) y dos cepas Gram-positivas; *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*) y *Bacillus subtilis* (*B. subtilis*). Para ello, se utilizó el ensayo de difusión de disco, como se presenta en la Fig. 17. Las bacterias se cultivaron en medio LB líquido a 37 °C durante 24 h (Fig. 17a y b), pasado el tiempo de crecimiento, las bacterias se utilizaron para inocular en una placa Petri estériles con medio AHM y se dispersó utilizando hisopos estériles (Fig. 17c). Por otra parte, sobre discos de sensibilidad estériles de 6 mm, se depositaron 20 µL de una suspensión preparada de nanopartículas en agua estéril a distintas concentraciones (1,000, 2,000 y 4,000 µg/mL). Además de un control positivo y un control negativo como se indica en la Tabla 2, los discos se dejaron secar, se colocaron sobre las cajas con agar y se marcaron (Fig. 17d). Las cajas se incubaron por 24 horas a 37 °C (Fig. 17e). Finalmente, la actividad antibacteriana fue determinada al medir el diámetro del halo de inhibición observado para cada concentración de nanopartículas. Los ensayos se realizaron por triplicado para cada bacteria.

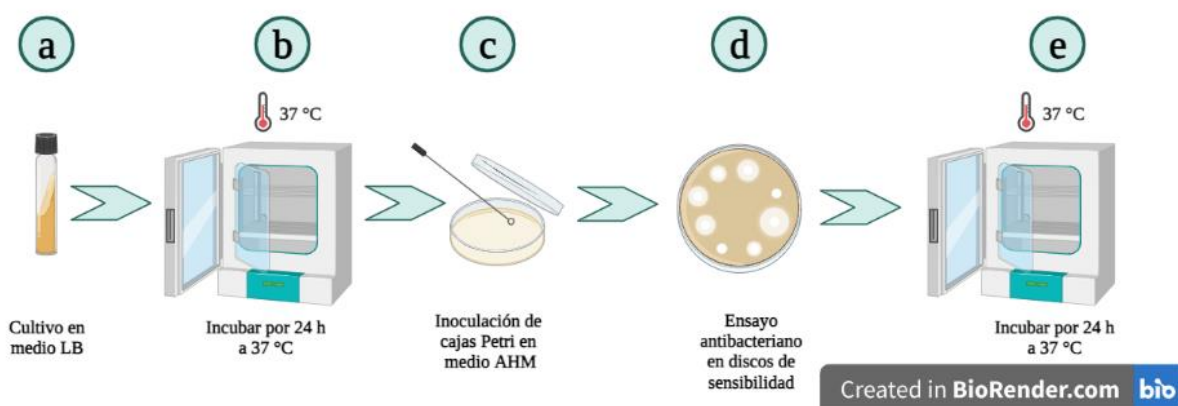


Fig. 17. Representación esquemática de la metodología usada para evaluar la de actividad antibacteriana basada por el método de difusión de disco.

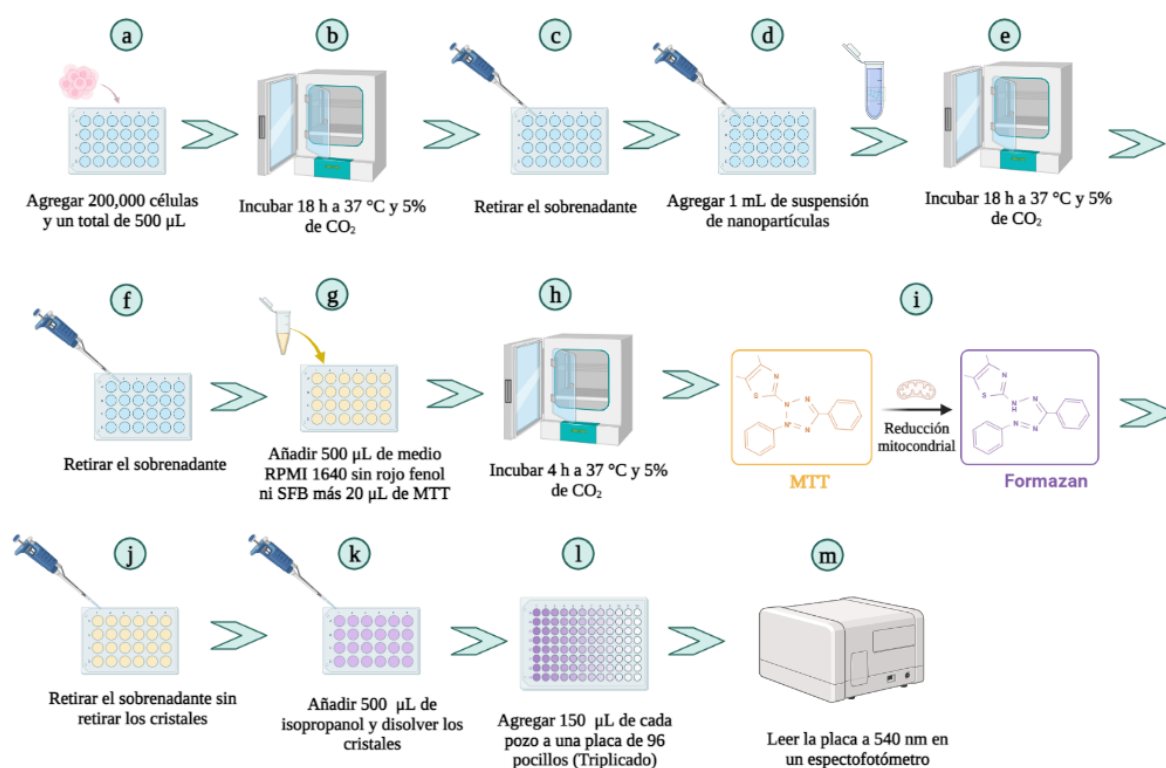
Tabla 2. Condiciones experimentales en discos de sensibilidad para pruebas antibacterianas.

Disco de sensibilidad	Muestra
1	Nanopartículas de ZnO a 1,000 $\mu\text{g/mL}$
2	Nanopartículas de ZnO a 2,000 $\mu\text{g/mL}$
3	Nanopartículas de ZnO a 4,000 $\mu\text{g/mL}$
4	Control positivo: Penicilina- 10,000 unidades/mL Estreptomicina- 10,000 $\mu\text{g/mL}$
5	Control negativo (Agua estéril)

6.7. Evaluación de la actividad metabólica inducida por las nanopartículas mediante un ensayo MTT

Para determinar la citotoxicidad de las nanopartículas se midió la actividad metabólica de la línea celular de macrófagos murinos RAW 264.7, estimuladas con diferentes concentraciones de nanopartículas, empleando la técnica del MTT, la metodología empleada en este estudio se representa en la Fig. 18. En una placa de 24 pocillos se sembraron 200,000 células en un volumen final de 500 μL de medio RPMI (Fig. 18a); posteriormente la placa se incubó por

18 h a 37 °C y 5% de CO₂ (Fig. 18b); con extrema precaución se tomó el sobrenadante sin evitando retirar las células adheridas en el pocillo (Fig. 18c) y estas se estimularon con 1 mL de suspensión de nanopartículas en medio de cultivo (Fig. 18d); se incubaron durante 18 h a 37 °C y 5% de CO₂ (Fig. 18e); se retiró el sobrenadante y las nanopartículas evitando retirar las células adheridas al pocillo (Fig. 18f); después se añadieron 500 µL de medio RPMI 1640 sin rojo fenol ni suero fetal bovino (SFB) y 20 µL de MTT (Fig. 18g); se incubaron durante 4 h a 37°C y 5% de CO₂ (Fig. 18h); a partir de este momento comenzó la reducción del MTT dando como resultado la formación de cristales de formazan (Fig. 18i); se retiró el sobrenadante de cada pozo sin remover los cristales (Fig. 18j); posteriormente, se agregaron 500 µL de isopropanol para disolver los cristales de formazan, se debe observar una solución de color a morado (Fig. 18k); en una placa de 96 pocillos se colocaron 150 µL de la solución anterior (Fig. 18l) y se leyó la placa en un espectrofotómetro a 540 nm (Fig. 18m).



Created in BioRender.com

Fig. 18. Metodología de ensayo MTT para la evaluación de actividad metabólica de células ante un estímulo de nanopartículas de ZnO.

7. Resultados y discusiones

7.1. Espectroscopia de UV-Vis

El espectro de absorción de las nanopartículas de ZnO sintetizadas fue analizado mediante espectroscopía de UV-Vis en un rango de 200 a 800 nm, tal como se muestra en la Fig. 19a. Los espectros obtenidos muestran un punto máximo de absorbancia de 364, 360 y 371 nm para las síntesis CP, CM y CF, respectivamente. Se pueden observar diferencias en los puntos máximos de absorbancia para cada una de las síntesis y esto es debido a que el extracto empleado durante el proceso de síntesis modifica las propiedades del material obtenido, traduciéndose en un desplazamiento de los puntos máximos de absorbancia de cada síntesis.

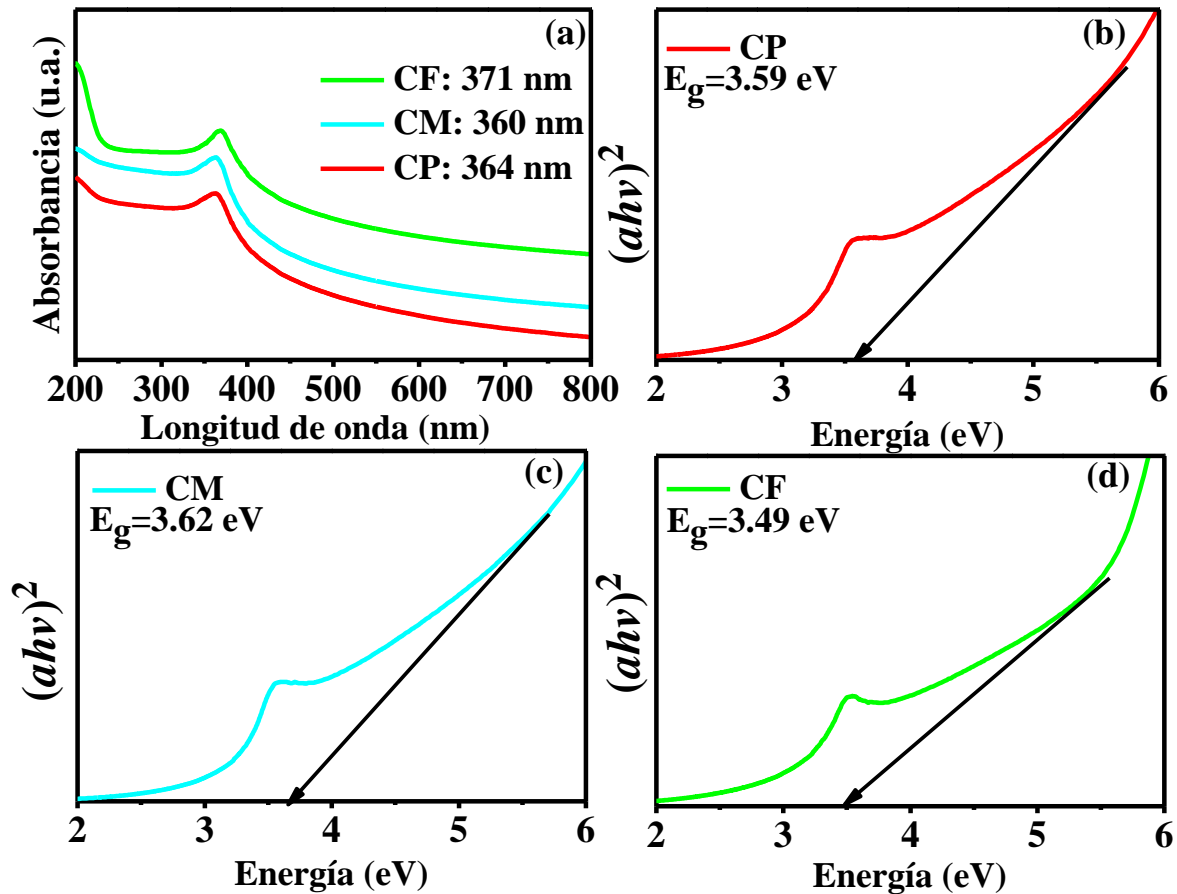


Fig. 19. Espectro de absorbancia de UV-vis de las nanopartículas sintetizadas (a) y cálculo del band gap empleando el modelo de TAUC para CP, CM y CF (b-d), respectivamente.

Las síntesis CM y CP muestran un espectro de absorbancia muy similar con una ligera diferencia en el punto de absorbancia máxima cercana a 360 nm el cual es un valor característico de las nanopartículas de ZnO según el autor Yusof *et al.* (2019) [77]. Por otra parte, la síntesis CF presenta un presenta su punto máximo de absorción en 371 nm, dicho valor de absorbancia también ha sido reportado como representativo de las nanopartículas de ZnO de acuerdo con el trabajo de Sharmila *et al.* (2019) [78].

A partir de los espectros de absorbancia y empleando el modelo de TAUC se realizó el cálculo de los valores de band gap de cada síntesis de nanopartículas empleando la **Eq. (5)**. En donde α es el coeficiente de absorción de la ley de Lambert-Beer, h es la constante de Planck (6.625×10^{-34} Js), ν es la frecuencia del fotón incidente, A es una constante adimensional, E_g es la brecha energética permitida y n es un factor que depende de la naturaleza de la transición siendo 1/2 para transiciones directas permitidas [79]. Se deben de realizar las gráficas de TAUC donde se grafica la energía del fotón incidente ($h\nu$) en el eje x y $(\alpha h\nu)^{1/n}$ en el eje y.

$$\alpha h\nu = A(h\nu - E_g)^n \quad (5)$$

Para obtener la gráfica de TAUC la **Eq. (5)** se igualó la ecuación de la recta **Eq. (6)** donde $y = \alpha h\nu$; $m=A$ y $x=h\nu-E_g$, en el caso particular donde $y=0$ como se muestra en la **Eq. (7)**. Resolviendo en términos de la energía, la energía de band gap se obtiene mediante la extrapolación de la región lineal sobre el eje x **Eq. (8)**. La frecuencia del fotón puede ser reescrita como el cociente de la velocidad de la luz ($c= 2.99 \times 10^8$ m/s) y la longitud de onda del fotón (λ) como se muestra en la **Eq. (9)**. La **Eq. (10)** muestra la resolución de la ecuación, a partir de dicha ecuación se puede obtener el eje x de la gráfica de TAUC [80].

$$y = m(x) + b \quad (6)$$

$$0 = A(h\nu - E_g), \text{ en el caso particular de } y=0 \quad (7)$$

$$E_g = h\nu \quad (8)$$

$$E = h\nu = \frac{hc}{\lambda} = \frac{2.998 \times 10^8 \frac{m}{s} * 6.625 \times 10^{-34} Js}{\lambda m} \quad (9)$$

$$E = \frac{1240 eV nm}{\lambda} \quad (10)$$

Para obtener el eje y de la gráfica de TAUC se debe realizar el cálculo de $(\alpha h\nu)^{1/n}$. A partir de la ley de Lambert-Beer se puede obtener α **Eq. (11)**, el valor de $\log(e)$ es de 0.4343 por lo que se sustituye en la **Eq. (12)**. El tamaño estándar de las celdas de UV-Vis es de 1 cm por lo que $l=1$ cm, además la absorbancia (A) puede ser igualada a $\log(I_0/I)$ **Eq. (13)**. Finalmente, la ecuación puede ser resuelta como se muestra en la **Eq. (14)**.

$$\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = -\alpha l \log(e) \quad (11)$$

$$\log\left(\frac{I}{I_0}\right) = -\alpha l (0.4343) \quad (12)$$

$$\log\left(\frac{I_0}{I}\right) = A \quad (13)$$

$$\alpha = 2.302 A \text{ cm}^{-1} \quad (14)$$

Se obtuvieron valores de band gap de 3.59, 3.62 y 3.49 eV para las síntesis CP, CM y CF, respectivamente. Una disminución en la longitud de onda del punto máximo de absorbancia sugiere un aumento en el valor de band gap; esto se puede observar en el caso de la síntesis CF, la cual presenta su punto máximo de absorbancia en 371 nm y su valor de band gap resulta el menor con un valor de 3.49 eV; por otra parte, CM es la síntesis con el punto máximo de absorbancia más pequeño, en 360 nm y su valor de band gap es el mayor de las tres síntesis al ser de 3.62 eV [81]. En este análisis se observa una ligera relación entre la concentración de capsaicina presente en el extracto empleado en la síntesis, que se asocia con la escala Scoville con la intensidad del punto máximo de absorbancia, la señal de la síntesis CP presenta la menor intensidad, mientras que la señal de la síntesis CF tiene la mayor intensidad, entre mayor es la concentración de capsaicina, mayor es la intensidad de la señal obtenida por UV-Vis.

7.2. FTIR

Los grupos funcionales de las nanopartículas sintetizadas se analizaron mediante FTIR, el espectro obtenido se muestra en la Fig. 20. En $\sim 3450 \text{ cm}^{-1}$ se encuentra una banda que se conserva para las tres síntesis y presenta una mayor intensidad para CM y CF, ésta corresponde a la vibración de estrechamiento del enlace (-OH) proveniente de los grupos hidroxilo y grupos funcionales hidrogenados [82]. Diversas bandas aparecen en la región de $\sim 1700\text{-}900 \text{ cm}^{-1}$ pertenecientes a los enlaces presentes en las moléculas de los extractos usados para la síntesis; las bandas que aparecen en $\sim 1640 \text{ cm}^{-1}$, $\sim 1480 \text{ cm}^{-1}$ y $\sim 1360 \text{ cm}^{-1}$

corresponden a los enlaces C=O, C-C y C-H de las amidas primarias y secundarias [83]–[85]; la banda ubicada en $\sim 1640\text{ cm}^{-1}$ pertenece al enlace C-N [86]; las bandas que aparecen en ~ 900 y 1100 cm^{-1} pertenecen a enlaces C-H y C-O aromáticos [87]. La aparición de bandas pertenecientes a moléculas del extracto confirma que aun después de la calcinación hay presencia de materia orgánica. Las tres síntesis presentan una banda en $\sim 630\text{ cm}^{-1}$, la cual corresponde a la vibración del enlace Zn-O, confirmando la formación de ZnO [88].

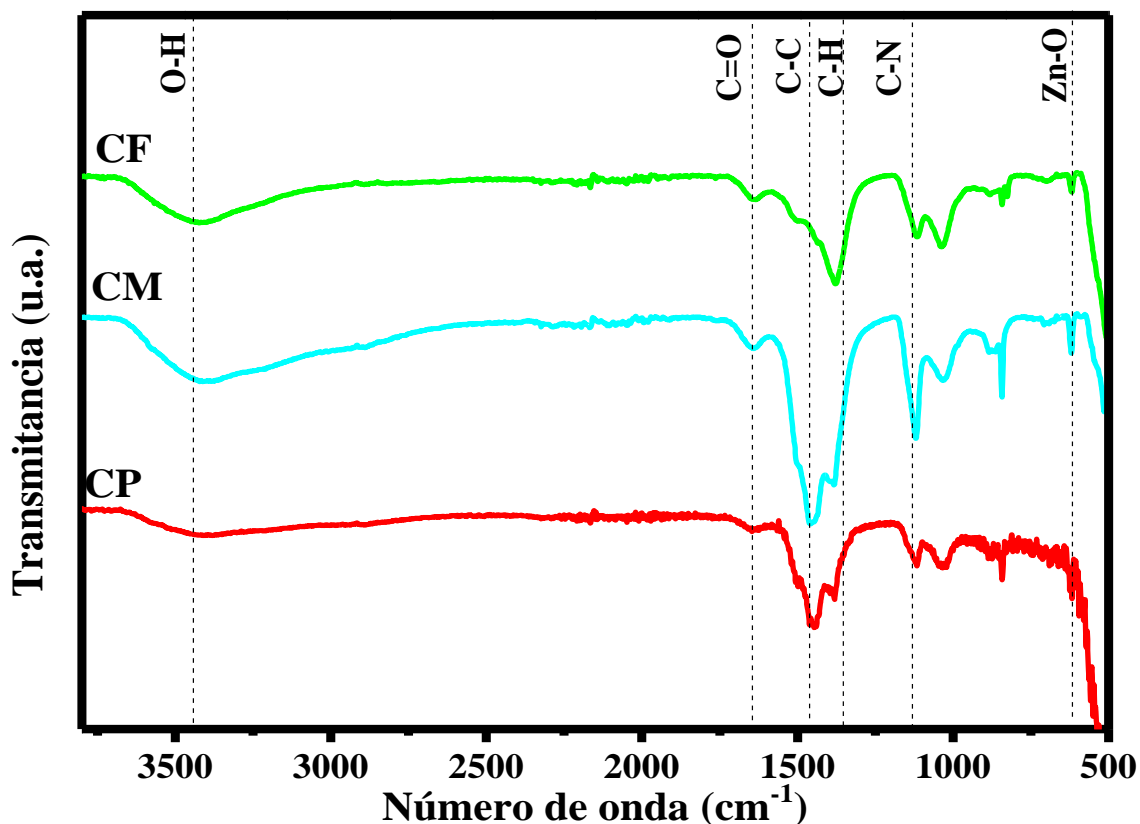


Fig. 20. Espectro FTIR de las nanopartículas sintetizadas.

7.3. XRD

La fase y estructura cristalina analizadas por medio de difracción de rayos-X se muestran en la Fig. 21. Se pueden observar los siguientes picos en distintas posiciones de 2θ : 31.81° , 34.37° , 36.17° , 47.50° , 56.54° , 62.87° , 67.96° y 69.31° . Los cuales pertenecen a los planos (100), (002), (101), (102), (110), (103), (112) y (201), respectivamente. Estos planos corresponden a una fase hexagonal wurtzita de acuerdo a la carta cristalográfica No. 89-1397

del Comité Conjunto Sobre Estándares de Difracción de Polvo (JCPDS, por sus siglas en inglés), la cual es una base de datos que alberga, publica y distribuye datos de difracción de polvo para la identificación de diversos materiales. La intensidad y el ancho de los picos obtenidos indican la ausencia de impurezas y confirma que el material obtenido no presenta otras fases; estos resultados son comparables a los obtenidos por Velsankar *et al.* (2020), investigación en la cual obtuvieron nanopartículas de ZnO empleando extracto de *Echinochloa frumentacea* [89]. Las tres síntesis muestran los mismos planos de difracción y un ancho similar para cada pico, sin embargo, si se pueden observar diferencias en la intensidad de los picos. Los picos de CM muestran una mayor intensidad a diferencia de las otras dos síntesis, esto indica que se obtuvo una muestra más cristalina. Las diferencias en los picos de son causadas por el extracto empleado durante el proceso de síntesis y su composición fitoquímica.

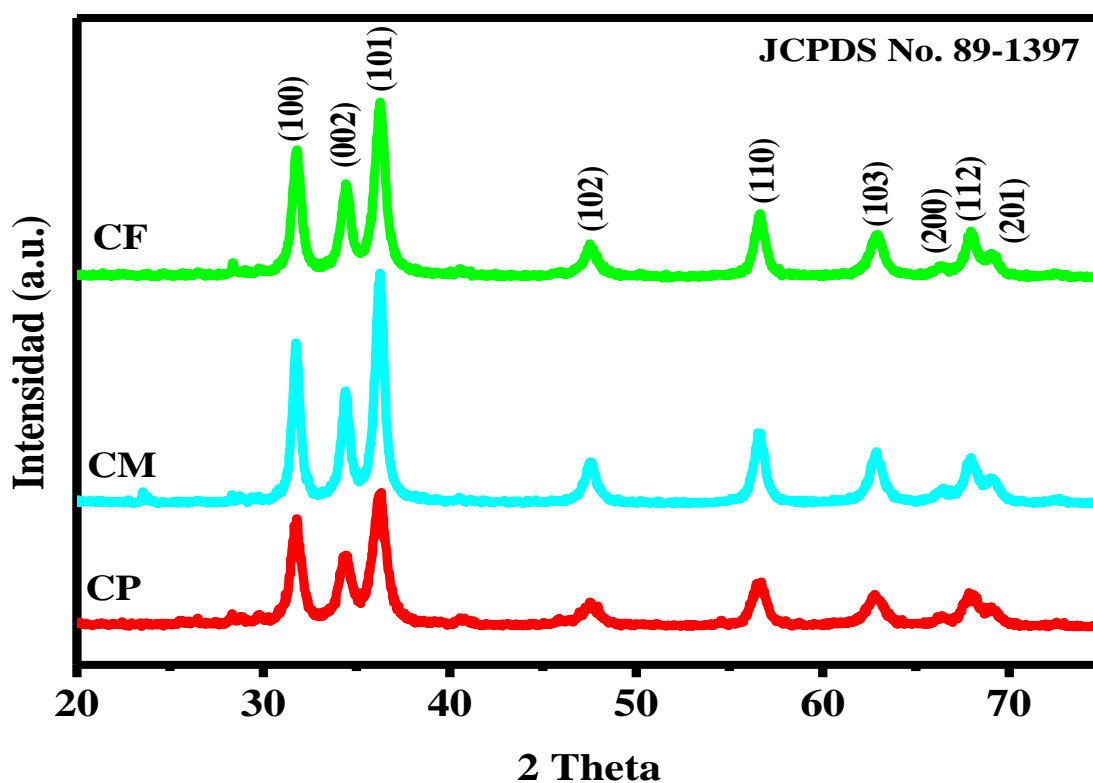


Fig. 21. Patrón de XRD de las nanopartículas sintetizadas.

Los tamaños de cristal de cada síntesis fueron obtenidos empleando la fórmula de Debye-Scherrer, que se muestra en la **Eq. (15)**.

$$\tau = \frac{\lambda * K}{\beta * \text{Cos}(\theta)} \quad (15)$$

En donde τ , es el tamaño de cristal; λ , es la longitud de onda de los rayos-X; K , es una constante adimensional con un valor de 0.9; β , es el ancho de la altura media o FWHM por sus siglas en inglés (Full Width at Half Maximum) que se obtuvo a partir del del plano (101) mostrado en el difractograma, el cual es el pico principal del ZnO y θ es el ángulo de Bragg en radianes [90]. El cálculo del tamaño de cristal se muestra en las **Eq. (16)**, **Eq. (17)** y **Eq. (18)** para CP, CM y CF, respectivamente. Los valores calculados fueron los siguientes: CP= 10.48 nm, CM=18.58 nm y CF=10.35 nm. El tamaño de cristal obtenido está directamente relacionado con el ancho de los picos, CM presenta el tamaño de cristal más grande y el menor ancho de pico analizado, mientras que CP y CF ven disminuidos el tamaño de cristal con relación al ancho de los picos obtenidos [91]. Por otro lado, el tamaño de cristal también puede ser comparado con el valor de band gap, Benramache *et al.* (2014) relacionó el tamaño de cristal con el band gap, en donde afirma que, a mayor tamaño de cristal, el band gap aumenta, esto es consistente con los resultados obtenidos en esta investigación; en donde CF presenta el menor tamaño de cristal y el menor valor de band gap; mientras que CM tiene el mayor tamaño de cristal y el mayor valor de band gap [92]. Mientras que existe una relación entre los resultados de UV-Vis y XRD, no hay una relación proporcional a la concentración de capsaicina presente en cada uno de los extractos, por lo que se puede afirmar que la capsaicina no es la única molécula que juega un papel determinante en la formación de la estructura cristalina, si no que el resto de moléculas presentes en los extractos también tienen una fuerte influencia.

$$\frac{0.1541 \text{ nm} * 0.9}{0.0138 * \text{Cos}(0.31625)} = 10.48 \text{ nm} \quad (16)$$

$$\frac{0.1541 \text{ nm} * 0.9}{0.00785 * \text{Cos}(0.31625)} = 18.58 \text{ nm} \quad (17)$$

$$\frac{0.1541 \text{ nm} * 0.9}{0.01409 * \text{Cos}(0.31625)} = 10.35 \text{ nm} \quad (18)$$

7.4. PL

En la Fig. 22 se muestra el espectro de fotoluminiscencia de las nanopartículas sintetizadas las cuales presentan una amplia emisión en el área visible del espectro electromagnético que abarca de 400 a 700 nm y una débil banda de emisión en la región UV que se encuentra entre 280 y 400 nm. Las síntesis CM y CF presentan un espectro de emisión muy similar con diferencias en la intensidad de emisión, para CM las bandas de emisión se encuentran en 428.47, 465.12 y 513.5 nm; mientras que para CF se pueden apreciar ligeras diferencias en la máxima emisión de las bandas, las cuales se encuentran en 425.96, 465.73 y 508.25 nm. Por otro lado, la síntesis CP presenta diferencias en la posición de las bandas de emisión las cuales aparecen en 437.82, 462.32 y 490.54 nm y en la intensidad de las mismas con respecto al resto de síntesis, esto indica una mayor tasa de recombinación de los pares electrón-hueco con los electrones foto inducidos [93].

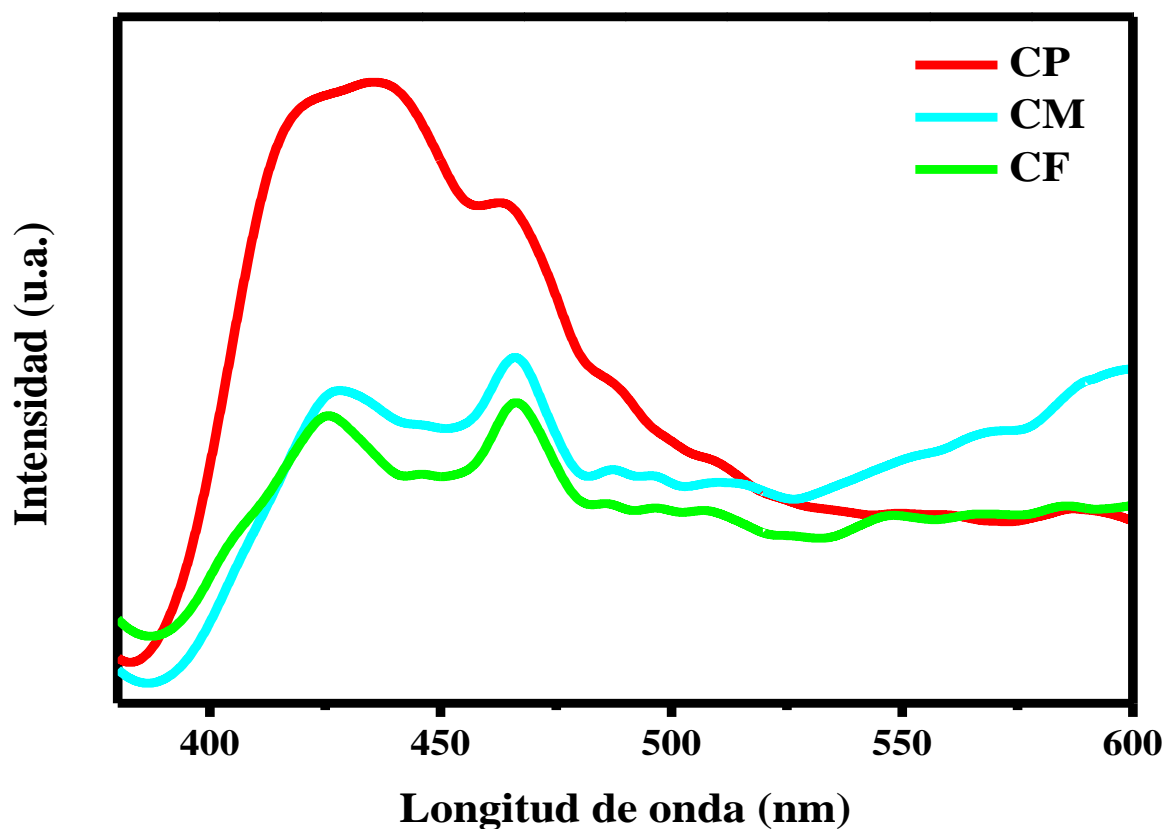


Fig. 22. Espectro de fotoluminiscencia de las nanopartículas sintetizadas.

En la Tabla 3 se muestran las bandas de emisión obtenidas de cada síntesis, a que región del espectro electromagnético pertenecen y con cual propiedad del material están relacionadas

[94]. Las emisiones en el área visible están directamente relacionadas con defectos estructurales del ZnO tales como donadores de zinc intersticiales, aceptores de oxígeno intersticiales o vacancias de oxígeno donantes; por otra parte, la débil emisión de la región UV se le atribuye a la banda de emisión cercana al borde la cual hace referencia al movimiento de un electrón desde su estado excitado de menor energía a un estado de reposo de mayor energía, es decir desde el borde inferior de la banda de conducción hasta el borde superior de la banda de valencia [95], [96].

Tabla 3. Bandas de emisión obtenidas mediante espectroscopía de fotoluminiscencia.

Bandas (nm)	Región de emisión	Relación
CP: 437.82 nm CM: 428.47 nm CF: 425.96 nm	Violeta-Azul	Defectos en la estructura del cristal de ZnO.
CP: 462.32 nm CM: 465.12 nm CF: 465.72 nm	Azul	Transiciones entre la banda de conducción y vacancias de Zn.
CP: 490.54 nm CM: 513.5 nm CF: 508.25 nm	Azul-Verde	Transiciones del oxígeno ionizado a la banda de valencia.

7.5. SEM/EDS

La Fig. 23a, c y e muestran las micrografías obtenidas mediante SEM para las síntesis CP, CM y CF, respectivamente. CP presenta una ligera aglomeración con morfologías irregulares, sin embargo, se pueden observar partículas bien definidas. Por otra parte, la síntesis CM muestra partículas bien definidas con morfología cuasi-esférica y mayor uniformidad, además de una mayor dispersión al compararse con la muestra CP. Finalmente CF presenta una alta aglomeración de las nanopartículas, la cual se caracteriza por la presencia de bultos y morfologías irregulares. Al igual que en los resultados obtenidos en la sección de UV-Vis y XRD, no hay una relación directa o lineal con la concentración de capsaicina y los resultados obtenidos; como antes se mencionó la concentración de capsaicina de los extractos son de 2,000; 5,000 y 1,000,000 para CP, CM y CF, respectivamente, de

acuerdo a la escala Scoville. Se ha reportado ampliamente el efecto que tienen algunos grupos de moléculas como flavonoides o polifenoles durante la formación de las nanopartículas para evitar la aglomeración y permitir sintetizar materiales con mayor área superficial y zonas activas [97]–[99]. Al comparar los valores de capsaicina con las imágenes obtenidas mediante SEM y al no verse disminuida la aglomeración al aumentar la concentración de capsaicina, se puede decir que no es la molécula de capsaicina la que previene la aglomeración al emplearse pimientos para sintetizar nanopartículas, sino que son otras biomoléculas constituyentes del extracto las que evitan la formación de aglomeraciones o también llamados clusters de nanopartículas de ZnO [100].

Adicionalmente se realizó un análisis elemental empleando EDS, en la Fig. 23b, d y f se muestran los espectros obtenidos para CP, CM y CF, respectivamente. Para los tres análisis se puede apreciar la presencia de cuatro elementos principales: carbono (C), oxígeno (O), potasio (K) y zinc (Zn); estos se encuentran en distintas concentraciones para cada síntesis analizada. La síntesis CP presenta la mayor presencia de C debido a los residuos de materia orgánica proveniente del extracto empleado para la síntesis. Al analizar CM se observa una disminución del C y O, mientras que K y Zn aumentan, Zn y O presentan una relación cercana a 1:1, esto indica que el extracto tiene una mayor influencia en la formación de ZnO. En la síntesis CF nuevamente hay una disminución del C, un aumento de K y Zn, mientras que el porcentaje de O se mantiene con una relación cercana a 1:1 entre Zn y O. Se destaca la disminución del C al aumentar el porcentaje de K presente en las muestras, sin embargo, la concentración de K en la composición fitoquímica de los pimientos no es un factor relacionado con la concentración de capsaicina y, su aumento no está relacionado con un aumento de la pungencia derivada de un aumento de capsaicina; el aumento de K es producto de factores de crecimiento de las plantas como el suelo donde crecieron y los fertilizantes empleados [101]–[103]. Las diferencias morfológicas, estructurales y de composición no se pueden relacionar de manera directa con la concentración de capsaicina, otras moléculas pueden tener un mayor peso en la mejora de las características del material.

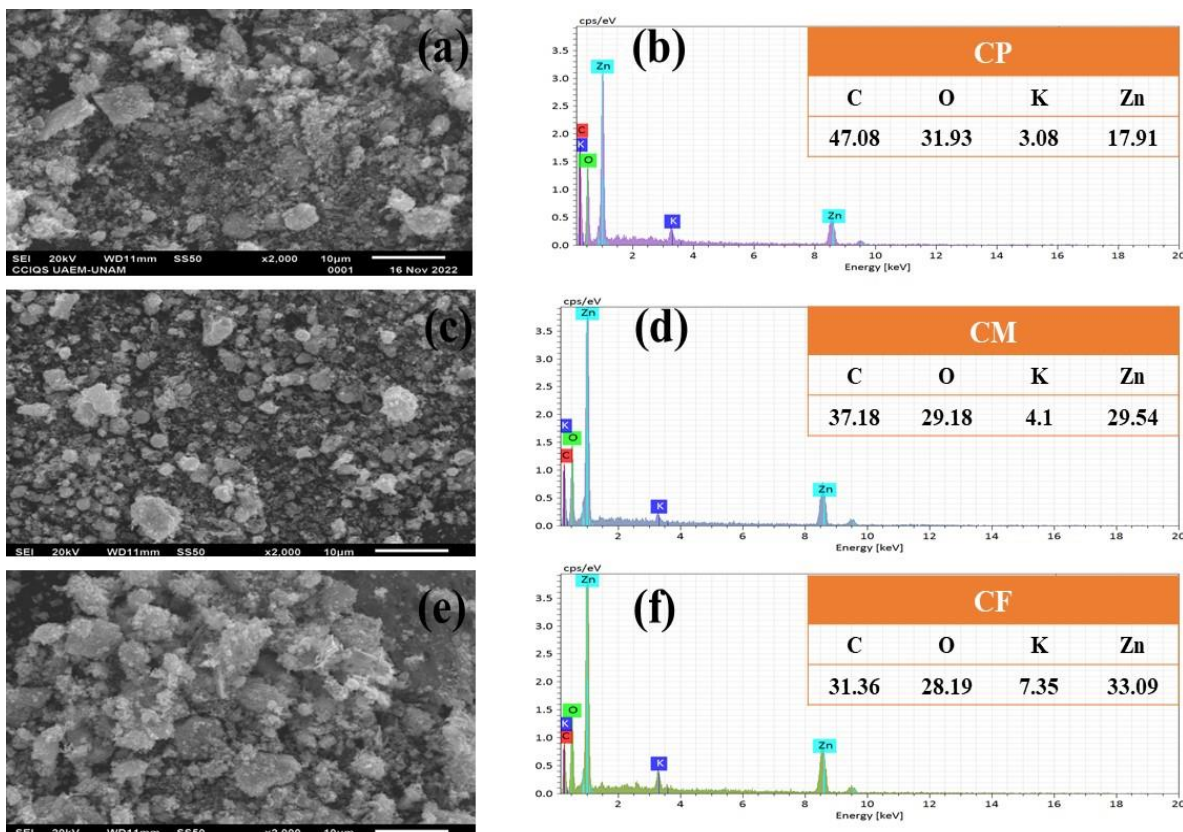


Fig. 23. Micrografías obtenidas mediante SEM y análisis EDS de las nanopartículas sintetizadas, CP (a y b), CM (c y d) y CF (e y f).

7.6. TEM

La morfología y distribución de tamaños de las nanopartículas sintetizadas fueron analizadas mediante TEM. Las micrografías e histogramas de distribución de tamaño se muestran en la Fig. 24a, b y c para las síntesis CP, CM y CF, respectivamente. La síntesis CP muestra nanopartículas con un alto nivel de aglomeración, una forma cuasi-esférica y un rango de tamaños que varía de 10-26 nm con un promedio de 18.4 nm. Por otra parte, CM presenta una ligera aglomeración y se pueden observar nanopartículas en un rango de tamaños que va de 6-26 nm con un promedio de 15.37 nm, al comparar estos resultados con los obtenidos por SEM en los que para la síntesis CM presenta una menor aglomeración y se pueden ver partículas más definidas con un menor tamaño de partícula. Por otra parte, la síntesis CF presenta zonas de aglomeración con un tamaño promedio de partícula de 15.43 nm con tamaños de 6-28 nm. Las diferencias que presenta la síntesis CM en términos de aglomeración y tamaño de partícula están directamente relacionadas con las moléculas

presentes en la composición fitoquímica de los pimientos que evitan el crecimiento de partícula y previenen la aglomeración, a comparación de CP y CF [104], [105].

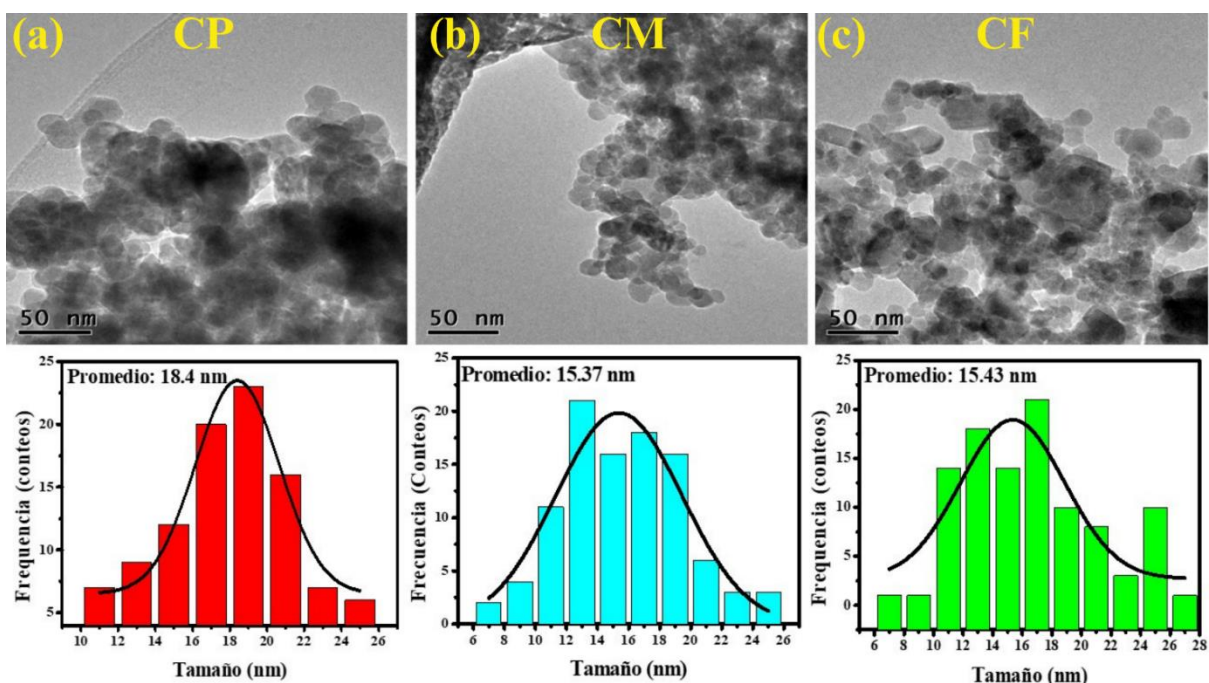


Fig. 24. Micrografías obtenidas mediante TEM e histogramas de distribución de tamaño para CP (a), CM (b) y CF (c).

Adicionalmente se realizaron análisis de HRTEM y SAED para obtener las distancias interplanares y los anillos de difracción, respectivamente, los cuales se muestran en la Fig. 25. Para las síntesis CP y CM la distancia interplanar medida fue de 0.25 nm, esta distancia corresponde al plano (101), con lo cual se confirma lo obtenido mediante XRD en los cuales el plano principal de la muestra es el (101), esto indica la naturaleza cristalina del material obtenido al predominar uno de los planos más definidos. Por otra parte, la distancia medida para CF fue de 0.29 nm la cual corresponde al plano de difracción (100) el cual es el segundo principal en el análisis XRD. El análisis por SAED permitió obtener los anillos de difracción (100), (002), (101), (102), (110), (103), (200) y (112), para todas las síntesis, demostrando la naturaleza policristalina de los materiales sintetizados y una estructura hexagonal wurtzita de las nanopartículas de ZnO. Los resultados obtenidos por SAED son consistentes con los resultados de XRD al presentar los mismos planos de difracción [106], [107].

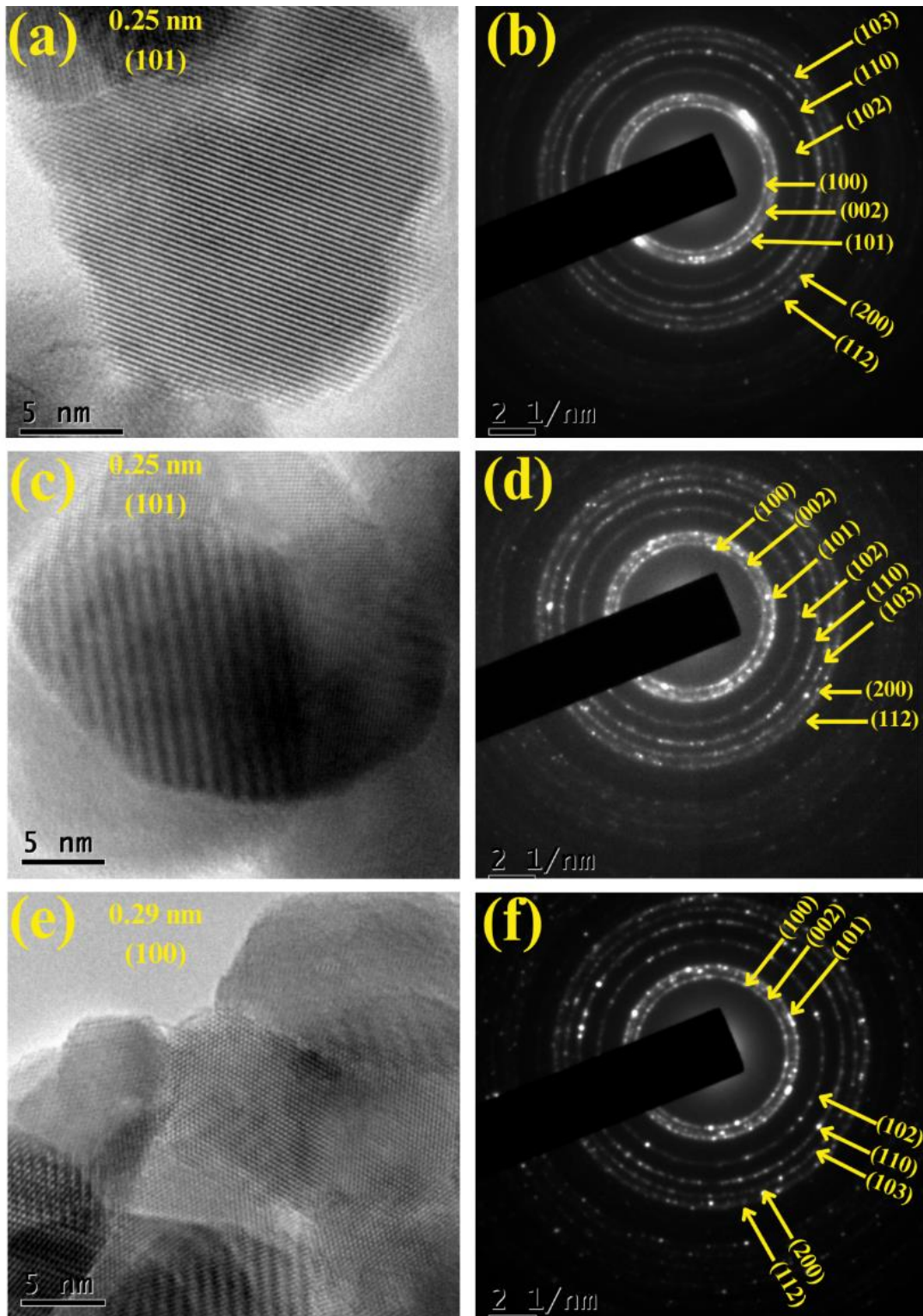


Fig. 25. HRTEM y patrones de SAED de las nanopartículas sintetizadas. (a y b) para CP, (c y d) para CM y (e y f) para CF.

7.7. Degradación fotocatalítica

En la Fig. 26 se muestran las gráficas de fotodegradación de distintos colorantes bajo luz UV y luz solar. La degradación de MB es mostrada en la Fig. 26a y b para luz UV y luz solar, respectivamente. Las tres síntesis fueron capaces de degradar MB en un 100% para luz UV, destacando a CP la cual degradó completamente el colorante en un lapso de 40 min. En el caso de la degradación de MB bajo luz solar, la degradación por parte de la síntesis CP se ve mejorada al degradar el colorante al 100% en un lapso de 30 min. Todas las síntesis fueron capaces de degradar MB en su totalidad bajo ambas fuentes de energía.

Siguiendo la misma metodología, se realizó la fotodegradación de RB bajo las mismas condiciones como se muestra en la Fig. 26c y d para luz UV y solar, respectivamente. Para la degradación en luz UV se observa un comportamiento similar para CP y CM logrando alcanzar ambas un 93% de degradación tal y como se muestra en la Tabla 4, mientras que CF fue capaz de degradar RB al 100% en un periodo de 150 min. Por otra parte, la degradación de RB bajo luz solar logró un 97, 96 y 84% de degradación para CP, CM y CF, respectivamente, comparado con los resultados obtenidos en la degradación de MB, demostró una mayor actividad bajo luz UV para la CF.

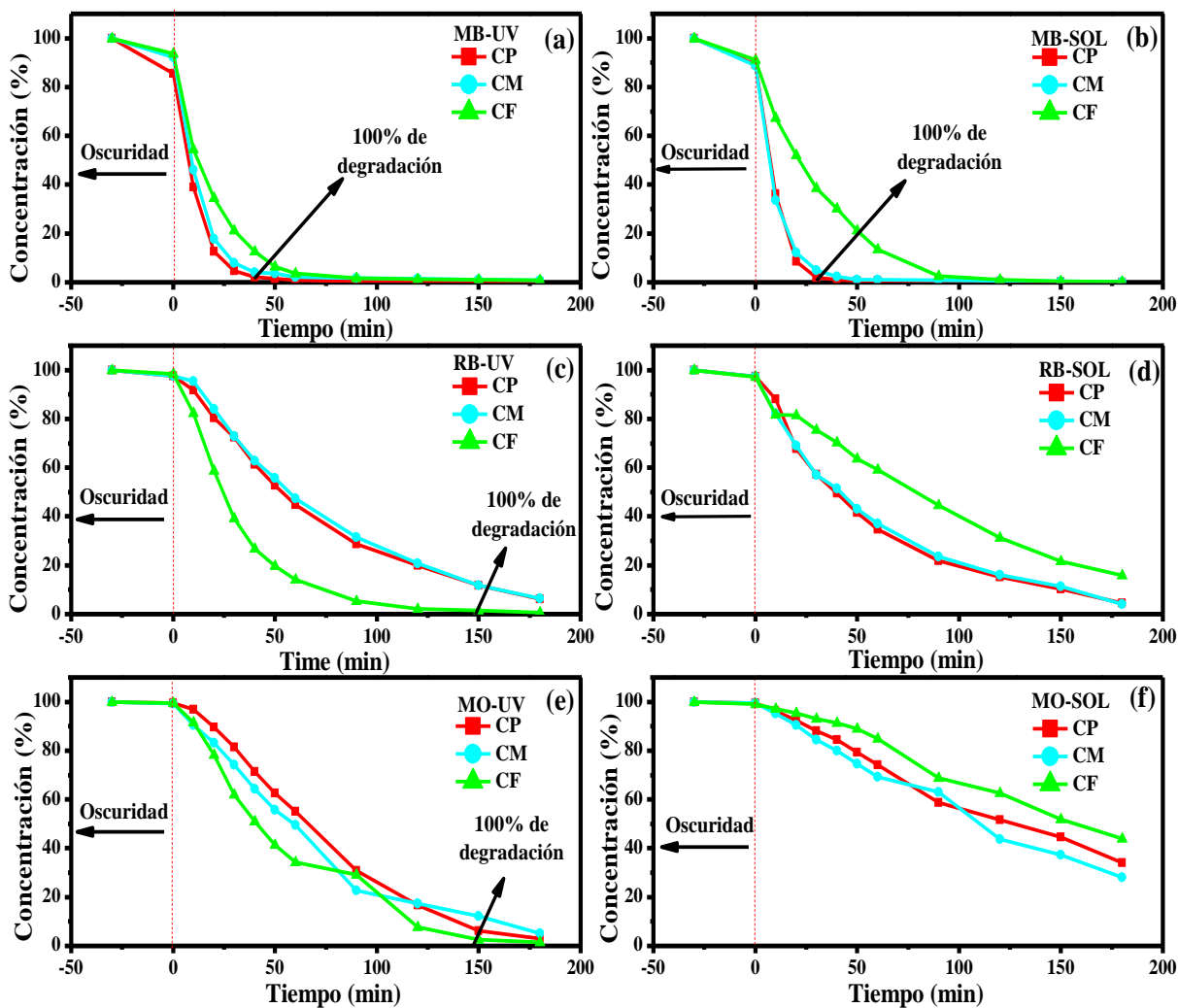


Fig. 26. Degradación fotocatalítica empleando nanopartículas de ZnO. MB bajo luz UV (a) y bajo luz solar (b). RB bajo luz UV (c) y bajo luz solar (d). MO bajo luz UV (e) y bajo luz solar (f).

Finalmente, se realizó la degradación de MO bajo las mismas condiciones que los dos colorantes anteriores. Se obtuvo una degradación mayor del 94% para las tres síntesis en presencia de luz UV, para el caso específico de CF el colorante fue eliminado por completo en un periodo de 150 min, resultado similar al de la degradación de RB. En contraste, la degradación solar de MO fue baja para las tres síntesis, siendo CM la más alta al degradar un 71% del colorante en un lapso de 180 min. Se destaca que todas las síntesis lograron degradar

más de un 93% en todos los ensayos bajo luz UV. La mayor degradación se dio como RB y MB, esto se debe a que las nanopartículas tienen una mayor afinidad a estos debido a su carga catiónica, a diferencia del MO el cual cuenta con una carga aniónica [108].

Tabla 4. Valores de degradación bajo luz UV y solar.

Síntesis	MB		RB		MO	
	UV	Solar	UV	Solar	UV	Solar
	CP	100%	100%	93%	97%	96%
CM	100%	100%	93%	96%	94%	71%
CF	100%	100%	100%	84%	100%	55%

7.7.1. Mecanismo de degradación

En la Fig. 27 se propone un mecanismo general propuesto por Weldegebrerial (2020), en el cual se explica el proceso de fotodegradación de colorantes utilizando nanopartículas de ZnO como fotocatalizador en presencia de luz UV o solar como fuente de energía en forma de fotones [109]. Cuando las nanopartículas entran en contacto con los fotones y es suministrada energía igual o superior a la energía de band gap ($h\nu$), los electrones presentes en la BV entran en un estado de excitación y son promovidos a la BC, generando un par electrón-hueco ($e^-_{BC} + h^+_{BV}$) **Eq. (19)** [110]. Los electrones que se encuentran ahora en la BC reaccionan con el oxígeno disuelto en el medio acuoso, reduciéndolo para formar un anión superóxido (O_2^-), el cual es una especie transitoria, altamente reactiva y oxidante, **Eq. (20)**. Por otra parte, los huecos generados en la BV oxidan a las moléculas de agua (H_2O) generando radicales hidroxilo (OH^\cdot), al igual que el anión superóxido es una especie altamente reactiva y oxidante **Eq. (21)**. Cuando los radicales O_2^- y OH^\cdot entran en contacto con el colorante, comenzaran una serie de reacciones redox por las cuales se llevará a cabo la degradación del contaminante, dando como resultado la formación de H_2O , CO_2 y algunos subproductos **Eq. (22)** [111]–[113].



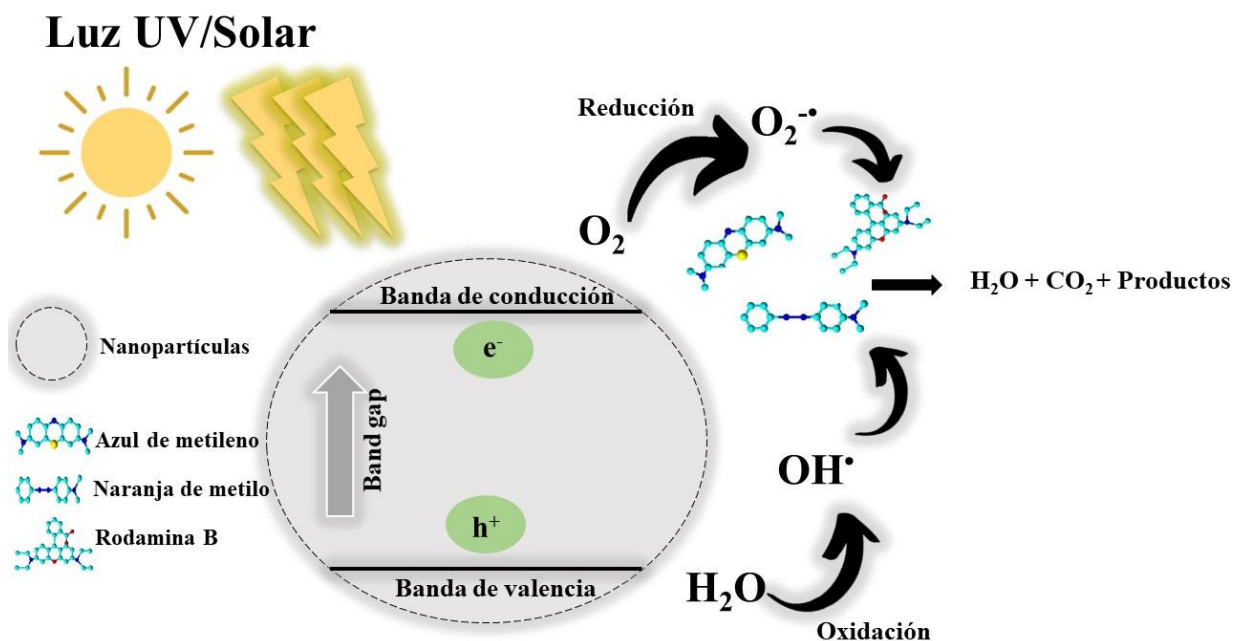


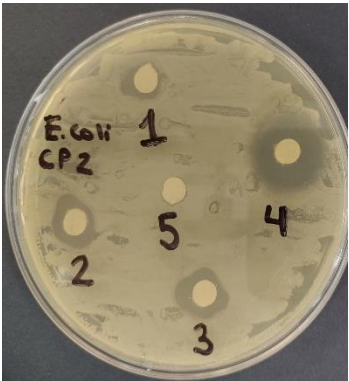
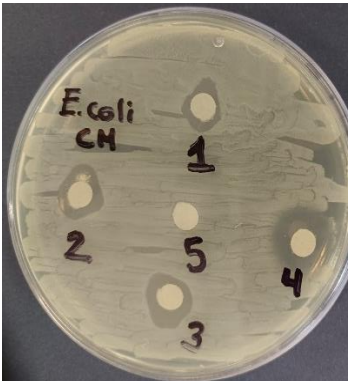

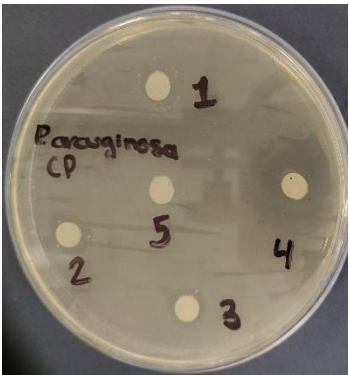

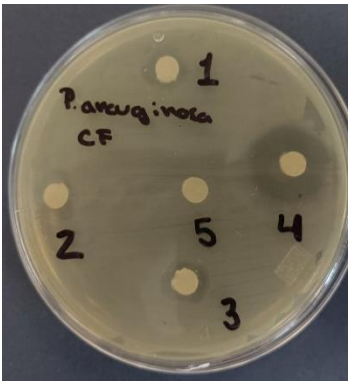
Fig. 27. Esquema representativo del mecanismo general para la foto degradación de colorantes orgánicos empleando nanopartículas semiconductoras de ZnO.

7.8. Actividad antibacteriana

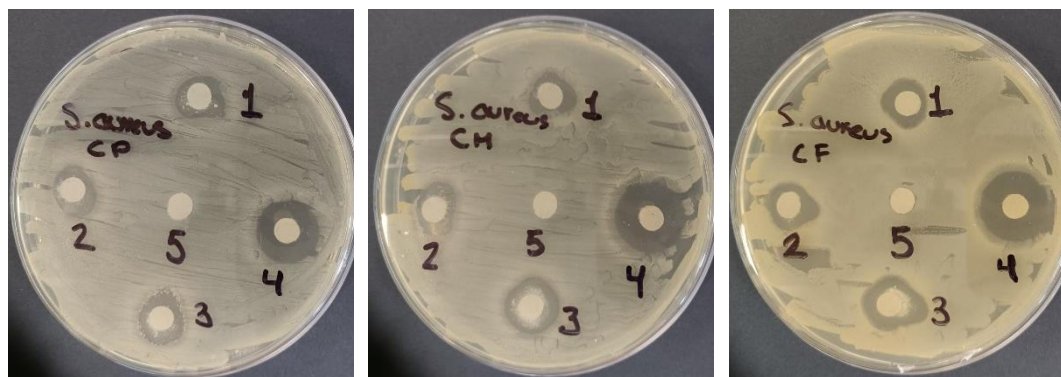
Se realizaron ensayos para evaluar la actividad antibacteriana empleando las nanopartículas de ZnO sintetizadas, con el objetivo de encontrar alternativas que sean capaces de inhibir el crecimiento bacteriano ante la creciente crisis sanitaria que supone el aumento de bacterias resistentes a antibióticos. Se muestran las fotografías representativas de los ensayos antibacterianos a distintas concentraciones empleando el método de difusión de disco en la Tabla 5 [114]. Las fotografías demuestran que todas las nanopartículas presentaron actividad antibacteriana en las tres concentraciones evaluadas, sin importar el pimiento que se empleó para su síntesis. Los resultados evidencian un comportamiento dependiente de la concentración, es decir conforme se aumenta la concentración, mayor es la inhibición del crecimiento bacteriano. Todas las cepas bacterianas presentaron sensibilidad al control

positivo (antibiótico) y no hubo inhibición sobre el control negativo (agua estéril). Los halos de inhibición de las nanopartículas no presentan una forma definida, se observó que las nanopartículas tienden a aglomerarse con facilidad por lo que las zonas donde se depositó la mayor cantidad de material es donde la inhibición es mayor, lo que contrasta con el antibiótico (que corresponde al número 4 en las fotografías) donde la inhibición se da de manera completa alrededor de los discos de sensibilidad.

Tabla 5. Imágenes representativas de los ensayos antibacterianos realizados con nanopartículas de ZnO.

Bacteria/ síntesis	CP	CM	CF
<i>E. coli</i>			
<i>P. aeruginosa</i>			

S. aureus



B. subtilis



En las fotografías los números debajo de cada zona de inhibición representan la concentración analizada: 1000 (1), 2000 (2) y 4000 (3) µg/mL de nanopartículas de ZnO; control positivo (4) y control negativo (5).

En la Tabla 6 se reportan los diámetros de las zonas de inhibición en milímetros (mm) después de 24 h de incubación con las nanopartículas. Analizando los resultados obtenidos para *E. coli* se presenta un resultado similar a 1,000 µg/mL para CP y CF, mientras que la inhibición es mayor para CM; para la concentración de 2,000 µg/mL la síntesis CP presenta la mayor inhibición siendo de 14.18 ± 0.58 mm, estos valores son similares a los obtenidos a una concentración de 4,000 µg/mL, en donde las tres síntesis presentaron una zona de inhibición cercana a 14 mm. La misma tendencia se observa para *P. aeruginosa*, en donde, se obtuvieron valores similares para 1,000 y 2,000 µg/mL que en los ensayos para *E. coli*, estas similitudes podrían atribuirse a que ambos microorganismos son de naturaleza Gram-negativa; sin embargo, a 4,000 µg/mL se presenta la menor inhibición de crecimiento de todas las bacterias, siendo solo CF capaz de igualar la inhibición obtenida en *E. coli*; además *P. aeruginosa* presentó la mayor sensibilidad al antibiótico y la menor a nanopartículas.

Las bacterias Gram-positivas (*S. aureus* y *B. subtilis*) presentan fuertes diferencias a comparación con los ensayos realizados en bacterias Gram-negativas. *S. aureus* presenta una

mayor inhibición a 1000 µg/mL en comparación de ambas Gram-negativas, siendo con zonas de inhibición de 13.56±0.77 (la menor) y 13.98±0.26 mm para CP y CF, respectivamente; como antes se mencionó la inhibición es dependiente de la concentración, a 4,000 µg/mL se observa la máxima inhibición para esta bacteria, siendo de 16.32±0.16 mm, la cual corresponde a la síntesis CM [115]. La bacteria más sensible a las nanopartículas fue *B. subtilis*, a 1,000 µg/mL presentó un área de inhibición de 17.83±0.47 mm la cual resulta ser superior inclusive que la mayor inhibición de cualquiera de las otras bacteria analizadas, de igual manera se observa una dependencia a la concentración, por lo tanto, la mayor inhibición (22.29±1.56 mm) se presentó a la concentración de 4,000 µg/mL con la síntesis CF. Todos los ensayos en donde se evaluaron las concentraciones más altas de nanopartículas (4,000 µg/mL) presentaron una mayor inhibición que el antibiótico para *B. subtilis*. Esto demuestra que las nanopartículas de ZnO tienen el potencial de ser empleadas en aplicaciones biomédicas. A partir de los resultados se puede afirmar que el factor determinante en los ensayos antimicrobianos es la concentración empleada.

Tabla 6. Zonas de inhibición en mm de las nanopartículas sintetizadas usando el método de difusión de disco. Los datos se presentan en promedio ±DE.

<i>E. coli</i>				
	1,000 µg/mL	2,000 µg/mL	4,000 µg/mL	Antibiótico
CP	11.18±1.19	14.18±0.58	14.71±0.82	
CM	12.91±1.22	13.97±0.51	14.05±0.62	17.93±0.70
CF	11.80±0.93	12.43±0.60	14.50±1.20	
<i>P. aeruginosa</i>				
	1,000 µg/mL	2,000 µg/mL	4,000 µg/mL	Antibiótico
CP	11.84±1.09	12.06±0.70	12.48±0.98	
CM	11.40±1.48	11.44±2.04	12.65±1.166	22.08±0.44
CF	12.63±1.39	13.36±0.72	14.58±0.42	
<i>S. aureus</i>				
	1,000 µg/mL	2,000 µg/mL	4,000 µg/mL	Antibiótico
CP	13.56±0.77	14.38±0.78	14.61±1.63	
CM	13.71±0.86	15.41±1.3	16.32±0.16	19.43±0.5
CF	13.98±0.26	14.54±0.49	15.08±0.31	
<i>B. subtilis</i>				
	1,000 µg/mL	2,000 µg/mL	4,000 µg/mL	Antibiótico
CP	18.89±0.84	21.33±0.52	20.78±0.35	
CM	17.83±0.47	18.7±1.06	21.36±1.24	19.08±0.72
CF	20.21±0.44	19.91±1.95	22.29±1.56	

7.9. Mecanismos antimicrobianos

Las nanopartículas de ZnO han recibido una atención especial por parte de la comunidad científica, debido a su potencial antibacteriano, si bien los mecanismos por los cuales las nanopartículas son capaces de inhibir el crecimiento bacteriano aún no se han comprendido del todo, se han hecho estudios y propuesto los principales mecanismos de acción, los cuales son ejemplificados en la Fig. 28.

Uno de los mecanismos propuestos es la inducción de estrés oxidativo mediante la generación de ROS, este mecanismo es considerado como el principal mecanismo antibacteriano que presentan las nanopartículas. Las nanopartículas tienen la capacidad de generar ROS principalmente peróxido de hidrógeno (H_2O_2), superóxidos (O_2^-) y radicales hidroxilo (OH^\cdot); la generación de ROS se ve aumentada al estar expuesta a una fuente de luz bajo el mismo procedimiento mencionado en la sección de fotocatalisis [116]. Las ROS son formadas de forma natural durante el metabolismo aeróbico en el proceso de respiración mitocondrial o por coenzimas como NADPH, debido a que el oxígeno es un aceptor de electrones en la cadena de transporte de electrones y las células poseen mecanismos de eliminación de ROS; como las enzimas superóxido dismutasa, catalasa, glutatión reductasa, entre otras, sin embargo, un exceso de ROS dentro de las células puede llevar a daños que pueden ser irreversibles [117]. Los radicales hidroxilo y los aniones superóxidos no pueden traspasar la membrana debido a su carga negativa, sin embargo, si pueden dañarla por fuera y generar una alteración de la misma, por otra parte, el peróxido de hidrógeno si puede pasar a través de la membrana celular y al estar dentro de ella tiene la capacidad de dañar proteínas, realizar una peroxidación de ácidos grasos o inclusive el daños en el ADN, impidiendo a los componentes celulares llevar a cabo sus funciones normales [118]. Las membranas celulares son susceptibles al daño por parte de las ROS por la presencia de ácidos grasos insaturados generando una lipoperoxidación alterando la estructura de la membrana y comprometiendo su estructura, lo que permite al resto de ROS entrar a la bacteria, generando interacciones oxidativas que terminan en muerte celular [119]–[121].

Las nanopartículas pueden entrar en contacto con las bacterias por medio de fuerzas de Vander-Waals, receptor-ligando o interacciones electroestáticas [122]. Al entrar en contacto

con las células, las nanopartículas tendrán distintos efectos sobre ellas, como cambios en la permeabilidad de la membrana permitiendo el paso de las nanopartículas y de moléculas que inicialmente no podrían transitar libremente como el radical hidroxilo o el anión superóxido, y en consecuencia aumentando el estrés oxidativo. Además de los daños generados por el estrés oxidativo, las nanopartículas pueden interactuar y afectar inactivando enzimas al unirse a ellas, dañando el ADN e inhibiendo la producción de proteínas incluyendo las que conforman la pared celular [123]. Las nanopartículas de ZnO tienen la capacidad de liberar iones (Zn^{2+}), los cuales pueden afectar a las bacterias al causar modificaciones en los sistemas enzimáticos o interactuando con los grupos funcionales de las proteínas y ácidos nucleicos [124]. Las bacterias forman comunidades encapsuladas por una sustancia polimérica extracelular compuesta principalmente por polisacáridos que se adhiere a las superficies llamadas biopelículas o también conocidos como biofilms. Al encontrarse en estas comunidades, las bacterias se ven protegidas ante factores ambientales y sustancias tóxicas como los antibióticos, además de promover la transferencia de genes asociados con la resistencia a fármacos [125]. Las nanopartículas de ZnO resultan tóxicas para los biofilms mediante los mecanismos ya mencionados como la liberación de iones, estrés oxidativo o la degradación de polisacáridos de la matriz que protege a las bacterias [126]–[128].

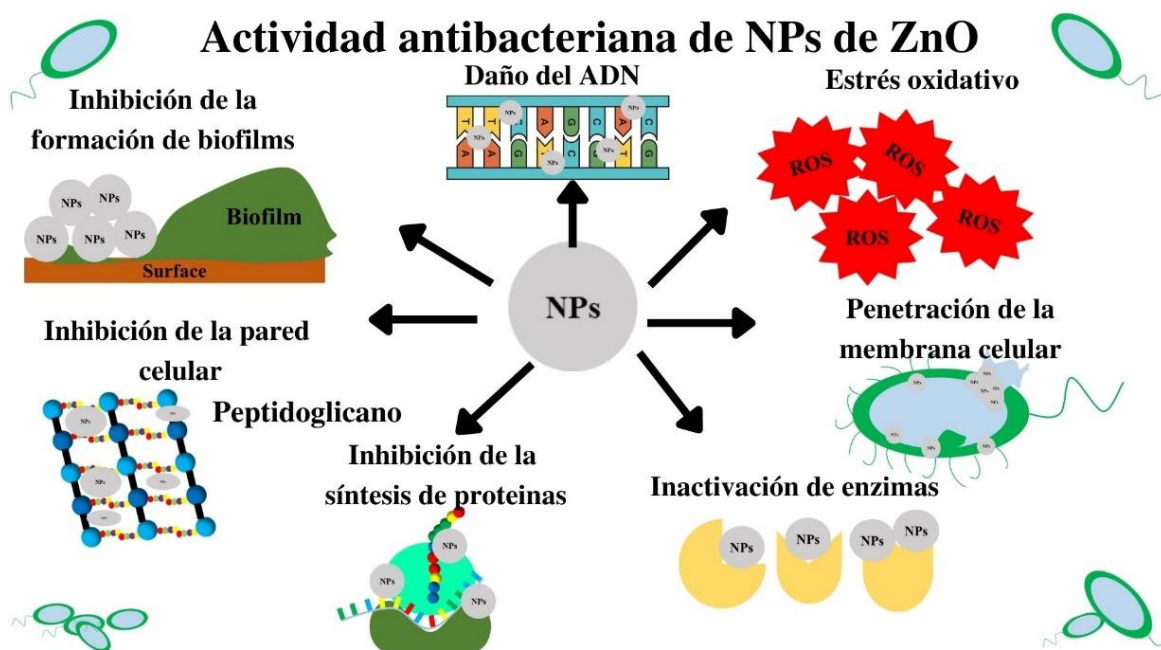


Fig. 28. Esquema representativo de los mecanismos antimicrobianos de las nanopartículas (NPs) de ZnO.

7.10. Actividad metabólica

Un ensayo MTT mide la actividad metabólica celular mediante un análisis colorimétrico, permitiendo asociar este parámetro para medir el efecto de un estímulo sobre la actividad metabólica de las células. Este ensayo se basa en la reducción de una sal de tetrazolio (bromuro de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio) o mejor conocida como MTT que tiene un color amarillo. La sal es reducida a formazan dentro de las mitocondrias de las células viables que tienen enzimas oxidoreductasas dependientes de la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH), el proceso de reducción de la sal a formazan se muestra en la Fig. 29. Los cristales que se forman durante la reducción de la sal de tetrazolio son insolubles en agua y al disolverlo en un solvente orgánico cambia de color a morado, su absorbancia se puede medir en el rango de 500-600 nm, la intensidad de la absorbancia está directamente relacionada la actividad metabólica de las células viables, una disminución de la densidad óptica podría relacionarse con muerte celular [129]. Sin embargo, para constatar eso se necesitaría complementar con técnicas de estudio que midan directamente la muerte celular. Las deshidrogenasas son un grupo de enzimas que juegan un papel muy importante la respiración como parte del ciclo de Krebs o en la oxidación de productos orgánicos como alcohol o lactato. Estas enzimas oxidan un sustrato específico a través de la transferencia de hidrógeno y a un aceptor de electrones, algunos de los aceptores pueden ser nicotinamida adenina dinucleótida (NAD^+ o NADH), nicotinamida adenina dinucleótida fosfato (NAD^+ o NADPH), citocromos o flavina adenina dinucleótido (FAD) [130].

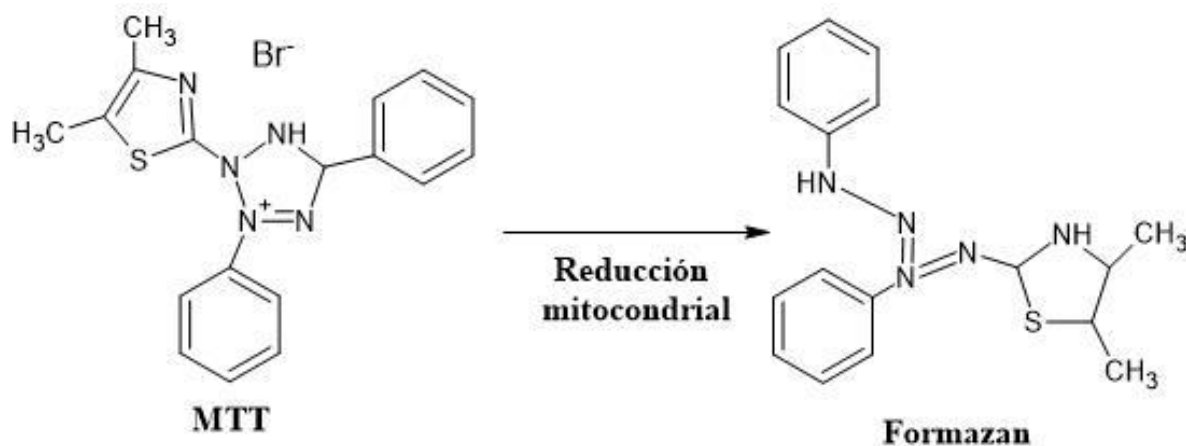


Fig. 29. Reducción de MTT a formazan catalizado por NADPH.

En la Fig. 30 se muestran la manera en cómo se realizaron los ensayos MTT en donde:

- A1-A3; B1; C1 y D1: Control con medio RPMI sin rojo fenol ni SFB.
- B2-B6: Ensayos estimulados con nanopartículas CP.
- C2-C6: Ensayos estimulados con nanopartículas CM.
- D2-D6: Ensayos estimulados con nanopartículas CF.

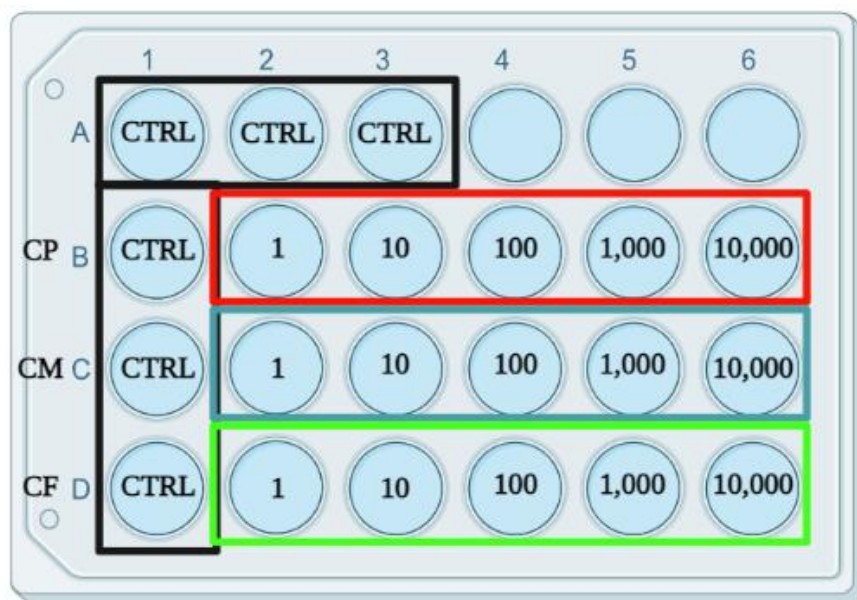


Fig. 30. Esquema del acomodo de pozos en ensayos MTT empleando nanopartículas de ZnO.

Los resultados obtenidos en el ensayo MTT realizado se muestran en la Fig. 31. Los estímulos realizados con nanopartículas fueron comparados contra un control sin estímulo que se considera como el 100% de la actividad metabólica normal de las células evaluadas. Los resultados muestran una disminución de la actividad metabólica, similar al estimular las células a una concentración de $1\mu\text{g/mL}$, con valores de 45.27%, 51.4% y 50.72% para CP, CM y CF, respectivamente. Se observa que mientras se aumenta la concentración, la actividad metabólica disminuye para 10, 100 y $1,000\mu\text{g/mL}$ en todas las síntesis. La disminución en el porcentaje de actividad metabólica podría atribuirse a la posible debido a la citotoxicidad generada por las nanopartícula. En contraste, se observa un comportamiento opuesto a la tendencia de las concentraciones anteriores, al estimular las células con una

concentración de 10,000 $\mu\text{g/mL}$ de nanopartículas de ZnO, ahora la actividad metabólica aumenta a 75%, 42.32% y 50.72% para CP, CM y CF, respectivamente. El análisis de actividad metabólica se realizó por duplicado por lo que no se puede concluir de manera contundente si existe un comportamiento toxico por parte de las nanopartículas a las células, sin embargo, los resultados si permiten tener una idea del posible comportamiento de estas células ante un estímulo de los materiales sintetizados. Se recomienda repetir los ensayos MTT y complementarlo con un análisis “live and dead” que permita aterrizar los resultados y establecer si las nanopartículas sintetizadas provocan la muerte de las células y/o si aceleran este proceso.

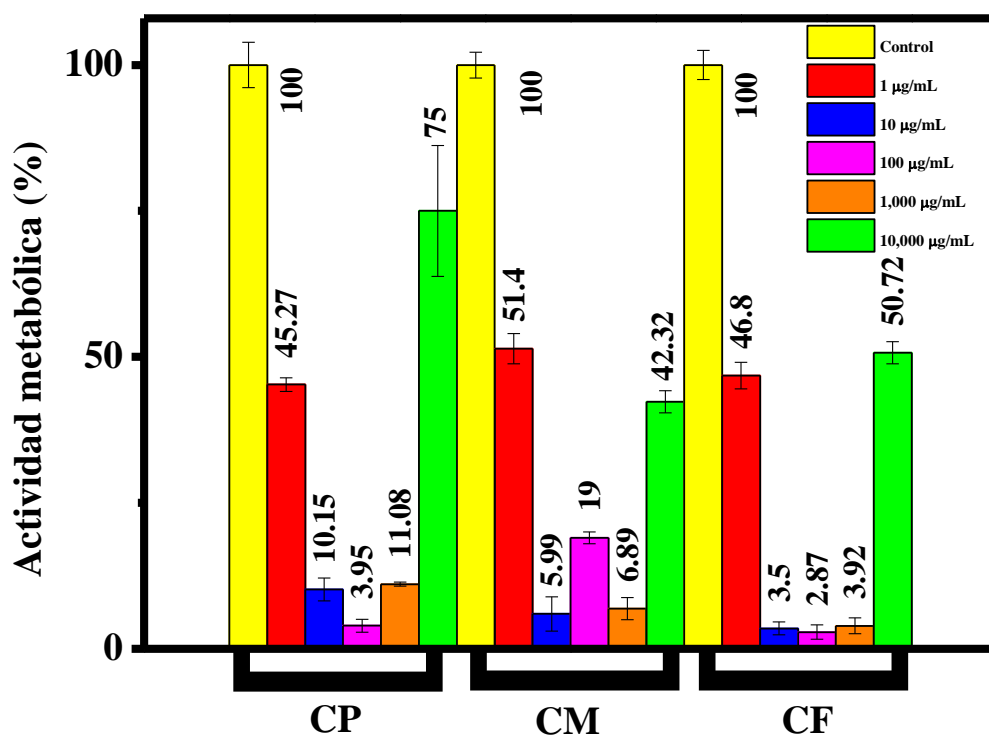


Fig. 31. Actividad metabólica de células RAW 264.7 estimuladas con nanopartículas de ZnO a distintas concentraciones analizadas mediante un ensayo MTT.

8. Conclusiones

Se sintetizaron de manera correcta nanopartículas semiconductoras de ZnO empleando pimiento poblano, morita y fantasma que cuentan con una concentración distinta de capsaicina basada en la escala Scoville. La energía de band gap fue determinada por UV-Vis, los valores obtenidos fueron de 3.59, 3.62 y 3.49 para CP, CM y CF, respectivamente, estos valores impactan de manera directa en el proceso de fotocatalisis, entre menor sea el band gap, menor será la energía necesaria para la generación de ROS. La formación del enlace ZnO fue confirmado mediante FTIR en donde aparece una banda en $\sim 620 \text{ cm}^{-1}$, demostrando la unión del enlace Zn-O. Las tres síntesis presentaron una forma hexagonal wurtzita y la ausencia de otras fases, analizadas mediante XRD y SAED. La presencia de Zn y O fue confirmada mediante SEM/EDS. La escala nanométrica de las partículas fue confirmada mediante TEM.

Los resultados de las caracterizaciones mostraron no haber una relación directa entre la concentración de capsaicina y las propiedades físicas, químicas y ópticas de los materiales sintetizados al no presentar una variación proporcional al emplear extractos con una mayor concentración de capsaicina.

Las nanopartículas semiconductoras de ZnO mostraron una prominente actividad fotocatalítica en la degradación de colorantes orgánicos especialmente contra MB al ser capaces de degradar de manera completa bajo luz UV y luz solar. Adicionalmente, todas las nanopartículas fueron capaces de eliminar más de un 93% de MB, RB y MO bajo luz UV. Las nanopartículas obtenidas son una opción competente para complementar los procesos de tratamiento de aguas residuales existentes que no son capaces de eliminar de manera completa todos los contaminantes.

Las pruebas antibacterianas demostraron inhibición de crecimiento por parte de todas las nanopartículas contra *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* y *B. subtilis*. Siendo *B. subtilis* la bacteria con mayor sensibilidad a las nanopartículas de ZnO, obteniendo la mayor inhibición de crecimiento en todas las concentraciones analizadas. Estos resultados demuestran que las nanopartículas de ZnO obtenidas usando extractos de diversas variedades de pimientos tienen potencial para ser empleadas en aplicaciones biomédicas.

Trabajo futuro

- Realizar cromatografía de alta presión (HPLC, por sus siglas en inglés) para conocer la composición fitoquímica completa de los extractos de los pimientos empleados durante la síntesis, su concentración real de capsaicinoides y de esta manera poder relacionar de mejor manera la influencia de la capsaicina durante el proceso de síntesis de nanopartículas de ZnO.
- Variar la concentración de extracto empleado durante la síntesis y analizar el efecto sobre las propiedades de las nanopartículas sintetizadas.
- Realizar ensayo “live and dead” complementario a los análisis MTT con la finalidad de relacionar la actividad metabólica con la citotoxicidad de los materiales.

9. Referencias

- [1] E. Gurgur, S. S. Oluyamo, A. O. Adetuyi, O. I. Omotunde, and A. E. Okoronkwo, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles and zinc oxide–silver, zinc oxide–copper nanocomposites using *Bridelia ferruginea* as biotemplate,” *SN Appl Sci*, vol. 2, no. 5, May 2020, doi: 10.1007/s42452-020-2269-3.
- [2] J. Wojnarowicz, T. Chudoba, and W. Lojkowski, “A review of microwave synthesis of zinc oxide nanomaterials: Reactants, process parameters and morphologies,” *Nanomaterials*, vol. 10, no. 6. MDPI AG, Jun. 01, 2020. doi: 10.3390/nano10061086.
- [3] C. Manjunatha, S. Ashoka, and R. Hari Krishna, “Chapter 1 - Microwave-assisted green synthesis of inorganic nanomaterials,” in *Green Sustainable Process for Chemical and Environmental Engineering and Science*, Inamuddin, R. Boddula, M. I. Ahamed, and A. M. Asiri, Eds., Elsevier, 2021, pp. 1–39. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821887-7.00011-2>.
- [4] C. B. Ong, L. Y. Ng, and A. W. Mohammad, “A review of ZnO nanoparticles as solar photocatalysts: Synthesis, mechanisms and applications,” *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, vol. 81. Elsevier Ltd, pp. 536–551, 2018. doi: 10.1016/j.rser.2017.08.020.
- [5] S. Gunalan, R. Sivaraj, and V. Rajendran, “Green synthesized ZnO nanoparticles against bacterial and fungal pathogens,” *Progress in Natural Science: Materials International*, vol. 22, no. 6, pp. 693–700, 2012, doi: 10.1016/j.pnsc.2012.11.015.
- [6] N. Gavrilova, V. Dyakonov, M. Myachina, V. Nazarov, and V. Skudin, “Synthesis of Mo₂C by thermal decomposition of molybdenum blue nanoparticles,” *Nanomaterials*, vol. 10, no. 10, pp. 1–18, Oct. 2020, doi: 10.3390/nano10102053.
- [7] A. C. de J. Oliveira *et al.*, “Solvent-free production of phthalated cashew gum for green synthesis of antimicrobial silver nanoparticles,” *Carbohydr Polym*, vol. 213, pp. 176–183, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.carbpol.2019.02.033.
- [8] M. Anwar Ismail, M. N. Hedhili, D. H. Anjum, V. Singaravelu, S. Ho Chung, and A. Zielínska-Jurek, “Synthesis and Characterization of Iron-Doped TiO₂ Nanoparticles Using Ferrocene from Flame Spray Pyrolysis,” 2021, doi: 10.3390/catal12050496.
- [9] I. Fernández-Barahona, M. Muñoz-Hernando, and F. Herranz, “Microwave-driven synthesis of iron-oxide nanoparticles for molecular imaging,” *Molecules*, vol. 24, no. 7. MDPI AG, Mar. 28, 2019. doi: 10.3390/molecules24071224.
- [10] I. Ullah *et al.*, “Green-Synthesized Silver Nanoparticles Induced Apoptotic Cell Death in MCF-7 Breast Cancer Cells by Generating Reactive Oxygen Species and Activating Caspase 3 and 9 Enzyme Activities,” *Oxid Med Cell Longev*, vol. 2020, 2020, doi: 10.1155/2020/1215395.

- [11] H. Zhang, S. Chen, X. Jia, Y. Huang, R. Ji, and L. Zhao, "Comparison of the phytotoxicity between chemically and green synthesized silver nanoparticles," *Science of the Total Environment*, vol. 752, Jan. 2021, doi: 10.1016/j.scitotenv.2020.142264.
- [12] A. Singh *et al.*, "Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review," *Biotechnology Reports*, vol. 25, Mar. 2020, doi: 10.1016/j.btre.2020.e00427.
- [13] N. Swilam and K. A. Nematallah, "Polyphenols profile of pomegranate leaves and their role in green synthesis of silver nanoparticles," *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-71847-5.
- [14] A. Hameed *et al.*, "The Beneficial Effect of Cinnamon and Red Capsicum Intake on Postprandial Changes in Plasma Metabolites Evoked by a High-Carbohydrate Meal in Men with Overweight/Obesity," *Nutrients*, vol. 14, no. 20, 2022, doi: 10.3390/nu14204305.
- [15] N. Baenas, M. Belović, N. Ilic, D. A. Moreno, and C. García-Viguera, "Industrial use of pepper (*Capsicum annum* L.) derived products: Technological benefits and biological advantages," *Food Chem*, vol. 274, no. September 2018, pp. 872–885, 2019, doi: 10.1016/j.foodchem.2018.09.047.
- [16] N. de Sá Mendes and É. C. Branco de Andrade Gonçalves, "The role of bioactive components found in peppers," *Trends in Food Science and Technology*, vol. 99, Elsevier Ltd, pp. 229–243, May 01, 2020. doi: 10.1016/j.tifs.2020.02.032.
- [17] T. P. Patil, A. A. Vibhute, S. L. Patil, T. D. Dongale, and A. P. Tiwari, "Green synthesis of gold nanoparticles via *Capsicum annum* fruit extract: Characterization, antiangiogenic, antioxidant and anti-inflammatory activities," *Applied Surface Science Advances*, vol. 13, Feb. 2023, doi: 10.1016/j.apsadv.2023.100372.
- [18] V. Arora, J. N. Campbell, and M. K. Chung, "Fight fire with fire: Neurobiology of capsaicin-induced analgesia for chronic pain," *Pharmacology and Therapeutics*, vol. 220, Elsevier Inc., Apr. 01, 2021. doi: 10.1016/j.pharmthera.2020.107743.
- [19] I. Novak Jovanović, L. Čížmek, and Š. Komorsky-Lovrić, "Electrochemistry-based determination of pungency level of hot peppers using the voltammetry of microparticles," *Electrochim Acta*, vol. 208, pp. 273–281, Aug. 2016, doi: 10.1016/j.electacta.2016.04.066.
- [20] R. Sharma, "Chapter 1 - Basics concepts of device physics," in *Nanoelectronics: Physics, Materials and Devices*, A. Sarkar, C. K. Sarkar, A. Deyasi, D. De, and A. Benfdila, Eds., Elsevier, 2023, pp. 1–10. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-91832-9.00018-X>.
- [21] Z. Moradi, S. Z. Jahromi, and M. Ghaedi, "Chapter 9 - Design of active photocatalysts and visible light photocatalysis," in *Interface Science and Technology*, M. Ghaedi,

- Ed., Elsevier, 2021, pp. 557–623. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818806-4.00012-7>.
- [22] N. Kolobov, M. G. Goesten, and J. Gascon, “Metal–Organic Frameworks: Molecules or Semiconductors in Photocatalysis?,” *Angewandte Chemie - International Edition*, vol. 60, no. 50. John Wiley and Sons Inc, pp. 26038–26052, Dec. 06, 2021. doi: [10.1002/anie.202106342](https://doi.org/10.1002/anie.202106342).
- [23] W. Zhang, D. Wang, and W. Zheng, “A semiconductor-electrochemistry model for design of high-rate Li ion battery,” *Journal of Energy Chemistry*, vol. 41. Elsevier B.V., pp. 100–106, Feb. 01, 2020. doi: [10.1016/j.jechem.2019.04.018](https://doi.org/10.1016/j.jechem.2019.04.018).
- [24] Q. Ou *et al.*, “Band structure engineering in metal halide perovskite nanostructures for optoelectronic applications,” *Nano Materials Science*, vol. 1, no. 4, pp. 268–287, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.nanoms.2019.10.004>.
- [25] D. K. Sharma, S. Shukla, K. K. Sharma, and V. Kumar, “A review on ZnO: Fundamental properties and applications,” in *Materials Today: Proceedings*, Elsevier Ltd, 2020, pp. 3028–3035. doi: [10.1016/j.matpr.2020.10.238](https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.10.238).
- [26] M. N. Mehathaj, N. Padmanathan, and E. Sivasenthil, “Doping catalysed unintentional hydrogenation effect on the structural, optical and magnetic properties of Co-doped ZnO semiconductor nanoparticles,” *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, vol. 33, no. 14, pp. 11523–11541, May 2022, doi: [10.1007/s10854-022-08126-8](https://doi.org/10.1007/s10854-022-08126-8).
- [27] C. De Caro and H. Claudia, *UV/VIS Spectrophotometry - Fundamentals and Applications*. 2015.
- [28] H. Förster, “UV/VIS Spectroscopy,” in *Characterization I*, H. G. Karge and J. Weitkamp, Eds., Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2004, pp. 337–426. doi: [10.1007/b94239](https://doi.org/10.1007/b94239).
- [29] J. Liu, Z. Zhang, L. Yang, Y. Fan, and Y. Liu, “Molecular structure and spectral characteristics of hyperoside and analysis of its molecular imprinting adsorption properties based on density functional theory,” *J Mol Graph Model*, vol. 88, pp. 228–236, May 2019, doi: [10.1016/j.jmgm.2019.01.005](https://doi.org/10.1016/j.jmgm.2019.01.005).
- [30] B. Sathya and M. Prasath, “Spectroscopic (FT-IR, FT-Raman, UV–Vis), quantum chemical calculation and molecular docking evaluation of liquiritigenin: an influenza A (H1N1) neuraminidase inhibitor,” *Research on Chemical Intermediates*, vol. 45, no. 4, pp. 2135–2166, Apr. 2019, doi: [10.1007/s11164-018-03727-7](https://doi.org/10.1007/s11164-018-03727-7).
- [31] M. S. H. Akash and K. Rehman, “Ultraviolet-Visible (UV-VIS) Spectroscopy,” in *Essentials of Pharmaceutical Analysis*, M. S. H. Akash and K. Rehman, Eds., Singapore: Springer Nature Singapore, 2020, pp. 29–56. doi: [10.1007/978-981-15-1547-7_3](https://doi.org/10.1007/978-981-15-1547-7_3).

- [32] H.-G. Kuball, T. Höfer, and S. Kiewewalter, “Chiroptical Spectroscopy, General Theory☆,” in *Encyclopedia of Spectroscopy and Spectrometry (Third Edition)*, J. C. Lindon, G. E. Tranter, and D. W. Koppenaal, Eds., Oxford: Academic Press, 2017, pp. 217–231. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409547-2.04980-5>.
- [33] D. Peak, “Fourier Transform Infrared Spectroscopic Methods of Soil Analysis☆,” in *Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences*, Elsevier, 2013. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-409548-9.05170-8>.
- [34] S. A. Khan, S. B. Khan, L. U. Khan, A. Farooq, K. Akhtar, and A. M. Asiri, “Fourier transform infrared spectroscopy: Fundamentals and application in functional groups and nanomaterials characterization,” in *Handbook of Materials Characterization*, Springer International Publishing, 2018, pp. 317–344. doi: 10.1007/978-3-319-92955-2_9.
- [35] E. Mendes and N. Duarte, “Mid-infrared spectroscopy as a valuable tool to tackle food analysis: A literature review on coffee, dairies, honey, olive oil and wine,” *Foods*, vol. 10, no. 2, pp. 1–32, Feb. 2021, doi: 10.3390/foods10020477.
- [36] A. Fadlelmoula, D. Pinho, V. H. Carvalho, S. O. Catarino, and G. Minas, “Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy to Analyse Human Blood over the Last 20 Years: A Review towards Lab-on-a-Chip Devices,” *Micromachines*, vol. 13, no. 2. MDPI, Feb. 01, 2022. doi: 10.3390/mi13020187.
- [37] A. Ali, Y. W. Chiang, and R. M. Santos, “X-Ray Diffraction Techniques for Mineral Characterization: A Review for Engineers of the Fundamentals, Applications, and Research Directions,” *Minerals*, vol. 12, no. 2, Feb. 2022, doi: 10.3390/min12020205.
- [38] S. Seibt and T. Ryan, “Microfluidics for Time-Resolved Small-Angle X-Ray Scattering,” 2020. doi: 10.5772/intechopen.95059.
- [39] A. A. Bunaciu, E. gabriela Udriștioiu, and H. Y. Aboul-Enein, “X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications,” *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, vol. 45, no. 4. Taylor and Francis Ltd., pp. 289–299, Oct. 02, 2015. doi: 10.1080/10408347.2014.949616.
- [40] R. Krishna, P. K. Yadaw, V. Dubey, and N. Kumar Swamy, “2 - Instrumentation techniques for radiation dosimetry by using luminescence spectroscopy techniques,” in *Rare-Earth-Activated Phosphors*, V. Dubey, N. Dubey, M. M. Domańska, M. Jayasimhadri, and S. J. Dhoble, Eds., Elsevier, 2022, pp. 43–67. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-89856-0.00014-6>.
- [41] Y. Povrozin and B. Barbieri, “FLUORESCENCE SPECTROSCOPY,” in *Handbook of Measurement in Science and Engineering*, 2016, pp. 2475–2498. doi: <https://doi.org/10.1002/9781119244752.ch68>.

- [42] M. F. S. Khan, M. Akbar, J. Wu, and Z. Xu, “A review on fluorescence spectroscopic analysis of water and wastewater,” *Methods Appl Fluoresc*, vol. 10, no. 1, p. 012001, 2022, doi: 10.1088/2050-6120/ac3d79.
- [43] T. Baranowski, T. Dreier, C. Schulz, and T. Endres, “Excitation wavelength dependence of the fluorescence lifetime of anisole,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 21, no. 27, pp. 14562–14570, 2019, doi: 10.1039/C9CP01472A.
- [44] G. Rizzo, D. Blasi, R. Ragni, and G. M. Farinola, “Chapter Five - New insights in luminescent fluorinated transition metal compounds,” in *Advances in Organometallic Chemistry*, P. J. Pérez, Ed., Academic Press, 2022, pp. 189–231. doi: <https://doi.org/10.1016/bs.adomc.2022.05.001>.
- [45] G. Feng, G.-Q. Zhang, and D. Ding, “Design of superior phototheranostic agents guided by Jablonski diagrams,” *Chem Soc Rev*, vol. 49, no. 22, pp. 8179–8234, 2020, doi: 10.1039/D0CS00671H.
- [46] M. Omid *et al.*, “7 - Characterization of biomaterials,” in *Biomaterials for Oral and Dental Tissue Engineering*, L. Tayebi and K. Moharamzadeh, Eds., Woodhead Publishing, 2017, pp. 97–115. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100961-1.00007-4>.
- [47] N. Aisyah *et al.*, “Scanning electron microscope (SEM) imaging and analysis of magnetic minerals of lake Diatas peatland section DD REP B 693,” *J Phys Conf Ser*, vol. 1481, no. 1, p. 012025, 2020, doi: 10.1088/1742-6596/1481/1/012025.
- [48] N. Raval, R. Maheshwari, D. Kalyane, S. R. Youngren-Ortiz, M. B. Chougule, and R. K. Tekade, “Chapter 10 - Importance of Physicochemical Characterization of Nanoparticles in Pharmaceutical Product Development,” in *Basic Fundamentals of Drug Delivery*, R. K. Tekade, Ed., Academic Press, 2019, pp. 369–400. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-817909-3.00010-8>.
- [49] R. S. Edwin, M. Mushtofa, E. Gruyaert, and N. De Belie, “Quantitative analysis on porosity of reactive powder concrete based on automated analysis of back-scattered-electron images,” *Cem Concr Compos*, vol. 96, pp. 1–10, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.cemconcomp.2018.10.019>.
- [50] K. Sarabandi, P. Gharehbeiglou, and S. M. Jafari, “Chapter Three - Scanning electron microscopy (SEM) of nanoencapsulated food ingredients,” in *Characterization of Nanoencapsulated Food Ingredients*, S. M. Jafari, Ed., Academic Press, 2020, pp. 83–130. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-815667-4.00003-1>.
- [51] L. E. Franken, K. Grünewald, E. J. Boekema, and M. C. A. Stuart, “A Technical Introduction to Transmission Electron Microscopy for Soft-Matter: Imaging, Possibilities, Choices, and Technical Developments,” *Small*, vol. 16, no. 14, p. 1906198, Apr. 2020, doi: <https://doi.org/10.1002/smll.201906198>.

- [52] D. W. Grainger and D. G. Castner, “3.1 Surface Analysis and Biointerfaces: Vacuum and Ambient In Situ Techniques☆,” in *Comprehensive Biomaterials II*, P. Ducheyne, Ed., Oxford: Elsevier, 2017, pp. 1–24. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-803581-8.10215-2>.
- [53] R. Groarke, R. K. Vijayaraghavan, D. Powell, A. Rennie, and D. Brabazon, “18 - Powder characterization—methods, standards, and state of the art,” in *Fundamentals of Laser Powder Bed Fusion of Metals*, I. Yadroitsev, I. Yadroitsava, A. du Plessis, and E. MacDonald, Eds., Elsevier, 2021, pp. 491–527. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-824090-8.00006-8>.
- [54] N. T. T. Nguyen, T. T. T. Nguyen, D. T. C. Nguyen, and T. Van Tran, “Green synthesis of ZnFe₂O₄ nanoparticles using plant extracts and their applications: A review,” *Science of the Total Environment*, vol. 872. Elsevier B.V., May 10, 2023. doi: [10.1016/j.scitotenv.2023.162212](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.162212).
- [55] A. Ivanković, “Review of 12 Principles of Green Chemistry in Practice,” *International Journal of Sustainable and Green Energy*, vol. 6, no. 3, p. 39, 2017, doi: [10.11648/j.ijrse.20170603.12](https://doi.org/10.11648/j.ijrse.20170603.12).
- [56] A. M. El Shafey, “Green synthesis of metal and metal oxide nanoparticles from plant leaf extracts and their applications: A review,” *Green Processing and Synthesis*, vol. 9, no. 1. De Gruyter Open Ltd, pp. 304–339, Jan. 01, 2020. doi: [10.1515/gps-2020-0031](https://doi.org/10.1515/gps-2020-0031).
- [57] M. Shah, D. Fawcett, S. Sharma, S. K. Tripathy, and G. E. J. Poinern, “Green synthesis of metallic nanoparticles via biological entities,” *Materials*, vol. 8, no. 11. MDPI AG, pp. 7278–7308, 2015. doi: [10.3390/ma8115377](https://doi.org/10.3390/ma8115377).
- [58] M. Aslam, A. Z. Abdullah, and M. Rafatullah, “Recent development in the green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using plant-based biomolecules for environmental and antimicrobial applications,” *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, vol. 98. Korean Society of Industrial Engineering Chemistry, pp. 1–16, Jun. 25, 2021. doi: [10.1016/j.jiec.2021.04.010](https://doi.org/10.1016/j.jiec.2021.04.010).
- [59] M. Carofiglio, S. Barui, V. Cauda, and M. Laurenti, “Doped zinc oxide nanoparticles: Synthesis, characterization and potential use in nanomedicine,” *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 10, no. 15. MDPI AG, Aug. 01, 2020. doi: [10.3390/app10155194](https://doi.org/10.3390/app10155194).
- [60] M. Bandeira *et al.*, “Mechanism of formation, characterization and cytotoxicity of green synthesized zinc oxide nanoparticles obtained from Ilex paraguariensis leaves extract,” *Nano-Structures and Nano-Objects*, vol. 24, Oct. 2020, doi: [10.1016/j.nanoso.2020.100532](https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2020.100532).
- [61] V. V. Gawade, N. L. Gavade, H. M. Shinde, S. B. Babar, A. N. Kadam, and K. M. Garadkar, “Green synthesis of ZnO nanoparticles by using Calotropis procera leaves for the photodegradation of methyl orange,” *Journal of Materials Science: Materials*

in *Electronics*, vol. 28, no. 18, pp. 14033–14039, Sep. 2017, doi: 10.1007/s10854-017-7254-2.

- [62] T. Hernández-Pérez, M. del R. Gómez-García, M. E. Valverde, and O. Paredes-López, “Capsicum annuum (hot pepper): An ancient Latin-American crop with outstanding bioactive compounds and nutraceutical potential. A review,” *Compr Rev Food Sci Food Saf*, vol. 19, no. 6, pp. 2972–2993, Nov. 2020, doi: 10.1111/1541-4337.12634.
- [63] A. S. Antonio, L. S. M. Wiedemann, and V. F. Veiga Junior, “The genus: Capsicum: a phytochemical review of bioactive secondary metabolites,” *RSC Advances*, vol. 8, no. 45. Royal Society of Chemistry, pp. 25767–25784, 2018. doi: 10.1039/c8ra02067a.
- [64] M. G. Villa-Rivera and N. Ochoa-Alejo, “Chili pepper carotenoids: Nutraceutical properties and mechanisms of action,” *Molecules*, vol. 25, no. 23. MDPI AG, Dec. 01, 2020. doi: 10.3390/molecules25235573.
- [65] F. Yang and J. Zheng, “Understand spiciness: mechanism of TRPV1 channel activation by capsaicin,” *Protein and Cell*, vol. 8, no. 3. Higher Education Press, pp. 169–177, Mar. 01, 2017. doi: 10.1007/s13238-016-0353-7.
- [66] C. Scheau *et al.*, “Capsaicin: Effects on the pathogenesis of hepatocellular carcinoma,” *Molecules*, vol. 24, no. 13. MDPI AG, 2019. doi: 10.3390/molecules24132350.
- [67] H. Sadiq *et al.*, “Green synthesis of ZnO nanoparticles from Syzygium Cumini leaves extract with robust photocatalysis applications,” *J Mol Liq*, vol. 335, 2021, doi: 10.1016/j.molliq.2021.116567.
- [68] S. Rajendrachari, P. Taslimi, A. C. Karaoglanli, O. Uzun, E. Alp, and G. K. Jayaprakash, “Photocatalytic degradation of Rhodamine B (RhB) dye in waste water and enzymatic inhibition study using cauliflower shaped ZnO nanoparticles synthesized by a novel One-pot green synthesis method,” *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 14, no. 6, Jun. 2021, doi: 10.1016/j.arabjc.2021.103180.
- [69] K. Rambabu, G. Bharath, F. Banat, and P. L. Show, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Phoenix dactylifera waste as bioreductant for effective dye degradation and antibacterial performance in wastewater treatment,” *J Hazard Mater*, vol. 402, no. April 2020, p. 123560, 2021, doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123560.
- [70] E. D. Mohamed Isa, K. Shameli, H. J. Ch’ng, N. W. Che Jusoh, and R. Hazan, “Photocatalytic degradation of selected pharmaceuticals using green fabricated zinc oxide nanoparticles,” *Advanced Powder Technology*, vol. 32, no. 7, pp. 2398–2409, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.apt.2021.05.021.
- [71] T. U. Doan Thi, T. T. Nguyen, Y. D. Thi, K. H. Ta Thi, B. T. Phan, and K. N. Pham, “Green synthesis of ZnO nanoparticles using orange fruit peel extract for antibacterial activities,” *RSC Adv*, vol. 10, no. 40, pp. 23899–23907, 2020, doi: 10.1039/d0ra04926c.

- [72] A. M. Pillai *et al.*, “Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles with antibacterial and antifungal activity,” *J Mol Struct*, vol. 1211, p. 128107, 2020, doi: 10.1016/j.molstruc.2020.128107.
- [73] T. Gur, I. Meydan, H. Seckin, M. Bekmezci, and F. Sen, “Green synthesis, characterization and bioactivity of biogenic zinc oxide nanoparticles,” *Environ Res*, vol. 204, Mar. 2022, doi: 10.1016/j.envres.2021.111897.
- [74] Y. A. Selim, M. A. Azb, I. Ragab, and M. H. M. Abd El-Azim, “Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Aqueous Extract of *Deverra tortuosa* and their Cytotoxic Activities,” *Sci Rep*, vol. 10, no. 1, Dec. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-60541-1.
- [75] A. Jayachandran, A. T.R., and A. S. Nair, “Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using *Cayratia pedata* leaf extract,” *Biochem Biophys Rep*, vol. 26, Jul. 2021, doi: 10.1016/j.bbrep.2021.100995.
- [76] M. Akbarian, S. Mahjoub, S. M. Elahi, E. Zabihi, and H. Tashakkorian, “Green synthesis, formulation and biological evaluation of a novel ZnO nanocarrier loaded with paclitaxel as drug delivery system on MCF-7 cell line,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 186, Feb. 2020, doi: 10.1016/j.colsurfb.2019.110686.
- [77] N. A. A. Yusof, N. M. Zain, and N. Pauzi, “Synthesis of ZnO nanoparticles with chitosan as stabilizing agent and their antibacterial properties against Gram-positive and Gram-negative bacteria,” *Int J Biol Macromol*, vol. 124, pp. 1132–1136, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.11.228.
- [78] G. Sharmila, M. Thirumarimurugan, and C. Muthukumaran, “Green synthesis of ZnO nanoparticles using *Tecoma castanifolia* leaf extract: Characterization and evaluation of its antioxidant, bactericidal and anticancer activities,” *Microchemical Journal*, vol. 145, pp. 578–587, Mar. 2019, doi: 10.1016/j.microc.2018.11.022.
- [79] P. Makuła, M. Pacia, and W. Macyk, “How To Correctly Determine the Band Gap Energy of Modified Semiconductor Photocatalysts Based on UV-Vis Spectra,” *Journal of Physical Chemistry Letters*, vol. 9, no. 23, pp. 6814–6817, 2018, doi: 10.1021/acs.jpcllett.8b02892.
- [80] A. Villegas-Fuentes, H. E. Garrafa-Gálvez, R. V. Quevedo-Robles, M. Luque-Morales, A. R. Vilchis-Nestor, and P. A. Luque, “Synthesis of semiconductor ZnO nanoparticles using *Citrus microcarpa* extract and the influence of concentration on their optical properties,” *J Mol Struct*, vol. 1281, Jun. 2023, doi: 10.1016/j.molstruc.2023.135067.
- [81] P. Shunmuga Sundaram, S. Stephen Rajkumar Inbanathan, and G. Arivazhagan, “Structural and optical properties of Mn doped ZnO nanoparticles prepared by co-precipitation method,” *Physica B Condens Matter*, vol. 574, Dec. 2019, doi: 10.1016/j.physb.2019.411668.

- [82] Y. C. Liu *et al.*, “Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles by one-pot green synthesis using fruit extract of *Amomum longiligulare* and its activity as a photocatalyst,” *Optik (Stuttg)*, vol. 218, Sep. 2020, doi: 10.1016/j.ijleo.2020.165245.
- [83] U. L. Ifeanyichukwu, O. E. Fayemi, and C. N. Ateba, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles from pomegranate (*punica granatum*) extracts and characterization of their antibacterial activity,” *Molecules*, vol. 25, no. 19, Oct. 2020, doi: 10.3390/molecules25194521.
- [84] L. Chen *et al.*, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles from root extract of *Scutellaria baicalensis* and its photocatalytic degradation activity using methylene blue,” *Optik (Stuttg)*, vol. 184, pp. 324–329, May 2019, doi: 10.1016/j.ijleo.2019.03.051.
- [85] M. D. Jayappa *et al.*, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles from the leaf, stem and in vitro grown callus of *Mussaenda frondosa* L.: characterization and their applications,” *Applied Nanoscience (Switzerland)*, vol. 10, no. 8, pp. 3057–3074, 2020, doi: 10.1007/s13204-020-01382-2.
- [86] J. Lu *et al.*, “Photocatalytic degradation of methylene blue using biosynthesized zinc oxide nanoparticles from bark extract of *Kalopanax septemlobus*,” *Optik (Stuttg)*, vol. 182, pp. 980–985, 2019, doi: <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2018.12.016>.
- [87] S. Vijayakumar, S. Mahadevan, P. Arulmozhi, S. Sriram, and P. K. Praseetha, “Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Atalantia monophylla* leaf extracts: Characterization and antimicrobial analysis,” *Mater Sci Semicond Process*, vol. 82, no. November 2017, pp. 39–45, 2018, doi: 10.1016/j.mssp.2018.03.017.
- [88] A. K. Chauhan, N. Kataria, and V. K. Garg, “Green fabrication of ZnO nanoparticles using *Eucalyptus* spp. leaves extract and their application in wastewater remediation,” *Chemosphere*, vol. 247, May 2020, doi: 10.1016/j.chemosphere.2019.125803.
- [89] K. Velsankar, S. Sudhahar, G. Parvathy, and R. Kaliasammal, “Effect of cytotoxicity and antibacterial activity of biosynthesis of ZnO hexagonal shaped nanoparticles by *Echinochloa frumentacea* grains extract as a reducing agent,” *Mater Chem Phys*, vol. 239, Jan. 2020, doi: 10.1016/j.matchemphys.2019.121976.
- [90] S. Mustapha *et al.*, “Comparative study of crystallite size using Williamson-Hall and Debye-Scherrer plots for ZnO nanoparticles,” *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, vol. 10, no. 4, 2019, doi: 10.1088/2043-6254/ab52f7.
- [91] M. Kaushik *et al.*, “Investigations on the antimicrobial activity and wound healing potential of ZnO nanoparticles,” *Appl Surf Sci*, vol. 479, pp. 1169–1177, Jun. 2019, doi: 10.1016/j.apsusc.2019.02.189.

- [92] S. Benramache, O. Belahssen, A. Guettaf, and A. Arif, "Correlation between crystallite size-optical gap energy and precursor molarities of ZnO thin films," *Journal of Semiconductors*, vol. 35, no. 4, 2014, doi: 10.1088/1674-4926/35/4/042001.
- [93] N. Xuan Sang, N. Minh Quan, N. Huu Tho, N. Tri Tuan, and T. Thanh Tung, "Mechanism of enhanced photocatalytic activity of Cr-doped ZnO nanoparticles revealed by photoluminescence emission and electron spin resonance," *Semicond Sci Technol*, vol. 34, no. 2, 2019, doi: 10.1088/1361-6641/aaf820.
- [94] P. Ramesh, K. Saravanan, P. Manogar, J. Johnson, E. Vinoth, and M. Mayakannan, "Green synthesis and characterization of biocompatible zinc oxide nanoparticles and evaluation of its antibacterial potential," *Sens Biosensing Res*, vol. 31, no. November 2020, p. 100399, 2021, doi: 10.1016/j.sbsr.2021.100399.
- [95] T. S. Aldeen, H. E. Ahmed Mohamed, and M. Maaza, "ZnO nanoparticles prepared via a green synthesis approach: Physical properties, photocatalytic and antibacterial activity," *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 160, no. February 2021, p. 110313, 2022, doi: 10.1016/j.jpcs.2021.110313.
- [96] Udayabhanu *et al.*, "Vitis labruska skin extract assisted green synthesis of ZnO super structures for multifunctional applications," *Ceram Int*, vol. 43, no. 15, pp. 11656–11667, Oct. 2017, doi: 10.1016/j.ceramint.2017.05.351.
- [97] Y. Iqbal *et al.*, "Green synthesis of ZnO and Ag-doped ZnO nanoparticles using Azadirachta indica leaves: Characterization and their potential antibacterial, antidiabetic, and wound-healing activities," *Mater Lett*, vol. 305, Dec. 2021, doi: 10.1016/j.matlet.2021.130671.
- [98] R. Shashanka, H. Esgin, V. M. Yilmaz, and Y. Caglar, "Fabrication and characterization of green synthesized ZnO nanoparticle based dye-sensitized solar cells," *Journal of Science: Advanced Materials and Devices*, vol. 5, no. 2, pp. 185–191, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.jsamd.2020.04.005.
- [99] N. Pauzi, N. M. Zain, and N. A. A. Yusof, "Gum arabic as natural stabilizing agent in green synthesis of ZnO nanofluids for antibacterial application," *J Environ Chem Eng*, vol. 8, no. 3, Jun. 2020, doi: 10.1016/j.jece.2019.103331.
- [100] S. Fakhari, M. Jamzad, and H. Kabiri Fard, "Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: a comparison," *Green Chem Lett Rev*, vol. 12, no. 1, pp. 19–24, 2019, doi: 10.1080/17518253.2018.1547925.
- [101] F. Medina-Lara, I. Echevarría-Machado, R. Pacheco-Arjona, N. Ruiz-Lau, A. Guzmán-Antonio, and M. Martínez-Estevéz, "Influence of Nitrogen and Potassium Fertilization on Fruiting and Capsaicin Content in Habanero Pepper (*Capsicum chinense* Jacq.)," *HortScience horts*, vol. 43, no. 5, pp. 1549–1554, 2008, doi: 10.21273/HORTSCI.43.5.1549.

- [102] V. G. Uarrota, M. Maraschin, Â. de F. M. de Bairoos, and R. Pedreschi, “Factors affecting the capsaicinoid profile of hot peppers and biological activity of their non-pungent analogs (Capsinoids) present in sweet peppers,” *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, vol. 61, no. 4. Bellwether Publishing, Ltd., pp. 649–665, 2021. doi: 10.1080/10408398.2020.1743642.
- [103] C. D. Johnson and D. R. Decoteau, “Nitrogen and Potassium Fertility Affects Jalapeño Pepper Plant Growth, Pod Yield, and Pungency,” 1996.
- [104] E. K. Kambale, F. M. Katemo, J. Quetin-Leclercq, P. B. Memvanga, and A. Beloqui, “Green”-synthesized zinc oxide nanoparticles and plant extracts: A comparison between synthesis processes and antihyperglycemic activity,” *Int J Pharm*, vol. 635, Mar. 2023, doi: 10.1016/j.ijpharm.2023.122715.
- [105] S. Umavathi *et al.*, “Green synthesis of ZnO nanoparticles for antimicrobial and vegetative growth applications: A novel approach for advancing efficient high quality health care to human wellbeing,” *Saudi J Biol Sci*, vol. 28, no. 3, pp. 1808–1815, Mar. 2021, doi: 10.1016/j.sjbs.2020.12.025.
- [106] S. Mahalakshmi, N. Hema, and P. P. Vijaya, “In Vitro Biocompatibility and Antimicrobial activities of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs) Prepared by Chemical and Green Synthetic Route— A Comparative Study,” *Bionanoscience*, vol. 10, no. 1, pp. 112–121, Mar. 2020, doi: 10.1007/s12668-019-00698-w.
- [107] F. Kabir *et al.*, “Room temperature ferromagnetism in dilute magnetic semiconducting ZnO nanoparticles co-doped with Tb and Fe,” *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, vol. 32, no. 8, pp. 10734–10749, Apr. 2021, doi: 10.1007/s10854-021-05731-x.
- [108] Y. Qian *et al.*, “Green Fabrication of Tannic Acid-Inspired Magnetic Composite Nanoparticles toward Cationic Dye Capture and Selective Degradation,” *ACS Omega*, vol. 5, no. 12, pp. 6566–6575, 2020, doi: 10.1021/acsomega.9b04304.
- [109] G. K. Weldegebrerial, “Synthesis method, antibacterial and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles for azo dyes in wastewater treatment: A review,” *Inorganic Chemistry Communications*, vol. 120. Elsevier B.V., Oct. 01, 2020. doi: 10.1016/j.inoche.2020.108140.
- [110] V. Anh Tran *et al.*, “Solar-light-driven photocatalytic degradation of methyl orange dye over Co₃O₄-ZnO nanoparticles,” *Mater Lett*, vol. 284, Feb. 2021, doi: 10.1016/j.matlet.2020.128902.
- [111] M. J. Haque, M. M. Bellah, M. R. Hassan, and S. Rahman, “Synthesis of ZnO nanoparticles by two different methods & comparison of their structural, antibacterial, photocatalytic and optical properties,” *Nano Express*, vol. 1, no. 1, Jun. 2020, doi: 10.1088/2632-959X/ab7a43.

- [112] R. V. Quevedo-Robles, A. R. Vilchis-Nestor, and P. A. Luque, “Study of optical and morphological properties of nanoparticles semiconductors of zinc oxide synthesized using *Mimosa tenuiflora* extract for photodegradation of methyl orange,” *Opt Mater (Amst)*, vol. 128, no. April, p. 112450, 2022, doi: 10.1016/j.optmat.2022.112450.
- [113] M. I. Din, R. Khalid, J. Najeeb, and Z. Hussain, “Fundamentals and photocatalysis of methylene blue dye using various nanocatalytic assemblies- a critical review,” *J Clean Prod*, vol. 298, p. 126567, 2021, doi: 10.1016/j.jclepro.2021.126567.
- [114] R. Perveen, S. Shujaat, Z. Qureshi, S. Nawaz, M. I. Khan, and M. Iqbal, “Green versus sol-gel synthesis of ZnO nanoparticles and antimicrobial activity evaluation against panel of pathogens,” *Journal of Materials Research and Technology*, vol. 9, no. 4, pp. 7817–7827, Jul. 2020, doi: 10.1016/j.jmrt.2020.05.004.
- [115] H. Mohd Yusof, N. Abdul Rahman, R. Mohamad, U. Hasanah Zaidan, and A. A. Samsudin, “Antibacterial potential of biosynthesized zinc oxide nanoparticles against poultry-associated foodborne pathogens: An in vitro study,” *Animals*, vol. 11, no. 7, Jul. 2021, doi: 10.3390/ani11072093.
- [116] Y. N. Slavin, J. Asnis, U. O. Häfeli, and H. Bach, “Metal nanoparticles: Understanding the mechanisms behind antibacterial activity,” *J Nanobiotechnology*, vol. 15, no. 1, pp. 1–20, 2017, doi: 10.1186/s12951-017-0308-z.
- [117] E. Cecerska-Heryć, O. Surowska, R. Heryć, N. Serwin, S. Napiontek-Balińska, and B. Dołęgowska, “Are antioxidant enzymes essential markers in the diagnosis and monitoring of cancer patients – A review,” *Clinical Biochemistry*, vol. 93. Elsevier Inc., pp. 1–8, Jul. 01, 2021. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2021.03.008.
- [118] R. Canaparo, F. Foglietta, T. Limongi, and L. Serpe, “Biomedical applications of reactive oxygen species generation by metal nanoparticles,” *Materials*, vol. 14, no. 1, pp. 1–14, 2021, doi: 10.3390/ma14010053.
- [119] C. Andrés Juan, J. Manuel Pérez de la Lastra, F. J. Plou, E. Pérez-Lebeña, and S. Reinbothe, “Molecular Sciences The Chemistry of Reactive Oxygen Species (ROS) Revisited: Outlining Their Role in Biological Macromolecules (DNA, Lipids and Proteins) and Induced Pathologies,” *Int. J. Mol. Sci*, vol. 22, p. 4642, 2021, doi: 10.3390/ijms.
- [120] G. Madhumitha, J. Fowsiya, N. Gupta, A. Kumar, and M. Singh, “Green synthesis, characterization and antifungal and photocatalytic activity of *Pithecellobium dulce* peel-mediated ZnO nanoparticles,” *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, vol. 127, pp. 43–51, Apr. 2019, doi: 10.1016/j.jpics.2018.12.005.
- [121] A. Sirelkhatim *et al.*, “Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism,” *Nano-Micro Letters*, vol. 7, no. 3. SpringerOpen, pp. 219–242, Apr. 19, 2015. doi: 10.1007/s40820-015-0040-x.

- [122] S. Shaikh, N. Nazam, S. Mohd, D. Rizvi, and K. Ahmad, “Mechanistic Insights into the Antimicrobial Actions of Metallic Nanoparticles and Their Implications for Multidrug Resistance,” no. 2, pp. 1–15.
- [123] L. Wang, C. Hu, and L. Shao, “The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future,” *International Journal of Nanomedicine*, vol. 12. Dove Medical Press Ltd., pp. 1227–1249, Feb. 14, 2017. doi: 10.2147/IJN.S121956.
- [124] A. Sirelkhatim *et al.*, “Review on zinc oxide nanoparticles: Antibacterial activity and toxicity mechanism,” *Nano-Micro Letters*, vol. 7, no. 3. Springer Open, pp. 219–242, Apr. 19, 2015. doi: 10.1007/s40820-015-0040-x.
- [125] P. P. Mahamuni-Badiger *et al.*, “Biofilm formation to inhibition: Role of zinc oxide-based nanoparticles,” *Materials Science and Engineering C*, vol. 108. Elsevier Ltd, Mar. 01, 2020. doi: 10.1016/j.msec.2019.110319.
- [126] S. Banerjee *et al.*, “Antibacterial, anti-biofilm activity and mechanism of action of pancreatin doped zinc oxide nanoparticles against methicillin resistant *Staphylococcus aureus*,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 190, no. November 2019, p. 110921, 2020, doi: 10.1016/j.colsurfb.2020.110921.
- [127] S. Tian, H. C. van der Mei, Y. Ren, H. J. Busscher, and L. Shi, “Recent advances and future challenges in the use of nanoparticles for the dispersal of infectious biofilms,” *J Mater Sci Technol*, vol. 84, pp. 208–218, 2021, doi: 10.1016/j.jmst.2021.02.007.
- [128] Z. Obeizi, H. Benbouzid, S. Ouchenane, D. Yılmaz, M. Culha, and M. Bououdina, “Biosynthesis of Zinc oxide nanoparticles from essential oil of *Eucalyptus globulus* with antimicrobial and anti-biofilm activities,” *Mater Today Commun*, vol. 25, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.mtcomm.2020.101553.
- [129] V. Kuete, O. Karaosmanoğlu, and H. Sivas, “Chapter 10 - Anticancer Activities of African Medicinal Spices and Vegetables,” in *Medicinal Spices and Vegetables from Africa*, V. Kuete, Ed., Academic Press, 2017, pp. 271–297. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809286-6.00010-8>.
- [130] P. S. Phale, A. Sharma, and K. Gautam, “11 - Microbial degradation of xenobiotics like aromatic pollutants from the terrestrial environments,” in *Pharmaceuticals and Personal Care Products: Waste Management and Treatment Technology*, M. N. V. Prasad, M. Vithanage, and A. Kapley, Eds., Butterworth-Heinemann, 2019, pp. 259–278. doi: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816189-0.00011-1>.