

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

INSTITUTO DE INGENIERÍA

MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS E INGENIERÍA



**“ESPECIALIDADES QUÍMICAS FUNCIONALIZADAS CON
NANOPARTÍCULAS PARA DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES Y
ELIMINACIÓN DE OLORES”**

Tesis para obtener el grado de:

Maestría en Ingeniería

PRESENTA:

Karen Michelle Guillén Carvajal

Director de tesis:

Dr. Benjamín Valdez Salas

Mexicali, Baja California, Junio 2021

AGRADECIMIENTOS

Le agradezco infinitamente a Dios por brindarme la oportunidad de tener inteligencia y sabiduría para asimilar los conocimientos que se han estado presentando.

A mis padres, M. Telma Carvajal y Manuel J. Guillén, que sin ellos no sería posible muchas de las cosas que he logrado, ya que han sido el motor de todos ellos. Gracias por todos los apoyos, desveladas, comidas y recursos ofrecidos. A mi abuelita, que me cuida desde el cielo y siempre confió en mí, esto es por usted.

Le agradezco grandemente a mi director de tesis, Dr. Benjamín Valdez Salas, usted ha sido un gran pilar en mi formación actual y me ha ayudado en darme cuenta que puedo hacer cosas que pensaba imposibles. Muchas gracias por su apoyo a nivel profesional como personal. Agradezco por el amplio conocimiento brindado en el área de estudio, así como en el uso de herramientas y equipos que hicieron posible que este proyecto se realizara con éxito. Gracias por la confianza brindada.

Agradezco al personal del Instituto de Ingeniería y departamentos adyacentes por el apoyo en la fomentación de su conocimiento como en el desarrollo de pruebas, especialmente al Dr. Navor, Dr. Oscar y Dr. Ernesto.

Gracias a la empresa Industrias Bioquim, en especial a la Dra. Nallely Rivera y al Lic. Angel Zaizar por brindarme apoyo en la realización de las pruebas microbiológicas y por ver en mi trabajo una oportunidad de negocio e innovación. De igual manera, agradezco al equipo del departamento de Microbiología y de Investigación y Desarrollo y demás personal que se interesó en mi trabajo, principalmente a Alexis S. e Iram C.

A mi buen amigo José Luis Rubio, que siempre estuvo ahí para escucharme y darme todos los consejos posibles que solo buscaran mi bien a nivel profesional como personal, así como brindarme aquellas platicas muy entretenidas aun cuando había ocasiones en las que parecía distanciarme por el trabajo. Gracias, siempre estás en mi corazón.

A mi hermano y a su familia por siempre apoyarme y hacer que también pudiera distraerme y divertirme.

Gracias a todos los que me han apoyado directa o indirectamente, a todos aquellos que se han preocupado por mí y que han sabido ver en mí a la verdadera persona que soy. A todos aquellos que creyeron en mí y que nunca dudaron que pudiera lograrlo. Especial agradecimiento a las personas que estuvieron en la realización de mis pruebas y que además fungieron como un soporte en este trabajo y se convirtieron en mis amigos: Jorge S. Salvador C., Lupita Cecilio, Alejandra Muñoz y Asterio Rodríguez.

Por último, y no por ello menos importante, a Luis Enrique, mi apoyo incondicional, un gran pilar en mi vida. No sabes cuánto has significado para mí durante la realización de este trabajo. Muchas gracias por estar siempre conmigo, en las buenas y en las malas, cuidándome y preocupándote por mí.

Gracias a Conacyt por la beca que me brindaron y que debido a ella pude crecer profesionalmente y me permitió terminar satisfactoriamente este trabajo de grado.

ÍNDICE

Índice de Figuras.....	vii
Índice de Tablas	ix
Índice de Anexos.....	x
RESUMEN	xi
ABSTRACT	xii
CAPITULO 1	1
1. Introducción	1
1.1 Objetivo de la investigación	5
1.1.1 Objetivo general	5
1.1.2 Objetivos específicos	5
CAPITULO 2	7
2. Fundamentos teóricos	7
2.1 Generalidades	7
2.1.1 Especialidades químicas.....	7
2.1.2 <i>Hibiscus sabdariffa L.</i>	7
2.1.3 Nanopartículas	9
2.1.4 Desinfectantes	10
2.1.5 Olor y malos olores	11
2.2 Eliminación de olor	12
2.3 Química de la desinfección y eliminación de olores	19
2.3.1 Ciclodextrina	20
2.3.2 Conservantes y desinfectantes.....	22
2.3.3 Surfactantes y polioles de bajo peso molecular	45
2.3.4 Acarreador	47
2.3.5 Fragancias o esencias	48
2.3.6 Compuestos adicionales	51
2.3.7 Composiciones desinfectantes / elimina olores	52
2.4 Síntesis de nanopartículas	56
2.4.1 Síntesis verde	56
2.5 Estabilidad de emulsiones	58
2.5.1 Estabilidad de sistemas coloidales con nanopartículas metálicas	61
2.6 Fundamentos de técnicas de caracterización de nanopartículas	64
2.6.1 UV-Vis	65
2.6.2 AAS / MP-AES	66
2.6.3 SEM-EDS	66
2.6.4 DLS	67

CAPITULO 3	69
3. Experimentación	69
3.1 Materiales	69
3.1.1 Obtención del extracto	69
3.1.2 Obtención de nanopartículas	69
3.1.3 Pruebas fitoquímicas.....	69
3.1.4 Selección de participantes	69
3.1.5 Formato de evaluación organoléptica de las soluciones	70
3.1.6 Envase de uso en aplicación de las soluciones neutralizadoras	70
3.1.7 Desarrollo de formulaciones	70
3.1.8 Soluciones problemas de mal olor	71
3.2 Procedimiento experimental	71
3.2.1 Obtención del extracto agua-etanol de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	71
3.2.2 Síntesis de nanopartículas.....	71
3.2.2.1 Síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs)	72
3.2.2.2 Síntesis de nanopartículas de óxido de zinc (ZnONPs)	72
3.2.2.3 Síntesis de nanopartículas de cobre (CuNPs).....	72
3.2.3 Realización de selección de participantes	73
3.2.4 Desarrollo de las formulaciones.....	73
3.3 Caracterización	74
3.3.1 Caracterización del extracto de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	74
3.3.1.1 Parámetros fisicoquímicos	74
3.3.1.2 Pruebas fitoquímicas.....	74
3.3.2 Caracterización de nanopartículas	76
3.3.2.1 Parámetros fisicoquímicos	76
3.3.2.2 Espectroscopia de UV-Vis	76
3.3.2.3 Microscopia electrónica de barrido (SEM)	77
3.3.2.4 Espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDS).....	77
3.3.2.5 Espectroscopia de emisión atómica de plasma de microondas (MP-AES).....	77
3.3.2.6 Dispersión dinámica de la luz (DLS).....	78
3.3.3 Pruebas a soluciones desinfectantes / elimina olores	78
3.3.3.1 Parámetros fisicoquímicos	78
3.3.3.2 Pruebas microbiológicas	78
3.3.3.3 Prueba de neutralización de olores	79
3.3.3.4 Prueba de neutralización de olores a soluciones diluidas	81
3.3.3.5 Hojas de seguridad: Pictogramas	81
3.3.3.6 Estudio de la sinergia de los componentes en su actividad antimicrobiana.....	81

3.3.3.7 Reformulación de soluciones desinfectantes con nanopartículas.....	81
CAPITULO 4	82
4. Resultados	82
4.1 Caracterización del extracto agua-etanol de <i>Hibiscus sabdariffa</i>	82
4.1.1 Parámetros fisicoquímicos.....	82
4.1.2 Pruebas fitoquímicas.....	83
4.2 Caracterización de las nanopartículas	89
4.2.1 Parámetros fisicoquímicos.....	89
4.2.2 Cálculo del contenido de nanopartículas en solución.....	90
4.2.2.1 Nanopartículas de plata.....	90
4.2.2.2 Nanopartículas de óxido de zinc.....	91
4.2.2.3 Nanopartículas de cobre.....	92
4.2.3 Análisis de espectroscopia de UV-Vis.....	92
4.2.4 Análisis SEM-EDS.....	95
4.2.5 Estudio MP-AES AgNPs.....	102
4.2.6 Análisis DLS.....	102
4.3 Pruebas a soluciones desinfectantes y elimina olores	104
4.3.1 Parámetros fisicoquímicos.....	104
4.3.2 Pruebas microbiológicas.....	105
4.3.4 Estudio de la sinergia de los componentes en su actividad antimicrobiana.....	111
4.3.5 Prueba organolépticas a soluciones.....	114
4.3.5.1 Determinación de participantes en pruebas organolépticas.....	114
4.3.5.2 Efectos neutralizadores de las soluciones desarrolladas.....	115
4.3.5.3 Prueba de neutralización de olores a soluciones diluidas.....	122
4.3.5.3 Hojas de seguridad: Pictogramas.....	122
4.3.5.4 Reformulación de soluciones desinfectantes con nanopartículas.....	124
Conclusiones	126
Bibliografía	129
Anexos	146

Índice de Figuras

Figura 1: Sistema de clasificación organoléptica de sustancias que pueden tener un efecto en la percepción de malos olores. Traducido de [80].	16
Figura 2: Estructuras de las principales ciclodextrinas [94].	20
Figura 3: Capacidad antibacteriana del complejo (derecha) E. coli e (izquierda) S. aureus [122].	28
Figura 4: Representación de las cuatro rutas principales del mecanismo citotóxico de las AgNPs.	39
Figura 5: Zonas de inhibición de ZnONPs contra Escherichia coli BTCB201 (izquierda), Sthaplylococcus aureus BTCB203 (centro) y Salmonella typhi BTCB202 (derecha) [178].	42
Figura 6: Halos de inhibición de ZnONPs sintetizadas A) químicamente, B) extracto de hojas de Aloe Vera, C) gel del Aloe Vera y D) extracto de las hojas de Hibiscus Sabdariffa [180].	42
Figura 7: Imágenes ópticas de la zona de inhibición de a) papel con ZnO libre de Ag, b) papel con AgNPs@ZnO, c) papel libre de ZnO impregnado de AgNO ₃ y d) papel que contiene plata en polvo [21].	44
Figura 8: Síntesis de nanopartículas por medio de Bottom Up y Top down.	57
Figura 9: Representación esquemática de emulsiones de tipo a) agua en aceite (W/O) y b) aceite en agua (O/W).	59
Figura 10: Representación esquemática de los mecanismos de desestabilización de las emulsiones. Esquema adaptado de [121].	62
Figura 11: Ejemplo de colocación de las diluciones en el cultivo de interés.	79
Figura 12: Apariencia de los cálices y filtros al terminar el proceso de maceración.	82
Figura 13: Evidencia de las pruebas fitoquímicas a un día, una semana y un mes de preparación (Continuación).	85
Figura 14: Evidencia de las pruebas fitoquímicas a uno, dos y tres meses desde su preparación (Continuación).	87
Figura 15: Apariencia de las soluciones de síntesis de las nanopartículas metálicas; a) plata, b) óxido de zinc, c) remanente de solución de cobre y d) cobre.	90
Figura 16: Apariencia de la solución de síntesis de nanopartículas de plata después de 48 horas de reacción.	91
Figura 17: Espectro UV para la solución de síntesis de AgNPs en extracto agua-etanol de Hibiscus sabdariffa.	93
Figura 18: Espectro UV para la solución de síntesis de ZnONPs en extracto agua-etanol de Hibiscus sabdariffa.	93
Figura 19: Espectro UV para la solución de síntesis de ZnONPs en extracto agua-etanol de Hibiscus sabdariffa a un mes de su síntesis.	94
Figura 20: Espectro UV para la solución de síntesis de CuNPs después de filtrar y resuspender en solución agua – etanol.	94
Figura 21: Evidencia de la presencia de nanopartículas de plata usando extracto agua – etanol en 0.010 M de AgNO ₃ . Localización de los puntos de medición para EDS.	96
Figura 22: Evidencia de la presencia de nanopartículas de cobre usando extracto agua – etanol en 0.004 M de CuCO ₃ . Localización de los puntos de medición para EDS.	96
Figura 23: Evidencia de la presencia de nanopartículas de zinc usando extracto agua – etanol en 0.001 M de Zn(NO ₃) ₂ . a) a una semana de reacción, b) un mes de reacción. Localización de los puntos de medición para EDS.	97

Figura 24: Resultados de los análisis de EDS en muestra de síntesis de nanopartículas de plata usando extracto agua – etanol en 0.001 M de AgNO ₃ .	99
Figura 25: Resultados de los análisis de EDS en muestra de síntesis de nanopartículas de zinc usando extracto agua – etanol en 0.001 M de Zn(NO ₃) ₂ . Primera muestra.	100
Figura 26: Resultados de los análisis de EDS en segunda muestra de síntesis de nanopartículas de zinc usando extracto agua – etanol en 0.001 M de Zn(NO ₃) ₂ .	100
Figura 27: Resultados de los análisis de EDS en muestra de síntesis de nanopartículas de cobre usando extracto agua – etanol en 0.004 M de CuCO ₃ .	101
Figura 28: Algunas de las antocianinas más abundantes en Hibiscus sabdariffa. A) cianidina – 3 – glucoxilosa, B) delphinidina– 3 – glucoxilosa, C) cianidina – 3 –rutinósido, D) delphinidina – 3 – sambubiosido [52].	101
Figura 29: Distribución del tamaño de partícula de la solución de síntesis de 0.010 M AgNO ₃ con extracto de Agua - Etanol.	102
Figura 30: Distribución del tamaño de partícula de la solución de síntesis de 0.020 M AgNO ₃ con extracto de etanol.	103
Figura 31: Apariencia de las soluciones desarrolladas en este trabajo.	104
Figura 32: Porcentaje de inhibición de las formulaciones desinfectantes sin nanopartículas.	106
Figura 33: Porcentaje de inhibición de las formulaciones desinfectantes con nanopartículas.	107
Figura 34: Halos de inhibición de a) D ₅ y b) Desinfectante 6 con NP en las tres cepas evaluadas a diferentes diluciones.	109
Figura 35: Halos de inhibición de N2 con fragancia 3 en E. coli (izquierda) y S. aureus (derecha).	110
Figura 36: Evidencia de la realización de las pruebas de eliminación de olores en 5 de los 10 participantes.	115
Figura 37: Sensaciones percibidas por los participantes en las soluciones desinfectantes en cada mal olor.	117
Figura 38: Sensaciones percibidas por los participantes en las soluciones N2 en cada mal olor.	118
Figura 39: Sensaciones percibidas por los participantes en las soluciones N3 en cada mal olor.	119
Figura 40: Kit de soluciones Ds para ser usado por los evaluadores.	121
Figura 41: Porcentaje de inhibición de las soluciones desinfectantes con nanopartículas reformuladas.	125

Índice de Tablas

Tabla 1: Composición nutricional de <i>Hibiscus sabdariffa</i> L. (Media \pm DE) [53].	8
Tabla 2: Compuestos más comunes de mal olor y algunos ejemplos para contrarrestarlos.	19
Tabla 3: Espectro de acción de Compuestos de Amonio Cuaternario (QAC) [112].	24
Tabla 4: Efecto de diversos aceites esenciales y compuestos fenólicos de origen natural en <i>S. aureus</i> [123, 124].	29
Tabla 5: Concentración mínima de acuerdo al método AOAC 955.15 de la EPA [123, 124].	29
Tabla 6: Resumen de las propiedades ópticas y físicas de acuerdo al citodiagnóstico de las nanopartículas de plata a diferentes tamaños. Traducido de [240].	65
Tabla 7: Materias primas utilizadas en el proceso experimental de obtención de las soluciones desinfectantes y neutralizadoras de olores.	70
Tabla 8: Formulaciones desinfectantes con y sin nanopartículas (NP: Nanopartícula). Porcentaje en peso.	73
Tabla 9: Formulaciones neutralizadoras con y sin nanopartículas (NP: Nanopartícula). Porcentaje en peso.	74
Tabla 10: Resumen de los análisis fitoquímicos del extracto Agua-Etanol a un día, una semana, uno, dos y cinco meses de su preparación.	83
Tabla 11: Resultados del análisis de EDS de manera compilada, para Ag, Cu y ZnONPs.	98
Tabla 12: Resultados del DLS en algunas de las mejores soluciones de síntesis obtenidas.	103
Tabla 13: Halos de inhibición obtenidos en las soluciones elimina olores en <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> . SV (Sin valor) y SD (Sin datos).	111
Tabla 14: Halos de inhibición obtenidos en las soluciones de síntesis de nanopartículas en <i>Escherichia coli</i> y <i>Staphylococcus aureus</i> . SV (Sin valor) y SD (Sin datos).	112
Tabla 15: Halos de inhibición obtenidos en los componentes utilizados en las soluciones desarrolladas así como composiciones específicas contra <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> . Y <i>P. aureuginosa</i> . SV (Sin valor) y SD (Sin datos).	113
Tabla 16: Mejores soluciones de acuerdo a la evaluación por el panel por mal olor y tipo de solución.	120
Tabla 17: Dilución máxima evaluada para no detectar a las muestras maestras de mal olor.	122
Tabla 18: Información obtenida a partir de las Hojas de seguridad generadas en eQgest en cada solución desarrollada.	123

Índice de Anexos

Anexo 1: Cuestionario: Elección de participantes para realizar prueba sensorial a las soluciones neutralizadoras.....	146
Anexo 2: <i>Evaluación de soluciones neutralizadoras</i>	147
Anexo 3: Halos de inhibición de las soluciones desinfectantes / elimina olores a las 24 y 45 h contra <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>P. aeruginosa</i>	149
Anexo 4: Halos de inhibición de las soluciones desinfectantes / elimina olores (Ds) originales a las 24 y 45 hr contra <i>E. coli</i> , <i>S. aureus</i> y <i>P. aeruginosa</i>	150
Anexo 5: Ponderación de los resultados obtenidos en el cuestionario proporcionado.	151
Anexo 6: Ponderación de los resultados obtenidos en las pruebas organolépticas de las soluciones desinfectantes con y sin NPs que fueron seleccionadas para pruebas con panel de evaluadores.	152
Anexo 7: Ponderación de los resultados obtenidos en las pruebas organolépticas de las soluciones neutralizadoras con NPs que fueron seleccionadas para pruebas con panel de evaluadores	154
Anexo 8: Halos de inhibición obtenidos en las soluciones modificadas utilizando AgNPs y ZnONPs nuevas contra <i>Escherichia coli</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . SV (Sin valor) y SD (Sin datos).	157
Anexo 9: Carta oficio de aceptación de formulaciones para su posible comercialización.	158
Anexo 10: Portada del Informe técnico entregado a Industrias Bioquim sobre las formulaciones desarrolladas.....	159

RESUMEN

En este trabajo se generaron productos sencillos y especializados con y sin nanopartículas de plata, cobre y óxido de zinc, sintetizadas con un extracto agua-etanol 50/50% v/v de la flor de Jamaica, que son capaces tanto de desinfectar como de eliminar olores con un agradable aroma residual con intensidad media a baja y que de acuerdo a su evaluación en el programa eQgest son amigables con el medio ambiente y los seres humanos.

Las soluciones están en forma concentrada y pueden diluirse hasta 6% en su actividad desinfectante contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* manteniendo 10 mm de inhibición. Aunque las nanopartículas de plata no tienen un efecto inhibitorio inmediato como en el caso de los ingredientes activos desinfectantes, estas aportan tiempo de residencia. Las nanopartículas de cobre y de óxido de zinc tienen una baja o nula actividad antibacteriana si no se encuentran en presencia de las nanopartículas de plata para generar un efecto sinérgico. Por otro lado, dependiendo de la solución se puede diluir hasta 12.5% en su actividad neutralizador de olores contra ácidos grasos, mercaptanos y aminas, pero se recomienda una dilución máxima de 25% para mantener un mejor efecto.

Las pruebas fitoquímicas del extracto de Jamaica demostraron la presencia de saponinas, terpenoides y esteroides, flavonoides, carbohidratos, antraquinonas y taninos. La cantidad de esteroides y terpenoides aumentó con el tiempo, mientras que los carbohidratos y las antraquinonas disminuyen un poco. El extracto agua-etanol fue capaz de sintetizar las nanopartículas planteadas de acuerdo a la metodología aplicada. Las imágenes de microscopía electrónica de barrido mostraron nanopartículas mayores y menores a 100 nm de forma semiesférica de plata, de nanowires entrecruzados y semiesferas para óxido de zinc y semiesféricas con tendencia a formación de clusters en cobre. De acuerdo al análisis por espectrometría de dispersión de energía de rayos X, los elementos clave en estas nanopartículas son aquellos que contienen cloro (antocianinas) y en el caso particular de las nanopartículas de óxido de zinc son los terpenoides y esteroides.

Palabras clave: Nanopartículas de plata, neutralización de olores, aceite de orégano, desinfectante.

ABSTRACT

In this work, simple and specialized products were generated with and without silver, copper, and zinc oxide nanoparticles, synthesized with a 50/50% v / v water-ethanol extract of the Jamaica flower, which is capable of both disinfecting and eliminate odors with a pleasant residual aroma with medium to low intensity and that according to its evaluation in the eQgest program are friendly with the environment and human beings.

The solutions are in concentrated form and can be diluted up to 6% in their disinfecting activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, maintaining 10 mm of inhibition. Although silver nanoparticles do not have an immediate inhibitory effect as in the case of disinfectant active ingredients, but they provide residence time. The copper and zinc oxide nanoparticles have little or null antibacterial activity if they are not in the presence of the silver nanoparticles to generate a synergistic effect. On the other hand, depending on the solution, it can be diluted up to 12.5% in its odor-neutralizing activity against fatty acids, mercaptans, and amines, but a maximum dilution of 25% is recommended to maintain a better effect.

Phytochemical tests of jamaica flowers extract demonstrated the presence of saponins, terpenoids and steroids, flavonoids, carbohydrates, anthraquinones, and tannins. The amount of steroids and terpenoids increased over time, while carbohydrates and anthraquinones decreased somewhat. The water-ethanol extract was able to synthesize the proposed nanoparticles according to the applied methodology. Scanning electron microscopy images showed silver hemispherical nanoparticles larger and smaller than 100 nm, crosslinked nanowires and hemispheres for zinc oxide, and hemispherical with a tendency to form clusters in copper. According to X-ray energy dispersion spectrometry analysis, the key weathers in these nanoparticles are those that contain chlorine (anthocyanins), and in the particular case of zinc oxide nanoparticles are terpenoids and steroids.

Keywords: Silver nanoparticles, odor neutralization, oregano oil, disinfectant.

CAPITULO 1

1. Introducción

A pesar de las mejoras modernas en la higiene y la prevención de infecciones, la humanidad todavía puede atravesar por problemas de salud pública tan grandes como una pandemia. Lo anterior se debe en parte al hecho de que las infecciones causadas por virus y hongos han aumentado como resultado de los desplazamientos e interconexiones globales. Patógenos como bacterias, hongos, virus y esporas bacterianas son responsables de una gran cantidad de enfermedades humanas y animales, así como de la contaminación de muestras alimentarias, biológicas y ambientales y generación de malos olores.

Las tendencias sanitarias a nivel mundial, exigen productos que puedan atacar un amplio espectro de microorganismos sin que se dañe al medio ambiente y a la salud humana. Dichos productos desinfectantes deben por ende estar evolucionando siempre. El *ingrediente activo* en cada fórmula desinfectante es lo que mata a los patógenos, por lo general al alterar o dañar sus células. La mejora de la actividad de un desinfectante químico simple o una combinación de desinfectantes simples para aumentar el espectro de actividad implica frecuentemente la adición de otros agentes químicos. Tales agentes químicos adicionales podrán tener un efecto sobre el pH y la actividad superficial del producto formulado una vez en solución [1, 2].

Varias de las composiciones antimicrobianas actuales, contienen agentes que no se encuentran de forma natural. Muchos de estos desinfectantes "sintéticos" provocan efectos indeseables tanto en el medio ambiente como en la salud humana. Por otro lado, aún es posible encontrar desinfectantes inapropiados que se utilizan en concentraciones inadecuadas, así como desinfectantes costosos o ineficaces cuando se dispone de agentes más baratos o eficaces, o cuando no se requiere un desinfectante en absoluto y muchos de estos pueden fácilmente inactivarse.

Asimismo, el contacto diario con sustancias que producen olores desagradables provoca que inevitablemente persistan en el cuerpo de una persona, así como en la ropa, materiales utilizados y en espacios delimitados. Al ser los olores un factor para la

aceptación o rechazo, la población puede llegar a percibir los olores como un peligro para su salud, ocasionando niveles de descontento tan negativos como cualquier otro problema ambiental. Esto es lo que se denomina contaminación odorífera o por olores [3].

Se han realizado numerosos intentos para ocultar olores desagradables mediante el uso de composiciones desodorizantes, siendo lo más común, aquellas que contienen perfumes para enmascarar el mal olor. El enmascaramiento del olor es la ocultación intencional de un olor mediante la adición de otro. Sin embargo, se necesitan niveles altos para garantizar que el mal olor ya no sea perceptible. Además, estos compuestos son a menudo inadecuados para dicha función ya que, en el intento de ocultar un olor, se precisa producir otro más concentrado y fuerte, y como los malos olores pueden ser químicamente complejos, un perfume agradable puede llegar a producir un olor más ofensivo que el original, así como solo atacar a un tipo de mal olor [4]. Por otra parte, pueden ser irritantes para el usuario, ya sea para la piel, el sistema respiratorio y/o el sistema olfativo del mismo [5].

Ciertas composiciones en el mercado no neutralizan efectivamente una amplia gama de malos olores depositados en telas, el aire y mucho menos en la piel humana. Además, algunos productos si se utiliza en tejidos, estos se vuelvan amarillos o marrones bajo la luz natural y pueden hacerlas susceptibles de ensuciarse, particularmente productos que contienen ciertas cantidades o tipos de aldehídos y surfactantes [6]. Otros productos en el mercado que neutralizan los olores suelen tener como compuestos al ozono y materiales que a ciertos niveles pueden considerarse tóxicos por lo cual deben de ser suministrados con un control riguroso y por especialistas. Esto supone un riesgo y un alto coste. Algunos sistemas para neutralizar olores desagradables, tales como el scrubber (burbujeo del gas en un líquido) o el uso de filtros, exigen también un control preciso del foco emisor, imposibilitando su uso en fuentes extensas y requieren una maquinaria compleja [4].

Otros métodos de control de olores involucran activos que están dirigidos a reaccionar con malos olores que tienen grupos funcionales químicos específicos, así como aquellos que utilizan agentes antibacterianos y antifúngicos que regulan a ciertos

microorganismos que producen moléculas de mal olor, pero al igual que los perfumes limitan el alcance de aplicación.

Los *ingredientes activos* en las formulaciones contra malos olores son particularmente ventajosos cuando pueden reducir la intensidad de los malos olores sin poseer por sí mismos ningún olor o fragancia significativamente intensa. Tales ingredientes activos no enmascaran los malos olores, sino que los neutralizan. Estos pueden ser aceites de perfume, compuestos que atacan ciertos espectros de grupos generadores de mal olor, así como antimicrobianos. Una mezcla efectiva de estas materias y de otros ingredientes opcionales que protejan a la fragancia y que además ayuden a la retención de partículas de diversos tamaños sería lo más ideal. Además, proporciona la posibilidad de reducir la cantidad de aceite de perfume requerida; hacer soluciones concentradas y diluirlas para disminuir su coste final, pero cuidando que tenga el mismo grado de acción.

La demanda de productos y materiales en distintas áreas (como nanomateriales, biomédica, producción de desinfectantes más potentes y eficientes, etc.), así como la generación de nuevas tecnologías y avances científicos promueven la exigencia de investigar y generar metodología que contribuya a la solución de problemas diarios y que dichos métodos y productos generados sean rentables, factibles, innovadores y sustentables, a su vez que no sean tóxicos ni perjudiquen el medio ambiente.

Hoy en día, cada vez más inundan las áreas de acción y estudio los productos a nivel nanométrico, como lo son las nanopartículas de ciertos metales, como por ejemplo las nanopartículas de plata, que es un material versátil que tiene aplicaciones en áreas claves, tales como remediación del medio ambiente [7-9], nanomedicina y biomedicina [10-15], productos de cuidado personal [16]. Además, las nanopartículas de plata se caracterizan por sus excelentes propiedades antibacterianas y fungicidas [17-22, 14, 9], entre muchas otras [23-26, 16]. Actualmente se está empleando también para el desarrollo de desinfectantes más eficientes por su ataque hacia bacterias, algunos hongos y virus, siendo esto último casi no investigado por la comunidad científica [10, 17, 18, 27]. Una de las áreas que podría tener gran relevancia en el empleo de

nanopartículas podría resultar ser la que se dedica a producir productos neutralizadores de olores; lo anterior debido a su ya mencionado efecto antimicrobiano.

Para la producción de nanopartículas metálicas, en especial en las nanopartículas de plata, se han desarrollado diferentes métodos de síntesis, los cuales están englobados en dos categorías principales; bottom Up y Top down. Dentro de la primera sección se encuentra la técnica de bio-reducción en donde se pueden utilizar microorganismos, plantas y sus extractos. El incremento gradual en la contaminación ambiental ha hecho que la comunidad científica tome conciencia y enfoque sus esfuerzos hacia la búsqueda de nuevas alternativas para la obtención de estas nanopartículas con metodologías limpias. Por esa razón, se ha considerado que la síntesis biológica representa una de estas alternativas limpias, presumiblemente no tóxica y amigable con el medio ambiente igualando e incluso sobrepasando las expectativas de las nanopartículas sintetizadas por los otros métodos tradicionales [28].

Recientemente el uso de plantas para sintetizar nanopartículas ha ido incrementando. Este tipo de síntesis es limpia, no tóxica y biocompatible, con una amplia gama de tamaños, formas, composiciones, propiedades fisicoquímica, físicoquímica, y farmacológicas de la nanopartícula sintetizada [28].

La planta *Hibiscus sabdariffa L.*, llamada coloquialmente en México como flor de Jamaica, tiene una gran variedad de metabolitos secundarios (alcaloides, flavonoides, polifenoles, glucósidos, etc.) de acuerdo a numerosos estudios [29-34]. Estos metabolitos son capaces de utilizarse como elementos reductores y capeadores de diversas sales metálicas, entre los cuales el elemento metálico puede ser oro [18, 35], cobre [36, 37] o plata [7-9, 11, 19, 20 38]; así como óxidos, tales como óxido de cerio [39, 40], óxido de zinc [41-43], óxido de cadmio [44] y otros elementos metálicos [42].

La síntesis de nanopartículas de plata, zinc y cobre con extracto acuoso de *Hibiscus sabdariffa* ha sido poco estudiado. La mayoría de las veces utilizando una mayor cantidad de extracto que dé solución iniciadora (en el caso de la plata), lo que produce una sobresaturación de los metabolitos, con un posible aumento en costo-beneficio al tratar de escalar a nivel industrial, así como de problemas de estabilidad.

Por lo anterior, se concluye que sigue existiendo la necesidad de composiciones refrescantes mejoradas que desinfecten y neutralicen una vasta gama de malos olores y que tenga un amplio espectro de acción ante los microorganismos; evitando utilizar herramientas o equipos sofisticados y que proporcionen un beneficio hedónico y de salud, evitando al mismo tiempo la suciedad y la tinción de tejidos, daño en las superficies y que puedan ser usados directamente en la piel sin tener efectos secundarios (irritación).

En este trabajo se desarrollaron formulaciones desinfectantes y neutralizadoras de olores con y sin nanopartículas de cobre, óxido de zinc, y principalmente de plata, utilizando un extracto agua-etanol de la flor de Jamaica como agente reductor, capeador y estabilizante para prevenir la aglomeración de las nanopartículas [45] que es amigable con el medio ambiente y con el ser humano.

1.1 Objetivo de la investigación

1.1.1 Objetivo general

Desarrollar diferentes composiciones químicas con el fin de desinfectar y neutralizar malos olores provenientes de distintas fuentes utilizando nanopartículas funcionalizadas que se obtengan de un extracto agua-etanol de *Hibiscus Sabdariffa*.

1.1.2 Objetivos específicos

- Obtener un extracto agua-etanol de la flor de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) para evaluar su capacidad como agente reductor y capeador en la síntesis de nanoestructuras metálicas.
- Realizar pruebas fitoquímicas del extracto obtenido de la flor de Jamaica.
- Sintetizar nanopartículas de plata, cobre y óxido de zinc mediante reducción verde con extractos obtenidos de la flor de Jamaica.
- Caracterizar las nanopartículas sintetizadas mediante la técnica ultravioleta-visible (UV/Vis), escaneo de microscopio electrónico (SEM), espectroscopia de dispersión de energía (EDS), dispersión dinámica de la luz (DLS) y espectrometría de emisión atómica y plasma de microondas (MP-AES)

- Desarrollar las soluciones desinfectantes y elimina olores con y sin nanopartículas.
- Evaluar a las soluciones en pruebas microbiológicas contra *Pseudomona aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*.
- Evaluar a las soluciones en pruebas organolépticas con un panel de 10 personas sobre muestras maestras de mal olor de ácido graso (ácido acético), mercaptanos (extracto de ajo 1:100), y aminas (solución de escatol y ceviche putrefacto).
- Evaluar a las soluciones desarrolladas por medio del programa eQgest.

CAPITULO 2

2. Fundamentos teóricos

2.1 Generalidades

2.1.1 Especialidades químicas

“La especialización implica la limitación, la adecuación de algo para que pueda cumplir satisfactoriamente con su objetivo o función” [46]. También, se utiliza para referir la preparación, el adiestramiento, ensayo, o estudio en una determinada habilidad, actividad, arte o rama del conocimiento. Por otro lado, de manera comercial, una especialidad puede ser un compuesto químico o sustancia que haya sido preparado en un laboratorio y que esté autorizado oficialmente para ser comercializado en su área de mercado con un nombre comercial y registro [47].

De acuerdo con lo anterior, se define al término “especialidades químicas” utilizada en este documento como el estudio limitado al desarrollo y obtención de composiciones químicas diferentes que tienen como propósito la eliminación de un amplio espectro de microorganismos y de malos olores; el cual pueda ser comercializado en un futuro.

2.1.2 *Hibiscus sabdariffa* L.

Hibiscus sabdariffa L. es una planta originaria de África, llamada rosa de Abisinia. En México es conocida como flor de jamaica o simplemente Jamaica, la cual fue traída en la época colonial. Sus flores (cálices) es la parte más importante de la planta debido a su utilidad (bebidas, mermeladas, tés, dulces, licores, aguas dulces, salsas, así como saborizante, colorante, cosméticos, farmacéuticos) [48, 49] y en síntesis de nanopartículas metálicas [7-9, 11, 18-20, 35-44], teniendo un impacto socioeconómico en el país con un gran mercado nacional e internacional. Las dos mayores especies de Jamaica son *Var altissima Wester* y *Var sabdariffa*. El segundo tipo tiene dos variedades que se diferencian en sus cálices: rojo y amarillo [50].

La composición nutricional de los cálices de *H. sabdariffa* se muestran en la Tabla 1. Los cálices son ricos en hidratos de carbono, vitaminas, minerales, metabolitos secundarios y proteínas de fibra dietética, estando en mayor cantidad este último grupo seguido por los carbohidratos [51]. Los macronutrientes que se encuentran en mayor porcentaje son los carbohidratos, cenizas, proteínas y grasas en ese orden; donde se presenta una cantidad importante de ácido málico [52, 53].

Al igual que el tamaño y cantidades en ciertas partes de la planta, las porciones y existencia de los compuestos anteriormente mencionados pueden variar por factores ambientales, método de extracción y aislamiento [52, 30].

Tabla 1: Composición nutricional de *Hibiscus sabdariffa* L. (Media \pm DE) [53].

Valor nutricional	(g / 100 gdw*)	Ácidos grasos	(%)
Cenizas	7.4 \pm 0.5	Ácido cáprico (C6:0)	0.40 \pm 0.02
Proteínas	5.5 \pm 0.4	Ácido caprílico (C8:0)	0.14 \pm 0.01
Grasas	0.47 \pm 0.08	Ácido cáprico (C10:0)	0.220 \pm 0.001
Carbohidratos	87 \pm 1	Ácido láurico (C12:0)	0.47 \pm 0.03
Energía (kcal/100 gdw)	373 \pm 2	Ácido mirístico (C14:0)	1.24 \pm 0.01
		Ácido pentadecanoico (C15:0)	0.84 \pm 0.01
Azúcares	11.1 \pm 0.9	Ácido palmítico (C16:0)	27.73 \pm 0.02
Fructosa	4.6 \pm 0.3	Ácido palmitoleico (C16:1)	1.32 \pm 0.04
Glucosa	6.5 \pm 0.6	Ácido heptadecanoico (C17:0)	1.28 \pm 0.06
		Ácido esteárico (C18:0)	4.46 \pm 0.01
Ácidos orgánicos	11.31 \pm 0.04	Ácido oleico (C18:1n9)	9.1 \pm 0.1
Acido oxálico	1.81 \pm 0.05	Ácido linoleico (C18:2n6)	32.65 \pm 0.07
Ácido málico	9.10 \pm 0.09	Ácido α -linolenico (C18:3n3)	15.76 \pm 0.04
Ácido shikímico	0.35 \pm 0.002	Acido araquidónico (C20:0)	1.02 \pm 0.05
Acido fumárico	0.043 \pm 0.04	Ácido eicosanoico (C21:0)	0.21 \pm 0.02
		Ácido behénico (C22:0)	1.40 \pm 0.02
Tocoferoles (mg/100 gdw)	39.95 \pm 0.01	Ácido tricosanoico (C23:0)	0.67 \pm 0.01
α -Tocoferol	39.19 \pm 0.06	Ácido lignocérico (C24:0)	1.08 \pm 0.02
β – Tocoferol	0.76 \pm 0.06	Ácidos grasos saturados	41.2 \pm 0.1
		Ácidos grasos monoinsaturados	10.4 \pm 0.2
		Ácidos grasos poliinsaturados	48.4 \pm 0.1

*gdw gramo de peso seco (gram dry weight)

Se ha evidenciado la presencia de diversos metabolitos secundarios en la flor de jamaica que son de gran interés por sus efectos en la salud, tanto para el sector farmacológico, alimenticio y cosmético. Los compuestos encontrados son los ácidos orgánicos, fenólicos, antocianinas, fibras, y en mayor proporción a los flavonoides y glucósidos [30, 31, 52]. También se encuentran los carotenoides, ácidos grasos esenciales, tocofenoles, taninos, entre otros [54, 52]. Entre los ácidos de mayor abundancia se encuentran el ácido cítrico, ácido hidroxícítrico, ácido hibisco, málico y tartárico, y los que se encuentran en menor cantidad son el ácido oxálico y ascórbico [31]. La cantidad y el tipo de metabolito se ve afectado por factores como el genotipo y el medio ambiente [55].

Las antocianinas son un tipo de compuestos fenólicos del grupo de los flavonoides. Las principales encontradas en los cálices son delfinidin-3-sambubiosido y cianidin-3-sambubiosido [56, 52, 57]. Las antocianinas son pigmentos naturales de la planta, donde su coloración depende del pH, siendo más estables a pH ácido [31]. Estos compuestos son fácilmente degradados por cambios en el pH, temperatura, presencia de algunas enzimas, luz; hasta por la presencia de otros flavonoides, ácidos fenólicos y metales [58]. La parte orgánica del cáliz (principalmente ácido málico, cítrico, tartárico y ascórbico) permite estabilizar a las antocianinas.

Los compuestos volátiles en el cáliz son los responsables del aroma en los extractos acuosos donde se han obtenido un total de 32 compuestos derivados de cinco grupos químicos: aldehídos, alcoholes, cetonas, terpenos y ácidos, de los cuales los primeros dos grupos son los que contienen la mayor fracción de los compuestos volátiles aromáticos en las bebidas [31, 59].

2.1.3 Nanopartículas

Debido al gran interés y al avance en el desarrollo de técnicas para sintetizar y caracterizar materiales a nanoescala, la nanotecnología es una de las áreas de investigación más activas. Este tipo de área del conocimiento cada vez más abarca diversos campos como lo es la química, ingeniería, electrónica y la medicina.

Ahora bien, nanopartícula (NP) se define desde el punto de sus dimensiones físicas, como una partícula que posee un tamaño entre 1 a 100 nm [60]. Tanto la Organización Internacional de Normalización (ISO) como la Sociedad Americana de Materiales de Ensayo (ASTM) han proporcionado sus definiciones de nanopartículas que son prácticamente las mismas [61, 62]: “*Una nanopartícula se define como un nano objeto con las tres dimensiones en el rango de tamaño de aproximadamente 1 nm a 100 nm*”. Por tanto, las nanopartículas son aquellas dentro de este rango de tamaño. La IUPAC también define nanopartícula como “*una partícula de cualquier forma con dimensiones en el rango de 1 ~ 100 nm*” [63], sin embargo, no existe una razón específica para usar 100 nm como el tamaño que separa las nanopartículas de las no nanopartículas ya que de acuerdo a esta última definición se incluye cuando los objetos con solo dos dimensiones están por debajo de 100 nm, por ejemplo, tubos y fibras. Por tanto, la definición de nanopartícula no se basa realmente en el tamaño exacto de las partículas, sino que depende de si las nanopartículas tienen propiedades novedosas que no tienen sus formas bulto o macroscópico [64].

Las nanopartículas pueden clasificarse de maneras muy diversas, siendo una de ellas como nanopartículas no metálicas, metálicas, semiconductoras y combinadas [23]. Las nanopartículas metálicas se definen como agregados aislados de átomos de metales rodeados de una cápsula protectora o estabilizante que evita su aglomeración de tamaño entre 1 nm a 100 nm [23, 65].

Uno de los obstáculos en el área de las nanopartículas, es el diseño y recreación con alta repetitividad del método de síntesis. Este tipo de control es mucho más complejo cuando se utilizan materiales que no pueden tener las mismas propiedades iniciales como lo son los extractos de plantas.

2.1.4 Desinfectantes

En México, de acuerdo a la normatividad y a la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios [66], un desinfectante es un “*agente químico empleado para eliminar de superficies inanimadas microorganismos patógenos, con excepción de esporas, endoesporas y otras formas o estructuras de resistencia*”

[125, 67]. En cambio, la Secretaría de Salud, de acuerdo a su Manual de Buenas Prácticas de Higiene y Sanidad, define a un desinfectante eficaz como “*un producto que reduce el número de microorganismos a un nivel que no perjudica la salud*” [68].

En Estados Unidos, se encuentra otra categoría de artículo capaz de disminuir la carga bacteriana llamada sanitizante, que al igual que los desinfectantes están regulados por la Agencia de Protección Ambiental (EPA). De acuerdo a la EPA, un desinfectante debe de ser capaz de reducir la carga bacteriana hasta 99.9999% en mínimo 10 min con cierto control de virus y hongos mientras que un sanitizante debe actuar de forma inmediata (30 segundos) hasta un 99.9% sin controlar hongos y virus. Por lo anterior, un sanitizante reduce la población de bacterias tanto en superficies inanimadas como en el ambiente, pero no las destruye; en cambio, los desinfectantes destruyen de forma permanente a una gran variedad de microorganismos [69, 70].

Es importante tomar en consideración que ningún desinfectante es completamente efectivo debido a la selectividad de microorganismos que ataca, el espacio y objetos que estarán en contacto con el producto, el agua empleada y demás condiciones de limpieza y ventilación. El uso continuo de ciertos desinfectantes químicos puede dar lugar a la generación de microorganismos resistentes [71].

2.1.5 Olor y malos olores

De acuerdo con la Real Academia Española [47], se llama “*olor a la sensación que un efluvio genera en el olfato*”. Esto quiere decir que el olor es la sensación resultante de la recepción de un estímulo por el sistema sensorial olfativo. Cuando la percepción generada es de rechazo o molestia se define como mal olor; que históricamente se han asociado con la toxicidad. Cuando estos malos olores además afectan a la calidad de vida de las personas y animales del medio, puede ser considerado como una forma de contaminación ambiental denominada contaminación odorífera [3, 72]. Por otro lado, cuando una sustancia presenta olor se le llama odorífera y cuando no, inodora.

La mayoría de los malos olores percibidos a diario se dividen en tres grupos principalmente [73, 74]:

- Tioles o mercaptanos: Típicamente se generan como parte del proceso de descomposición de la materia orgánica y son derivados orgánicos del sulfuro de hidrógeno. Algunos ejemplos son: metilmercaptano y dimetilsulfuro.
- Aminas: Son derivados orgánicos del amoníaco. La forma más frecuente de encontrarlos es como producto de descomposición de la orina. Algunos ejemplos son: trimetilamina, piridina, putrescina, cadaverina, triptófano, y sus derivados indol y escatol.
- Ácidos grasos: Son cadenas de hidrocarburos que contienen grupos ácidos carboxílicos. Se encuentran, como su nombre indica, en aceites y grasas, aunque también son frecuentes en olores complejos como la basura y en la piel. Algunos ejemplos son: ácido valérico, ácido propanoico y ácido butírico.

2.2 Eliminación de olor

Los malos olores se generan esencialmente por la degradación bacteriana. Los microorganismos al metabolizar la materia orgánica generan metabolitos volátiles malolientes. Lo anterior se puede encontrar en la mayoría de las fuentes de mal olor; por ejemplo, en el cuerpo humano se presentan diversas condiciones y zonas que exhiben mayor generación de mal olor, como lo es la boca, las axilas, los pies y la zona íntima masculina y femenina.

En la mayoría de los casos anteriores se debe a la generación del sudor, que por sí mismo no tiene olor, al mezclarse con otros componentes procedentes de la piel, como son algunos ácidos grasos, toxinas liberadas y los elementos procedentes de las células descamadas, se convierten en nutrientes de los microorganismos que forman parte de la flora cutánea normal. Al degradar estos componentes, los microorganismos generan enzimas (por ejemplo, lipasa y proteasa) que facilitan la descomposición y metabolismo de los nutrientes en el sudor y finalmente se generan los “desechos” que son moléculas y compuestos olorosos [75]. Es importante aclarar que la cantidad de estas sustancias que produce una única bacteria es indetectable, sólo cuando existen millones de bacterias es cuando dichos desechos pueden ser percibidos lo que va ligada a una buena higiene [74].

Existen otros factores que generan mal olor en el cuerpo humano los cuales son debidos a los alimentos consumidos, medicamentos, problemas en las glándulas salivales, ecrinas y apocrinas, así como la relación existente con enfermedades como la diabetes, infecciones tracto respiratorio y gastrointestinales, etc.; edad, sexo, factores genéticos, factores ambientales (clima o situación de estrés), higiene personal o el uso de cosméticos, entre otros, ya que estos factores modifican, de una u otra forma, la cantidad de sudoración, sus propiedades o los tipos de bacterias presentes en la piel [76].

Las bacterias además pueden ser transferidas a los tejidos (ropa y telas de cama) desde la piel por adherencia, crecimiento y daño de las fibras. A diferencia de lo que se cree, las fibras sintéticas suelen a comparación de las naturales, oler peor y presentar un olor más intenso por la facilidad de acumular humedad en los espacios libres entre las fibras [76].

Otro ejemplo claro de la actividad bacteriana es la putrefacción. En este caso las bacterias en condiciones anaeróbicas favorables comienzan a transformar los carbohidratos, lípidos y proteínas en ácidos orgánicos (ácido propanoico, ácido láctico) y gases (metano, ácido sulfhídrico, amoniaco). La descomposición de los aminoácidos presentes en la materia orgánica, principalmente animal, también produce putrescina y cadaverina, cuyos olores se asocian al de la carne podrida. El metilmercaptano se produce por la acción de bacterias sobre las proteínas y la trimetilamina es la principal sustancia responsable del olor desagradable asociado al pescado descompuesto.

Otras fuentes de generación de malos olores son los sectores económicos, en especial la industria. Debido a sus procesos, materias primas que utilizan, las reacciones involucradas y demás componentes y condiciones del proceso, originan moléculas volátiles malolientes.

En las plantas petroquímicas se pueden generar gases de azufre en los procesos de combustión y horneado, mientras que en las industrias de alimentos y bebidas se debe mayormente a que sus materias primas por ser de carácter perecedero pueden fácilmente degradarse por las condiciones ambientales y por contaminación bacteriana. En las plantas de moldeo, síntesis plástica, recubrimientos y de otros productos de la

misma índole, así como las empresas que manejen colorantes, detergentes, tintes, pegamentos, disolventes, etc., se generan olores provenientes de compuestos orgánicos volátiles (COV) [77, 78]. Tanto en la industria de alimentos, bebidas y las fábricas dedicadas a la producción de papel generan aguas residuales con alta carga orgánica, aunado al mal manejo y control de dichos desechos y procesos, el olor puede incrementarse a niveles tan altos que son insoportables.

Por otro lado, algunas de las fuentes que más molestan a la comunidad, son las ocasionadas por la misma; como lo son los basureros clandestinos, los arroyos y canales contaminados con basura, animales muertos y desperdicios en general que en su mayoría se debe a la actividad microbiana.

De manera inmediata es posible eliminar la generación de los malos olores atacando y determinando el tipo de fuente; si por ejemplo es por actividad microbiana; ya sea por degradación bacteriana (descomposición de materia orgánica – putrefacción) o como productos desechados por dichas bacterias (metabolización) se espera que al utilizar un desinfectante eficiente que pueda atacar un gran número de microorganismos, exista una reducción drástica en la generación de las moléculas de mal olor, en donde otros elementos o ingredientes activos, así como fragancias, ataquen a dichas moléculas por diferentes métodos (complejación, cambio químico, precipitación, aumento de peso y tamaño de la molécula, etc.) dejando un agradable aroma. Si los microbios han sido suprimidos con éxito, entonces no serán necesarias composiciones complejas o utilizar compuestos químicos específicos, simplemente utilizar un desinfectante/elimina olor eficiente con una post-limpieza. Cuando la fuente es de tipo sintético-industrial se utilizarían formulaciones especializadas para atacar a las moléculas obtenidas o hacer uso de equipos estacionarios.

Aunado a la eliminación de olores, existen compuestos que modifican la intensidad de los malos olores y pueden subdividirse en enmascarador, armonizador y neutralizador de olores. En la Figura 1 se muestran de manera esquematizada [79, 80]:

- Enmascarador de olor: Compuestos que aumentan la intensidad total del olor en más de tres unidades de intensidad, tales compuestos constituyen perfumes que enmascaran el mal olor como resultado de su potente olor agradable. El producto

obtenido puede resultar ser más desagradables que el olor original. Cuando se enmascara un olor se debe a que dicha sustancia se une fuertemente a los receptores o los bloquean, no permitiendo que las moléculas olorosas puedan estimular al cerebro, pero que siguen estando presentes. Algunos ejemplos de moléculas bloqueadoras son los aldehídos, cetonas y las iononas.

- Armonizador de olor: Compuestos que aumentan la intensidad del olor como máximo tres y al menos una unidad de intensidad. Normalmente, estos compuestos son materiales de partida de perfumes convencionales que no tiene olor intrínseco intenso. Reducen los olores, pero tienen un olor característico.
- Neutralizador de olor: Compuestos que aumentan la intensidad total del olor sólo como máximo una unidad de intensidad o incluso la reducen. Pueden reducir la percepción de los malos olores sin dejar por sí mismos ninguna impresión dominante de olor. Es una sustancia o mezcla de sustancias donde las moléculas que se emiten al aire reaccionan con las moléculas malolientes, dando lugar a moléculas inodoras o de olor agradable.

El neutralizador a diferencia de los otros dos no se asocia a tipos o clases específicas de fragancias, por lo tanto, pueden aplicarse universalmente. Otra ventaja de este producto es que, al emitir moléculas neutralizadoras, estas se pueden depositar sobre los textiles y otras superficies, de manera que también se neutralizarán las moléculas malolientes adheridas [81].

La percepción de mal olor también puede ser eliminada al remover algunas porciones críticas del material odorante para llegar a una concentración química menor a los límites de percepción o alterando como el odorante es percibido [82]. Otra forma es modificando la estructura química de la molécula para convertirla en otra que no genere algún olor o en su defecto, que sea inodora y si es posible que también sea inerte. Lo anterior sería el propósito de las composiciones neutralizadoras.

A continuación, se muestran algunos métodos y compuestos de manera general que pueden contrarrestar a moléculas específicas de mal olor dependiendo de su aplicación:

- Sulfuro de hidrógeno (H₂S): Se pueden utilizar sales y óxidos de calcio y sodio. También son muy efectivas las aminas y nitratos, como lo pueden ser la trietanolamina, amida DEA, Cocoamidopropil betaine y los óxidos de amina. Aunque es necesaria una concentración mayor a 1000 ppm para que este gas resulte mortal, es importante su control inmediato debido a que a bajas concentraciones generalmente excita al sistema olfativo, pero inmediatamente después lo deprime, mientras que en concentraciones altas esto ocurre en cuestión de segundos lo que lleva a ya no percibir dicho olor [83].

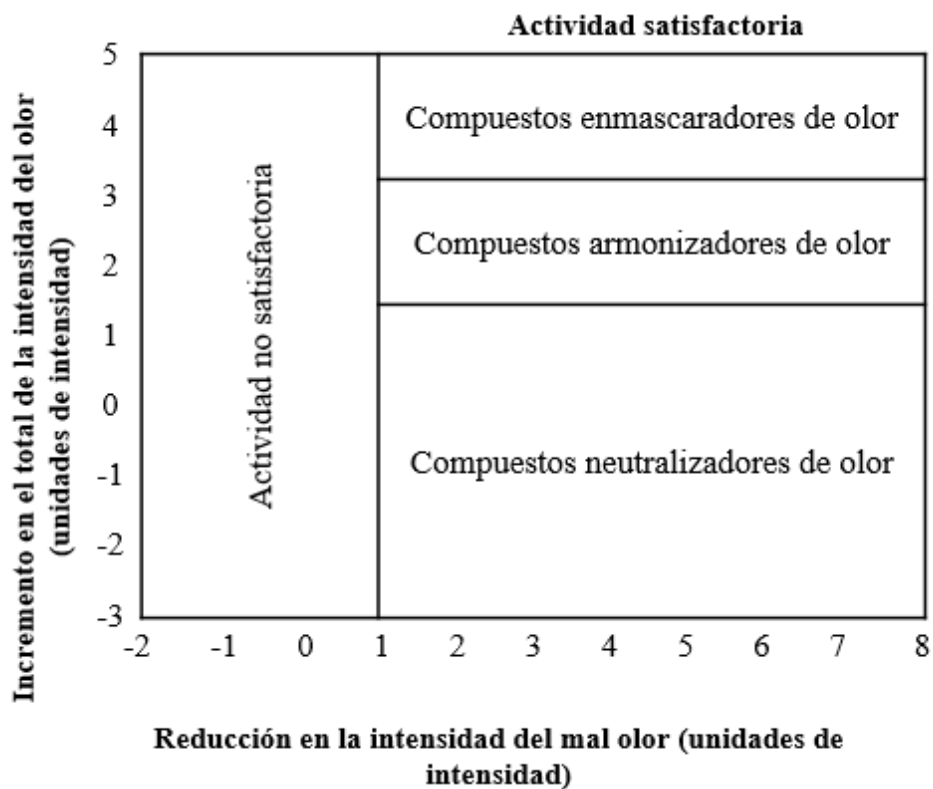


Figura 1: Sistema de clasificación organoléptica de sustancias que pueden tener un efecto en la percepción de malos olores. Traducido de [80].

- Ácido butírico y sus sales: Recubrir al ácido en grasa, por lo tanto, encapsulándolo. El sistema de encapsulado consiste en pulverizar aceite o grasa vegetal fundida sobre un soporte que contiene al ácido o a la sal para recubrir toda la superficie. De esta manera, se consigue aislarlos. El uso de esta técnica está muy extendido en la fabricación de antibióticos, vitaminas y levaduras [84]. Sin embargo, presenta importantes inconvenientes: un alto coste, concentración de butirato recuperado baja,

deterioro de la grasa que encapsula al butirato de forma rápida siendo fácilmente alterada por la temperatura [85].

Otros métodos combinan el ácido butírico con glicerol para incrementar su peso molecular, disminuyendo así su olor. Este procedimiento evita el desarrollo de formas encapsuladas. Además, la combinación anterior conlleva a la formación de un éster. Al formarse dicho éster, se reduce la reactividad del ácido, siendo la nueva composición mayormente estable [84].

Una forma de contrarrestar el olor característico del ácido butírico y sus sales sin alterar sus propiedades químicas es mediante la adición de sustancias aromáticas (aroma de fresa o acetato de amilo) y/o mediante tratamiento térmico (30°C a 452°C) [85].

Por otro lado, si se utiliza bicarbonato de sodio, se convierte el ácido butírico en butirato sódico, que es inodoro. La sustitución de un átomo de hidrógeno por uno de sodio convierte un olor extremadamente apestoso en neutro [86].

- Acetato de etilo: El acetato de etilo se forma mediante esterificación de ácido acético y etanol, los cuales están presentes en el vinagre obtenido de procesos de fermentación. Los métodos utilizados constan de exponer la solución de vinagre que contiene acetato de etilo a una temperatura de 40 - 70°C y ponerla en contacto con una fase gaseosa reducida en una presión atmosférica para eliminar sustancias volátiles [87]. En la patente [88] dejaron en contacto al vinagre con un absorbente sintético poroso no iónico, que absorbió y eliminó las sustancias con mal olor existentes. De acuerdo a los autores, este método es mayormente eficiente hacia ácido fenilacético e isovalérico.

Otros métodos procuran aumentar el pH de la solución y una vez neutralizado el acetato de etilo, volver a añadir vinagre puro para reestablecer el pH ácido [89]. También se ha probado el aumentar la temperatura a 90°C durante una hora con el fin de evaporar todo el material volátil, pero esto significa que dicho material debe de ser absorbido o atrapado por algún filtro o membrana para no liberarse en el proceso [87]. Aún con lo

anterior, estos métodos eliminan de manera insuficiente los productos con mal olor, debido a que este vuelve a aparecer una vez transcurrido un tiempo.

- Otros ácidos: Como lo pueden ser los ácidos grasos valérico, isovalérico, propanoico. Al igual que con el acetato de etilo, puede aumentarse el pH a neutro, en este caso con bicarbonato de sodio, cloruro de calcio o citrato de sodio. Utilizar alcohol isopropílico, como limpieza y eliminación de microorganismos. Utilizar terpenos provenientes de la citronela, geraniol, jengibre, salvia, romero, limón, etc. [75]. Como método experimental durante el proceso de realización de las formulaciones, se encontró que el propilenglicol, mayormente el óxido de amina, neutralizan el olor de ácido acético al 20% de manera inmediata.
- Base proteica de pescado / Aminas: En un estudio realizado en 2004 [90] se obtuvo que es posible extraer los compuestos nitrogenados por medio de un lavado en ácido fosfórico 1:3 (una parte del pescado desmenuzado para tres partes del disolvente) con una concentración de 0.05%, seguido de un lavado en agua destilada a una temperatura determinada.

Uno de los métodos más eficientes para la neutralización de la mayoría de los compuestos anteriores es utilizando aceites esenciales de manera directa o en solución con la dificultad de su baja solubilidad. Las moléculas olorosas se adhieren a las gotas de aceite y finalmente por interacciones químicas, como la generación de microemulsiones, son neutralizados. El problema con su uso es que eleva el costo de cualquier formulación significativamente, además de poder ser tóxico para el usuario dependiendo de la concentración y el tipo de aceite esencial.

Por otro lado, olores desagradables producidos en el cuerpo humano pueden controlarse teniendo una alimentación equilibrada, una flora intestinal saludable y realizando duchas constantes.

Otros métodos conducen a la modificación de las características de una molécula olorosa. Por ejemplo, al disminuir la presión de vapor, la volatilidad de la sustancia se suprime y la molécula no es capaz de llegar a los receptores del sistema olfativo. Además, si la molécula se hace insoluble en un sistema acuoso, ya no podrá disolverse en la mucosa y por consiguiente no podrá atravesar las membranas de las células

epiteliales de la nariz. De igual manera, si no es soluble en lípidos, no podrá penetrar en las terminaciones nerviosas a través de la capa lipídica que forma parte de la membrana de la superficie de cada célula [91, 92].

Las moléculas olores son de peso molecular bajo a excepción de los esteroides, por lo que al aumentar el peso de las moléculas estas tenderán a precipitar [92]. La formación de encapsulamientos y emulsiones también suprimen a las moléculas.

2.3 Química de la desinfección y eliminación de olores

Como se observó en la sección anterior 2.2 *Eliminación de olor*, existen ciertos componentes que pueden contrarrestar a otros de manera eficiente. En la Tabla 2 se muestra esta correlación con los principales compuestos de mal olor sin considerar los métodos y equipos estacionarios, solamente a grupos funcionales o compuestos químicos.

En esta sección se informará sobre los compuestos utilizados para generar una buena desinfección y eliminación de olores, desde el punto de vista de su funcionalidad y las aplicaciones que se han realizado.

Tabla 2: Compuestos más comunes de mal olor y algunos ejemplos para contrarrestarlos.

Mal olor	Grupo contrarrestaste	Efecto
Tioles o mercaptano	<ul style="list-style-type: none"> Ácidos aminados Ciclodextrina Sales de sodio y de calcio Catequinas ZnCl₂ 	<ul style="list-style-type: none"> Reajuste de pH Complejación Cambio químico
Aminas	<ul style="list-style-type: none"> Polifenoles y flavonoides Surfactante catiónico e iónico Silica 	<ul style="list-style-type: none"> Compuestos sin olor Aumento de peso molecular
Ácidos grasos	<ul style="list-style-type: none"> Sales y óxidos Poliolios Óxidos aminados Surfactantes catiónicos 	<ul style="list-style-type: none"> Neutralización de pH Compuestos sin olor Compuestos encapsulados
Productos químicos diversos	<ul style="list-style-type: none"> Polisacáridos 	<ul style="list-style-type: none"> Control del olor

2.3.1 Ciclodextrina

En la eliminación de olores, uno de los principales compuestos utilizados para el control de moléculas olores es la ciclodextrina (CD). La forma única y propiedades fisicoquímicas de las cavidades disponibles de esta molécula permiten absorber moléculas orgánicas o partes de moléculas orgánicas en dichas cavidades. Algunas moléculas olorosas pueden caber dentro de la cavidad incluyendo muchas moléculas de malos olores y moléculas de perfumes. Además, la mezcla de CDs con diferentes tamaños de cavidades, pueden usarse para controlar olores causados por materiales orgánicos olorosos de ancho espectro, lo que puede, o no, contener grupos reactivos funcionales. Las CDs pueden formar compuestos cristalinos a partir de moléculas orgánicas huésped en estado sólido, líquido e incluso gaseoso [93]. En la Figura 2 se muestran las estructuras cíclicas de las CDs principales.

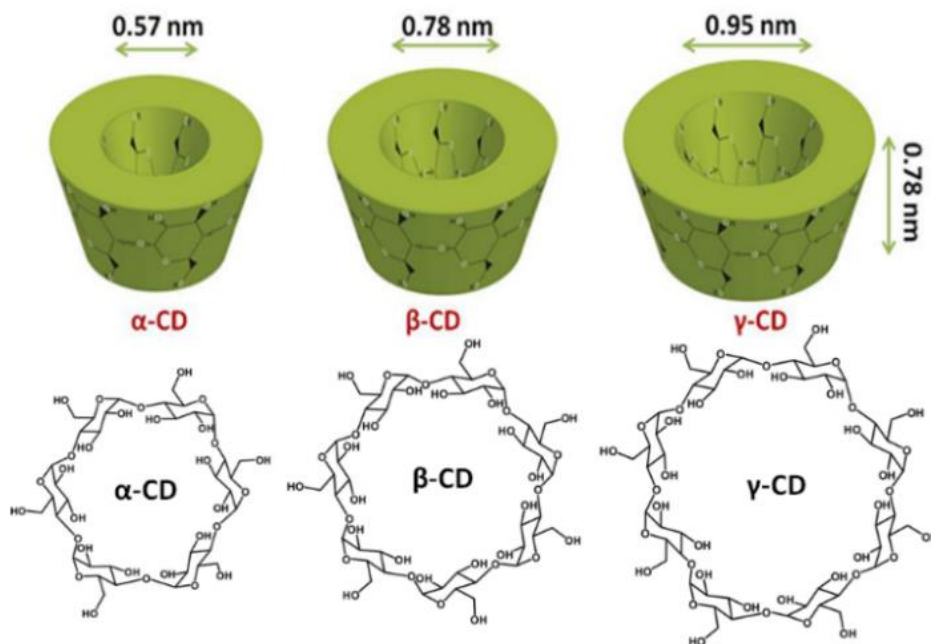


Figura 2: Estructuras de las principales ciclodextrinas [94].

La complejación entre la CD y moléculas olorosas ocurre rápidamente en presencia de agua cuando las CDs solubilizadas se aplican primero en la piel o en la superficie donde existe mayor emisión del olor. Enfocándose en el uso personal, las CDs que se secan en la superficie de la piel una vez más lograrán una capacidad de absorción mejorada cuando se rehumedezcan con líquidos corporales [4]. Sin embargo, la extensa

formación de complejos también depende de la polaridad de la molécula absorbida. Esto es conveniente para el usuario porque las CDs, mientras estén en la piel seca, no llenarán sus cavidades con otros olores ambientales que de otra manera los harían menos eficientes para absorber los olores corporales [95], si ese fuese el tipo de aplicación deseada. Por lo tanto, en última instancia, la disponibilidad de ciclodextrina no complejada es esencial para un rendimiento eficaz y eficiente del control del olor [95, 4].

Por otro lado, cuando las soluciones acuosas contienen moléculas fuertemente hidrofílicas, éstas sólo se absorberán parcialmente, si es que lo hacen. Debido a esto, la ciclodextrina no hará complejos eficientes con algunas moléculas orgánicas (aminas y ácidos) de bajo peso molecular cuando estén en presencia de bajos niveles de concentración [96].

La beta-ciclodextrina (β -CD), es un tipo de ciclodextrina que puede ser usada ya que tiene un bajo coste de producción con mayor comercialización [97]; puede albergar moléculas de masas moleculares entre 100 y 400 g mol^{-1} [98], que es el rango de masa molecular de la mayoría de las moléculas de interés en este trabajo. El único inconveniente de este material es su baja solubilidad (1.85 g ml^{-1}) [99].

Para resolver lo anterior, las β -CDs han sido modificadas con más de 20 sustituyentes diferentes en una región específica de manera selectiva [100]. Estos derivados generalmente se producen por aminaciones, esterificaciones o eterificaciones de grupos hidroxilo primarios y secundarios de las ciclodextrinas. Dependiendo del sustituyente, la solubilidad de los derivados de ciclodextrina suele ser diferente de la de sus ciclodextrinas originales. Prácticamente todos los derivados tienen un cambio en el volumen de la cavidad hidrófoba y también estas modificaciones pueden mejorar la solubilidad, la estabilidad frente a la luz o el oxígeno y ayudan a controlar la actividad química de las moléculas huésped [101]. Las CDs sustituidas, por ejemplo, Hidroxipropil-beta-ciclodextrina (HP β -CD), son esenciales por la eficiencia y eficacia en el control de olores [95, 102].

Asimismo, no es preferible el uso de CDs cuando la composición contenga materiales de perfume en gran cantidad y que la solución que se desea obtener sea clara. Cuando se usa en este tipo de situaciones, la solución acuosa se vuelve nubosa,

lo que lleva a decirse que esta turbia. Para contrarrestar este efecto, se deben utilizar otros materiales, como por ejemplo algún surfactante.

2.3.2 Conservantes y desinfectantes

En toda solución desinfectante o elimina olores se debe de tener elementos con actividad antimicrobiana. Un conservador efectivo debe de ser de amplio espectro, lo que significa que ataca tanto a bacterias Gram-negativas y Gram-positivas como a hongos. Un desinfectante con espectro limitado, que solo puede ser usado para un solo grupo de microorganismos, puede ser combinado con conservadores de amplio espectro o con otro conservador limitado, procurando tener capacidad biocida como biostática.

El agente antimicrobial que se vaya a usar debe ser efectivo a bajos niveles de concentración porque los conservadores orgánicos pueden formar compuestos de inclusión con las moléculas de CD y competir con las moléculas de los malos olores por las cavidades de esta, haciendo que sean inefectivas como activos que controlen el olor.

A continuación, se detallan varios tipos de desinfectantes, que, si bien no es una lista exhaustiva, estos cubren la gran mayoría de los que se usa en la actualidad [1, 2, 103-106].

A. Compuestos fenólicos: Pueden atacar a una amplia gama de bacterias, debido a que se considera como veneno protoplásmico grueso ya que altera las paredes celulares. Además, precipita a las proteínas celulares y cuando se presenta en bajas concentraciones inactiva los sistemas enzimáticos esenciales. Entre los microorganismos que ataca están incluidas *Pseudomonas aeruginosa* y el bacilo de la tuberculosis. Pueden ser efectivos aun en presencia de materia orgánica. Matan algunos virus, pero no a las esporas bacterianas. Su uso solamente está destinado a la desinfección ambiental ya que es tóxico para el ser humano, así como corrosivo para algunas superficies. Este tipo de desinfectante es barato.

B. Cloroxilenoles: A diferencia de los fenólicos, estos se inactivan con material orgánico, como con agua dura, pero no son irritantes. Cuando se adiciona agentes quelantes aumenta su actividad contra bacilos Gram-negativos.

C. Halógenos

C.1 Hipoclorito o compuestos clorados: Puede eliminar de manera inmediata a una gran variedad de microorganismos, incluidos los virus resistentes. No debe de ser usado en telas debido a que causa decoloración, puede dañar ciertos materiales, por ejemplo, algunos metales, plásticos y tejidos. Puede irritar la piel si no se usa equipo de protección y debe de manejarse con cuidado ya que no es compatible con algunos detergentes y mucho menos con ácidos.

Estos desinfectantes actúan liberando el cloro disponible. En forma diluida es inestable, pero si se le añaden bases como hidróxido de sodio se puede estabilizar. Al igual que las cloroxilenoles, se inactivan en presencia de suciedad, sangre, pus, etc.

Su mecanismo de acción se basa que cuando el hipoclorito entra en contacto con el agua se forma ácido hipocloroso. El ácido hipocloroso permite que el oxígeno se combine con el protoplasma celular y el cloro inhibe las actividades enzimáticas, destruyendo al microorganismo.

C.2 Yodo y yodóforos: Se pueden usar para desinfectar algunos equipos médicos semicríticos, pero pueden manchar las superficies y tener un olor desagradable. Una solución de yodo al 1% en alcohol al 70% es un antiséptico cutáneo preoperatorio eficaz. En algunas personas pueden producirse reacciones cutáneas; por esta razón, se suele preferir otro tipo de desinfectantes.

Los yodóforos son complejos de yodo y “solubilizantes” que, según se afirma, poseen la misma actividad que el yodo, pero no son irritantes y no manchan la piel. Algunos yodóforos pueden usarse para desinfectar el medio ambiente, pero son costosos y no se pueden recomendar para la desinfección general. El yodo es el único antiséptico que ha demostrado tener una útil acción esporicida sobre la piel [107].

Tienen alta actividad germicida contra Gram-positivas, Gram-negativas, varios virus y hongos y hasta esporas, siendo esto último solamente para concentraciones altas [108-110].

El mecanismo de acción del yodo libre es entrar en el microorganismo y unirse a los componentes celulares. Solo se necesita de 30 a 50 ppm para tener una acción desinfectante. La actividad antimicrobiana significativa se debe a la cantidad de yodo libre que tiende a aumentar después de diluirse. Asimismo, mata debido a la oxidación de aminoácidos [111].

D. Cuaternarios de amonio (Quats): Este tipo de compuestos se clasifican en generaciones de acuerdo al tipo de activo utilizado, mezclas y la calidad del mismo. La primera generación presenta la menor actividad biocida y muchas bacterias ya son resistentes a este producto. La segunda generación ya no se encuentra en el mercado. La tercera generación consta de mezclar a la primera generación con la segunda, por ejemplo, cloruro de benzalconio (primera generación) con cloruro de alquil dimetil bencil amonio (segunda generación). Este tipo de compuestos pueden prevenir la resistencia bacteriana por el uso continuo, además de tener una toxicidad baja lo que lo hace más seguro para el usuario, teniendo una mayor inhibición y detergencia. La cuarta generación también llamados “quats de cadena doble”, son cuaternarios de dialquilo sin anillo de benceno. Este producto es superior en su actividad germicida, son poco espumantes y no se desactivan tan fácilmente en presencia de material orgánico y aguas duras. La última generación es una mezcla de la cuarta generación con la segunda. Esta quinta generación tiene un mayor rendimiento en condiciones adversas y es segura de usar.

Son activos contra los organismos Gram-positivos, pero mucho menos activos contra los bacilos Gram-negativos y organismos fungis (Tabla 3). Se inactivan fácilmente con jabón, detergentes aniónicos y materia orgánica. Son de bajo costo y acción rápida. Su mecanismo se basa en adherirse a la pared celular y afectar a las proteínas y la membrana celular del microorganismo, inactiva a las enzimas productoras de energía y provoca su muerte.

Tabla 3: Espectro de acción de Compuestos de Amonio Cuaternario (QAC) [112].

Gram-positivas	Gram-negativas	Micobacterias	Virus lipídicos	Virus no lipídicos	Hongos	Esporas
+++	++	+	+++	+	++	+ / -

E. Clorhexidina: Este útil antiséptico para la piel es muy activo contra los organismos vegetativos Gram-positivos, pero menos activo contra los bacilos Gram-negativos. Es relativamente no tóxico, pero los jabones lo inactivan. Su uso hospitalario debe restringirse en la medida de lo posible a procedimientos que impliquen contacto con la piel o membranas mucosas; es demasiado caro para su uso medioambiental. Si se utiliza para la desinfección de objetos inanimados, la concentración no debe ser inferior al 0.2%.

F. Alcoholes: Los alcoholes tienen una eficacia alta y acción rápida si se presentan a concentraciones altas, como, por ejemplo, el alcohol etílico debe de estar a 70% en volumen. Desafortunadamente no cuentan con una actividad residual y no penetran en las superficies, su uso se rige en superficies limpias. Una ventaja es que permite un secado rápido sin dejar manchas en las superficies, pero eso significa que puede no permanecer el tiempo suficiente para acabar con los microorganismos.

El alcohol etílico es utilizado comúnmente en la desinfección de la piel, tanto en el curetaje de heridas como principal componente en gel antibacterial. La adición de otros bactericidas al alcohol no aumenta apreciablemente su efecto inmediato como antiséptico para la piel, pero con el uso repetido puede conducir a niveles más bajos de equilibrio de bacterias en la piel. Como alternativa se puede utilizar alcohol isopropílico al 60%, que es menos volátil que el etanol; y es un poco más eficaz en la piel.

Otras desventajas de los alcoholes es que son inflamables y pueden no tener declaraciones de tolerancia al suelo orgánico, lo que significa que pueden no ser efectivos cuando esté presente materia orgánica.

El mecanismo de acción de los alcoholes sobre los microorganismos se basa en la desnaturalización de las proteínas. Este mecanismo está respaldado por la observación de que el alcohol etílico absoluto, es menos bactericida que las mezclas de alcohol y agua porque las proteínas se desnaturalizan más rápidamente en presencia de agua [113, 114].

G. Aldehídos: En esta categoría, se considera al glutaraldehído y formaldehído; siendo este último muy irritante para ser usado. Este tipo de compuesto desinfectante es

activo contra las esporas, mucho mejor que los anteriormente mencionados. Para que pueda atacar a las esporas debe de estar en contacto con ellas durante al menos tres horas [2]. Tiene alta inhibición contra organismos vegetativos, incluidos los bacilos de la tuberculosis.

Cuando está en forma de solución alcalina debe de activarse y su duración no excede las dos semanas de estabilización [115]. En cambio, las soluciones ácidas son más estables, pero pueden inactivarse al aumentar la temperatura de 50-60 °C.

La actividad biocida del glutaraldehído resulta de su alquilación de grupos sulfhidrilo, hidroxilo, carboxilo y amino lo que altera la síntesis de ARN, ADN y proteínas en el microorganismo. Por lo tanto, el glutaraldehído desnaturaliza las proteínas celulares al reaccionar con los componentes celulares [116, 117].

K.- Compuestos anfóliticos: Estos compuestos combinan propiedades detergentes y antibacterianas. Son similares a los QAC y pueden ser valiosos en la industria alimentaria, pero son caros.

L.- Peróxido de hidrógeno: El peróxido de hidrógeno a menudo se mezcla con ácido peracético para lograr propiedades desinfectantes específicas. El peróxido de hidrógeno se combina y oxida la materia necrótica y las bacterias. Estos oxidantes fuertes pueden ser altamente reactivos si se mezclan con otros químicos o entran en contacto con varias superficies. Su rango de eficacia es muy amplio, pero es muy inestable y en concentraciones elevadas son peligrosos [118, 119].

M.- Aceites esenciales: Una gran variedad de plantas, flores y hojas de ciertos arbustos y árboles tienen gran diversidad de compuestos con propiedades bactericidas, antifúngicas y antivirales, que dependiendo de su concentración y del compuesto pueden ser o no irritantes y hasta tóxicos para el ser humano y el ambiente.

El aceite de pino no es tóxico y puede considerarse muy poco irritante, pero su capacidad para inactivar microorganismos es muy baja, en particular *Pseudomonas aeruginosa* [2]. Es de los pocos desinfectantes naturales que puede conseguirse fácilmente como producto comercial, pero no es un producto viable para usarse como

desinfectantes en hospitales por su bajo poder de acción y por los residuos generados del aceite.

En el trabajo presentado en [120] se investigó los efectos que tenían diez aceites esenciales contra *Solobacterium moorei* así como la disminución en la concentración de H₂S generado por el mismo microorganismo. En cuanto a los resultados obtenidos, de los diez aceites esenciales probados, se descubrió que el aceite de canela es el más poderoso contra *S. moorei* con valores MIC (concentración mínima inhibitoria) y MBC (concentración bactericida mínima) de 0.039% y 0.156%, respectivamente. Se encontró además que el aceite podía reducir la formación de biopelícula aún a concentraciones menores al MIC, así como disminuir a las preformadas. Finalmente, el aceite de canela tuvo un efecto inhibitorio sobre la producción de H₂S lo que significa que también puede tener propiedades elimina olores.

Guynot y colaboradores [121] investigaron las fracciones volátiles de 16 aceites esenciales para la actividad contra los hongos *Eurotium amstelodami*, *E. herbariorum*, *E. repens*, *E. rubrum*, *Aspergillus flavus*, *A. niger* y *Penicillium corylophilum*; hongos comunes que se forman en productos de panadería. Los que presentaron una inhibición del 100% en todos los microorganismos cultivados fueron los aceites de las hojas de canela, clavo, laurel, hierba de limón y tomillo.

El eugenol, es un aceite esencial obtenido del clavo, canela y otras especies que tiene excelentes propiedades antimicrobianas, pero como es termosensible no es posible utilizarlo en procesos que manejen altas temperaturas. De acuerdo con [122], se propuso un método para proteger este aceite encapsulándolo en β -CD obteniéndose resultados favorables contra las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* a través de la técnica de difusión en agar.

El tratamiento térmico utilizado constó de mantener el complejo en un horno a 80°C (temperatura aproximadamente dos veces la temperatura de la volatilización libre de eugenol) durante 2 h y posteriormente evaluar su actividad antimicrobiana. Se encontró que las moléculas de eugenol encapsuladas se protegieron térmicamente, permanecieron en los complejos después del tratamiento con calor y manifestaron la actividad antimicrobiana de este aceite esencial. Por lo tanto, la encapsulación con β -CD

es un método prometedor para proteger el eugenol y probablemente otros aceites esenciales.

En la Figura 3 se muestran los medios de cultivo después del tratamiento térmico y la colocación del complejo de estudio.

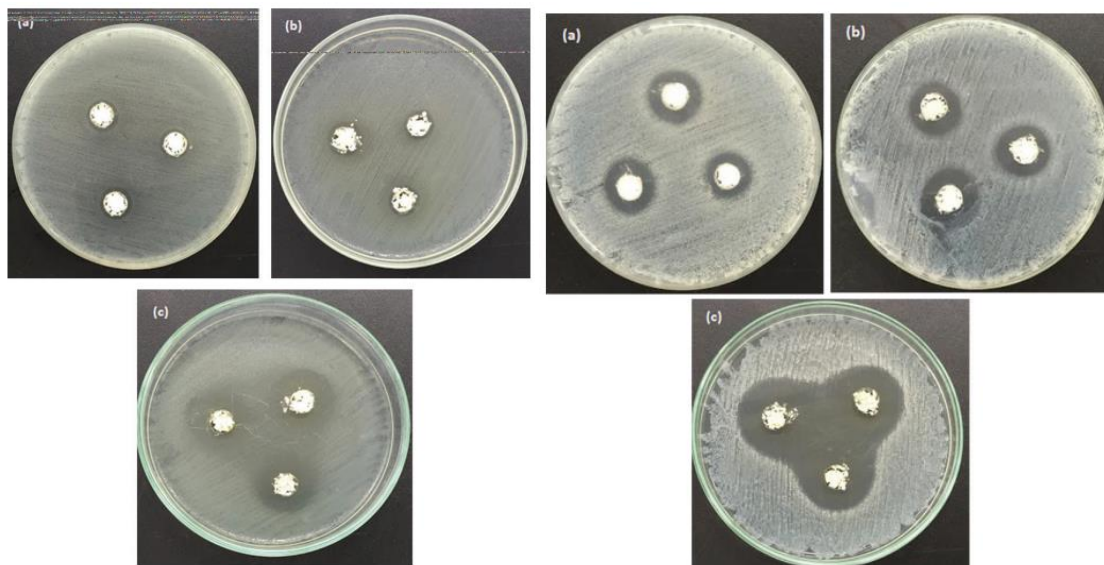


Figura 3: Capacidad antibacteriana del complejo, (derecha) *E. coli* e (izquierda) *S. aureus* [122].

De una gran variedad de aceites esenciales (citronela, lavanda, clavo, limón, naranja, menta, romero, orégano), el aceite de orégano comprende una mezcla compleja de compuestos antimicrobianos, con propiedades casi ideales. Los flavonoides fenólicos carvacrol y timol son dos potentes agentes antisépticos naturales que se encuentran principalmente en este aceite esencial. El aceite de orégano ejerce un alto grado de acción antifúngica, antiparasitaria, antiviral y antibacteriana. [123].

Una de las grandes dificultades en el uso de aceites esenciales para formular desinfectantes es su incorporación a soluciones acuosas debido a su baja miscibilidad por su naturaleza hidrófoba. En este caso se debe de hacer uso de un surfactante.

En la Tabla 4 se muestra una comparación de formulaciones utilizando diversos aceites o compuestos derivados de plantas con su respectiva reducción de la carga bacteriana donde se aprecia que al utilizar ya sea timol, carvacrol y aceite de orégano se obtiene la mayor disminución de microorganismos.

Tabla 4: Efecto de diversos aceites esenciales y compuestos fenólicos de origen natural en *S. aureus* [123, 124].

Agente antimicrobiano	Secuestrante	Surfactante	Solvente	Log reducción
Timol	0.01	0.12	0.18	7.63
Carvacrol	0.01	0.12	0.18	7.63
Eugenol	0.01	0.12	0.18	2.50
Citral	0.01	0.12	0.18	2.04
Ac. orégano	0.01	0.12	0.18	7.63
Ac. eucalipto	0.01	0.12	0.18	0.71
Ac. Limón	0.01	0.12	0.18	0.64
Ac. tomillo	0.01	0.12	0.18	3.06

En la Tabla 5 se observa la concentración mínima a la que se puede obtener una actividad antimicrobiana total para compuestos fenólicos seleccionados de origen natural y aceites esenciales. Como se puede apreciar en los resultados, otra vez, tanto el aceite esencial de orégano y sus compuestos (timol y carvacrol) obtuvieron el mejor resultado.

Tabla 5: Concentración mínima de acuerdo al método AOAC 955.15 de la EPA [123, 124].

Agente antimicrobiano	Concentración mínima (v/v%)
Timol	0.07
Carvacrol	0.07
Eugenol	0.4
Citral	>1%
Ac. Orégano	0.2
Ac. Eucalipto	>1%
Ac. Limón	>1%
Ac. Tomillo	0.3

Otros estudios demuestran el efecto antimicrobiano del aceite de orégano contra varias bacterias y hongos, incluidos estafilococos y *Staphylococcus aureus* resistente a la metilina (MRSA), *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* [125], *Streptococcus*

pneumoniae [126], *Corynebacterium xerosis* [127], *A. niger* y *Candida albicans* [128]. Lo que demuestra su alto poder antibacteriano como antifúngico.

En otro trabajo [129] utilizaron de 0 a 5% v/v de aceite de orégano con un alto contenido de carvacrol (73.5% w/v) a una base de surfactantes para generar jabón y evaluar su poder antimicrobial contra *Salmonella entérica*, *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Listeria monocytogenes*. Obtuvieron que se generaba una mayor reacción inhibitoria contra bacterias Gram-negativas y que su capacidad era casi igual a un jabón comercial con capacidad antimicrobial. Desafortunadamente, no probaron si el aceite de orégano actuó como el único inhibidor eficaz o si es que hubo rol de aditivo o sinérgico con los componentes del jabón. Los autores concluyeron que el aceite esencial de orégano tiene un gran potencial antimicrobial y puede ser una buena alternativa para sustituir al triclosán y al cloroxilenol. Además, puede ser un efectivo descontaminante de superficies que entran en contacto con alimentos.

En el estudio [130], colocaron 0, 4, 8, 16 y 32% de aceite esencial de orégano en soluciones antisépticas quirúrgicas en quince voluntarios y compararon su inhibición contra povidona yodada ante *Staphylococcus spp* y *Difteroides spp*. Tomaron impresiones de la yema de los dedos en placas de agar en el tiempo cero, justo después del tratamiento de las manos y tres horas después de usar guantes quirúrgicos estériles sin polvo. El tratamiento con 32% de aceite esencial de orégano tuvo resultados un poco mejores o equivalentes a la antisepsia con exfoliante convencional de povidona yodada de manera inmediata. La concentración de 16% tuvo un buen efecto inhibitorio después de 3 horas. Finalmente, los autores sugieren que se podría usar el aceite esencial de orégano como un antiséptico natural, biodegradable y ecológico.

En el trabajo presentado por Lee y et al [131], se analizaron 79 aceites esenciales para determinar su capacidad antibiofilm contra *Escherichia coli* uropatógena (UPEC). Entre todos ellos, se identificó que el aceite de orégano y aceite de tomillo rojo tenían los mejores resultados. Además, se determinaron cuáles compuestos eran los que generaban dicha capacidad inhibitoria, en donde carvacrol y timol tuvieron mayor relevancia (concentración inhibitoria <0.01%). Los hallazgos presentados fueron respaldados por otra serie de pruebas donde tanto el timol como el carvacrol redujeron

la producción de fimbrias y la motilidad de enjambre de UPEC. Además, disminuyeron notablemente la capacidad hemaglutinante de UPEC, cuando el carvacrol y timol estaban presentes en la sangre entera humana.

Los autores de [132], aislaron las bacterias y fúngicos asociados a la otitis externa canina e investigaron la eficacia in vitro del aceite de orégano, aceite de tomillo y sus principales componentes fenólicos. Entre los microorganismos había cepas resistentes a meticilina y a antimicrobianos. Los resultados mostraron que para las bacterias Gram-positivas y *P. mirabilis* los valores de MIC₉₀ variaron de 0.015 a 0.03% y para *P. aeruginosa* y *M. pachydermatis*, los valores de MIC₉₀ variaron de 0.09 a 0.25%. Los investigadores sugirieron realizar pruebas in vivo para comprobar su tratamiento.

También se han encontrado resultados prometedores contra virus. Un ejemplo de lo anterior se muestra en [133]. Con base en los resultados, la eficacia antimicrobiana del aceite de orégano, en especial del carvacrol, contra el *Murine norovirus* (MNV), un virus no envuelto es bastante alta. El carvacrol, mostró reducciones cercanas a 4^{-log10} durante 1 h de exposición. De acuerdo a las observaciones de los autores, el aceite de orégano y el carvacrol hacen que la cápside viral pierda su integridad, en lugar de simplemente inhibir la infectividad uniéndose a la cápside y evitando la adsorción del virus a las células huésped. Ellos indican que es probable que esto sea irreversible y, por tanto, una verdadera inactivación del virus. Concluyen que probable los mecanismos de acción antibacterianos sean bastante diferentes debido a la mayor complejidad de las estructuras y componentes de la pared celular bacteriana; no obstante, existe alguna evidencia de que el carvacrol también actúa directamente sobre las membranas/paredes celulares bacterianas [134-136].

N.- Otros: El nitrato de plata y otros compuestos de plata (por ejemplo, sulfadiazina de plata) tienen un lugar valioso como antisépticos tópicos en la profilaxis contra la infección de quemaduras [137, 138]. Actualmente se utilizan nanopartículas de plata y de otros metales (cobre y óxido de zinc) por sus propiedades bactericidas y bacteriostáticas, pero desafortunadamente no se encuentran completamente introducidas al mercado y debido al tamaño de partícula, han sido señalizados como dañinos para el ser humano [139, 140].

Recientemente, las nanopartículas de plata (AgNPs) se han investigado ampliamente debido a sus características físicas, químicas y biológicas superiores, y esto debido principalmente al tamaño, forma, composición, cristalinidad y estructura de los AgNPs en comparación con sus formas a granel [141-144]. La plata tiene propiedades fascinantes, siendo un material de bajo costo, pero debido a su baja estabilidad, mayormente en presencia de especies oxidantes se ha limitado su aplicación [145]. Las AgNPs, por lo tanto, tienen un potencial no realizado en comparación con las nanopartículas de oro relativamente estables [143].

En todas las nanopartículas, sus propiedades físicas, ópticas y catalíticas están fuertemente influenciadas por el método de síntesis, agentes reductores y estabilizadores; ya que este a su vez influyen en el tamaño, distribución, forma morfológica y propiedades superficiales [146, 147]. Pueden obtenerse morfologías tan variadas en las AgNPs, como varillas, triángulos, esféricas, octaédricas, poliédricas, etc. [148].

Una de las principales aplicaciones de las AgNPs es en el campo biomédico debido a su fuerte actividad bactericida. También es usado para desinfectar cuerpos acuíferos, efectos catalíticos, implantes, tratamientos de heridas y quemaduras, hasta en recubrimientos de textiles [8, 13, 14, 16, 23, 24, 149]

El mecanismo principal de las AgNPs con respecto a su actividad antimicrobiana se puede simplificar a su alta tasa de liberación de iones de plata correlacionada a su forma, agente estabilizante, estado coloidal y principalmente a su tamaño. A un menor tamaño, es más factible que entre en contacto con los receptores de los microorganismos. Desafortunadamente, también muestra mayor toxicidad debido a su alta energía superficial [150].

Las AgNPs en un ambiente acuoso se oxidan en presencia de oxígeno y protones, liberando iones Ag^+ a medida que se disuelve la superficie de la partícula [151]. Esta liberación de iones se acelera debido a la forma y a la temperatura en la que se encuentren las NPs en una solución [152, 153].

Asimismo, el efecto citotóxico de las AgNPs surge en un rango de concentración similar tanto para las bacterias como para las células humanas [154]. Por lo tanto, debe de buscarse controlar los factores que favorecen a la actividad antimicrobiana sin dañar la salud de las personas para poder incorporarlo como tratamiento en la medicina clínica [155].

Por otro lado, se ha demostrado que la presencia de cloro, tioles, azufre y oxígeno tiene un fuerte impacto en la tasa de liberación de iones de plata [156]. Se puede generar la muerte celular dañando la respiración celular cuando los iones de plata interactúan con los grupos tiol en las enzimas y proteínas críticas.

La potente actividad citotóxica, antibacterial, antiviral y antifúngica también se debe a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y radicales libres como anión superóxido (O_2^-), peróxido de hidrógeno (H_2O_2), radical hidroxilo (OH), ácido hipocloroso (HOCl) y oxígeno singlete [157], ya que se genera otro mecanismo de las AgNPs que causa un proceso de muerte celular por la generación de poros en la pared celular [158]. Por lo tanto, las AgNPs pueden anclarse a la superficie de la pared celular bacteriana y penetrarla para provocar cambios estructurales en la membrana o aumentar su permeabilidad, todo lo cual desencadena su muerte.

En resumen, Las cuatro rutas principales del mecanismo citotóxico de las AgNPs se ilustran en la Figura 4.

La capacidad antimicrobiana de las AgNPs esta correlacionada también con el tipo de especie bacteriana. Las bacterias Gram-negativas son más susceptibles que las Gram-positivas debido a su arquitectura, grosor y composición de su pared celular, en específico por la capa peptidoglicano que se encuentra cargada negativamente de 3 a 5 nm y 30 nm respectivamente [159, 71, 160]. Estas diferencias estructurales, incluido el grosor y la composición de la pared celular, explican por qué el *S. aureus* Gram-positiva es menos sensible a las AgNPs y el *E. coli* Gram-negativa muestra una inhibición sustancial incluso a una concentración baja de AgNPs [10, 17].

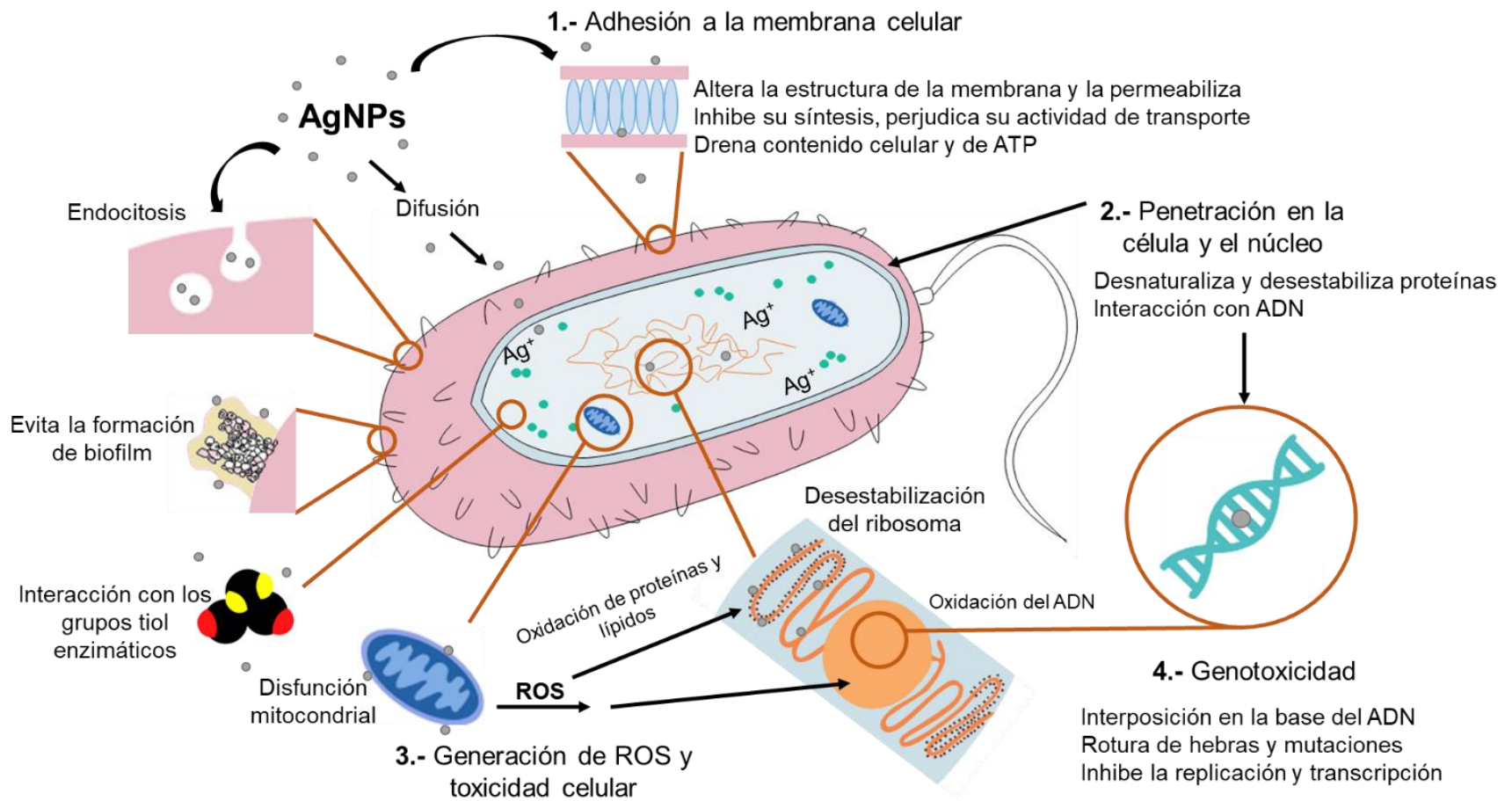


Figura 4: Representación de las cuatro rutas principales del mecanismo citotóxico de las AgNPs.

Las nanopartículas de cobre (CuNPs) también tienen una amplia gama de actividad antimicrobiana contra una mayor variedad de microorganismos, tanto Gram-negativas y Gram-positivas, virus y hongos [161-163]. Actualmente, el cobre es el único metal registrado por la EPA para ser utilizado por sus propiedades antimicrobianas [164].

El modo de acción de las CuNPs es de diferentes formas; inactivar las enzimas, generar peróxido de hidrógeno, dañar la membrana y unirse con las moléculas de ADN de los microbios, interrumpiendo así la estructura bicatenaria [165, 166]. La información detallada se proporciona en el artículo de Avinash P. Ingle [167].

Se ha demostrado que varios factores, como la temperatura, el pH, la concentración de bacterias y NP, así como la aireación, pueden promover el mecanismo de toxicidad de las NP de Cu [168, 169]. Estas NPs contra Gram-negativas realizan una adhesión de la pared celular por interacciones electrostáticas, con compuestos que contienen fósforo y azufre y desnaturalizando las proteínas [170]. De acuerdo a la actividad antimicrobiana de las NPs de cobre observadas en [165], recomiendan su posible aplicación en el campo de la conservación de alimentos, especialmente previniendo la contaminación microbiana de frutas y verduras recién cortadas y listas para consumir [171].

También es posible obtener nanoestructuras más complejas. En [172] sintetizan por método químico una especie de coloide/líquido bimetálico de cobre y plata. Estas nanopartículas tuvieron tamaños ≤ 10 nm con una alta propiedad antimicrobiana contra *Escherichia coli* y *Candida albicans*, con MIC de 0.5 ppm y 1 ppm respectivamente. Comparando en medio acuoso, su capacidad aumentó 6 y 10 veces.

Los autores de [173], diseñaron y sintetizaron por medio de co-reducción en un solo paso, nanopartículas bimetálicas de cobre como núcleo y plata como cascara de forma esféricas y diámetro controlado que variaban de 70 a 100 nm. Probaron dichas nanopartículas en cepas Gram-positivas y Gram-negativas comprobaron su actividad antibacteriana de amplio espectro. Encontraron que la actividad antimicrobiana es dependiente de la dosis aplicada y que existe una mayor acción en las NPs de 70 nm que en las de 100 nm.

Como innovación, mostraron que el mecanismo antibacteriano no se regía por el género bacteriano, pero sí podría ser por el tipo de célula, morfología, capacidad de crecimiento y capacidad de absorción de NPs. Además, las Ag @ CuNPs fueron altamente toleradas por fibroblastos humanos, principalmente por el uso de almidón como taponador y estabilizador glucosídico, lo que sugiere una biocompatibilidad y actividad óptimas para usarlo en el transporte de medicamentos en el sistema humano o alguna otra particularidad biomédica.

Al igual que la plata, los óxidos metálicos de zinc (Zn) como el óxido de zinc (ZnO) han recibido una atención cada vez mayor como materiales antibacterianos, esto debido a su estabilidad bajo duras condiciones de procesamiento [174]. De hecho, los semiconductores de ZnO han sido estudiados como agente antimicrobiano por su actividad fotocatalítica bajo luz ultravioleta [175].

Padmavathy y col. [176] mostraron que las nanopartículas de ZnO eran más abrasivas que en su forma bulto, debido al mayor daño mecánico a la membrana celular y al efecto bactericida mejorado producido por las nanopartículas de ZnO [177].

De acuerdo a Itqedar et al. [178] obtuvieron ZnONPs a partir de síntesis verde de 18 bacterias aisladas, en diferentes condiciones, utilizando además diversas sales y surfactantes para estabilizar y encontraron que todas eran capaces de generar ZnONPs, con una mayor presencia a partir de *Bacillus cereus* MN181367. Finalmente se probó su actividad inhibitoria (Figura 5) contra *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y *Salmonella typhi*. Las nanopartículas tuvieron tamaños entre 50 nm con un potencial Z de - 7.39 mV, pero en otro estudio reportado informan que se pueden obtener nanopartículas con carga negativa con el mismo organismo con un valor de 23.92 mV lo que exhibe una buena estabilidad [179].

Por otro lado, Mahendiran et al [180] informaron que las ZnONPs biosintetizadas utilizando extractos de plantas de *Aloe vera* e *Hibiscus sabdariffa* mostraron propiedades antibacterianas más altas para las bacterias Gram-positivas y Gram-negativas probadas

(*E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomona aeruginosa* y *Staphylococcus aureus*) que las ZnONPs sintetizadas químicamente.

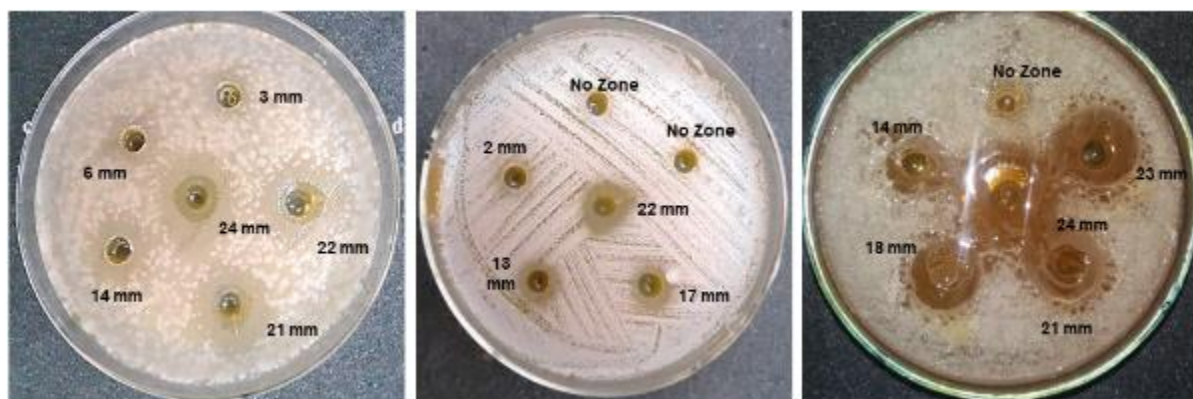


Figura 5: Zonas de inhibición de ZnONPs contra *Escherichia coli* BTCB201 (izquierda), *Staphylococcus aureus* BTCB203 (centro) y *Salmonella typhi* BTCB202 (derecha) [178].

La mayor actividad de las ZnONPs biosintetizadas, según ellos, se debe a la presencia de biomoléculas cubiertas en la superficie, como flavonoides y compuestos fenólicos, que a su vez tienen propiedades antimicrobianas. En la Figura 6 se muestran los halos de inhibición obtenidos en cada síntesis.

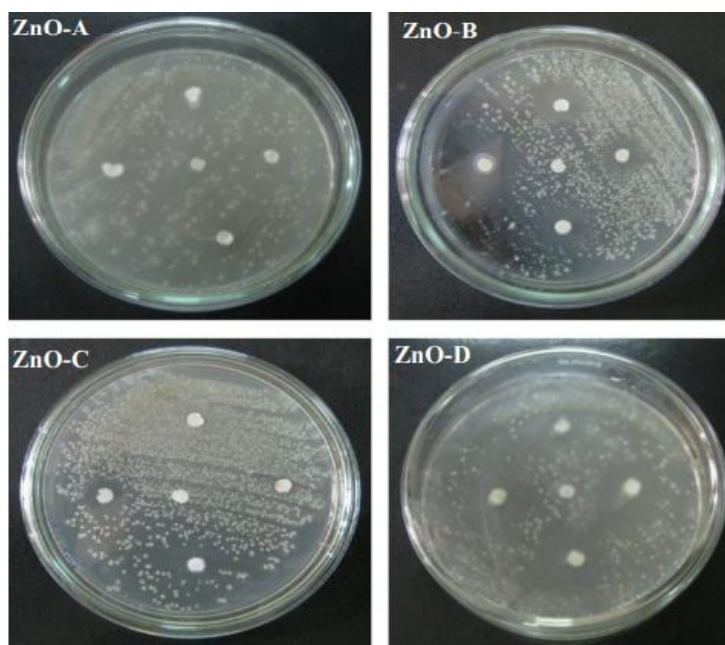


Figura 6: Halos de inhibición de ZnONPs sintetizadas A) químicamente, B) extracto de hojas de Aloe Vera, C) gel del Aloe Vera y D) extracto de las hojas de *Hibiscus Sabdariffa* [180].

En el trabajo de Kassegn [181] se explica a mayor detalle el mecanismo de acción de las nanopartículas de óxido de zinc.

En el trabajo [21] sintetizaron AgNPs para colocarlas en una matriz de papel compuesta por fibras cerámicas y ZnONPs en forma de whiskers. Las fibras con ZnONPs se prepararon con una técnica de alta velocidad y bajo costo para finalmente sumergirla en una solución de AgNO_3 por 6 horas. Las AgNPs generadas en los lugares donde había bigotes de ZnONPs tuvieron tamaños entre 5 a 20 nm y su formación se debió a un intercambio iónico selectivo entre estas especies y la foto-reducción simultánea y mediada por ZnO bajo irradiación de luz natural. Se hicieron ensayos antibacterianos con el método de difusión en disco en *Escherichia coli*, donde se colocó un pedazo de papel con solución de AgNO_3 , otro conteniendo solamente polvo de Ag, un tercero con el material obtenido en este trabajo y finalmente uno libre de Ag.

Como se puede apreciar en la Figura 7, se obtuvieron actividades antimicrobianas mayormente notorias en el material compuesto y nulas cuando la matriz de papel solo contenía ZnONPs. Además, después de cinco ciclos de lavado se siguió obteniendo una actividad residual inhibitoria de 17 mm. Los autores concluyeron que este material obtenido permite inmovilizar a las nanopartículas altamente activas de plata por lo que puede ser un material prometedor para usarse como papel con la función antibacteriana.

Otros autores [182] que también desarrollaron Ag@ZnO NPs lo utilizaron para preparar tejidos de algodón autolimpiables por medio de un proceso de mineralización mediado por poliaminas. La nucleación de las ZnONPs se realizó directamente en una solución de sales de zinc. Las poliaminas que quedaron atrapadas en la matriz de ZnONPs actuaron como agente reductor de las AgNPs. De acuerdo a los autores, la presencia de nanopartículas de Ag no solo permite que los tejidos recubiertos de ZnO exhiban una propiedad foto-catalítica mejorada, sino que también permite actividades impulsadas por la luz visible contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas.

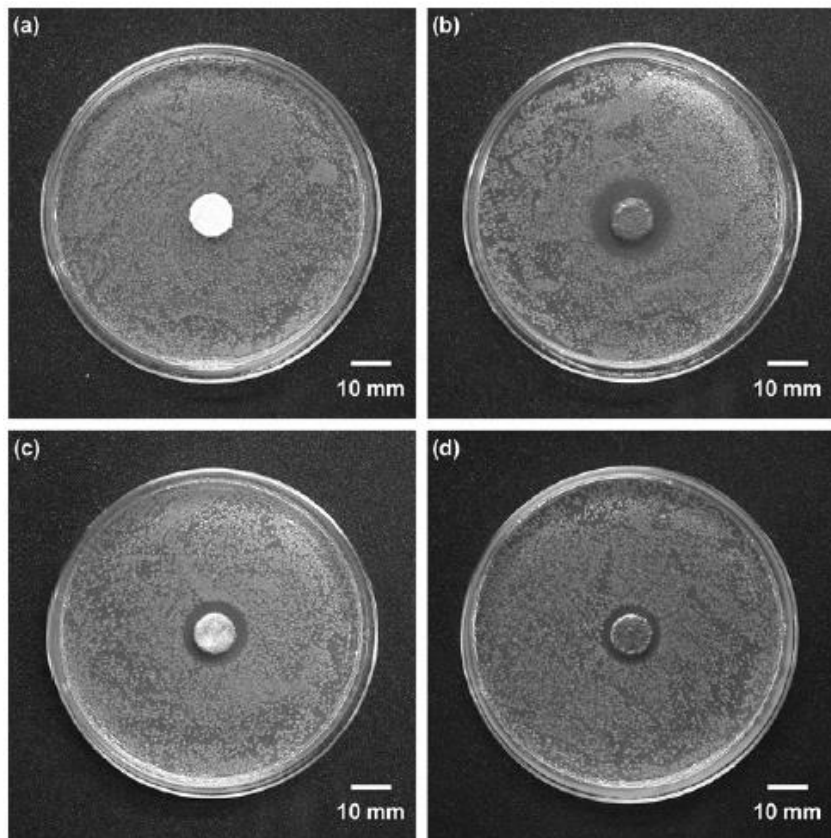


Figura 7: Imágenes ópticas de la zona de inhibición de a) papel con ZnO libre de Ag, b) papel con AgNPs@ZnO, c) papel libre de ZnO impregnado de AgNO₃ y d) papel que contiene plata en polvo [21].

De hecho, en la patente [183] sintetizaron un nanocompuesto de plata-óxido de zinc, en un proceso de tres etapas. Se obtienen primero las ZnONPs y estas se incorporan a una solución de AgNO₃ para finalmente generar las Ag@ZnONPs. En este caso los autores decidieron generar estas nanopartículas ya que las ZnONPs son estables térmicamente, no causan volatilidad o descomposición, no son tóxicas para el ser humano; tanto la plata como el zinc son económicos y tienen altas propiedades antibacterianas (0.35 mM). Por lo anterior, este material compuesto pudiera ser utilizado como agente antibacteriano o desinfectante bajo irradiación UV. Además, los autores promueven el hecho de combinar con sulfato de cobre para obtener una composición ZnONPs-CuONPs aunque ellos no lo hayan realizado.

2.3.3 Surfactantes y polioles de bajo peso molecular

Ahora bien, otros de los compuestos utilizados en composiciones desinfectantes o elimina olores son los surfactantes. Los surfactantes tienden a proporcionar una acción antimicrobiana mejorada [96].

Evidencia de lo anteriormente dicho se expone en la patente [184]. En este trabajo utilizaron surfactantes de la línea Silwet L-7600, Pluronic y Tetronic; con grupos oxipolialquileno, grupos de óxido de etileno y óxido de propileno, respectivamente.

Lo interesante en esta patente, como ya se mencionó, es la presentación de pruebas y resultados obtenidos en diversas composiciones sobre la sinergia de desinfección de los antimicrobianos y surfactantes en presencia y ausencia de ciclodextrina, en específico de la HP β -CD, en intervalos de 5, 10 y 15 minutos. Los microorganismos estudiados fueron *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus cholerae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Los resultados mostraron que los surfactantes pueden mejorar la reducción de las bacterias en comparación con la clorhexidina sola, especialmente en *S. aureus*.

Finalmente, concluyeron que la presencia del surfactante promueve la diseminación de la solución y que el activo antimicrobiano proporcionó un mejor control del olor al minimizar la formación de dichos olores.

Lo anterior se puede explicar debido a que un surfactante compatible con la mayoría de los elementos presentes en la composición, proporciona una baja tensión superficial que permite que la composición se propague fácilmente y de manera más uniforme sobre superficies hidrófobas como el poliéster y el nailon, así como en suelos hidrófobos y aceitosos lo que mejora tanto el poder antimicrobiano y control de olores al llegar a lugares o huecos húmedos con las condiciones para la generación de vida bacteriana. Una solución acuosa sin dicho agente tensioactivo, no se propagará satisfactoriamente [5]. Además, la distribución de cualquier composición permite que la solución se seque más rápido, lo que ocasiona que el artículo impregnado pueda usarse antes.

Como se había mencionado, las CDs no pueden absorber completamente en su cavidad moléculas pequeñas. Este problema se resuelve al agregar polioles de bajo peso molecular a la composición. Si hablamos estrictamente del propilenglicol, además de la propiedad de ayudar a la CD en la formación de los complejos de inclusión, también tiene la capacidad de humectar y de lubricar la superficie en la que se vaya a depositar; así como actuar como emulgente, conservante y disolvente, etc.

En el estudio presentado por Jahromi [185] exploraron la influencia de ciertos surfactantes de tipo aniónico tanto en la evaporación a temperatura ambiente de la solución como de su eficiencia virucida contra SARSCoV-2. Elaboraron 12 soluciones donde los componentes utilizados fueron etanol, isopropanol, dodecilsulfonato de sodio (SDBS), lauril sulfato de sodio (SLS), glicerina, jabón líquido para manos, lavavajillas y agua de dureza estandarizada (WSH). De acuerdo a los resultados presentados, el surfactante ayudó significativamente en el tiempo de evaporación de las soluciones, así como en la inactivación del virus. La solución S8 (70% de isopropanol, 3% de jabón de mano y 27% de WSH) obtuvo mayor eficiencia con un tiempo de evaporación de 55 s y un factor de reducción de 7.8.

En general, con la adición de los surfactantes, el tiempo de evaporación aumentó entre un 17% y un 63% y se mejoró la eficacia virucida entre un 15 y un 27% en comparación a parámetros de control. Por lo anterior, se afirma que existió un efecto sinérgico entre los tensioactivos y los alcoholes lo que permite generar soluciones desinfectantes más simples con mejores resultados.

Además, los polímeros solubles en agua, por ejemplo, polímeros catiónicos y aniónicos, pueden proporcionar beneficios adicionales de control del olor. Los polímeros catiónicos o mezclas pueden contener grupos funcionales de amino o amido, como ciertos olores de tipo ácido. Estos compuestos catiónicos son capaces de complejar o secuestrar moléculas causantes de olores, además de que pueden limpiar el aire haciendo que las partículas desagradables floculen y se eliminen. Algunos ejemplos de componentes catiónicos son:

- Óxidos de amina y derivados.

- Compuestos cuaternarios tanto como el cloruro de dimetil didecil amonio (tercera generación) como el cloruro de benzalconio (primera generación).
- Compuestos anfóteros (Betaínas o cocobetaínas, cocoamidopropil-betaína, etc.).
- Aminas o sales de amina

Otro tipo de surfactante que por sí solo proporciona beneficios al eliminar olores, son los no iónico. Ejemplos de este tipo son los compuestos etoxilados, alcoholes etoxilados, polisorbatos etoxilados (Tween 20 u 80), polisiloxanos de óxido de polialquileño (dimeticona o PDMS), así como dietilenglicol, propilenglicol, polietilenglicol, alcohol graso etoxilado o de etileno, etc.

Dentro de esta categoría se pueden incluir los adyuvantes de solubilidad, que se utilizan para solubilizar cualquier exceso de materiales orgánicos hidrófobos, por ejemplo, perfume o aceites esenciales, que no sean fácilmente solubles en la composición, para formar una solución clara. Un coadyuvante de solubilización adecuado es un agente tensioactivo, preferiblemente un agente tensioactivo no espumante o poco espumante. Los tensioactivos adecuados pueden ser emulsionantes y/o tensioactivos detergentes o una mezcla de todos ellos.

2.3.4 Acarreador

Tanto para el control de olores como en la desinfección es necesario que los ingredientes activos se solubilicen y se dispersen en un vehículo acuoso con el fin de ser el medio para transportar a dichos ingredientes al área de acción. Un acarreador acuoso proporciona la máxima separación de las moléculas de las materias, por lo tanto, maximiza la posibilidad de que una molécula de olor o microorganismo interactúe con una molécula en la solución. Un portador acuoso también es beneficioso porque proporciona un medio conveniente y limpio para suministrar a los materiales activos a la dosis deseada a sitios que no son tan directos de aplicar.

El vehículo preferido en el desarrollo de soluciones de esta índole es el agua. El agua no solo sirve como acarreador, también puede impartir un grado de poder de limpieza en sí mismo mediante el lavado de los desechos de las células de la piel y las

secreciones cutáneas de las que se alimentan las bacterias, así como las bacterias mismas.

Recientemente se ha descubierto que el agua tiene un efecto inesperado para controlar el olor. La intensidad del olor generado por algunas aminas, ácidos y mercaptanos orgánicos polares y de bajo peso molecular se reduce cuando los tejidos contaminados con olor se tratan con una solución acuosa. De acuerdo a [184] se cree que el agua solubiliza y deprime la presión de vapor de estas moléculas polares reduciendo así su intensidad de olor.

2.3.5 Fragancias o esencias

En algunos productos añaden un perfume a la composición para proveer una *señal de olor* en forma de un olor placentero con signos de remoción de malos olores en específico en telas y ambiente. Esta señal de olor es diseñada para proveer una fugaz o efímera esencia de perfume, y no es designado para ser abrumador o como ingrediente enmascarador de olores. Cuando el perfume es añadido como una señal de olor, solamente se incorpora en niveles bajos comprendidos preferentemente entre 0.005% a 0.2% en peso de la composición.

Al utilizarse perfumes en este tipo de soluciones, su principal objetivo es ambientar y no enmascarar o tratar de eliminar el olor; por lo cual, la cantidad utilizada, así como el coste de producción y problemas ocasionados por la formación de compuestos desagradables al mezclarse el perfume con los malos olores, disminuyen drásticamente.

Actualmente, las fragancias de vanguardia que se encuentran en el mercado contienen aceites esenciales que han demostrado tener una alta actividad antimicrobiana mientras proporcionan una sensación agradable en el olfato. Por ejemplo, el té verde presenta actividad antibacteriana contra las bacterias responsables de la enfermedad periodontal, caries dental y reduciendo la halitosis, por lo tanto, disminuyendo y controlando malos olores. [186]. Los autores explicaban que la reducción del nivel de Compuestos Volátiles Sulfurados (VSC) después de usar té verde o enjuague bucal con placebo se debía a la acción del enjuague que es capaz de eliminar bacterias intraorales, células descamadas o restos de tejido. Aunque las catequinas del té verde pueden

transformar VSC en compuestos no olorosos a través de la reacción con grupos sulfhidrido y amino de VSC [187], el efecto de lavado podría enmascarar esta capacidad.

En otro estudio [188] se demostró que el té verde inmediatamente después de administrarse a un grupo de personas con halitosis presentó mayor reducción en la concentración de gases de sulfuro de hidrógeno (H_2S) y metilmercaptano (CH_3SH); mayormente este último, que los demás productos probados (pasta de dientes, menta, aceite de semilla de perejil y goma de mascar). Sin embargo, no se observó reducción a la primera, segunda y tercera hora después de su administración. El producto de goma de mascar, mentas y aceite de semilla de perejil no redujo la concentración de VSC en el aire de la boca en ningún momento. La pasta de dientes, las mentas y el té verde inhibieron fuertemente la producción de VSC en un sistema de putrefacción de saliva, pero la goma de mascar y el aceite de semilla de perejil no pudieron inhibir la putrefacción de la saliva. La pasta de dientes y el té verde también demostraron fuertes actividades desodorantes in vitro, pero no se observaron actividades desodorantes significativas en los demás.

En una revisión de la literatura disponible por parte de [189], se encontró el efecto del enjuague bucal con té verde, en comparación con el valor inicial, siendo este estadísticamente significativo. Otros estudios in vivo e in vitro respaldan la efectividad del té verde para reducir la halitosis. Zhou y col. en su estudio in vitro demostraron la capacidad del té verde para eliminar azufres odorizantes [190]. Los resultados de Lodhia et al. [188] apoya el efecto adverso del té verde sobre el mal olor oral. Según este estudio in vivo, el té verde redujo la concentración de H_2S y CH_3SH específicamente después del consumo. Es importante porque CH_3SH está más relacionado con la halitosis que con el H_2S . De acuerdo con lo encontrado, el mecanismo de desodorización de galato de epigalocatequina (EGCG) se basa en la reacción con CH_3SH , en la que metiltio y/o un grupo metilsulfinilo reacciona con el anillo B de EGCG. En este proceso, se agrega un grupo metiltio a la forma de ortoquinona de catequina (oxidada con oxígeno atmosférico) y da como resultado una reducción del mal olor.

Por otro lado, en la patente [191] desarrollaron un artículo absorbente, en específico una toalla femenina de cuidado íntimo, que comprende un material de control

de olor compuesto por un complejo de inclusión de ciclodextrina (β -CD) con un compuesto orgánico “fragancia” (una mezcla de acetato de metilo y aldehído hexilcinámico, compuestos presentes en la canela) que se dispersa en una matriz de aceite de polisiloxano. Los complejos obtenidos fueron muy efectivos porque retuvieron a la fragancia y la liberaron cuando fueron humedecidos por los fluidos corporales. Se cree que las ciclodextrinas forman el complejo de inclusión con los compuestos orgánicos y, cuando se secan por pulverización, evitan que el compuesto orgánico se evapore debido a los enlaces químicos formados con el compuesto complejado. Cuando el material se humedece, estos enlaces se debilitan y el compuesto orgánico se libera lentamente.

Por otro lado, de acuerdo a los autores, la presencia de cadenas de poliéster injertadas en el esqueleto del polisiloxano puede aumentar la hidrofiliidad del polímero base sin afectar la liberación del material orgánico del complejo de inclusión, de modo que la matriz más hidrófila permite un mejor movimiento del fluido y velocidad en los artículos absorbentes incluso en presencia de cantidades relativamente altas de material de control de olores. Además, la dispersión de este aceite en el complejo es en forma de un líquido de baja viscosidad que se puede manejar fácilmente durante la fabricación de las toallas femeninas en cualquier parte del proceso.

Como dato interesante, se encontró que el producto con alta viscosidad o sólido/semisólido formado puede ser capaz de permanecer en su lugar cuando se aplica al artículo absorbente y es capaz de controlar la migración de ciclodextrina utilizando un vehículo que es lo suficientemente hidrofóbico para prevenir la liberación activa en almacenamiento, así como, lo suficientemente hidrófilo para permitir o mejorar la liberación activa por orina o menstruación.

Además, se descubrió que la selección específica de un aceite de polisiloxano proporciona ventajas significativas porque, si se utilizan más matrices hidrófobas (como aceite mineral o vaselina), los fluidos corporales tienen menos posibilidades de entrar en contacto con el complejo de inclusión de CD, mientras que si se utilizan matrices hidrófilas (como PEG o glicerol), tales matrices pueden desencadenar la liberación del compuesto complejado antes de lo deseado. Una matriz a base de aceite de polisiloxano

protege eficazmente el complejo de la humedad y al mismo tiempo permite una pronta liberación cuando sea necesario.

2.3.6 Compuestos adicionales

Las sales metálicas suelen ser materiales adicionales ya que se utilizan tanto para la absorción de olores y/o como material antimicrobiano. Las sales metálicas se seleccionan de acuerdo al grupo al que pertenecen: sales de cobre, de zinc y mezclas de estas mismas. Las sales de cobre tienen beneficios antimicrobianos; específicamente el lactato de cobre y el cloruro cúprico actúan como fungicidas, el acetato de cobre actúa como un inhibidor del moho y el sulfato de cobre como un germicida. Además, las sales de cobre poseen algunas habilidades para el control de malos olores [192].

El zinc se ha usado con mayor frecuencia por su capacidad para mejorar el mal olor, por ejemplo, en productos para el lavado de la boca. Las sales de zinc altamente ionizadas y solubles, como el cloruro de zinc, proporcionan la mejor fuente de iones de zinc. El borato de zinc y el undecinato de zinc funcionan como un fungistato y un inhibidor del moho; el caprilato de zinc, heptahidrato de zinc y el ricinoleato de zinc funcionan como un fungicida y el cloruro de zinc proporciona beneficios antisépticos y desodorantes. Estas sales, especialmente el $ZnCl_2$ se han utilizado con anterioridad principalmente para absorber aminas y compuestos que contienen azufre que tienen tamaños moleculares demasiado pequeños [192, 193].

Se debe tener cuidado al seleccionar las sales de zinc, así como la concentración a utilizar, ya que algunos tipos pueden ser irritantes para la piel y, por lo tanto, no se prefieren para uso personal. Por otro lado, si se utilizan sales metálicas y se desea utilizar sales de carbonato y bicarbonato solubles en agua, es necesario que la composición esté libre de uno o de otro grupo debido a la incompatibilidad entre ellos.

Otro tipo de compuestos son los agentes quelantes, que puede ser agentes quelantes de amina o ácidos. Este material tiene como finalidad aumentar la actividad del conservante antimicrobiano soluble en agua. La concentración típica debe de ser de 0.05% a 0.2%. Al igual que con las sales de carbonato y bicarbonato, es importante que

la composición esté libre de cualquier ion metálico agregado que pueda ser quelado, debido a que tales iones metálicos forman complejos con ellos y los desactivan.

El ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) puede usarse opcionalmente para aumentar la eficacia antimicrobiana y conservadora contra las bacterias Gram-negativas, especialmente las especies de *Pseudomonas* [194]. Aunque la sensibilidad al EDTA es característica de este grupo de microorganismo, existen otras especies bacterianas altamente susceptibles, que incluyen *Achromobacter*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Escherichia*, *Salmonella*, *Spirillum* y *Vibrio*. Otros grupos de organismos como hongos (levaduras) pueden verse afectados. Además, los quelantes de aminocarboxilato pueden ayudar, por ejemplo, a mantener la claridad del producto, proteger la fragancia y los componentes del perfume, y prevenir la rancidez y los malos olores [194].

2.3.7 Composiciones desinfectantes / elimina olores

Existen trabajos que utilizan diferentes composiciones de los elementos anteriormente mencionados siendo en su mayoría dentro de la categoría de patente por tener mayor carácter comercial que investigativo.

En el trabajo [4] se presenta la obtención de un atrapador molecular y neutralizador de olores que comprende una microemulsión o solución acuosa que se realizó a temperatura entre los 10°C a 40°C y a presión ambiente mediante agitación. Dicha composición puede contener sorbitan monooleato, cloruro de calcio, fosfato sódico, propanol, emulsión de silicona antiespumante, tensioactivo no iónico biodegradable, benzoato sódico, aroma, colorante y agua desmineralizada. Este atrapador es apto para su uso micronizado o nebulizado en el aire, siendo los contaminantes odoríferos de origen orgánico capturados por la parte hidrófila de las moléculas del atrapador y precipitados al suelo por aumento de la densidad de las minúsculas gotas nebulizadas. Tras múltiples procesos de absorción o captura, la gota nebulizada se transforma por efecto de los radicales capturados en un nuevo compuesto químico, que es más pesado y cae al suelo donde se descompone por las bacterias dado su carácter biodegradable.

Este neutralizador molecular de acuerdo al autor también es aplicable en el tratamiento de aguas, granjas, alimentos, restos de animales, plásticos, plantas de triaje, vertederos, plantas de compostado; sobre todo en instalaciones o lugares donde el foco que provoca el mal olor es extenso y difícil de controlar por medios convencionales.

El autor, además, proporciona una lista de los tipos de olores controlados con el producto formulado, entre los cuales se encuentra los siguientes: ajo, café, olores ácidos, olores desagradables fuertes, pescado, olores como de la mofeta, amoníaco, cebolla, nauseabundos, carne en descomposición, olores putrefactos, fecales, etc.

En la patente [195], obtienen una composición desodorante de cuidado personal compuesto con una base de antitranspirante y una base de perfume (agua destilada, dos tipos de maltodextrinas comerciales, un surfactante, etanol, perfume, aceite de castor etoxilado y nonil fenol etoxilado), que puede estar en forma de emulsión acuosa o de microencapsulados. La base de perfume esta combinada con un sustrato formador de película y un agente emulsionante.

De acuerdo con los autores, dicha composición tiene la ventaja de liberar los constituyentes volátiles del perfume en el momento apropiado por la acción de una fuente de humedad, en particular el sudor. También tiene la ventaja de que da lugar a una reencapsulación in situ, por ejemplo, en la propia piel, de los componentes activos en la fase de secado. Esto último ocurre al elegir los ingredientes de manera particular y específica.

Debido a esta “reencapsulación sucesiva” de los activos, no existe la necesidad de volver a aplicar el desodorante y por ende la liberación y difusión de la fragancia y demás materiales, se considera controlada y de larga duración.

Para mostrar el efecto reversible de la solubilidad la muestra se extendió en una capa delgada e inmediatamente después se colocó en un portaobjetos y se observó bajo un microscopio a una ampliación de 600X. La reproducción mostró la formación de gotitas con un diámetro variable. Después de 20 a 30 minutos en aire, la emulsión se secó, formando una membrana sólida que rodea una fase líquida (emulsión) formada por el perfume.

Al humedecer las cápsulas con unas pocas gotas de agua, las membranas sólidas se rompieron, liberando la base de perfume líquido que, en contacto directo con el aire, se evaporó parcialmente a la atmósfera circundante. Al secar una vez más al aire, las microcápsulas se volvieron a formar de modo que la base de perfume restante se encerró otra vez en forma de gotitas mediante una membrana protectora sólida.

Este proceso lo repitieron varias veces en el transcurso de un día sin ningún deterioro observable en las propiedades del sistema hasta que el perfume se evaporó por completo. Una prueba de almacenamiento prolongada mostró que dicho sistema conserva sus propiedades durante al menos un mes.

En otro trabajo, Andrew Kelbania [196], desarrolló una solución capaz de usarse en múltiples superficies con el propósito de limpiar, desinfectar y eliminar olores. Sus composiciones no son inflamables, no dañan las superficies y materiales de construcción debido a su pH casi neutro, se pueden limpiar dichas superficies con menos trabajo y en un periodo de tiempo más corto en comparación con los productos de limpieza disponibles en el mercado, a la vez que proporciona limpieza y eliminación de olores de amplio espectro. Los componentes utilizados son respetuosos con el medio ambiente; bajo contenido en VOC, no contiene abrasivos, fosfatos o compuestos que pudieran tener fosfatos, no tiene surfactantes aniónicos, como tampoco sales electrolíticas, así como metales pesados como el zinc, el cobre y otros metales de transición; finalmente, no tiene conservantes agresivos y sensibilizantes, ni silicatos o siliconas.

Su modo de preparación es simple: solamente se añaden los componentes en intervalos de 5 minutos entre cada uno y en el orden en que se encuentran descritos.

Para comprobar el funcionamiento de sus formulaciones, realizó tres tipos de pruebas: prueba al formaldehído, ácido acético y eliminación de manchas. En las dos primeras pruebas, se compararon a las mismas condiciones a la formulación número dos y tres marcas comerciales (Febreze, Renuzit y Glade), obteniéndose en ambas pruebas que, la formulación redujo y mantuvo a cero (100% de eliminación) la concentración del formaldehído y ácido acético, uno a los siete minutos y el otro a los 22 minutos de su aplicación respectivamente; mientras que los productos Febreze, Renuzit y Glade disminuyeron 76.67%, 80% y 80% la concentración de formaldehído respectivamente.

En cuanto a la concentración de ácido acético fue de 36%, 58% y 46% respectivamente, solo siendo superior que el agua de control.

Otro agente desodorizante / desinfectante activo son las ya mencionadas AgNPs o plata coloidal. La particularidad desodorizante es proporcionada por la capacidad de las AgNPs para reaccionar con sustancias con mayor frecuencia debido a la relación superficie/volumen, así como su capacidad antimicrobiana, que elimina a la fuente generadora de ciertos malos olores [197].

En la patente [197] mencionan el trabajo de US 9,392,784 B2 donde proporcionan un método para generar una composición que controla olores con AgNPs en una suspensión coloidal y tetraborato de sodio decahidratado, comúnmente conocido como bórax en una reacción in situ con parámetros estándar. De acuerdo a los autores, diversos olores fueron suprimidos al igual que la presencia microbiana responsable de la producción de dichos olores teniendo una solución estable con largos plazos de almacenamiento. Al igual que la plata, el borax proporcionó propiedades desodorantes y antimicrobianas a través de su capacidad de complejación con diversas sustancias.

En la patente [198] proporcionan un material y un método para reducir olores como aldehídos y cetonas (pero de acuerdo a los autores también es posible probar con mercaptanos, amoníaco, aminas, sulfuros, ácidos carboxílicos, terpenoides, hexanol, heptanal, piridina y combinaciones de los mismos), con un material poroso, donde se deposita una fina capa de nanopartículas de silica coloidal. Las SiONPs obtenidas tuvieron tamaños entre 20 a 50 nm y un área superficial de 180 a 240 m²g⁻¹. El porcentaje de remoción fue de mínimo 22% a un máximo de 78% cuando las moléculas olorosas se pusieron en contacto con el material absorbente.

En otro trabajo, presentado por McGrant y colaboradores [199] generaron un complejo de coordinación modificando nanopartículas de silica revestidas con alúmina con un potencial zeta positivo con un metal de transición, en este caso cobre. Las moléculas olorosas probadas fueron etilmetilmercaptano, trietanolamina, y aldehído isovalérico con una remoción del 80%, 61.3% y 59% respectivamente.

De acuerdo a la invención [200] se obtuvo una composición cosmética en forma de gel o crema que contenía ZnONPs de entre 20 a 200 nm, con bajo residuo sólido después de su aplicación y proporcionando un agradable aroma. Desafortunadamente no había evidencia de pruebas realizadas a moléculas olorosas, aunque manejan el producto como un deodorante.

2.4 Síntesis de nanopartículas

Existe un gran número de métodos disponibles que permiten la síntesis de nanopartículas, la cuestión aquí es, cuál es el método que mejor se adecua al material que se desea obtener con un buen control y distribución del tamaño, morfología, cristalinidad y demás propiedades.

Una clasificación tradicional de los métodos de síntesis es Ascendente (Bottom Up) y Descendente (Top down) (Figura 8). El primero consta de la unión de átomos y moléculas individuales para formar nanoestructuras más grandes, pero del tamaño nanométrico, mientras el segundo desde un material a granel o bulto se generan partículas más pequeñas para finalmente formar nanopartículas [201]. Hoy en día, los enfoques sintéticos se clasifican en síntesis físicas, químicas y biológicas, debido a la naturaleza del proceso. Las síntesis físicas y químicas tienden a ser más laboriosas y peligrosas, en comparación con la síntesis biológica, las cuales exhiben propiedades atractivas, como alto rendimiento, solubilidad y estabilidad [202].

2.4.1 Síntesis verde

Dentro de la categoría de Bottom Up existe la síntesis biológica también llamada como *síntesis verde*. En este tipo de síntesis es posible generar a las nanopartículas a partir del uso de microorganismos, biomasa de microorganismo, plantas o sus extractos y también mediante la participación de proteínas, azúcares, fenoles y otras enzimas [23] como elemento reductor y capeador.

Síntesis de nanopartículas

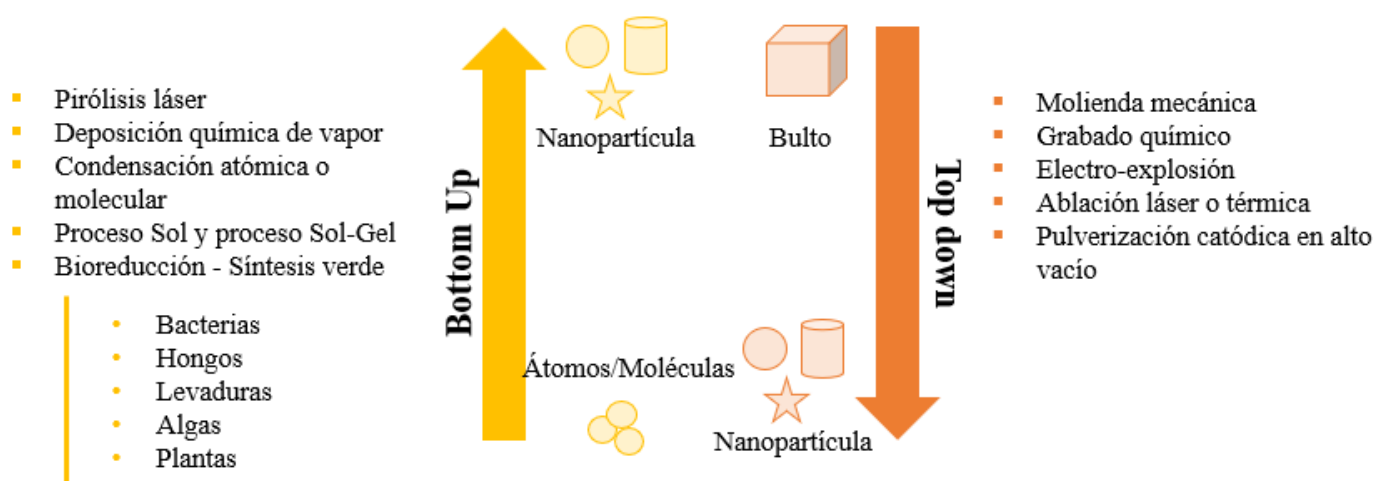


Figura 8: Síntesis de nanopartículas por medio de Bottom Up y Top down.

El primer reporte de producción de nanopartículas mediante el uso de plantas, fue utilizando la planta de alfalfa, la cual crecía en un medio enriquecido en oro Au(III), que después se reducía a Au⁰. Este descubrimiento se acreditó a Gardea-Torresdey y colaboradores [203]. Este mismo experimento se replicó utilizando plata, donde se encontró que también era posible reducir dicho metal por medio de esta planta [204]. Estos mismos investigadores comenzaron a hondar en este proceso utilizando otro tipo de plantas, como el sauce del desierto donde también se obtuvieron resultados positivos [203].

Posteriormente, Shankar y colaboradores continuaron su estudio de síntesis de nanopartículas de oro y plata, y nanopartículas bimetálicas de estas mismas, pero ahora utilizando extractos de las hojas de Neem (*Azadirachta indica*) [205]. Además, compararon la velocidad de reducción de los iones de plata utilizando los extractos de la hoja de geranio y de la hoja de Neem con estudios anteriores en los cuales emplearon microorganismos como el hongo *Fusarium oxysporum* [206], y llegaron a la conclusión de que la velocidad de reducción de los iones de plata empleando los extractos de las hojas resultó ser más rápida que la observada con los hongos, destacando así la posibilidad de que las metodologías de biosíntesis de nanopartículas logren velocidades de síntesis comparables a las de los métodos químicos [205, 207-210].

Como se mencionó anteriormente, en la síntesis verde se prefiere el uso de extractos de plantas debido a que, en el caso de síntesis mediada por microbios, inicialmente los microbios deben aislarse, y luego proporcionarles los nutrientes apropiados en cultivo, subcultivo, etc. Todo esto lleva mucho tiempo. Por el contrario, la síntesis mediada por plantas puede llevarse a cabo mediante extractos vivos o muertos. Se pueden utilizar diferentes partes de las plantas como tallo, hojas, raíces, flores, etc. [211].

Las biomoléculas presentes en las plantas como terpenoides, flavonas, cetonas, aldehídos, proteínas, aminoácidos, vitaminas, alcaloides, taninos, fenólicos, saponinas y polisacáridos juegan un papel vital en la reducción de metales [212]. La biomasa vegetal se utiliza en forma de polvo o como extracto. En general, el extracto se mezcla con una solución de sal metálica a temperatura ambiente a un pH deseado con o sin agitación por un tiempo específico. Dependiendo de las particularidades de cada NP, en algunos casos será necesario utilizar métodos más sofisticados.

En el caso de las AgNPs y CuNPs, debido a su baja estabilidad se oxidan muy fácilmente por la exposición al aire o a soluciones acuosas [13, 213].

En la actualidad existe una gran variedad de estudios de síntesis de diversas plantas, así como sus partes, microorganismos y sus extractos o enzimas que han permitido obtener NPs con buenas propiedades y estabilidad. Por lo tanto, la síntesis verde representa una alternativa limpia, presumiblemente no tóxica y amigable con el medio ambiente igualando e incluso sobrepasando las expectativas de las nanopartículas sintetizadas por los otros métodos tradicionales [28].

2.5 Estabilidad de emulsiones

Las emulsiones son sistemas coloidales en lo que dos líquidos inmiscibles se combinan para formar un sistema macroscópicamente homogéneo, pero microscópicamente heterogéneo. Son sistemas termodinámicamente inestables, aunque pueden poseer estabilidad cinética. Un sistema termodinámicamente inestable presenta una variación positiva de la energía libre de Gibbs. Dado que el término de entropía generalmente es pequeño, se define la variación de la energía de Gibbs, para formar una

emulsión, como el producto entre la tensión superficial y la variación del área de contacto. Para obtener una variación de la energía libre de Gibbs negativa, la variación del área de contacto debe ser también negativa. Esto implica que un sistema bifásico tiende a disminuir el área de contacto, es decir, a separarse en dos fases [214]. Una es la fase continua y la otra la fase dispersa. Se llama fase continua a la fase externa y fase dispersa a la fase interna que constituyen las gotas.

Las emulsiones pueden clasificarse según la naturaleza de sus fases en emulsiones agua en aceite (W/O), cuando la fase dispersa está constituida por el agua (W) y la continua por el aceite (O); o emulsiones aceite en agua (O/W) en el caso en que la fase dispersa esté constituida por el aceite y la fase continua por el agua (Figura 9) [215]. Emulsiones múltiples son aquellas cuyas gotas internas, ósea, la fase dispersa, presenta en su interior gotas de otra fase, que puede ser el mismo medio que la fase continua o de carácter químico diferente [214].

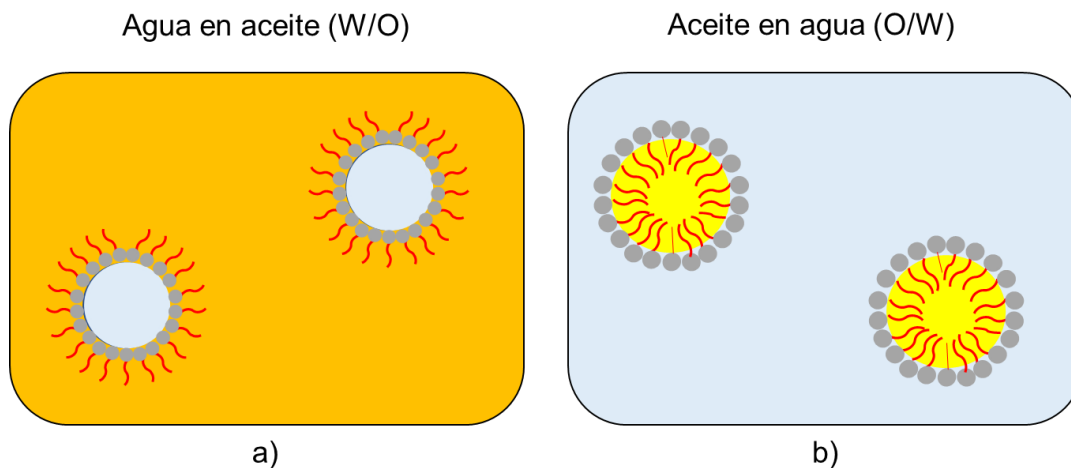


Figura 9: Representación esquemática de emulsiones de tipo a) agua en aceite (W/O) y b) aceite en agua (O/W).

Las técnicas para producir emulsiones pueden ser tanto químico, físico como procesos fisicoquímicos. Para poder formar emulsiones estables es necesario un tercer componente, el cual puede ser como moléculas tensioactivas o partículas sólidas con propiedades anfifílicas [214]. Cuando se hacen microcápsulas el material de la cápsula tiene que ser compatible con la fase continua y el principio activo con la fase dispersa [216].

Ahora bien, las moléculas anfifílicas son aquellas cuya estructura consta de una parte polar llamada cabeza que se puede disociar o no en iones y, por ende, es hidrofílica y una segunda parte llamada cola que consta de uno o más grupos hidrocarbonados, silanos o fluorcarbonados que es lipofílica y por ende es hidrofóbica. Otro nombre asociado a una molécula anfifílicas es agentes tensoactivos o surfactantes. De acuerdo a Laughlin [216], los surfactantes son como un anfifilo que abate la tensión superficial, que permite formar agregados coloidales, ya sea en forma micelar o cristales líquidos, en presencia de agua. Por lo anterior, sustancias tales como aminas, alcoholes, etc., no se consideran surfactantes porque no forman micelas ni cristales líquidos, aunque pueden ser absorbidos en interfases W/O y aire-agua [218].

Como se mencionó anteriormente, las emulsiones son termodinámicamente inestables. De acuerdo a la teoría de Derjaguin y Landau, en la Unión Soviética y por Vlierwey y Overbeek en Holanda (DLVO) se asume que la estabilidad coloidal, es debida principalmente a las interacciones de largo alcance que ocurre entre las gotas (Fuerzas de Coulomb, fuerzas “hibridas” producidas por las interacciones ion-dipolo permanente o por las interacciones ion-dipolo inducido y las fuerzas de Van der Waals que se clasifican en fuerzas de London, de Debye y de Keesoom o fuerzas por puentes de hidrógeno [219].

Las gotas están sometidas por fuerzas de atracción debido comúnmente a los enlaces secundarios mejor conocidos como fuerzas de Van der Waals, por lo que, para que las emulsiones estén estables deben de existir fuerzas repulsivas que contrarresten a dichas fuerzas las cuales se encuentran en las superficies de las gotas (debido tanto por agentes tensoactivos como por los iones absorbidos). Cuando las fuerzas de repulsión son más fuertes que las atractivas se genera una barrera energética que impide que las gotas se unan cuando las separaciones son intermedias.

Cuando las separaciones son mínimas, la agregación entre ellas se vuelve irreversible. En una emulsión, si la distancia media existente entre las gotas es mayor que la distancia correspondiente al segundo mínimo, el sistema crece en energía agregando las gotas de la fase dispersa y por lo tanto las gotas acabarán floculando. Puede llegar a ser un proceso reversible porque las gotas en ningún caso pierden su

identidad, aunque se comporten como una sola gota. Las gotas siguen estando separadas por una fina capa de la fase continua que evita su rompimiento. Si la capa de los agentes tensioactivos se inestabiliza, entonces ocurrirá la etapa final en la vida de la gota dentro de una emulsión que es la coalescencia, proceso irreversible por el rompimiento de las paredes de las gotas para formar una gota mayor. Otra etapa que puede ocurrir es la maduración de Ostwald que consiste en el proceso de crecimiento de gotas grandes por gotas pequeñas debido al transporte de masa de material de la fase dispersa soluble a través de la fase continua [214]. Otro proceso de inestabilidad es la sedimentación o el cremado que se producen por la diferencia de densidades entre las fases de la emulsión. Si la densidad de la fase dispersa es menor entonces formara una crema en la parte superior, en caso contrario precipitara. Este proceso de estabilización es reversible momentáneamente si se agita [214, 220].

Lo anteriormente mencionado, son los cuatro procesos de ruptura de las emulsiones: Sedimentación y cremado, floculación, coalescencia y maduración de Ostwald [221], los cuales se muestran en la Figura 10.

En las emulsiones, el sistema se estabiliza debido a una disminución de la tensión interfacial conseguida por el tensoactivo, pero de manera técnica existen dos métodos principales para estabilizar una emulsión; electrostáticamente y estéricamente [222]. En el primer caso se debe a la repulsión de Coulomb entre superficies cargadas electrostáticamente y en el segundo por las exclusiones de volumen [121].

2.5.1 Estabilidad de sistemas coloidales con nanopartículas metálicas

Las nanopartículas tienen una alta energía superficial cuando no se encuentran recubiertas por algún agente externo. El término “estabilidad de nanopartículas” se usa para describir la conservación de una propiedad en particular que puede ser agregación, composición, polaridad, forma, tamaño, cristalinidad y química de la superficie. Este periodo de estabilidad puede existir durante un período de tiempo finito dado que todas las nanoestructuras son termodinámicamente y energéticamente desfavorables en relación con sus formas a granel [223-225].

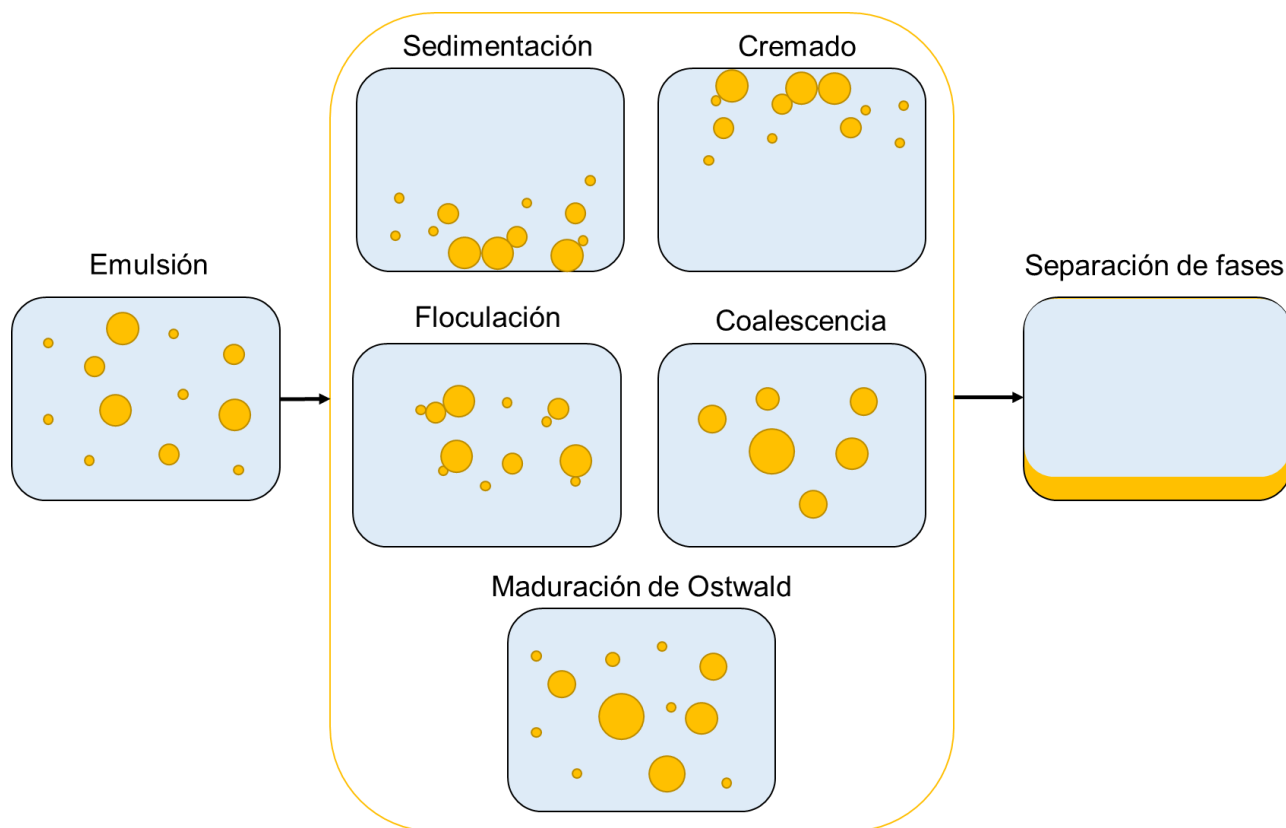


Figura 10: Representación esquemática de los mecanismos de desestabilización de las emulsiones. Esquema adaptado de [121].

Las nanopartículas reaccionan con sustancias activas para alcanzar un estado relativamente estable en algunos casos. Generalmente requieren un entorno estabilizador para evitar la agregación y mantener una alta reactividad. Por ejemplo, las NPs son mayormente termodinámica y cinéticamente inestables en solución y cuando se obtienen mediante síntesis en solución están recubiertas con ciertos ligandos lo que genera un microambiente químico en la superficie, que permite o asegura que el núcleo interno este protegido y estabilizado [223]. También se debe de considerar la polaridad del disolvente que se utiliza para dispersar a las NPs [226].

Los ligandos son habitualmente compuestos orgánicos que tienen un grupo donante con sustituyentes de diferente volumen estérico, y se utilizan para evitar la agregación no deseada para formar suspensiones de NPs bien dispersas. Además, los ligandos también juegan un papel importante en el control del tamaño y la forma de las NPs al unirse preferentemente con una determinada faceta del cristal para modular la tasa de crecimiento de las NPs. Estas sustancias, por lo tanto, evitan la agregación,

mantienen la composición de la NP, controlan la forma y el tamaño y mantienen una química de superficie favorecida.

En general, los componentes del microentorno se pueden clasificar de acuerdo a su función en dos categorías amplias: componentes utilizados para estabilizar NPs y componentes utilizados para funcionalizar NPs. Los componentes estabilizadores (tensoactivos, iones cargados, etc.) se recubren en la superficie de los NP mediante complejación, atracción electrostática y encapsulación para reducir su energía superficial y estabilizarlos [227].

Otros factores que también influyen en la estabilidad de la dispersión de NPs son el pH, la concentración de iones, la temperatura y el tiempo de almacenamiento.

En términos más amplios, la estabilidad de las nanopartículas en solución (sistema coloidal) se ve afectada por el estado de agregación. La agregación, ocurre cuando las nanoestructuras primarias se agrupan en interacciones a distancias cortas [228]. Como resultado, la estabilidad de las nanopartículas depende de la prevención de estas interacciones. Cuando el material agregado supera la fuerza de flotabilidad, entonces se presenta una precipitación. Para que se formen los cluster o conglomerados, las NPs deben colisionar físicamente y dependiendo de la energía y la frecuencia de colisión habrá mayor o menor formación de este estado [229, 230].

La agregación de nanopartículas también depende de la termodinámica [228] o del potencial de par de interacción total que surge entre dos objetos [229, 230, 228] donde la teoría DLVO anteriormente mencionada explica las interacciones existentes y la razón de la no estabilidad. Al igual que en las emulsiones O/W, W/O; en las soluciones coloidales se pueden utilizar surfactantes o estabilizadores para aumentar la fuerza de repulsión entre las moléculas donde limita las interacciones por la generación de un capeo o estabilidad estérica.

Otra consideración a tomar es debido a que los átomos de la superficie en las nanoestructuras tienen números de coordinación más bajos que los átomos en masa, su reactividad es relativamente mayor. La inestabilidad se refiere entonces a variaciones de la composición química o cambios en el número de coordinación. La oxidación es un

ejemplo común de transformación o inestabilidad de un átomo de superficie. La oxidación de las nanopartículas de plata, por ejemplo, conduce a una amortiguación progresiva de las características de resonancia del plasmón [231, 232].

Al utilizar extractos naturales, los fitoquímicos del extracto vegetal actúan como agentes reductores, de modo que, por ejemplo, el nitrato de plata (AgNO_3) se reduce a plata metálica, el AgNO_3 se disocia en Ag^+ y NO_3^- , el cual se ve afectado por la temperatura y la luz. Los grupos fenólicos pueden reaccionar con un radical libre para formar los radicales fenoxilo. Los grupos fenólicos tienen grupos hidroxilo y cetónico que pueden unirse a metales, reducir la sal metálica y proporcionar estabilidad frente a la aglomeración. Además, proteínas y enzimas pueden también reaccionar con los iones de plata formándose AgNPs cubiertas con proteína [233, 234].

2.6 Fundamentos de técnicas de caracterización de nanopartículas

Cuando se realiza la caracterización de las NPs, primordialmente los parámetros más estudiados son el tamaño, la forma y los ligandos superficiales, ya que a partir de ellas pueden encasillarse aplicaciones y demás propiedades. También es posible medir la distribución de tamaño, carga superficial, el área de superficie, concentración, así como otros parámetros más especializados como la química superficial, cristalinidad, porosidad, grado de agregación, etc.

Existe una gran variedad de métodos, unos más especializados que otros, pero para efectos de este trabajo solamente se fundamentan los utilizados para la caracterización de las nanopartículas sintetizadas, las cuales son espectroscopia de absorción de luz ultravioleta-visible (UV-Vis), espectroscopia de emisión atómica y plasma por microondas (MP-AES) con una pequeña introducción a la espectroscopía de absorción atómica (AAS), microscopía electrónica de barrido acoplado con espectroscopia de dispersión de energía (SEM-EDS) y difusión de luz dinámica (DLS). A través de estas técnicas podemos obtener información de parámetros como: presencia de la generación de las nanopartículas, composición, estructura, morfología, tamaño, concentración, carga superficial, distribución de tamaño, entre otras. La información obtenida se debe a la interpretación de la interacción de una señal ya sea de tipo eléctrica, lumínica, térmica, etc., con una porción del material a caracterizar.

A continuación, se explican cada uno de ellos [235-238].

2.6.1 UV-Vis

La espectroscopia UV-Vis es un método de caracterización relativamente fácil y de bajo costo que se utiliza a menudo para el estudio de materiales a nanoescala. Mide la intensidad de la luz reflejada por una muestra y la compara con la intensidad de la luz reflejada por un material de referencia (una cantidad conocida como extinción, que se define como la suma de la luz absorbida y dispersada). Dicha intensidad reflejada depende de la resonancia superficial del plasmón (RPS), que a su vez depende de la morfología y de la naturaleza metálica de la nanoestructura.

Las NPs tienen propiedades ópticas sensibles al tamaño, la forma, la concentración, el estado de aglomeración y el índice de refracción lo que hace que la espectroscopia UV-Vis sea una herramienta importante para identificar, caracterizar e investigar estos materiales y evaluar la estabilidad de las soluciones coloidales de NPs [238, 239].

En el caso de las AgNPs, se tiene información suficiente para poder determinar por medio de rangos de longitud de onda del pico de RPS otro tipo de propiedades físicas y ópticas como se muestra en la Tabla 6.

Tabla 6: Resumen de las propiedades ópticas y físicas de acuerdo al citodiagnóstico de las nanopartículas de plata a diferentes tamaños. Traducido de [240].

Diámetro (nm)	Longitud de onda del Pico SPR (nm)	NPS / mL	Concentración en peso (mg/mL)	Dispersión de tamaño (+/- nm)	Volumen de partícula (nm ³)	Área de superficie (nm ²)	Proporción Superficie / Volumen	Masa de partícula (g)	Masa molar (g/mol)	Concentración molar
10	390-405	~3.6E+12	2.0E-02	<18%	5.24E+02	3.14E+02	0.600	5.49E-18	3.31E+06	5.98E-09
20	390-410	~4.6E+11	2.0E-02	<15%	4.19E+03	1.26E+03	0.300	4.39E-17	2.65E+07	7.64E-10
30	400-410	~1.4E+11	2.0E-02	<15%	1.41E+04	2.83E+03	0.200	1.48E-16	8.93E+07	2.32E-10
40	405-425	~5.7E+10	2.0E-02	<15%	3.35E+04	5.03E+03	0.150	3.52E-16	2.12E+08	9.47E-11
50	410-430	~2.9E+10	2.0E-02	<12%	6.54E+04	7.85E+03	0.120	6.87E-16	4.13E+08	4.28E-11
60	425-450	~1.7E+10	2.0E-02	<12%	1.13E+05	1.13E+04	0.100	1.19E-15	7.14E+08	2.82E-11
80	440-480	~7.1E+09	2.0E-02	<12%	2.68E+05	2.01E+04	0.075	2.81E-15	1.69E+09	1.18E-11
100	480-520	~3.6E+09	2.0E-02	<10%	5.24E+05	3.14E+04	0.060	5.49E-15	3.31E+09	5.98E-12

2.6.2 AAS / MP-AES

La espectroscopia de absorción atómica (AAS) es un método que se puede utilizar para determinar la concentración de masa de un elemento en una muestra líquida o sólida. Esta técnica analítica se basa en el principio de absorción atómica donde los electrones del estado fundamental de los átomos se elevan a un estado excitado mediante la absorción de una cantidad de energía de la luz de una longitud de onda específica. Debido a que la cantidad de energía absorbida está relacionada con el número de átomos en la trayectoria de la luz, la concentración de la masa de la muestra se puede cuantificar comparando la señal con los estándares de calibración en concentraciones conocidas.

Para garantizar que las nanopartículas de metal sólido se puedan atomizar de manera eficiente, las partículas se disuelven normalmente mediante métodos de digestión. La muestra se atomiza y el aerosol se introduce en una llama de aire-acetileno o nitroso-acetileno. La fuente de luz se alinea para pasar a través de la llama donde se vaporiza la partícula. Un monocromador aísla la longitud de onda específica del elemento de interés y un detector mide la señal. [239]

En el caso de un instrumento de MP-AES, las muestras se introducen al instrumento en estado líquido y mediante una cámara de nebulización la muestra se nebuliza. Las gotas se transportan hasta la cámara de plasma donde se producen diversos procesos entre ellos atomización, excitación y/o ionización. Posteriormente, la muestra se introduce en un espectrómetro, el cual separa y cuantifica las diferentes longitudes de onda y finalmente la información es procesada por un programa.

2.6.3 SEM-EDS

La microscopía electrónica de barrido (SEM) es un método ampliamente utilizado para la obtención de imágenes de alta resolución de superficies que se puede emplear para caracterizar también materiales a nanoescala. El SEM utiliza electrones para obtener imágenes, de la misma forma que un microscopio óptico utiliza luz visible. Su funcionamiento se basa en un cañón de electrones que produce un haz de electrones

que se enfocan con precisión, denominado haz primario. Estos electrones atraviesan lentes electromagnéticas para dirigirse a la superficie de la muestra. El haz de electrones primarios elimina electrones de la superficie de la muestra, donde estos se emiten en forma secundaria para ser transmitidos hasta un colector, luego amplificados y utilizados para formar una imagen [241].

SEM también puede operarse en conjunto con otro tipo de técnicas como por ejemplo EDS. Este método permite dar información sobre la composición elemental de la muestra, en particular de la nanoestructura [242, 243]. Con lo anterior, se obtiene un análisis más avanzado obteniendo información en profundidad, tanto de morfología y química integral.

2.6.4 DLS

La dispersión dinámica de la luz (DLS) es una técnica ampliamente empleada para encontrar el tamaño de las NPs en suspensiones coloidales en los rangos nano y submicrométricos. Las NPs dispersas en una solución coloidal están en continuo movimiento browniano. DLS mide la dispersión de la luz en función del tiempo, que en combinación con la suposición de Stokes-Einstein se utilizan para determinar el diámetro hidrodinámico de las NPs (es decir, el diámetro de la NP y las moléculas de disolvente que se difunden a la misma velocidad que el coloide) en solución.

En esta técnica, se necesita una concentración de NP relativamente baja para evitar un efecto de dispersión múltiple. Además, da información sobre varios factores, como lo son: la concentración de la suspensión, la forma de las partículas, la estabilidad coloidal, ligada al potencial zeta de la solución, distribución de tamaño, etc.

Las ventajas de DLS incluyen su fácil y rápida operación con resultados precisos en suspensiones monodispersas. Es muy sensible y reproducible para muestras monodispersas y homogéneas. Una limitación de DLS es la condición necesaria para que las partículas estén en suspensión y sufran movimiento browniano. Las partículas grandes dispersan mucha más luz e incluso una pequeña cantidad de partículas grandes pueden oscurecer la contribución de las partículas más pequeñas. Por lo tanto, su resolución para muestras polidispersas y heterogéneas es bastante baja. Aunque el DLS

a veces puede medir nanoestructuras anisotrópicas, generalmente asume que las partículas en la solución son de forma esférica [244, 245].

Hablando del potencial Zeta (también conocido como potencial electrocinético o Z), es una medida de la carga eléctrica "efectiva" en la superficie de la nanopartícula y cuantifica la estabilidad de carga de las nanopartículas coloidales. Por lo tanto, es una medida de la diferencia de potencial entre el fluido en el que se dispersa una partícula y la capa de fluido que contiene los iones de carga opuesta que está asociada con la superficie de la nanopartícula. Las partículas con un potencial Zeta positivo se unirán a superficies cargadas negativamente y viceversa [246].

Cuando las partículas exhiben una mayor magnitud de potencial Zeta entonces la magnitud de repulsión electrostática es superior lo que significa una mayor estabilidad. A continuación, se muestra el comportamiento de las partículas de acuerdo a valores de potencial Zeta (-/+):

- 0-5 mV: las particulares tienden a aglomerarse o agregarse
- 5-20 mV: son mínimamente estables
- 20-40 mV: son moderadamente estables
- 40-60 mV: tiene buena estabilidad
- 60+ mV: excelente estabilidad

Es importante considerar que la magnitud de la carga en la superficie de la nanopartícula depende del pH de la solución. De hecho, la carga superficial se puede reducir a cero a un pH específico denominado punto isoeléctrico.

Este parámetro se mide cuando una muestra en una celda con dos electrodos de oro se le aplica un voltaje para que las partículas se muevan hacia el electrodo con la carga opuesta. Por medio de la técnica Doppler se mide la velocidad de las partículas en función del voltaje aplicado. Posteriormente, un láser pasa por la celda y la intensidad de la luz dispersa fluctúa a una frecuencia proporcional a la velocidad de las partículas. Dicha frecuencia se mide a múltiples voltajes y estos datos se utilizan para calcular el potencial Zeta [246].

CAPITULO 3

3. Experimentación

3.1 Materiales

Los materiales utilizados están desglosados por actividad realizada.

3.1.1 Obtención del extracto

Para la elaboración del extracto se utilizó cáliz deshidratado de flor de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) obtenidos de la tienda de especies Moy's en el centro de la ciudad de Mexicali. Para la base solvente se utilizó alcohol etílico desnaturalizado con pureza de 96% del proveedor NRW Chemie mexicana y agua destilada de Smart & Final.

3.1.2 Obtención de nanopartículas

Se empleó nitrato de plata marca Jalmek 99% de pureza, carbonato de cobre (II) básico con pureza $\geq 95\%$ de Sigma Aldrich y se utilizó nitrato de zinc hexahidratado marca Jalmek con 99% de pureza para la síntesis de las nanopartículas de plata, cobre y óxido de zinc respectivamente.

3.1.3 Pruebas fitoquímicas

Se utilizó citrato de sodio 99% de pureza, el carbonato de sodio al 99% de pureza del proveedor NRW Chemie; sulfato de cobre pentahidratado $>98\%$ y ácido pícrico en polvo de Sigma Aldrich. Cloruro férrico de J.t. Beaker. El ácido sulfúrico ACS de Sigma Aldrich, cloroformo pureza HPLC de Fermont, hidróxido de amonio al 30% de Spectrum y una dilución de hidróxido de amonio al 10%.

3.1.4 Selección de participantes

Se realizó un cuestionario por medio de redes sociales (*Anexo 1*) con preguntas claves para poder realizar la selección de los 10 participantes con una distribución entre 40 a 50% de cada sexo y con edades comprendidas entre los 20 años a 60 años.

3.1.5 Formato de evaluación organoléptica de las soluciones

Se desarrolló un formato (*Anexo 2*) para valorar a las soluciones neutralizadoras cuando son utilizadas de manera directa ante los cuatro malos olores evaluados, con base a una escala de intensidad de mal olor del 0 al 5 y complementando con la apreciación personal (agradable, neutro y desagradable).

3.1.6 Envase de uso en aplicación de las soluciones neutralizadoras

Para las pruebas organolépticas dirigidas al panel de personas se utilizó un recipiente de 120 mL con atomizador tipo Boston.

3.1.7 Desarrollo de formulaciones

Los materiales utilizados tanto para las soluciones desinfectantes como para las elimina olores están desglosados en la Tabla 7 con su respectiva información.

Tabla 7: Materias primas utilizadas en el proceso experimental de obtención de las soluciones desinfectantes y neutralizadoras de olores.

	Material	Pureza o concentración	Estado	Proveedor
A	Ciclodextrina Tipo A	99.50%	Sólido	ChemCenter
B	Ciclodextrina Tipo B	99.50%	Sólido	ChemCenter
C	Fosfato sódico monobásico anhídrido	Reactivo	Sólido	Jalmek
D	Bicarbonato de sodio	Reactivo	Sólido	Pochteca
E	Cloruro de calcio	Reactivo	Sólido	ChemCenter
F	Citrato de sodio	Reactivo	Sólido	Chemie NRW
G	Cuaternario de amonio 1	80%	Líquido	PVD
H	Hidantoina	Marca comercial	Líquido	Lonza
I	Surfactante no iónico 1	30%	Líquido	En búsqueda
J	Cuaternario de amonio 2	Reactivo	Líquido	Lonza
K	Surfactante anfotérico	30%	Líquido	Chemie NRW
L	Surfactante no iónico 2	99%	Líquido	Pochteca
M	Surfactante de silicona	100%	Líquido	Brenntag
N	Surfactante no iónico 3	80%	Líquido	Chemie
Ñ	Solvente 1	Reactivo	Líquido	Sigma Aldrich
O	Solvente 2	Reactivo	Líquido	Sigma Aldrich
P	Solvente 3	Reactivo	Líquido	Norman Fox
Q	Surfactante no iónico 4	>99.8%	Líquido	Brenntag
R	Solvente 4	99.90%	Líquido	Chemie NRW
S	Solvente 5	>96%	Líquido	Chemie NRW
T	Nanopartículas de plata	~1000 ppm	Coloidal	-
U	Nanopartículas de cobre	~250 ppm	Coloidal	-
V	Nanopartículas de óxido de zinc	~65 ppm	Coloidal	-
W	Aceite esencial de orégano	-	Líquido	Chemico
X	Fragancia (1 a 5)	-	Líquido oleoso	Robertet
Y	Agua destilada	-	Líquido	Smart & Final

3.1.8 Soluciones problemas de mal olor

Se utilizó ácido acético glacial ACS de Fermont. Se uso escatol (3-metilindol) 98% de Sigma Aldrich. Se empleó la fermentación de un ceviche de camarón, pescado, pulpo, calamar e imitación de cangrejo, con su respectiva verdura y jugo de tomate. Se utilizó extracto de ajo obtenido en el laboratorio de Química del Instituto de Ingeniería utilizando etanol al 96% como solvente.

3.2 Procedimiento experimental

3.2.1 Obtención del extracto agua-etanol de *Hibiscus sabdariffa*

Las flores de jamaica se limpiaron con agua de la llave para retirar cualquier material sólido o terroso. El lavado se realizó rápidamente para no perder material en dicha agua de desecho. Poco después se procedió a enjuagarse tres veces con agua destilada y se dejó secar durante 2 días a temperatura ambiente. Se pesaron 20 g de flor de jamaica en una balanza electrónica marca GoldenWall, y se colocaron en un vaso de precipitado de 500 mL. Se le adicionó 500 mL de una solución agua-etanol en una relación de 50% v/v; se tapó con papel Parafilm y aluminio y se agitó durante 30 minutos, para finalmente dejar reposar durante 48 horas. Pasado el tiempo de maceración se procedió a filtrar el extracto con un filtro Whatman No. 42. El extracto se colocó en un frasco ámbar.

Se hizo una solución de 500 mL de agua-etanol en una relación de 50% v/v para las diluciones y mediciones de blancos.

3.2.2 Síntesis de nanopartículas

La síntesis de NPs en el presente proyecto se realizó con técnicas de tipo bottom-up, utilizando síntesis verde, en medio acuoso. Estas síntesis están basadas en la reducción de sales metálicas en presencia de agentes estabilizantes, que controlan la forma y el tamaño de las nanopartículas obtenidas.

3.2.2.1 Síntesis de nanopartículas de plata (AgNPs)

Se realizó una solución madre 0.025 M de AgNO_3 y se colocó en un frasco ámbar. Se procedió a efectuar una solución de 600 mL con una concentración de 0.010 M. Para ello, se tomó 240 ml de la solución madre y se mezcló con 360 ml de agua destilada. Para sintetizar las nanopartículas se colocó 100 mL de la solución de AgNO_3 en un vaso de precipitado de 150 mL y se adicionó 10 mL de extracto; se dejó agitar por 60 min. Después del tiempo definido, se colocó la solución de síntesis en un frasco ámbar y se dejó reaccionar durante 48 horas para hacer la primera medición en UV-Vis. Todo el proceso de síntesis se hizo en ausencia de luz natural y artificial. Una confirmación rápida de la formación de las nanopartículas se obtuvo cuando la solución cambió de rojo claro a café claro.

3.2.2.2 Síntesis de nanopartículas de óxido de zinc (ZnONPs)

Modificando el método de acuerdo a [41, 43], se preparó una solución de nitrato de zinc 0.001 M (0.0189 g para 100 ml) usando nitrato de zinc hexahidratado ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) con agua destilada. Se almacenó en el refrigerador a 4 °C para su uso posterior. Se tomó 45 ml de nitrato de zinc y se llevó a 70 °C. Se procedió a tomar y colocar 5 ml de la solución del extracto de *Hibiscus sabdariffa* (1:9) con agitación moderada. Se dejó reaccionar a estas condiciones por 10 min. Se disminuyó la temperatura a 60 °C y se dejó reaccionar durante 20 minutos más. La mezcla de reacción exhibió un cambio de color de incoloro a amarillo-rojizo.

3.2.2.3 Síntesis de nanopartículas de cobre (CuNPs)

Las nanopartículas de cobre se obtuvieron modificando el método reportado por [247]. Se preparó una solución de carbonato de cobre 0.004 M (0.1 g para 200 ml de agua destilada). Se calentó 50 ml de la solución de carbonato de cobre a 80 °C con agitación baja. Se le agregó 20 ml del extracto con agitación moderada durante 30 min. Se dejó enfriar a temperatura ambiente para proseguir con un reposo durante 24 horas. La solución se calentó durante 1 hora a 80 °C en reflujo. Al presentarse una precipitación se dejó ebullición durante 15 minutos más para volver a reposar otras 24 horas. Se separó el sobrenadante con filtro Whatman No. 42 y se procedió a resuspender el precipitado en agua-etanol.

3.2.3 Realización de selección de participantes

Se dispuso una encuesta en plataformas sociales y correos para obtener una mayor población. Se estableció una fecha límite para la recaudación de los resultados y se utilizó el programa Excel de la paquetería de Office Professional Plus 2019 como base de datos y realización de estadísticas necesarias.

3.2.4 Desarrollo de las formulaciones

Las soluciones se llevaron a cabo mediante la incorporación de los materiales a temperatura ambiente y una atmosfera de presión; y solamente mezclando hasta obtener una solución homogénea. Para efectos de este trabajo, se tomaron en cuenta las siguientes consideraciones:

1. Los materiales se colocaron en el orden descendente de cada formulación (Tabla 2), comenzando con el agua destilada.
2. Para agregar cada materia prima se debió esperar a que se disolviera la anteriormente colocada.

Tabla 8: Formulaciones desinfectantes con y sin nanopartículas (NP: Nanopartícula). Porcentaje en peso.

	SIN NP		DESINFECTANTE CON NP				
	D's*	1	2	3	4	5	6
F	1 - 1.5	0.20 - 0.50	0.20 - 0.50	0.20 - 0.50	0.20 - 0.50	0.20 - 0.50	0.20 - 0.50
G	1 - 2	1.20 - 1.60	1.20 - 1.60	1.20 - 1.60	1.20 - 1.60	1.20 - 1.60	1.20 - 1.60
I	0.8 - 1.1	0.36 - 0.45	0.36 - 0.45	0.36 - 0.45	0.36 - 0.45	0.36 - 0.45	0.36 - 0.45
J	0.4 - 0.6	0.80 - 1.30	0.80 - 1.30	0.80 - 1.30	0.80 - 1.30	0.80 - 1.30	0.80 - 1.30
L	1.8 - 2.5	0.45 - 0.60	0.45 - 0.60	0.45 - 0.60	0.45 - 0.60	0.45 - 0.60	0.45 - 0.60
N	1 - 2	0.30 - 0.45	0.30 - 0.45	0.30 - 0.45	0.30 - 0.45	0.30 - 0.45	0.30 - 0.45
Ñ			0.16 - 0.22			0.16 - 0.22	0.16 - 0.22
S		0.25 - 0.22	0.25 - 0.22	0.25 - 0.22	0.25 - 0.22	0.25 - 0.22	0.25 - 0.22
T		0.19 - 0.23	0.19 - 0.23	0.19 - 0.23	0.19 - 0.23	0.19 - 0.23	0.19 - 0.23
U				0.70 - 0.90		0.70 - 0.90	0.70 - 0.90
V					1.40 - 1.80	1.40 - 1.80	1.40 - 1.80
W	0.1 - 0.2		0.10 - 0.20				0.10 - 0.20
X	0.15 - 0.45		0.15 - 0.45				0.15 - 0.45
Y	Balance a 100 %						
pH	7.29	6.86	7.26	7.30	7.20	7.38	6.42
Densidad (gml⁻¹)	0.995	0.988	0.988	0.989	0.993	0.988	0.99

*Solución D de 1 a 5 por fragancia usada, usando nomenclatura de D₁₋₅

Tabla 9: Formulaciones neutralizadoras con y sin nanopartículas (NP: Nanopartícula). Porcentaje en peso.

	Sin NP		Con NP	
	N0	N1	N2	N3
A	0.27 - 0.50			0.27 - 0.50
B	0.27 - 0.50	0.45 - 0.52	0.45 - 0.52	0.27 - 0.50
C	0.07 - 0.10			0.07 - 0.10
D	0.07 - 0.10			0.45 - 0.52
E	0.45 - 0.52			
F	0.45 - 0.52	0.07 - 0.10	0.07 - 0.10	
G	0.08 - 0.10	0.08 - 0.10	0.08 - 0.10	0.08 - 0.10
H	0.10 - 0.17	0.10 - 0.17	0.10 - 0.17	0.10 - 0.17
I	0.19 - 0.26	0.45 - 0.52	0.45 - 0.52	0.27 - 0.50
J		0.08 - 0.10	0.08 - 0.10	0.08 - 0.10
K	1.0 - 1.30	1.0 - 1.30	1.0 - 1.30	1.0 - 2.0
L	2.0 - 2.30	1.60	1.60	2.0 - 2.30
M	0.45 - 0.52	0.07 - 0.10	0.07 - 0.10	0.07 - 0.10
N	2.80 - 3.25	1.0 - 1.30	1.0 - 1.30	2.25 - 2.70
Ñ	0.74	0.7	0.7	
O	0.70	0.7	0.7	
P	2.0 - 2.30	0.45 - 0.52	0.45 - 0.52	
Q	2.0 - 2.30	2.25 - 2.70	2.25 - 2.70	2.0 - 2.30
R	4.60 - 7.0			
S		2.0 - 2.30	2.0 - 2.30	2.0 - 2.30
T		0.19 - 0.26	0.19 - 0.26	0.19 - 0.26
W			0.08 - 0.10	0.08 - 0.10
X	0.27 - 0.50	0.27 - 0.50	0.27 - 0.50	0.27 - 0.50
Y	Balance a 100%			
pH	7.26	6.36	6.25	5.36
Densidad (gml ⁻¹)	0.994	0.993	0.978	0.99

X: En las 5 fragancias utilizadas. Nomenclatura N2₁₋₅ y N3₁₋₅ por fragancia.

3.3 Caracterización

3.3.1 Caracterización del extracto de *Hibiscus sabdariffa*

3.3.1.1 Parámetros fisicoquímicos

Algunos de los parámetros fisicoquímicos evaluados fueron apariencia, color, densidad y pH utilizando el equipo STARTER300 de OHAUS®.

3.3.1.2 Pruebas fitoquímicas

A continuación, se describen cada una de las pruebas en cuanto a la detección fitoquímica del extracto, las cuales se realizaron después de 48 horas de maceración del extracto de *Hibiscus sabdariffa*, así como a las dos semanas, un mes, dos meses y cinco

meses posteriores a la primera medición con el fin de corroborar la estabilidad de los fitoquímicos encontrados [249-250].

Prueba de alcaloides (Prueba de Hager): Se tomaron 2 mL del extracto que se colocaron en un tubo de ensayo y se le añadieron unas gotas del reactivo de Hager (ácido pícrico). La prueba es positiva si se forma un precipitado de color amarillo cristalino.

Para obtener la solución de Hager se disolvió 1 g de ácido pícrico en 100 mL de agua destilada [251].

Prueba de glucósidas saponinas (Prueba de espuma): Se colocaron 2 mL del extracto en un tubo de ensayo y se agitó de 2 a 5 minutos. La formación de espuma (1 cm) que persiste durante 60 a 120 segundos demuestra la presencia de saponinas. Se puede también demostrar la presencia de saponinas si se toma 1 mL de extracto y se le añaden 9 mL de agua y proceder de la misma manera.

Prueba de glucósidos terpenoides y esteroides (Prueba de Salkowski): Se tomaron 5 mL de extracto y se colocaron en un tubo de ensayo. Se añadieron 2 mL de cloroformo (CHCl_3) y 2 mL de ácido sulfúrico (H_2SO_4) concentrado. La alícuota de ácido se colocó lentamente por la pared del tubo de ensayo. La aparición de un anillo rojo-café sobre la capa de cloroformo es prueba de un positivo.

Prueba de glucósidos flavonoides (Prueba de amonía): Se colocaron 2 mL de extracto en un tubo de ensayo y se añadieron unas pocas gotas de hidróxido de amonio. El resultado es positivo si existe un cambio en la coloración de la solución a amarillo.

También es posible colocar unas gotas de hidróxido de amonio en un frasco y tapar hasta que se deba usar. Poner unas gotas de extracto en un papel filtro y exponer al vapor de amonía generado. La formación de un punto amarillo (cambio en la zona empapada de extracto) en el papel revela la presencia de flavonoides.

Prueba de carbohidratos (Prueba de Benedict): Se colocó 1 mL del extracto en un tubo de ensayo y se dejó hervir durante 5 minutos. Se añadieron 2 mL del reactivo de Benedict. La prueba es positiva si un precipitado de color rojo ladrillo es formado.

El reactivo de Benedict se obtuvo al disolver a 50°C 17.3 g de citrato de sodio y 10 g de carbonato de sodio en 80 mL de agua. Se filtró la solución después de 10 minutos en agitación moderada. La solución se diluyó a 85 mL. Posteriormente, se disolvió 1.73 g de sulfato cúprico pentahidratado ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) en 10 mL de agua destilada. Finalmente, se vertió la última solución preparada en la primera con agitación constante y se diluyó a 100 mL (agregar 50 mL) [251].

Antraquinonas (Prueba alcanina): Se colocaron 2 mL del extracto en un tubo de ensayo y se añadió 1 mL de la solución diluida de hidróxido de amonio seguida por la adición de algunas gotas de H_2SO_4 concentrado por la pared del tubo de ensayo. La prueba es positiva si un color rosado aparece y se genera un precipitado del mismo color.

Prueba de taninos: Se tomaron 2 mL de extracto en un tubo de ensayo y se le adicionaron unas gotas de cloruro férrico (FeCl_3) al 1%. La prueba es positiva si el color cambia a rojo, azul, verde, o púrpura.

De manera más específica [252]:

- Desarrollo de una coloración rojo-vino, compuestos fenólicos en general.
- Desarrollo de una coloración verde intensa, taninos del tipo pirocatecólicos.
- Desarrollo de una coloración azul, taninos del tipo pirogalol, derivados del ácido gálico.

3.3.2 Caracterización de nanopartículas

3.3.2.1 Parámetros fisicoquímicos

Algunos de los parámetros fisicoquímicos evaluados fueron apariencia, color, densidad y pH utilizando el equipo STARTER300 de OHAUS®. También se realizó por medio de cálculo estequiométrico el valor de la concentración en partes por millón (ppm) de cada una de las soluciones de síntesis obtenidas.

3.3.2.2 Espectroscopia de UV-Vis

Para corroborar de manera técnica la presencia de las nanopartículas se tomó 250 μL de alícuota y se colocó en una celda de cuarzo, a la cual se le adicionó solución

agua-etanol a 50% v/v hasta un volumen de 4 mL y se agitó suavemente. Se estableció el rango de longitud de onda de 200 a 800 nm abarcando el espectro ultravioleta y visible, con una resolución de 1 nm en el Espectrofotómetro UV PerkinElmer UV/Vis Lambda 365. Se limpió una celda de cuarzo y se procedió a hacer la línea base con el blanco. Se realizó la medición de la muestra y se procedió a los análisis pertinentes.

El pico característico del plasmoide de las nanopartículas de plata se encuentra entre 390 a 520 nm dependiendo del tamaño de la nanopartícula [252-254]. El fuerte aumento de la absorbancia por debajo de 380 nm es típico del óxido de zinc. Dependiendo del tipo de método y reactivos reductores, la absorbancia se ve afectada debido principalmente a la morfología [255-257]. Finalmente, el pico característico de las nanopartículas de cobre es a una longitud de onda de 500 a 600 nm [258].

3.3.2.3 Microscopía electrónica de barrido (SEM)

Para determinar aspectos morfológicos y tamaño de las AgNPs, ZnONPs y CuNPs se utilizó el microscopio electrónico de barrido Lyra 3 Tescan. Después de la síntesis se tomó 1 mL de las soluciones, se centrifugaron a 8,000 rpm durante 10 min. Se decantaron y el precipitado obtenido se resuspendió en 1 mL de agua desionizada por sonicación durante 10 min. Se tomó una gota de las muestras resuspendidas y se colocó en un portaobjetos previamente identificado de grafito o de cobre. Se dejó evaporar durante 24 horas y se procedió a su análisis.

3.3.2.4 Espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDS)

Para la determinación de ciertos elementos presentes en las muestras se utilizó la espectrometría de dispersión de energía de rayos X en el equipo EDS Shimadzu. Esta técnica acoplada a SEM permitió examinar la morfología del polvo de las nanopartículas, así como realizar análisis de composición química.

3.3.2.5 Espectroscopia de emisión atómica de plasma de microondas (MP-AES)

La concentración inicial y final de las nanopartículas de plata en las soluciones preparadas se obtuvo utilizando el espectrómetro 4200 MP-AES marca Agilent. Esta medición permitió corroborar que el resultado calculado estequiométricamente fuera el correcto.

3.3.2.6 Dispersión dinámica de la luz (DLS)

Con el método de DLS se realizó la medición de la distribución del tamaño de partícula, especialmente en el rango de 2-500 nm, debido a la medición del radio hidrodinámico. El tamaño obtenido de DLS es generalmente más grande que TEM, que puede ser debido a la influencia del movimiento browniano. Por otro lado, se obtuvo el valor del potencial Z, el cual es un indicador primario de la carga de superficie sólida. El potencial Zeta es una medida de la magnitud de la repulsión o atracción electrostática entre las partículas, y es uno de los parámetros fundamentales que afectan la estabilidad de una solución. La medición de dichos parámetros solamente se realizó a la solución de síntesis de AgNPs y ZnONPs.

Para determinar los parámetros anteriores, se empleó el Nanotracs Wave II de Microtracs MRB. Se utilizó la cantidad necesaria (0.2 mL aproximadamente) y se colocó en el porta muestras. Se introdujeron los datos y parámetros que se requirieron de acuerdo al equipo y se procedió a su medición.

3.3.3 Pruebas a soluciones desinfectantes / elimina olores

3.3.3.1 Parámetros fisicoquímicos

Los parámetros fisicoquímicos evaluados fueron apariencia, color, densidad y pH utilizando el equipo STARTER300 de OHAUS®.

3.3.3.2 Pruebas microbiológicas

Se evaluó el efecto antimicrobiano de las soluciones desarrolladas en *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 y *Pseudomonas aeruginosa* aislada de un urocultivo clínico e identificada por características morfológicas macroscópicas y tinción de Gram.

Se realizó el cultivo de las cepas bacterianas en el laboratorio de Microbiología de Industrias Bioquímicas. Se propagaron las cepas en agar nutritivo 24 h antes del análisis a 34°C para reactivar las cepas. Una vez incubadas las 24 h, se realizó una suspensión directa de colonias en solución salina estéril, hasta alcanzar una turbidez equivalente al estándar 0.5 de McFarland. Se inocularon 100 µl de la suspensión obtenida en cajas con

medio Muller Hinton. Se le realizaron los pozos con un sacabocados a cada una de las cajas petris utilizadas. Una vez inoculadas, se prosiguió a suministrar 100 μ l de las muestras en los pozos correspondientes. Se utilizó agua destilada estéril como control negativo.

Los antibiogramas se realizaron utilizando el método de difusión de pozo con concentraciones de 100%, 50%, 25%, 12.5% y 6% (Figura 11) de la solución con el fin de medir el impacto de la concentración y poder obtener una concentración mínima aproximada.

Todos los experimentos microbiológicos se realizaron por duplicado, en condiciones de esterilidad, bajo campana de flujo laminar o bajo mechero, según corresponda, utilizando las técnicas asépticas microbiológicas habituales para aislamientos y recuentos en medios sólidos, siembras en medios líquidos y manipulación de instrumental (micropipetas, asas).

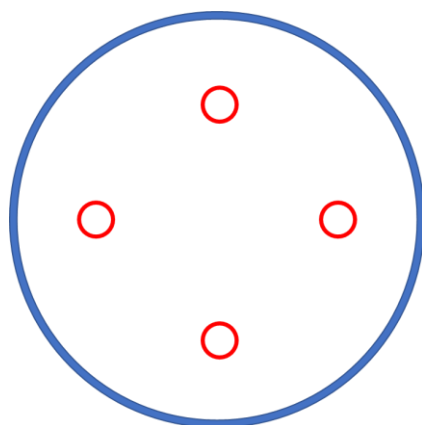


Figura 11: Ejemplo de colocación de las diluciones en el cultivo de interés.

Las zonas de inhibición obtenidas dependen de las propiedades fisicoquímicas de las nanopartículas que influyen in vitro sobre la velocidad de difusión en el agar. Los diámetros generados en zonas de inhibición reflejan la magnitud de susceptibilidad del microorganismo en estudio.

3.3.3.3 Prueba de neutralización de olores

La prueba de neutralización de olores se realizó a través de un panel de 10 personas, utilizando el Anexo 2.

En un recipiente de vidrio con tapadera hermética, se le colocó una gota de la muestra maestra de mal olor. Inmediatamente se le colocó cinco dosis de la solución a evaluar utilizando el atomizador correspondiente al envase Boston de 120 mL. El recipiente se tapó y se realizó la primera medición después de un minuto. El envase se agitó para generar interacción de las soluciones y se procedió a inhalar. Los resultados se colocaron en el formato del *Anexo 2* y el recipiente volvió a taparse. Se evaluó tanto la intensidad del olor desagradable como la percepción personal. Se realizaron cuatro mediciones más; al cumplirse cinco minutos, veinte minutos, una hora y una hora con cinco minutos. La medición de los cinco y veinte minutos se realizó con una previa agitación del recipiente. La medición de una hora fue cuidando que el envase estuviera lo más estático posible y la última medición fue con el recipiente destapado al cumplirse una hora.

El realizar las pruebas con el envase agitándose fue para tener una noción de la interacción entre la solución problema y la solución neutralizadora, así como liberar los componentes volátiles que no hubieran reaccionado en la fase líquida y que estos volvieran a interactuar en fase gaseosa. El propósito de dejar el recipiente de manera estática y cerrada entre los 20 min y una hora fue para tener una percepción de si existe una mayor interacción en fase gaseosa y la determinación del impacto de la interacción en la fase líquida. Finalmente, se realizó la prueba con el recipiente abierto con el fin de tener un acercamiento a la realidad y a las condiciones de uso.

Las cuatro soluciones problemas fueron las siguientes:

- Solución de ácido acético 20%: Se preparó 50 ml de una solución de ácido acético al 20% en volumen realizando dilución.
- Solución de escatol 0.0315%: Se preparó 100 ml de una solución de escatol 0.0315% en peso/volumen utilizando 3.15 g de 3-metilindol y agua destilada como disolvente.
- Solución de ceviche putrefacto 5%: Se filtró el ceviche fermentado y se preparó 50 ml de solución al 5% en volumen. Se tomaron 5 ml de la solución y se le adicionó 95 ml de agua destilada.

- Solución de extracto etanólico de ajo diluido 1:100.

3.3.3.4 Prueba de neutralización de olores a soluciones diluidas

Las soluciones desarrolladas se diluyeron a 50, 25 y 12.5% v/v y fueron evaluadas con el mismo procedimiento del apartado 3.3.3.2 *Prueba de neutralización de olores*.

3.3.3.5 Hojas de seguridad: Pictogramas

Con el fin de tener información previa sobre los componentes químicos o peligrosos, identificación de los peligros, primeros auxilios, uso adecuado, así como los pictogramas designados por el Sistema Globalmente Armonizado (SGA), etc.; se procedió a utilizar el sistema eQgest, un software fiable e intuitivo para crear y gestionar Fichas de Datos de Seguridad (SDS) de acuerdo con la normatividad vigente.

3.3.3.6 Estudio de la sinergia de los componentes en su actividad antimicrobiana

Cada uno de los componentes relevantes en las formulaciones fueron evaluados con el método presentado en 3.3.3.1 *Pruebas microbiológicas* con el fin de determinar su capacidad inhibitoria de cada uno, así como la determinación de comportamiento sinérgico o de aditivo. Por lo anterior, se realizaron 6 combinaciones:

- | | |
|----------------------------|--------------------------------|
| ▪ Composición 1: I+L+N+Ñ+W | ▪ Composición 4: I+L+N+Ñ+H |
| ▪ Composición 2: I+L+N+Ñ+G | ▪ Composición 5: I+L+N+Ñ+G+W |
| ▪ Composición 3: I+L+N+Ñ+J | ▪ Composición 6: I+L+N+Ñ+G+W+J |

Las nanopartículas también fueron evaluadas un mes después de su síntesis.

3.3.3.7 Reformulación de soluciones desinfectantes con nanopartículas.

Debido a los resultados presentados en el apartado 3.3.3.4 *Hojas de seguridad: Pictogramas* de las soluciones desinfectantes con nanopartículas de la Tabla 8, se realizó una reformulación de las soluciones con el fin de obtener un resultado adecuado de actividad inhibitoria, eliminación de olores siendo amigable con el ambiente.

Al realizar dicha reformulación se evaluaron a las soluciones de acuerdo a la metodología previamente presentada.

CAPITULO 4

4. Resultados

4.1 Caracterización del extracto agua-etanol de *Hibiscus sabdariffa*

4.1.1 Parámetros fisicoquímicos

Este estudio se inició con la obtención del extracto agua-etanol 50/50 % v/v. El extracto se procesó de acuerdo a la metodología descrita en el capítulo anterior. Una vez filtrado y almacenado se evaluaron sus parámetros fisicoquímicos.

La coloración del extracto fue de un rosa intenso a fuchsia, los cálices tuvieron una textura poco áspera, como si éstos estuvieran secos. Se obtuvo poco sólido. El extracto tuvo un pH de 3.45 y una densidad de 0.77 gml^{-1} . En la Figura 12 se muestra la apariencia de los cálices después del tiempo de maceración.

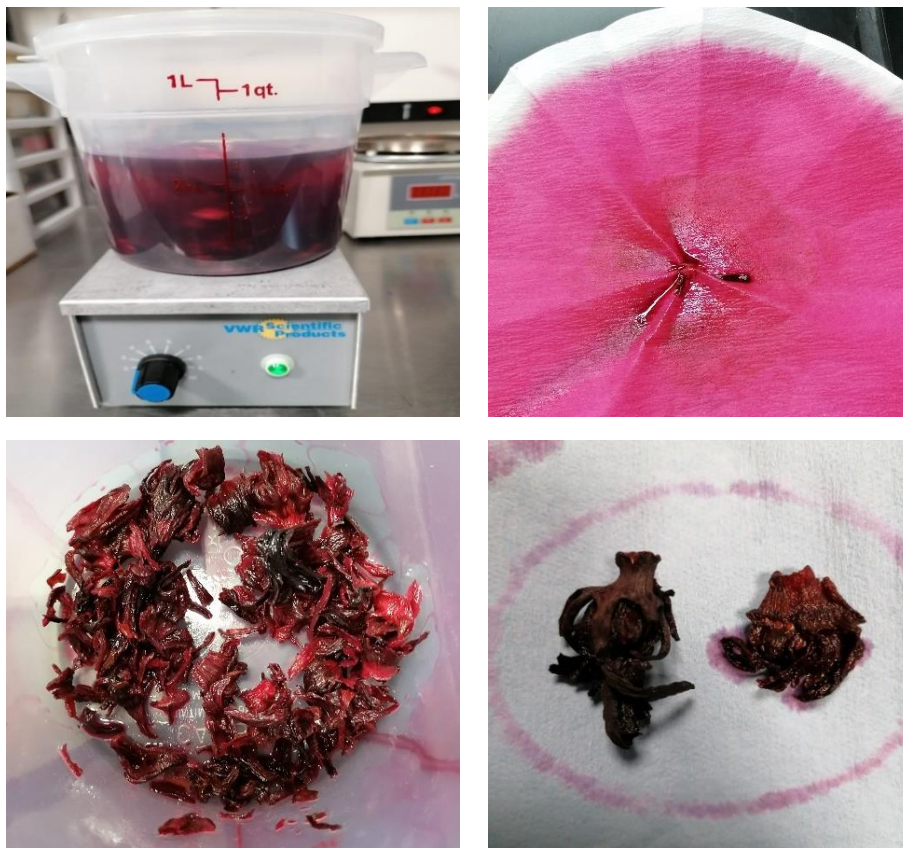


Figura 12: Apariencia de los cálices y filtros al terminar el proceso de maceración.

4.1.2 Pruebas fitoquímicas

De acuerdo a los análisis realizados, en la Tabla 11 se muestran los resultados obtenidos para los diferentes tiempos de medición del extracto Agua-Etanol y en las Figuras 13 y 14 se muestra de manera visual los cambios presentados a un día, una semana, así como en uno, dos y cinco meses. En este tipo de extracto fue posible obtener una gran variedad de metabolitos (saponinas, terpenos, esteroides, flavonoides, carbohidratos, antraquinonas y taninos); de acuerdo a la literatura, también es posible obtener alcaloides de los cálices [33-34, 260], hojas [29] y frutos-flor [261] utilizando agua y etanol como solvente; así mismo las cantidades de los demás metabolitos puede aumentar sí en el proceso de extracción se llevan a cabo métodos más sofisticados, como el uso de Soxhlet y evaporadores rotatorios. Aun con lo anterior, en este análisis realizado, si se obtuvieron respuestas relativamente altas, mayor que los obtenidos en otros trabajos [32, 34, 260, 261].

No se descarta la posibilidad de tener una mayor variedad y cantidad de metabolitos en el extracto ya que para un mismo metabolito es posible realizar diferentes pruebas, las cuales pueden resultar más sensibles que otras; por ejemplo, los alcaloides pueden determinarse con la prueba de Wagner, Mayer, Dragendorff, etc. [248, 249].

Tabla 10: Resumen de los análisis fitoquímicos del extracto Agua-Etanol a un día, una semana, uno, dos y cinco meses de su preparación.

Extracto	Metabolito secundario						
	Alcaloides	Saponinas	Terpenos - esteroides	Flavonoides	Carbohidratos	Antraquinonas	Taninos
1 día	-	++	-	+++	++++	+++	+++
1 semana	-	-	+++	++	++++	++	+++
1 mes	-	-	+++	+++	+++	++	++
2 meses	-	++	+++	+++	+++	+++	++
5 meses	-	++	++++	+++	+++	++	+++

- Sin resultado / + Resultado positivo bajo / ++ Resultado positivo moderado / +++ Resultado positivo alto / ++++ Resultado positivo muy alto.

Ahora bien, como se puede apreciar, la cantidad de esteroides y terpenoides aumentó con el tiempo, mientras que los carbohidratos y las antraquinonas disminuyen un poco. Entre el segundo y quinto mes se tuvo una mayor cantidad y variedad de metabolitos en el extracto y se considera que el extracto es estable a lo largo de este periodo.


















Prueba	1 día	1 semana	1 mes
Antes			
Alcaloides Después			
Saponinas Después			
Terpenoides y esteroides Después			
Flavonoides Después	 		 

Figura 13: Evidencia de las pruebas fitoquímicas a un día, una semana y un mes de preparación.

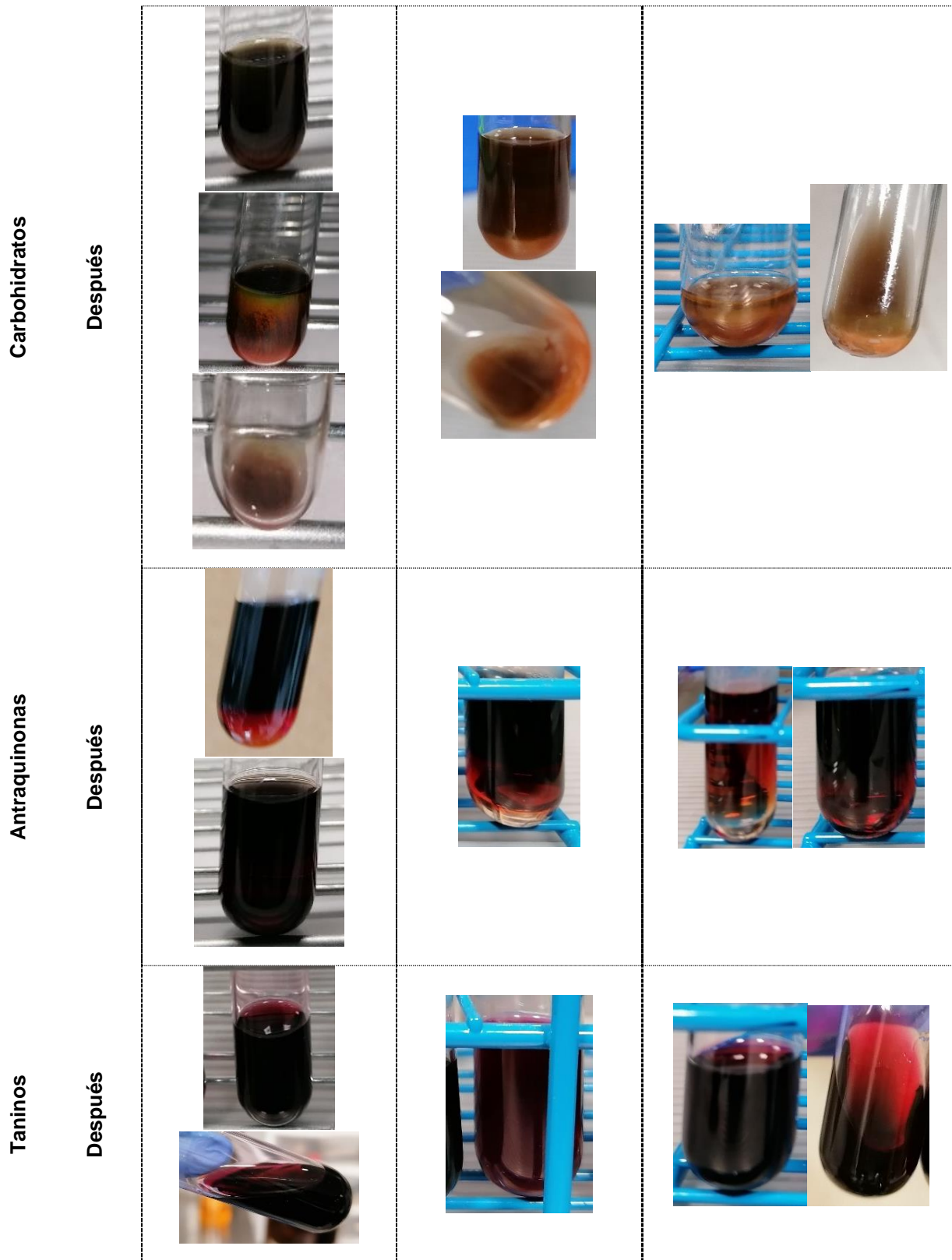


Figura 13: Evidencia de las pruebas fitoquímicas a un día, una semana y un mes de preparación (Continuación).


















Prueba	1 mes	2 meses	5 meses
Antes			
Alcaloides Después			
Saponinas Después			
Terpenoides y esteroides Después			
Flavonoides Después	 		 

Figura 14: Evidencia de las pruebas fitoquímicas a uno, dos y cinco meses desde su preparación.

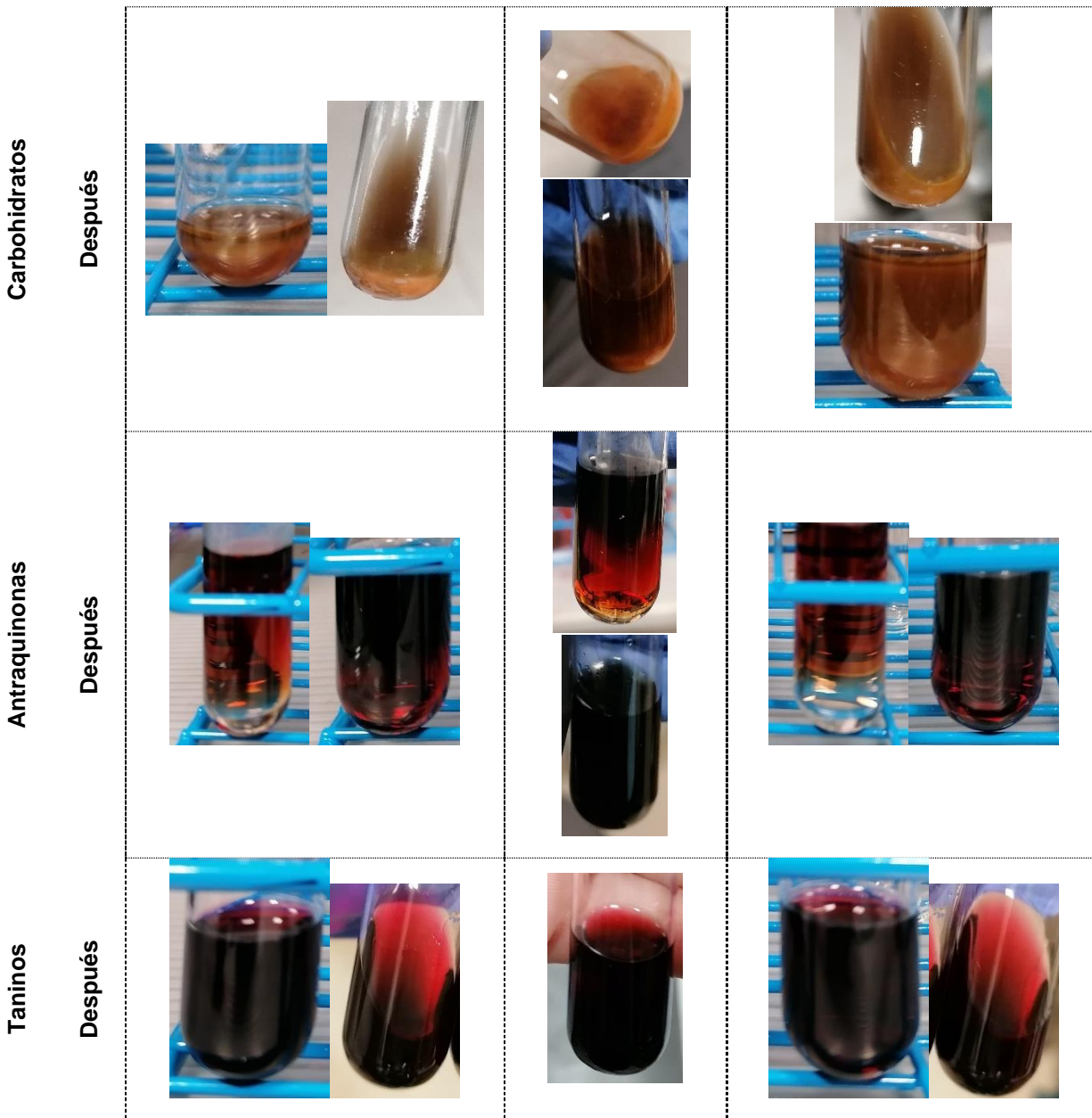


Figura 14: Evidencia de las pruebas fitoquímicas a uno, dos y tres meses desde su preparación (Continuación).

Analizando cada una de las pruebas se obtuvo que la prueba de alcaloides fue negativa en todo momento. En la prueba de identificación de saponinas, se realizó la agitación de las muestras sin diluir, pero la formación de la espuma no era muy evidente, por lo que se procedió a colocarse 9 mL de agua y agitar por el tiempo estipulado, lo que generó la formación de espuma. Las saponinas desaparecieron durante la primera semana para volver a generarse después de un mes, manteniéndose dicha espuma por bastante tiempo (seguía presentándose después de 1 hora). En la prueba de terpenoides

y esteroides, tampoco fue posible obtener un resultado positivo en el extracto fresco, pero comenzó a aumentar la cantidad del mismo después de una semana. En este caso, el grosor del anillo rojizo-café era cada vez mayor.

En la prueba de flavonoides, se originó primero una coloración verdosa y al dejar reposar unos pocos segundos, se generó una precipitación del mismo color dejando una coloración amarilla – marrón en la solución. Puede que, en este caso, se estuviera revelando una mayor cantidad de taninos debido a la gama de color de amarillo a castaño oscuro que presenta dicho metabolito [262]. De igual manera, por ser una prueba preliminar, puede existir una gran variedad de componentes flavonoides, lo que está en correspondencia con el resultado en la prueba de taninos y con lo presentado en [30, 31], donde se concluye que la mayoría de los metabolitos presentes en *Hibiscus sabdariffa L.* son los flavonoides y glucósidos. Por otro lado, en los extractos de Jamaica de cáliz rojo, se encuentra un flavonoide en gran cantidad, que le confiere su color tan característico: la antocianina. Este metabolito pudo haber reaccionado con el producto de la reacción (extracto + hidróxido de amonio) y generó al producto responsable del color amarillo, lo que llevó a un color verde (rojo + amarillo = verde). Al dejar reposar la solución, las antocianinas precipitaron y el extracto permaneció con una coloración amarilla. Esta coloración no fue clara, sino un amarillo-marrón, quizá por los residuos del precipitado y de la coloración verde-rojo todavía presente.

En la prueba de carbohidratos, tuvo una mayor presencia del color rojizo-ladrillo-anaranjado en todas las pruebas, un mismo precipitado y una ligera coloración verdosa en la superficie de la solución en la primera prueba realizada. Este color verde indica una reacción más rápida con los iones de cobre y un déficit de carbohidratos de manera soluble, lo que generaría un resultado negativo en el sobrenadante. Los colores presentaron cierta fluorescencia.

En el caso de la determinación de antraquinonas, se presentó un precipitado rojizo en la primera prueba, pero no rosa. Al agitar un poco la solución, el precipitado se incorporó en la solución y esta se oscureció. En las demás pruebas, la solución se mantuvo oscurecida (color verde-azul-negro) donde cada vez más se apreciaba una fase inferior roja a transparente. De acuerdo a [263] al reaccionar el amonio en un medio

orgánico, en específico en etanol, el metabolito que reacciona (probablemente cumarina) genera una fluorescencia azulada. De igual manera en [262] se menciona la coloración púrpura en presencia de amoníaco y cumarinas. Por otro lado, por ejemplo, la 9-10-antraquinona es de color amarillo claro y cuando está sustituida por grupos auxocrómicos, en una o más de sus ocho posiciones disponibles especialmente en las cuatro posiciones a-, se produce un incremento en la intensidad del color, que se desplaza del rojo intenso fuerte hasta el negro; lo cual ocurrió en las pruebas realizadas. Entre mayor es el número de los grupos sustituyentes donadores de electrones, más fuerte y profundo es el color. Entre más sea en la posición a- tendrá una mayor coloración que en la posición b- [264].

Finalmente, en la prueba de taninos, se observó una intensificación en los colores, con una coloración rojo-vino y morado, que correspondería a fenólicos en general y a taninos del tipo pirogalol, derivados del ácido gálico [265].

4.2 Caracterización de las nanopartículas

Utilizando un extracto fresco fue posible obtener evidencia de la síntesis de AgNPs, pero no de ZnONPs probablemente por la ausencia de terpenoides y esteroides. De acuerdo a los hallazgos de [20], [19] y [15], los fenoles juegan un papel significativo en la reducción de los iones metálicos, así mismo, la reducción es debido a los grupos hidroxilo que se encuentran en los fitoquímicos y aminoácidos, mientras que las proteínas son responsables de estabilizar a las NPs, compuestos comunes en el extracto de *Hibiscus sabdariffa* [10]. Por lo anterior, para efectos de este trabajo se utilizó un extracto con cinco meses de vejez.

4.2.1 Parámetros fisicoquímicos

Las soluciones obtenidas tanto en la síntesis de nanopartículas de plata como de óxido de zinc, tuvieron un color rojo intenso (Figura 15 a y b); con un pH de 2.80 y 2.79 respectivamente; asimismo, una densidad de 0.88 g mL^{-1} para la solución de síntesis de AgNPs, mientras que la solución de síntesis de ZnONPs fue de 0.89 g mL^{-1} . La solución de AgNPs al pasar cierto tiempo tuvo una coloración café clara, como se observa en la Figura 16, evidenciando la síntesis de dichas nanopartículas.

La síntesis de nanopartículas de cobre tuvo una coloración café oscuro antes del filtrado. La solución final de dicha síntesis presentó un precipitado, lo cual era lo esperado [247]. La solución de cobre se filtró con filtro Whatman no. 42 (Figura 15 c). El material retenido por el filtro, fue resuspendido en una solución agua-etanol al 50% v/v y tuvo una coloración café pálido con un pH de 4.82 y una densidad de 1.03 gmL⁻¹.

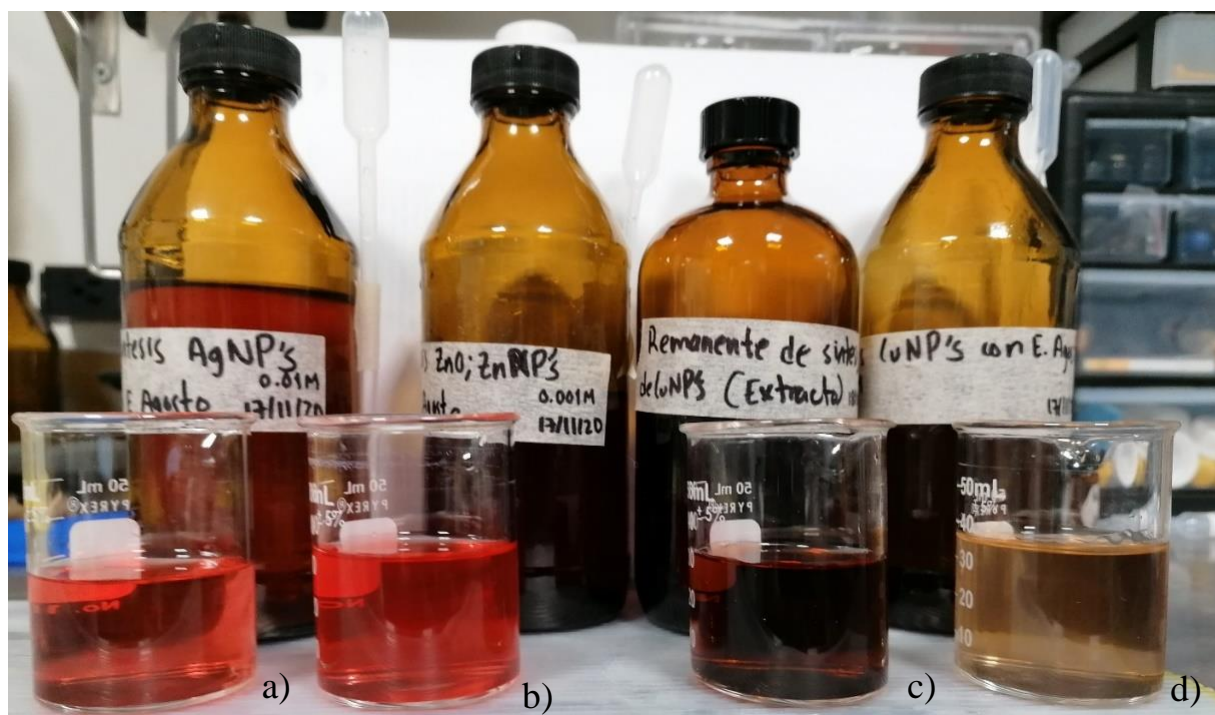


Figura 15: Apariencia de las soluciones de síntesis de las nanopartículas metálicas; a) plata, b) óxido de zinc, c) remanente de solución de cobre y d) cobre.

4.2.2 Cálculo del contenido de nanopartículas en solución

El cálculo estequiométrico para la obtención de las nanopartículas obtenidas en cada solución de síntesis se muestra a continuación.

4.2.2.1 Nanopartículas de plata

Se prepararon 200 ml de Nitrato de plata (AgNO₃) 0.01 M. Como el peso molecular de la plata es 107.86 gmol⁻¹ y del AgNO₃ es de 169.87 gmol⁻¹, el porcentaje de plata es de 63.5%.

$$g = (0.2 L) * \left(\frac{0.01 mol}{L}\right) * \left(\frac{169.87 g}{mol}\right)$$

$$g = 0.3397 \text{ g de } AgNO_3$$

$\therefore g_{Ag} = 0.2157 \text{ g}$ en 200 ml de solución. Esto quiere decir que en un litro tenemos 1.0785 g de plata.

$$\therefore ppm_{Ag} = 1078.55$$



Figura 16: Apariencia de la solución de síntesis de nanopartículas de plata después de 48 horas de reacción.

4.2.2.2 Nanopartículas de óxido de zinc

Se realizó una solución de 200 ml de Nitrato de zinc ($Zn(NO_3)_2$) 0.001 M. Como el peso molecular del zinc es 65.38 gmol^{-1} y del $Zn(NO_3)_2$ es de 189.39 gmol^{-1} , el porcentaje de zinc es de 42.97%.

$$g = (0.2 \text{ L}) * \left(\frac{0.001 \text{ mol}}{\text{L}} \right) * \left(\frac{189.39 \text{ g}}{\text{mol}} \right)$$

$$g = 0.0378 \text{ g de } ZnNO_3$$

$\therefore g_{ZnO} = 0.01624 \text{ g}$ en 200 ml de solución. Esto quiere decir que en un litro tenemos 0.0812 g de óxido de zinc.

$$\therefore ppm_{Zn} = 81.21$$

4.2.2.3 Nanopartículas de cobre

Se preparó una solución de 200 ml de carbonato de cobre (CuCO_3) 0.004 M. Como el peso molecular del cobre es 63.54 gmol^{-1} y del CuCO_3 es de $221.116 \text{ gmol}^{-1}$, entonces el porcentaje de cobre es de 28.74%.

$$g = (0.2 \text{ L}) * \left(\frac{0.004 \text{ mol}}{\text{L}}\right) * \left(\frac{221.116 \text{ g}}{\text{mol}}\right)$$

$$g = 0.17689 \text{ g de CuCO}_3$$

$\therefore g_{\text{Cu}} = 0.0508 \text{ g}$ en 200 ml de solución. Esto quiere decir que en un litro tenemos 0.254 g de cobre.

$$\therefore \text{ppm}_{\text{Cu}} = 254.04$$

4.2.3 Análisis de espectroscopia de UV-Vis

El análisis de la presencia de nanopartículas tanto de Ag, Cu y ZnO se realizó en el equipo PerkinElmer UV/Vis Lambda 365.

En la solución de síntesis de AgNPs se obtuvo un pico característico a una longitud de onda de 517 nm (Figura 17), lo que dio indicios de un tamaño de partícula mayor a 100 nm [240]. En el caso de las ZnONPs se obtuvo una absorbancia alrededor de 327 nm en una muestra nueva de acuerdo a la Figura 18. En una muestra con un mes de vejez (Figura 19) se obtuvo una absorbancia en 287 y en 508 nm que podía corresponder a una forma esférica y nanowires respectivamente [266, 267].

Los espectros de UV de las soluciones de síntesis de cobre no mostraron una absorbancia característica de las nanopartículas de cobre (entre 500 a 600 nm) [258], lo cual se esperaba que ocurriera en la solución obtenida del filtrado por la retención del material. En el caso de la resuspensión del precipitado obtenido mostró absorbancia en 289 y 323 nm lo que pudo estar ligado al material orgánico contenido en el extracto usado (Figura 20). Por lo tanto, la presencia de dichas NPs solamente pudo ser corroborada con el análisis por SEM-EDS.

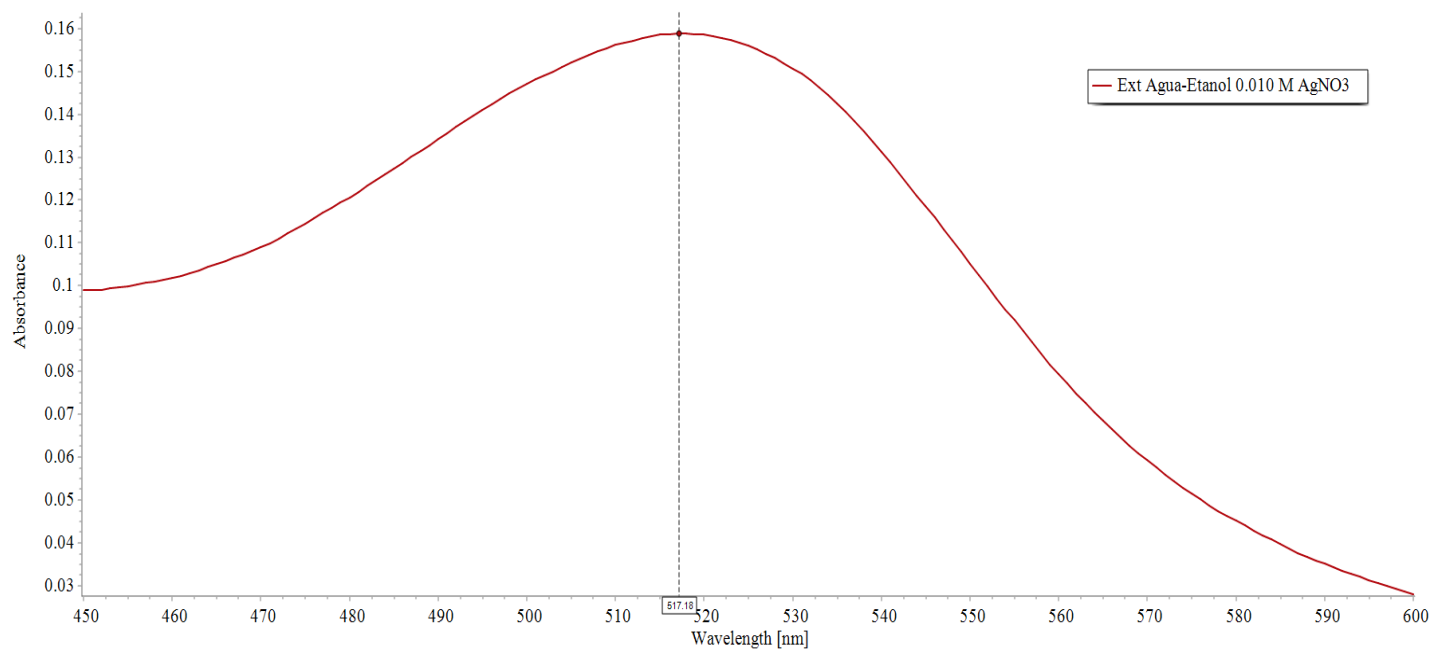


Figura 17: Espectro UV para la solución de síntesis de AgNPs en extracto agua-etanol de *Hibiscus sabdariffa*.

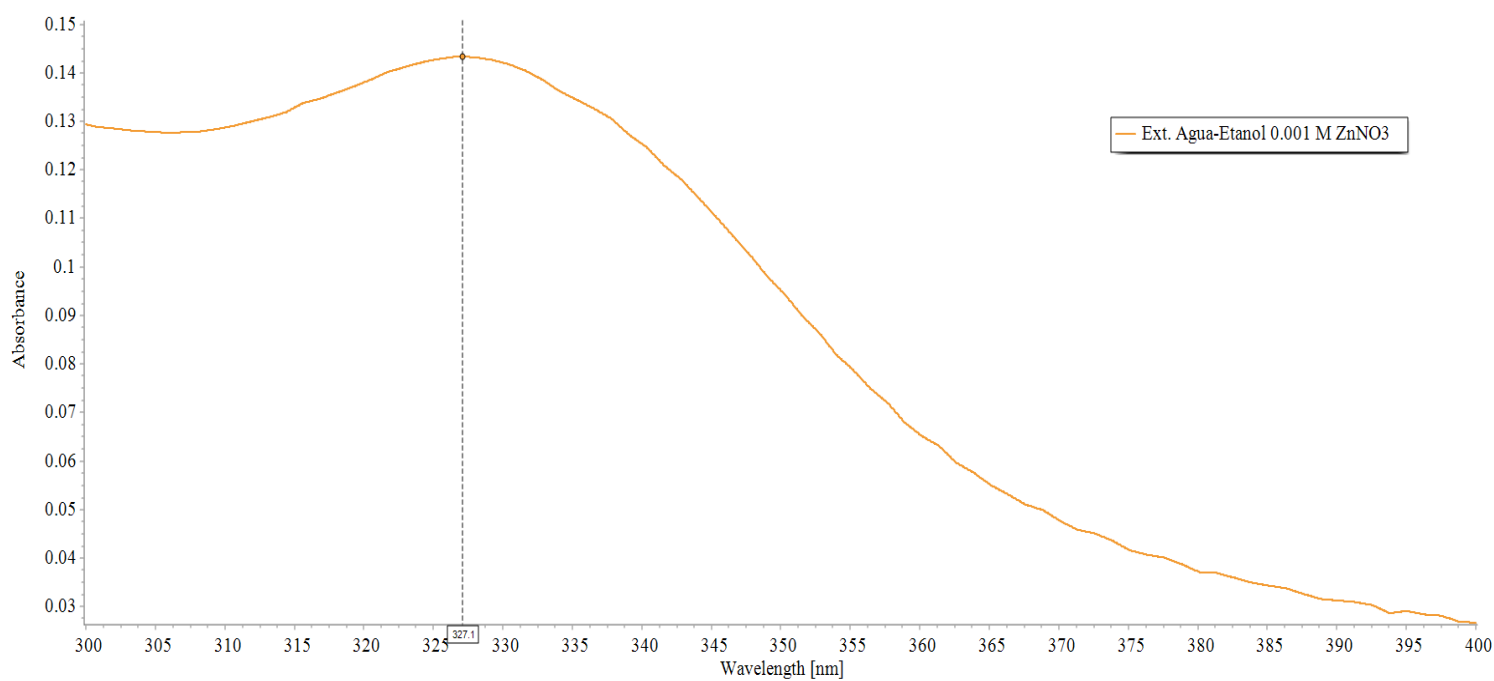


Figura 18: Espectro UV para la solución de síntesis de ZnONPs en extracto agua-etanol de *Hibiscus sabdariffa*.

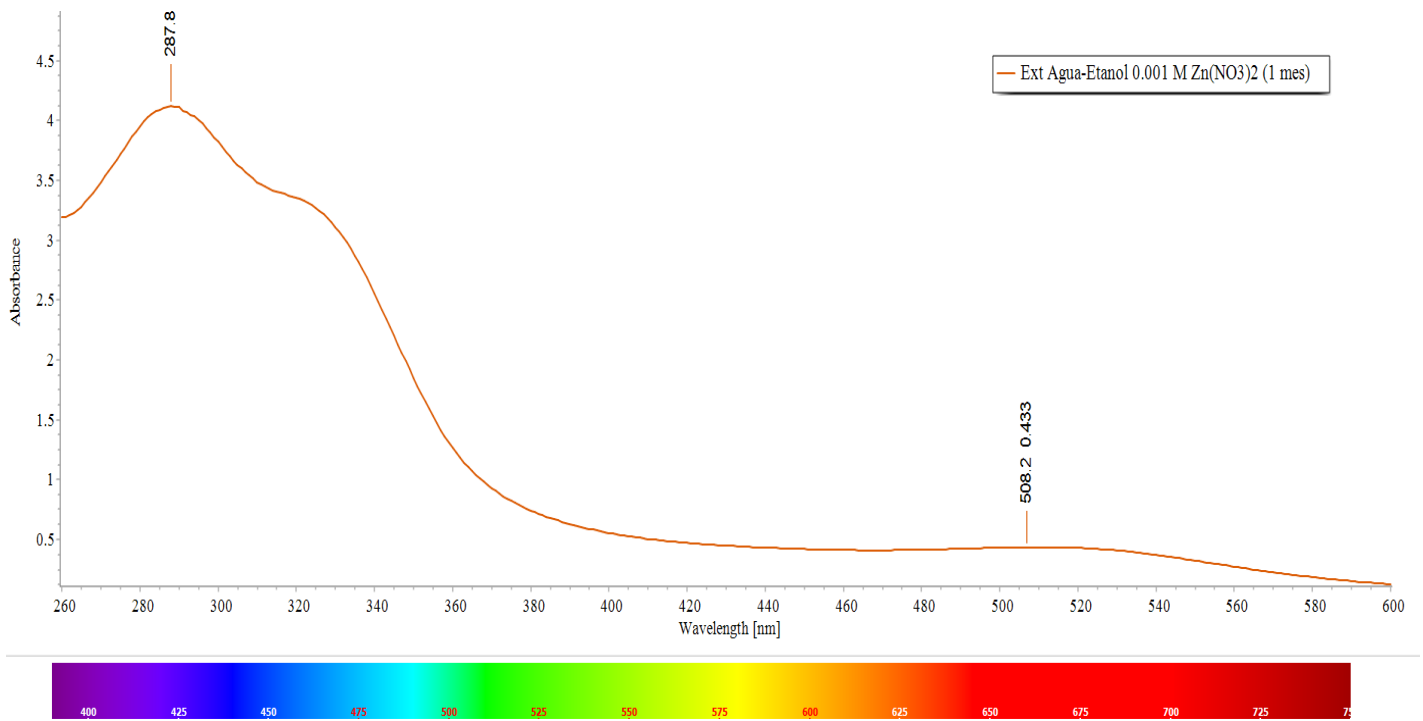


Figura 19: Espectro UV para la solución de síntesis de ZnONPs en extracto agua-etanol de *Hibiscus sabdariffa* a un mes de su síntesis.

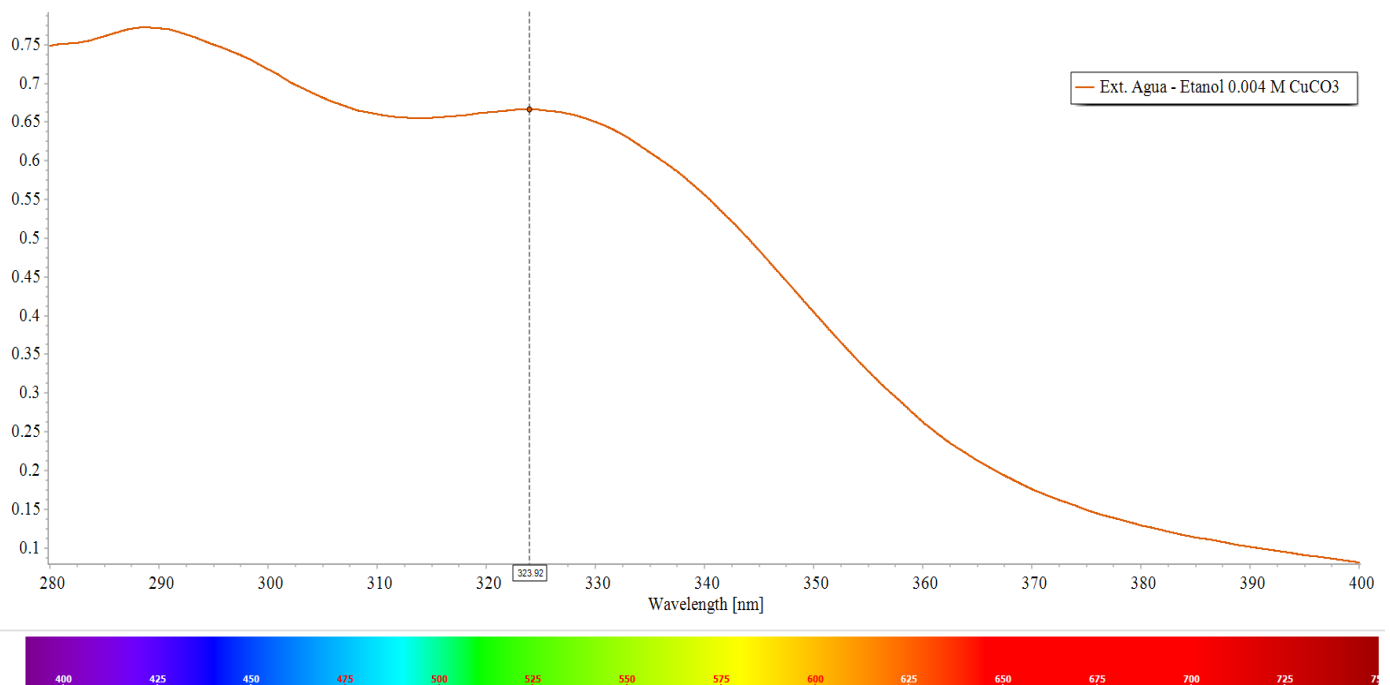


Figura 20: Espectro UV para la solución de síntesis de CuNPs después de filtrar y resuspender en solución agua – etanol.

4.2.4 Análisis SEM-EDS

Para demostrar la existencia de las NPs, así como para corroborar el tamaño de las mismas, se realizó el análisis por medio de SEM después de realizar la centrifugación de cada una de las muestras y el tratamiento de secado pertinente. De la Figura 21 a 23 se muestran las micrografías obtenidas con algunos tamaños de partícula encontrados para Ag, Cu y ZnO respectivamente.

Las formas encontradas en las AgNPs fueron semiesferas y formas no muy bien definidas con tamaños menores y mayores a 100 nm. Las NPs de óxido de zinc sintetizadas tuvieron una forma de nanotubos / nanofibras / nanowires (Figura 23 b) muy alargados y entrecruzados, que imposibilitaron su medición, por lo que el tamaño medido corresponde al ancho de estos alambres. Estas nanoestructuras tuvieron poca resistencia al impacto de los electrones ya que se destruyen en alta resolución. También se encontraron algunas NPs semicirculares y rectangulares (Figura 23 a) con tamaños entre 90 a 140 nm cuando se dejó reaccionar por poco tiempo al extracto y a la solución iniciadora. Lo anterior está en correspondencia a lo obtenido en los resultados de UV-Vis. En el caso de las nanopartículas de cobre, se obtuvieron formas semiesféricas e irregulares con gran tendencia a la formación de clusters.

Ahora bien, en el análisis de EDS se tomaron tres puntos de estudio para la muestra de la solución de síntesis tanto de plata como de cobre y dos puntos para la solución de síntesis de óxido de zinc. Se descartó el punto 3 del análisis en cobre por no realizarse a una nanopartícula, pero dio información importante que se tratará más adelante.

En la solución de las AgNPs se encontró una fuerte señal en 3 keV. De acuerdo a la literatura, los nanocristales de plata metálica muestran un pico de absorción óptica típico aproximadamente a 3 keV [265, 268, 269]. También se encontraron trazas de carbono, oxígeno, silicio, azufre y cloro, elementos presentes en la composición natural de *Hibiscus sabdariffa* [30].

En el caso de la solución de ZnONPs, se comprobó debido a la cantidad obtenida de oxígeno y zinc que se formaron ZnONPs en las dos muestras analizadas. La primera

muestra corresponde a las NPs semiesféricas y la segunda a los alambres. En la muestra uno se ve una mayor cantidad de elementos presentes, que se asocia al recubrimiento del óxido de zinc por los fitoquímicos que se encuentran en el extracto [41].

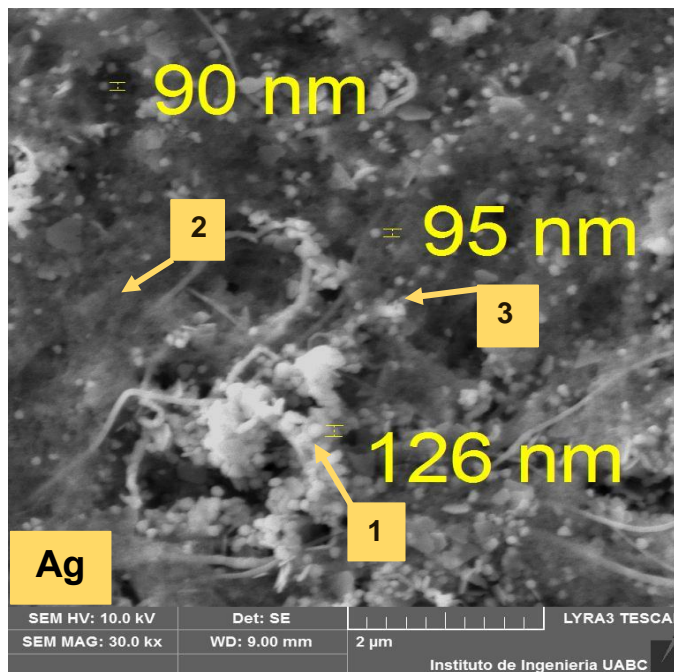


Figura 21: Evidencia de la presencia de nanopartículas de plata usando extracto agua – etanol en 0.010 M de AgNO_3 . Localización de los puntos de medición para EDS.

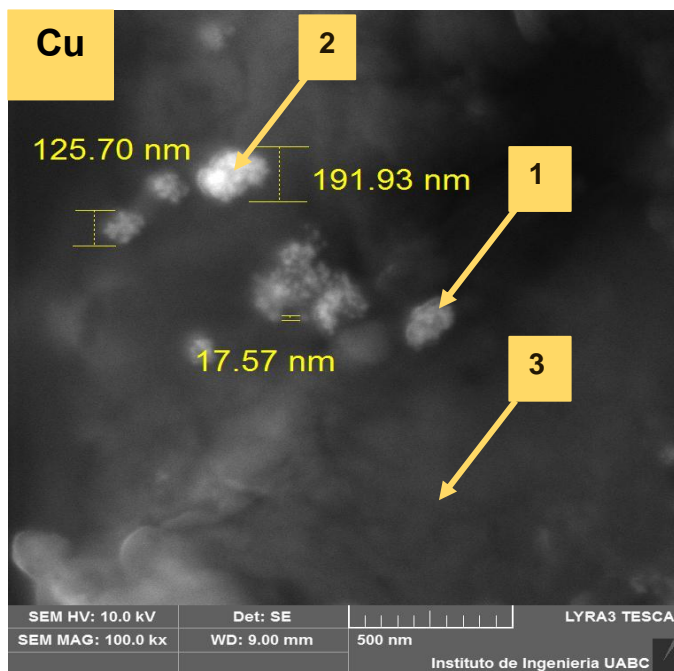


Figura 22: Evidencia de la presencia de nanopartículas de cobre usando extracto agua – etanol en 0.004 M de CuCO_3 . Localización de los puntos de medición para EDS.

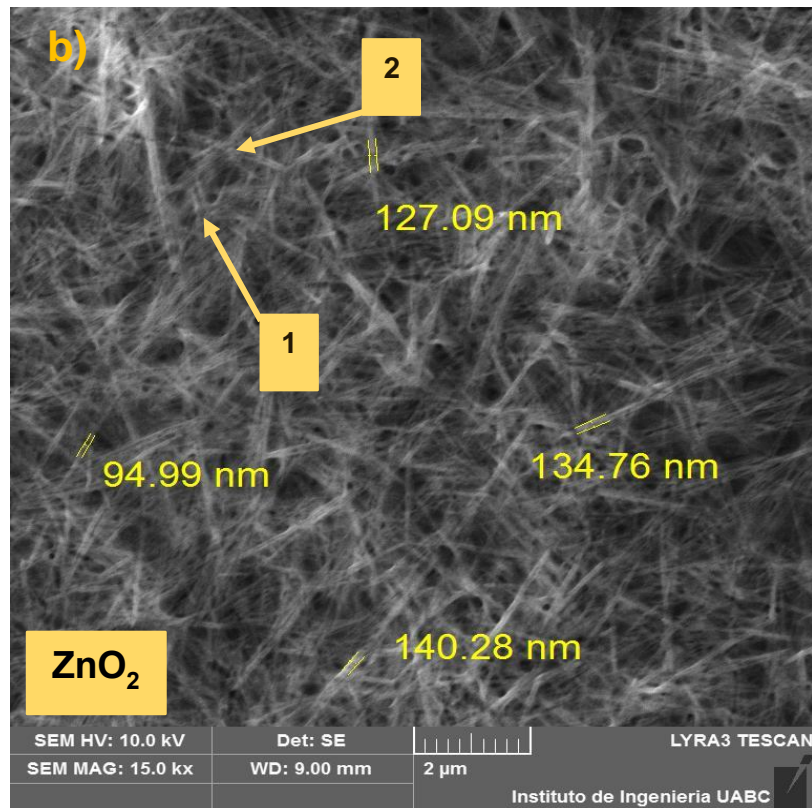
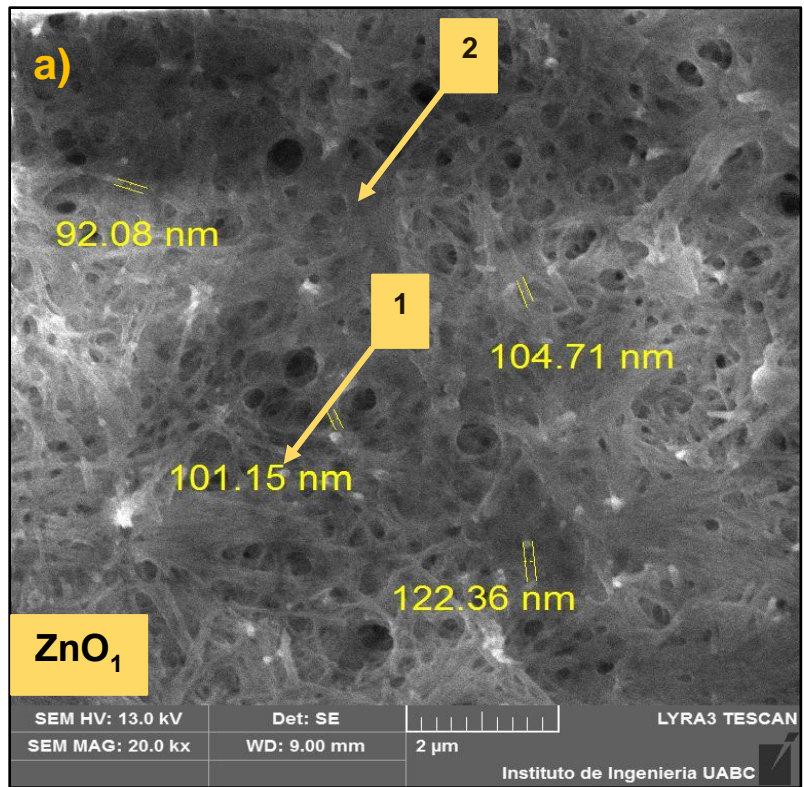


Figura 23: Evidencia de la presencia de nanopartículas de zinc usando extracto agua – etanol en 0.001 M de $Zn(NO_3)_2$. a) a una semana de reacción, b) un mes de reacción. Localización de los puntos de medición para EDS.

Ahora bien, para el análisis de las CuNPs se obtuvo una cantidad baja de cobre en los puntos seleccionados, lo que significa un bajo rendimiento en la síntesis. Se encontraron además elementos que se presentaron en las AgNPs y ZnONPs; azufre, aluminio, cloro, potasio y en mayor proporción, carbono y oxígeno. El realizar el análisis en el punto 3 que se descartó, ayudó a comprender que algunos de los elementos capeadores claves en esta NP son aquellos que contienen cloro y potasio.

En la Tabla 4 se muestra un compilado de los porcentajes de cada elemento anteriormente mencionado y de la Figura 24 a 27 se muestran los gráficos obtenidos por EDS de acuerdo al objetivo analizado.

Tabla 11: Resultados del análisis de EDS de manera compilada, para Ag, Cu y ZnONPs.

	Punto	Elemento (Porcentaje en masa (%))											
		C	O	Al	Si	P	S	Cl	K	Ca	Ag	Zn	Cu
Ag	1	3.02	4.20	-	-	-	-	-	-	-	94.35	-	
	2	13.73	4.84	-	0.15	-	0.28	11.75	-	-	64.71	-	
	3	10.26	4.29	-	-	-	-	9.17	-	-	71.17	-	
ZnO ₁	1	2.08	23.93	0.36	-	-	-	2.55	8.88	5.51	-	57	
	2	3.70	30.40	-	-	0.43	-	1.16	4.07	2.37	-	57.72	
ZnO ₂	1	54.55	25.34	-	-	-	-	-	-	-	-	24.23	
	2	61.25	23.38	-	-	-	-	-	-	-	-	21.10	
Cu	1	57.60	16.59	12.27	-	-	0.47	1.48	0.90	-	-	-	11.94
	2	44.08	12.93	15.53	-	-	-	0.52	0.62	-	-	-	24.95

Los demás elementos encontrados fueron debido a que el extracto generó una deposición sobre la NP; por lo tanto, dichos compuestos son los responsables de la reducción y capeo de las NPs sintetizadas. Por lo tanto, los elementos capeadores claves en estas NPs son aquellos que contienen cloro y en el caso particular de las ZnONPs los terpenoides y esteroides organoclorados.

Los principales metabolitos secundarios encontrados en *Hibiscus sabdariffa* son las antocianinas, entre ellas cianidina – 3 –rutinósido, cianidina – 3 – glucoxilosa, delphinidina– 3 – glucoxilosa y delphinidina – 3 – sambubiósido, las cuales se encuentran en su mayoría cloradas (Figura 28) [52].

En el estudio presentado por [268] sobre *Hibiscus cannabinus* (planta semejante a *Hibiscus sabdariffa*) se muestra la presencia de cloro, carbono y oxígeno en su estudio

de EDS donde redujeron la parte orgánica con un secado completo manteniendo una presencia de compuestos organoclorados.

La respuesta de los demás elementos, puede deberse a algún grupo funcional que esté ligado a ciertos puntos de unión o enlace de las antocianinas o flavonoides [31]. Por otro lado, no se puede descartar el hecho de presentar dichos elementos por el método de siembra y compuestos químicos utilizados para su crecimiento y conservación (fertilizantes, pesticidas e insecticidas) los cuales presentan fósforo, azufre, entre otros. De igual manera, ha sido documentado la aplicación de sulfatos de ciertos metales en los cálices de Roselle para incrementar la concentración de antocianinas y otros flavonoides como método foliar de micronutrientes [270].

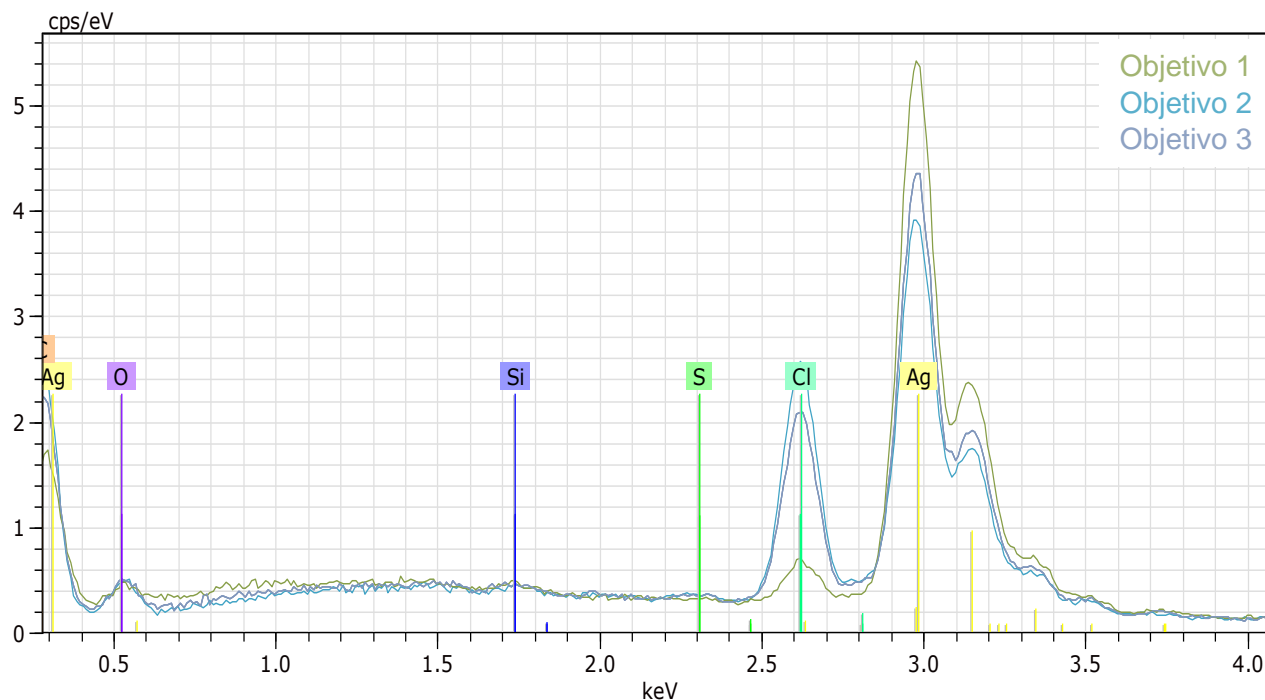


Figura 24: Resultados de los análisis de EDS en muestra de síntesis de nanopartículas de plata usando extracto agua – etanol en 0.001 M de AgNO_3 .

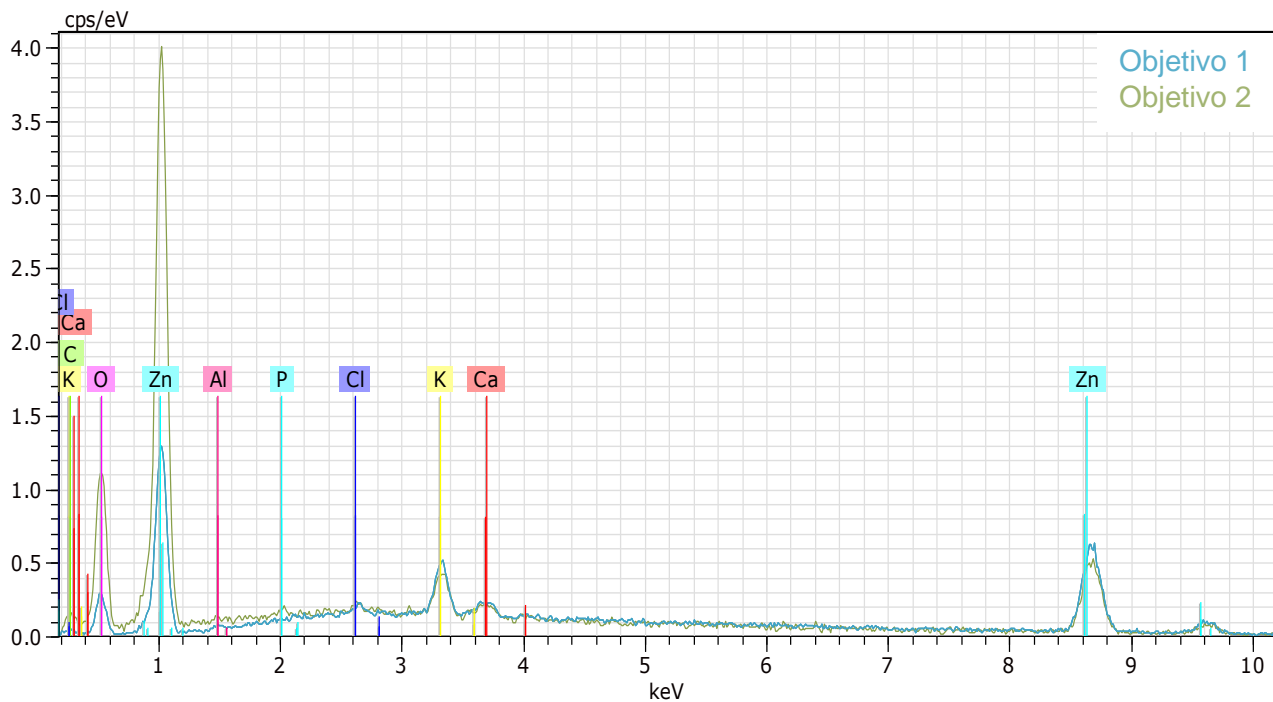


Figura 25: Resultados de los análisis de EDS en muestra de síntesis de nanopartículas de zinc usando extracto agua – etanol en 0.001 M de $Zn(NO_3)_2$. Primera muestra.

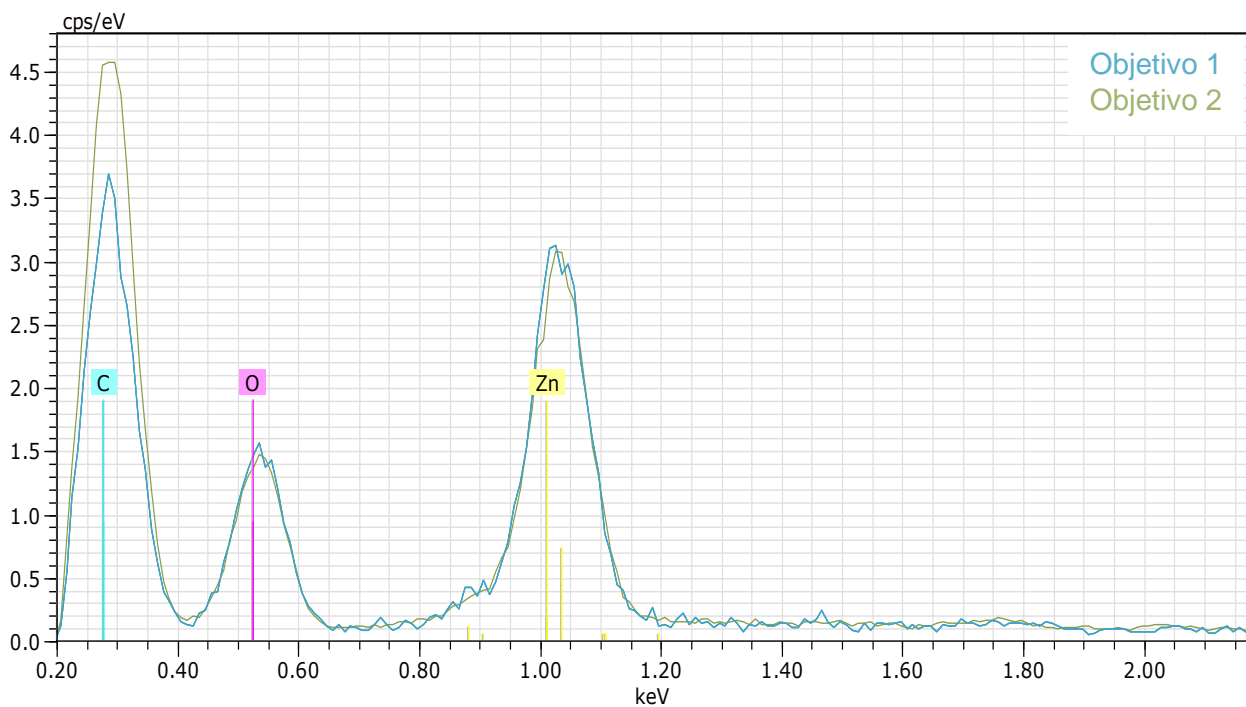


Figura 26: Resultados de los análisis de EDS en segunda muestra de síntesis de nanopartículas de zinc usando extracto agua – etanol en 0.001 M de $Zn(NO_3)_2$.

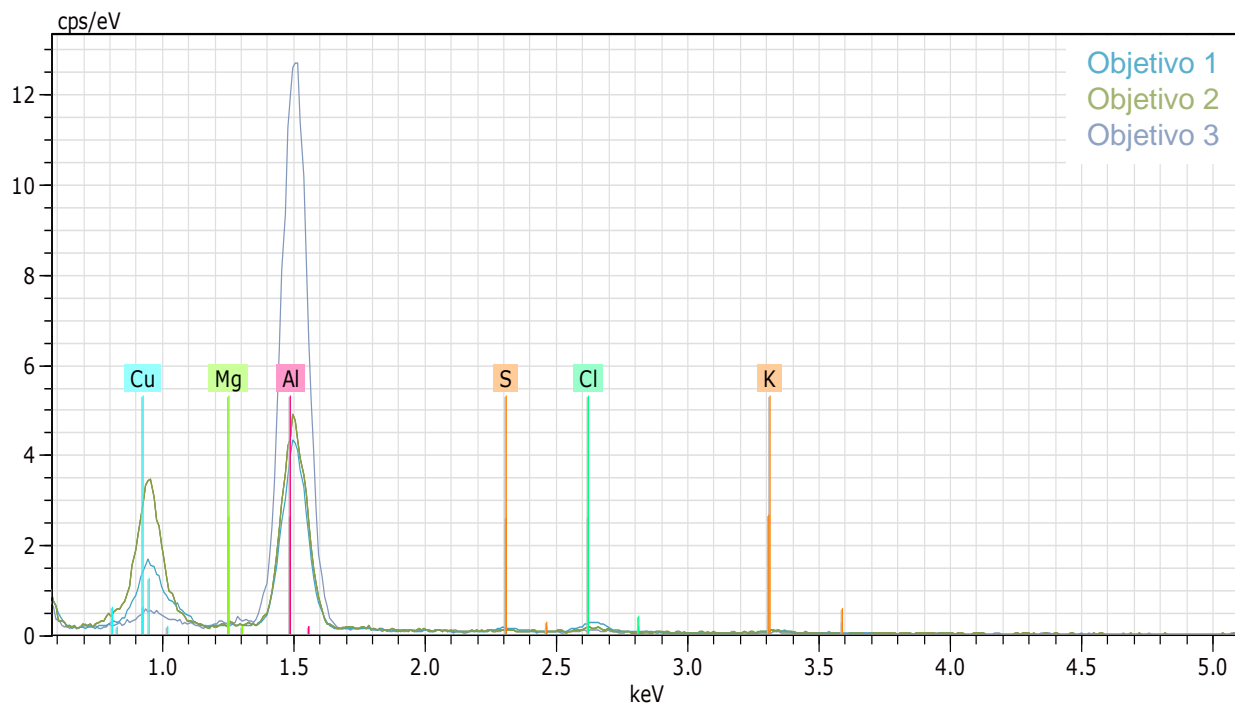


Figura 27: Resultados de los análisis de EDS en muestra de síntesis de nanopartículas de *cobre* usando extracto agua – etanol en 0.004 M de CuCO_3

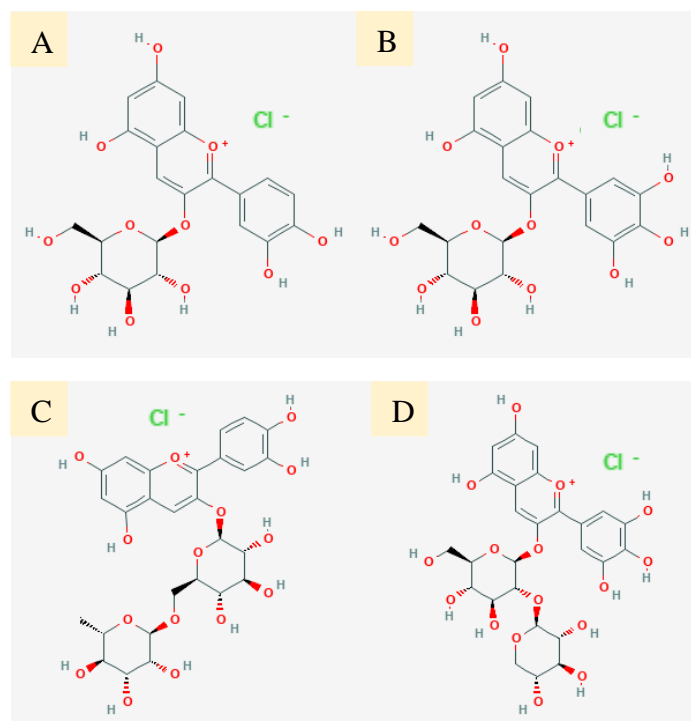


Figura 28: Algunas de las antocianinas más abundantes en *Hibiscus sabdariffa*. A) cianidina – 3 – glucosilosa, B) delfinidina– 3 – glucoxilosa, C) cianidina – 3 – rutinósido, D) delfinidina – 3 – sambubiosido [52].

4.2.5 Estudio MP-AES AgNPs

La concentración inicial para las nanopartículas de plata obtenido por MP-AES a una semana de su síntesis fue en promedio de 900 ppm la cual disminuyó a 709 ppm cuando la solución tuvo una vejez de dos meses.

4.2.6 Análisis DLS

Para la determinación del potencial Z, tamaño medio de partícula y la distribución de tamaño de partícula en las AgNPs se realizó el análisis de la solución en DLS. Las AgNPs tuvieron un potencial Z de +6 mV, por lo que se consideran mínimamente estables [246], de acuerdo a [271, 174], valores del potencial Z en NPs entre -10 a +10 mV se considera como un valor neutro. Cotejando con el resultado obtenido en el análisis de MP-AES, las AgNPs pueden ser estables en un periodo de tiempo menor a un mes ya que tienen a aglomerarse y precipitar. Revisando una muestra almacenada de 5 meses en condiciones de ausencia de luz y a temperatura de 20°C no se apreció una precipitación significativa, por lo que, mejorando las condiciones de reserva, la estabilización de las soluciones puede mejorar.

El tamaño promedio de las NPs en un 95% del total fue de 182 nm (Figura 29).

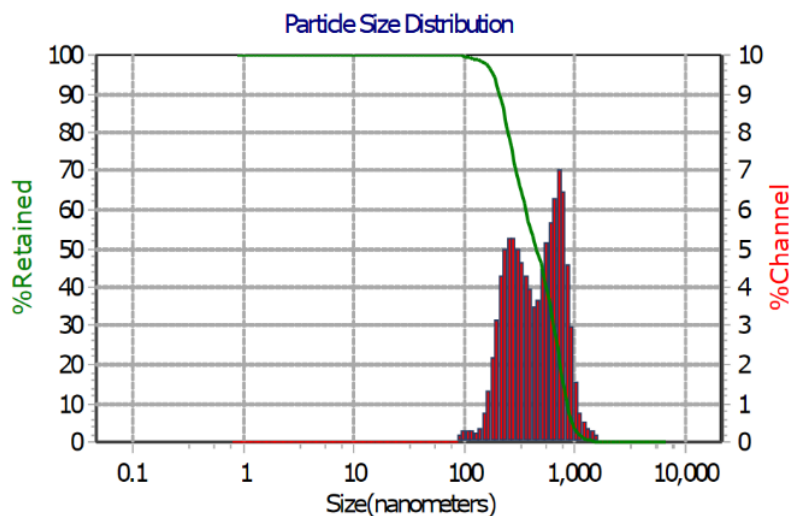


Figura 29: Distribución del tamaño de partícula de la solución de síntesis de 0.010 M AgNO₃ con extracto de Agua - Etanol.

Con fines comparativos, se realizó un extracto acuoso y uno etanólico en las mismas condiciones presentadas en el capítulo anterior para la síntesis de AgNPs. En el caso del extracto de agua, se obtuvo una distribución de partícula en un rango pequeño con un potencial Z de -4.4 mV. Revisando la solución una semana después, se obtuvo una gran cantidad de material precipitado. El tamaño de partícula fue de 629.3 nm, lo que lo hace ya no pertenecer al grupo de NPs (menor a 100 nm). En el caso del etanol, el 95% de las partículas tuvieron un diámetro menor a 135.5 nm con un potencial Z positivo de 37.3 mV lo que indica una alta estabilidad (Figura 30). El valor positivo del potencial Z puede deberse al solvente utilizado, ya que el extracto agua-etanol también presentó un valor positivo. Un resumen de los resultados se muestra en la Tabla 12.

Tabla 12: Resultados del DLS en algunas de las mejores soluciones de síntesis obtenidas.

Solución	Potencial Z (mV)	Vol (%)		Diámetro (nm)		Conductividad (uS / cm)
		Pico 1	Pico 2	95%	Medio	
Ext. agua 0.005 M	- 4.4	100	-	629.3	748	652
Ext. etanol 0.020 M	+ 37.3	98.1	-	135.5	192.4	2343
		-	1.9		6000	
Ext. A-E 0.010 M	+ 6.0	46.6	-	182.0	264.3	1717

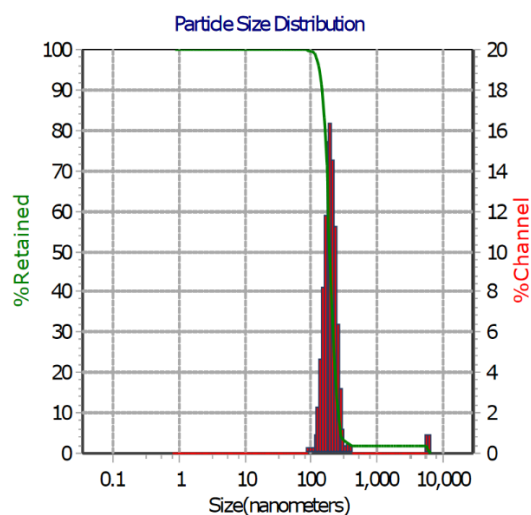


Figura 30: Distribución del tamaño de partícula de la solución de síntesis de 0.020 M AgNO₃ con extracto de etanol.

También se realizó el análisis de la solución de ZnONPs. El valor del potencial Z fue +86.9 mV lo que evidenció su alta estabilidad.

4.3 Pruebas a soluciones desinfectantes y elimina olores

Las soluciones tuvieron dos etapas de desarrollo; la primera fue la determinación de los componentes necesarios para obtener resultados satisfactorios tanto en su capacidad inhibitoria como en su capacidad neutralizadora. La segunda parte constó en optimizar las concentraciones de los activos y mejoramiento de apariencia y olor característico. A partir de lo anterior, se obtuvieron las soluciones que se encuentran en la Tabla 8 y 9.

4.3.1 Parámetros fisicoquímicos

Las soluciones desinfectantes y elimina olores fueron homogéneas y transparentes sin material flotante o precipitado. Dicha apariencia sigue manteniéndose después de cinco meses de su realización. Algunas soluciones se muestran en la Figura 31 y sus valores de pH y densidad se muestran en la Tabla 8 y 9.

Las soluciones optimizadas siguen manteniendo sus parámetros y no se muestran cambios en su homogeneidad después de 5 meses, por lo que se consideró que se obtuvieron soluciones emulsionantes con y sin NPs con buena estabilidad.



Figura 31: Apariencia de las soluciones desarrolladas en este trabajo.

4.3.2 Pruebas microbiológicas

Se realizaron antibiogramas en el Laboratorio de Microbiología de la empresa Industrias Bioquim por duplicado para *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Debido a resultados altos y positivos se realizó antibiograma para *Pseudomonas aeruginosa*, cepa considerada “resistente” por obtenerse después de aplicarle diferentes antibióticos, por lo que es mucho más fuerte que una cepa nueva. Dicha cepa fue aislada de un urocultivo clínico. El tiempo de incubación fue de 24 h, no obstante, se obtuvieron resultados antes de las 12 h.

El resumen de los resultados se muestra en la Figura 32 y 33 a la misma escala. Los valores obtenidos de inhibición a las 48 h se muestran en el apartado de Anexos: Anexo 3. Las soluciones Ds obtuvieron los mejores resultados en cuanto a su poder inhibitorio contra *E. coli* y *S. aureus*, ya que alcanzaron más de 10 mm de inhibición aún a una dilución de 6%, al igual que 1, 2, 5 y 6, donde estos últimos tuvieron mayor consistencia entre diluciones.

Antes de optimizar la cantidad de surfactantes en las soluciones Ds, se habían obtenido valores más altos contra *Pseudomonas aeruginosa* (Anexos 4). Lo anterior pudo haber sido por dos razones factibles: de acuerdo a [165, 6, 184], los surfactantes aumentan el poder inhibitorio de los compuestos desinfectantes por su capacidad de penetración y en este caso las soluciones modificadas se les disminuyó la cantidad de dos de sus surfactantes; y la cepa *P. aeruginosa* es considerada cepa “resistente”, la cual ha tenido otros tratamientos en estos últimos 4 meses que la han hecho ser más resistente que en su revisión anterior. Las soluciones 1 a 5 tuvieron mayor actividad que las soluciones Ds contra esta cepa, debido a que la cantidad utilizada de activos en Ds es menor.

Por el contrario, para las otras dos cepas, el hecho de haber disminuido la cantidad del surfactante, permitió que otros de los ingredientes activos, en este caso W/X pudieran actuar más rápidamente ya que pueden no estar generando tanta cantidad de micelas y solamente se está generando una solubilidad y estabilización.

En la Figura 34 se muestran algunos antibiogramas de las soluciones anteriormente mencionados.

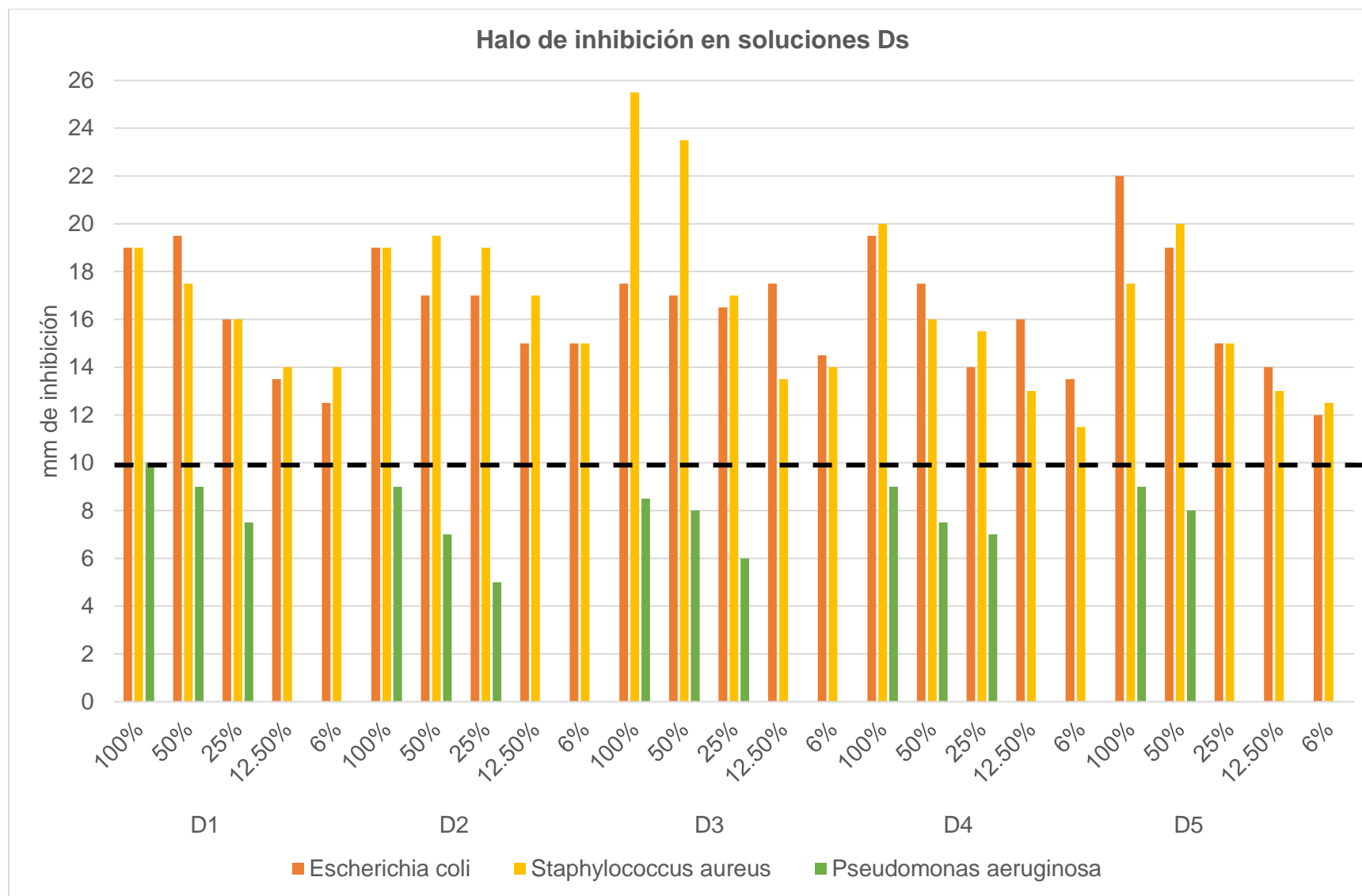


Figura 32: Halos de inhibición en mm de las formulaciones desinfectantes sin nanopartículas.

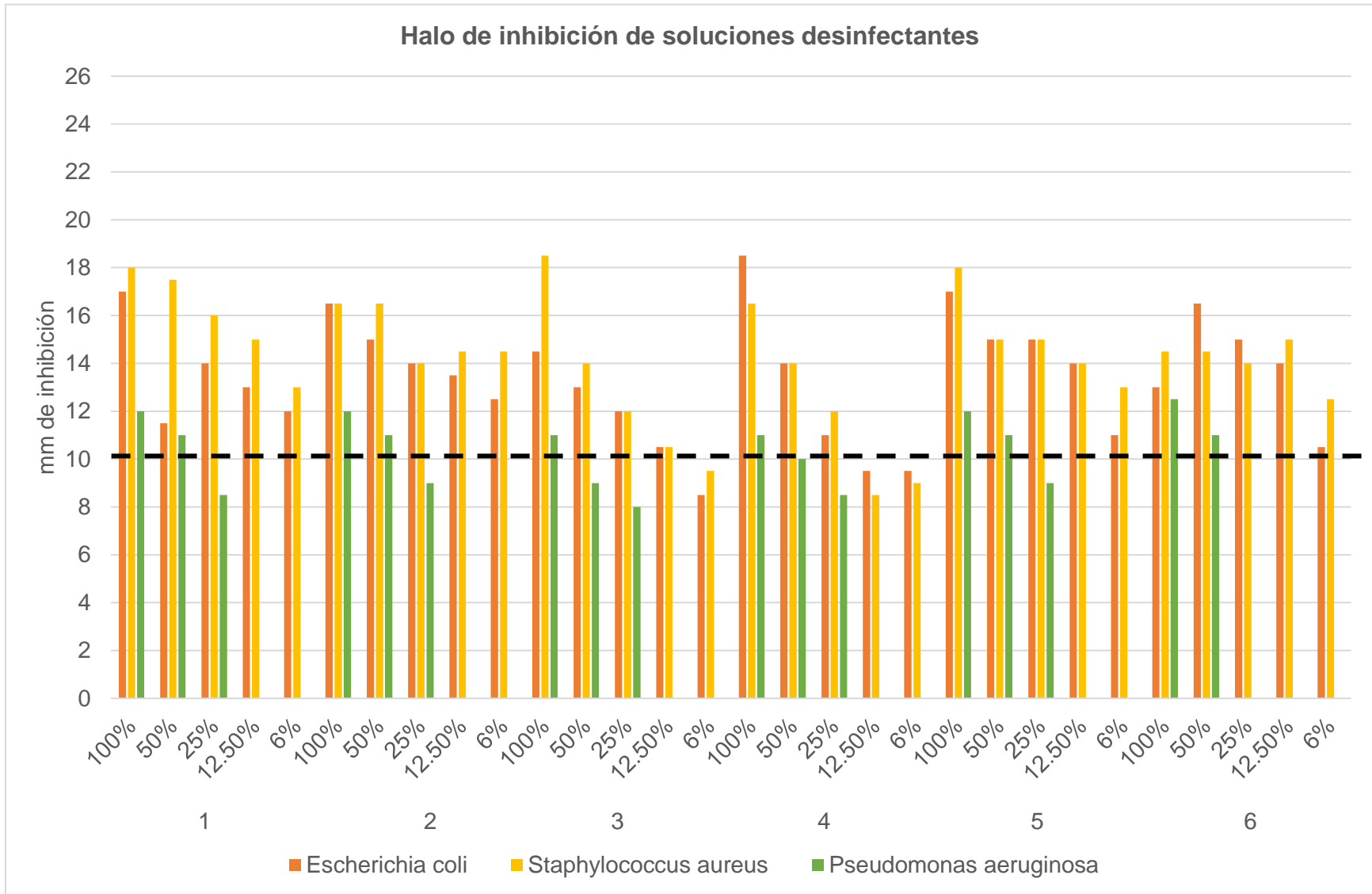


Figura 33: Halos de inhibición en mm de las formulaciones desinfectantes con nanopartículas.

Ahora bien, las soluciones con NPs (1, 3, 4 y 5) que no contienen W/X pudieron haber mostrado el siguiente comportamiento:

Se tiene una mayor actividad antimicrobiana en 1 que solamente contiene AgNPs a comparación con 3 y 4 que también contienen CuNPs y ZnONPs respectivamente, que puede estar ligado a que dichas NPs ocupan el espacio o los receptores de las bacterias lo que no permite que la plata interactúe y genere la muerte celular.

Cuando las tres NPs interactúan presentan una mejor sinergia. Las NPs de plata y de óxido de zinc pueden generar nanoestructuras complejas [182, 174, 21] que llegan a tener mejor actividad a que si estuvieran solas [10, 273], pero dicha sinergia no se genera si no se encuentran las tres nanoestructuras presentes, como en 3 y 4. También pudieran haberse generado enlaces entre las CuNPs y ZnONPs con mayor afinidad que las que se pueden obtener con las AgNPs, por lo que permiten que estas últimas se encuentren de manera más libres e interactúen de mejor forma con los microorganismos, como se presentó en 1 y 5.

Otro factor importante es el tamaño de las AgNPs, ya que se obtuvieron tamaños relativamente grandes que pueden no generar una gran inhibición pero que a su vez permite no ser tóxico para el ser humano [150]. Así mismo la vejez de las NPs.

Por otro lado, las soluciones 2 y 6 que si contienen W/X, otros dos ingredientes activos antimicrobianos, no se apreció una gran diferencia en su poder inhibidor en ninguna de las tres cepas probadas. De igual manera comparando con 1 tampoco se aprecia mucho cambio en dicha actividad antimicrobiana. Por lo anterior, las NPs y W/X no están generando un cambio o mejoramiento en las formulaciones de manera visible en este corto tiempo de revisión, pero pueden aportarle tiempo de residencia y acción prolongada. Los componentes G y J actúan de manera inmediata (min) pero las NPs no; estas requieren de mayor tiempo de exposición (h) para interactuar con el microorganismo [274]. También se debe de considerar que los componentes presentes en W, pueden estar funcionalizando y actuando como una protección o doble capeo de dichas NPs, permitiendo que duren más, pero haciendo que la liberación de los iones sea lenta, efecto que se mostró en 1, 2, 5 y 6 porque aumentó su capacidad inhibitoria al comparar a las 48 h.

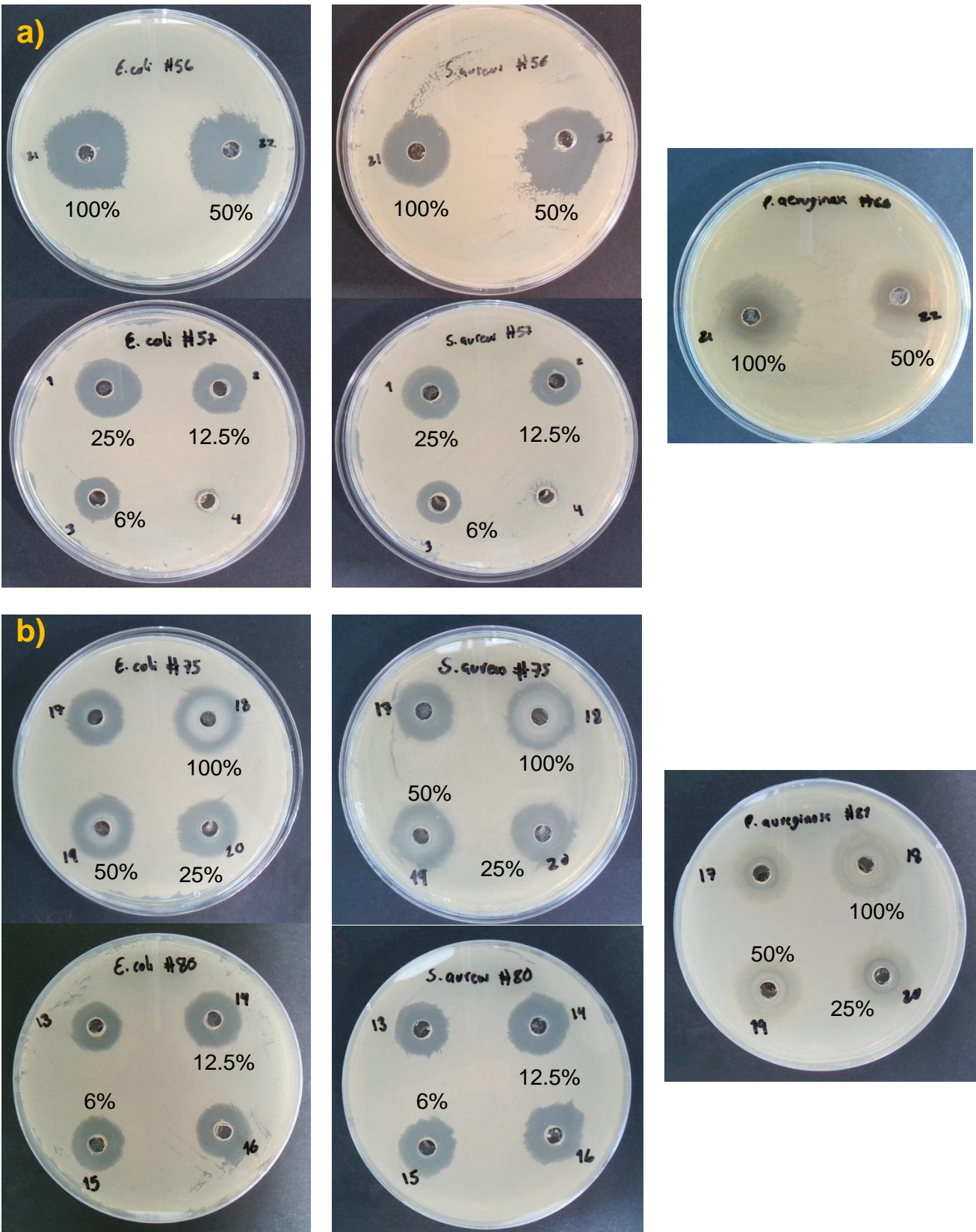


Figura 34: Halos de inhibición de a) D₅ y b) Desinfectante 6 con NPs en las tres cepas evaluadas a diferentes diluciones.

De manera general, el componente W tiene impacto tanto en Gram-positivas, como en Gram-negativas, mientras que las AgNPs tienen mayor impacto contra Gram-negativas. G tiene un gran poder contra Gram-positivas.

Ahora bien, debido al bajo rendimiento de las soluciones neutralizadoras planteadas en la Tabla 8, no se realizó su respectivo análisis contra *Pseudomona aureuginosa*. Los resultados obtenidos contra *E. coli* y *S. aureus* se muestran en la Tabla 13 y en la Figura 35 se exhiben los halos de inhibición de la solución N2 utilizando la fragancia 3.

De acuerdo a la composición de las formulaciones, el componente W tuvo mayor poder de acción contra los microorganismos probados. En este tipo de formulaciones se aprecia la existencia de una mejor sinergia entre W/X y las AgNPs probablemente por los demás elementos presentes en la formulación de tipo glicol. Por otro lado, este tipo de soluciones contienen una menor cantidad de ingredientes activos de tipo desinfectante, lo que está en correspondencia con los resultados obtenidos.

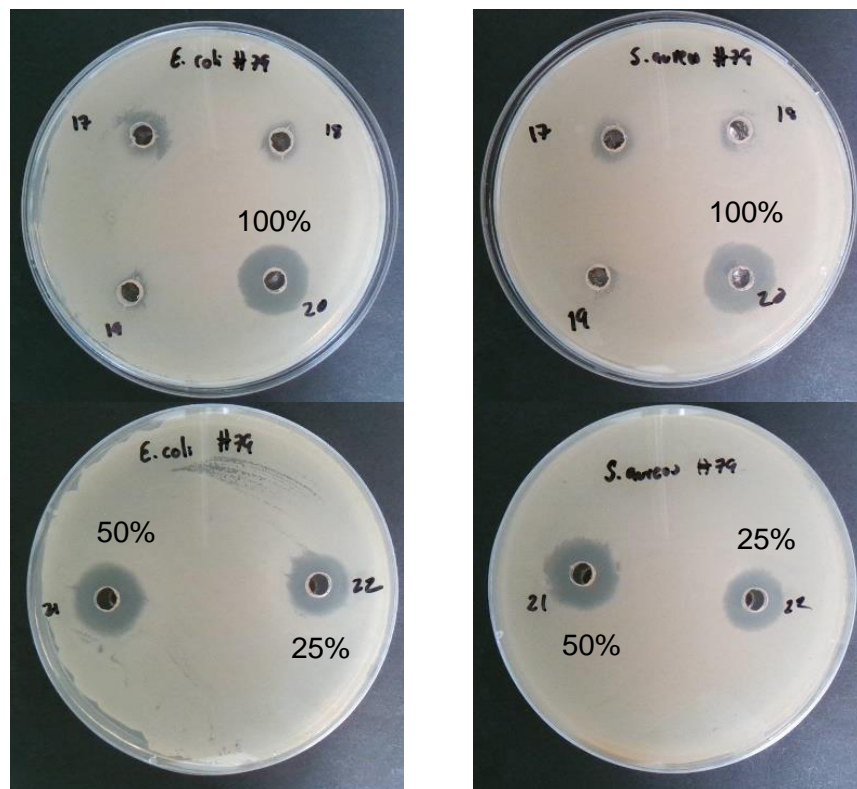


Figura 35: Halos de inhibición de N2 con fragancia 3 en *E. coli* (izquierda) y *S. aureus* (derecha).

Tabla 13: Halos de inhibición obtenidos en las soluciones elimina olores en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. SV (Sin valor) y SD (Sin datos).

Muestra	Halo de inhibición (mm)			
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	24 h	48 h	24 h	48 h
<i>N0 100%</i>	8.5	8	10	8
<i>N0 50%</i>	7	7	7	6
<i>N0 25%</i>	6	SV	6	6
<i>N1₅ 100%</i>	8.5	9	7.5	8.5
<i>N1₅ 50%</i>	7	7.5	7	7
<i>N1₅ 25%</i>	5.5	5.5	6	SV
<i>N1₂ 100%</i>	9	8	7.5	6.5
<i>N1₂ 50%</i>	6	6	6.5	SV
<i>N1₂ 25%</i>	5	5	5	SV
<i>N1₃ 100%</i>	7.5	7.5	8	7.5
<i>N1₃ 50%</i>	6.5	6.5	6	6
<i>N1₃ 25%</i>	5	5	5	SV
<i>N2₂ 100%</i>	12	13.5	10.5	11.5
<i>N2₂ 50%</i>	11	14	12	12
<i>N2₂ 25%</i>	10	12.5	10	9.5
<i>N2₃ 100%</i>	9.5	13	12	13
<i>N2₃ 50%</i>	11	13.5	12	12.5
<i>N2₃ 25%</i>	8	11.5	9	10.5
<i>N3₂ 100%</i>	5.5	5	6	SV
<i>N3₂ 50%</i>	5	SV	5	SV
<i>N3₂ 25%</i>	5	SV	SV	SV
<i>N3₃ 100%</i>	6.5	SV	7.5	SV
<i>N3₃ 50%</i>	SV	SV	6	SV
<i>N3₃ 25%</i>	SV	SV	SV	SV

4.3.4 Estudio de la sinergia de los componentes en su actividad antimicrobiana

Las soluciones de síntesis de las NPs obtenidas en este trabajo fueron evaluadas con las mismas cepas bacterianas con el fin de determinar su capacidad inhibitoria de acuerdo a sus tamaños y formas.

De acuerdo a los resultados obtenidos (Tabla 14), la solución de AgNPs si tuvo buena actividad contra Gram-negativas pero fue menor contra Gram-positivas, lo que está en correspondencia con la literatura [10, 17, 71, 159, 160]. La solución de ZnONPs tuvo una actividad media contra las dos cepas, mucho mejor que las CuNPs. La ausencia y baja acción de las CuNPs se liga al bajo rendimiento del método de síntesis, ya que de acuerdo a los resultados de EDS la concentración máxima de una partícula generada fue de 24.95% de Cu enlazado a la mínima cantidad de nanoestructuras encontradas. Por lo

anterior, aunque la cantidad de ZnO también se encontró en un rango de 21 a 57%, existió una mayor generación de NPs que permiten interactuar más con los microorganismos, así como sus formas y tamaños.

Tabla 14: Halos de inhibición obtenidos en las soluciones de síntesis de nanopartículas en *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*. SV (Sin valor) y SD (Sin datos).

Muestra	Halo de inhibición (mm)	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
Sol. AgNPs 1 mes	11.5	6.5
Sol. AgNPs 3 meses	9	6.5
Sol. CuNPs 1 mes	SV	7
Sol. CuNPs 3 meses	SV	SV
Sol. ZnONPs 1 mes	6.5	8
Sol. ZnONPs 3 meses	SV	SV

La disminución de la capacidad inhibitoria de las AgNPs se debe a su precipitación, por lo que la concentración de las NPs suspendidas es menor, como se observó en el análisis de MP-AES. La ausencia de inhibición para las CuNPs se debió a su rápida aglomeración, que fue observada en las micrografías de SEM. Por lo tanto, las NPs pueden tener una vida útil menor a tres meses, dando hincapié a los bajos resultados presentados en sus pruebas.

En la Tabla 15 se muestran los valores de inhibición obtenidos en algunos de los ingredientes activos a los valores usados en las formulaciones. También se muestran las 6 combinaciones con el fin de revisar su eficiencia, sinergia o actividad de aditivo.

El componente G tuvo una mayor actividad inhibitoria aun a una concentración de 1%, muy parecida a la obtenida a una concentración del 100%, al igual que en J. Por esta razón, la concentración utilizada en las soluciones desinfectantes fue la idónea, mientras que la utilizada en las soluciones neutralizadoras fue solamente para conservar a los demás elementos y tener cierto poder bactericida.

A comparación de H, tuvo un decaimiento en su capacidad inhibitoria al diluir al componente. El surfactante iónico L y el solvente Ñ aunque su objetivo no fue ser un compuesto antimicrobiano, tuvieron resultados positivos, por lo que a la concentración utilizada puede ayudar a conservar a los demás elementos y en cierto grado ayudar a generar un efecto bacteriostático o bactericida.

Desafortunadamente el solvente S no tuvo actividad en *E. coli* y *Pseudomonas aeruginosa* que de acuerdo a la literatura debe utilizarse una concentración alta, pero con cierto grado de dilución para que pueda mejorar su capacidad antimicrobiana [105, 106, 113, 114], por lo que este componente tuvo un comportamiento de aditivo. El componente S tuvo función de mejoramiento en la solubilidad de otros activos o elemento.

El componente W no tuvo actividad ante una concentración de 0.15%, que también se observa en la composición 1 que no existió ningún efecto de dicho compuesto. La cantidad efectiva de W de acuerdo a la literatura debe de ser de 0.3% [124].

Por otra parte, comparando con el valor obtenido en la composición 2, se observó una sinergia entre los compuestos y un mejoramiento en el rendimiento del componente G [96, 184, 185]. Dicho efecto ocurre también en la composición 3 y 4.

Tabla 15: Halos de inhibición obtenidos en los componentes utilizados en las soluciones desarrolladas así como composiciones específicas contra *E. coli*, *S. aureus*. Y *P. aeruginosa*. SV (Sin valor) y SD (Sin datos).

Muestra	Halo de inhibición (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
<i>G</i> 100%	18.5	13	13	13.5	12.5	14
<i>G</i> 1%	16.5	15.5	19	19	13	12.5
<i>G</i> 0.1%	SV	SV	7	6	SV	SV
<i>J</i> 100%	12	12	14	14	11.5	10
<i>J</i> 1%	11	11	11.5	12	8	8
<i>J</i> 0.1%	8.5	8.5	9.5	9.5	6.5	SV
<i>H</i> 100%	34	34	34.5	34.5	24.5	23
<i>H</i> 1%	12	12	10	9.5	SV	SV
<i>H</i> 0.1%	SV	SV	SV	SV	SV	SV
<i>I</i> 100%	8	7	6	SV	SD	SD
<i>L</i> 100%	9	8.5	SV	SV	9	SV
<i>N</i> 100%	SV	SV	SV	SV	SD	SD
<i>Ñ</i> 100%	11	8.5	12	11	11	10.5
<i>S</i> 100 %	SV	SV	6	6	SD	SD
<i>S</i> 0.30%	SV	SV	SV	SV	SD	SD
<i>W</i> 0.15%	SV	SV	SV	SV	SD	SD
Composición 1	SV	SV	SV	SV	SV	SV
Composición 2	13	12.5	17	17	7	SV
Composición 3	14	14	14	14.5	SV	SV
Composición 4	12	12	9	9	7	SV
Composición 5	13	13	16	16	8.5	9
Composición 6	14	14	17	16.5	11.5	10

La composición 5 muestra que el componente W ayudo a mejorar y mantener el efecto obtenido por G. Así como en la composición 6 se observó un mejoramiento por la adición de W y J, pero por la cantidad utilizada de cada componente no generó un gran cambio a comparación de 5.

4.3.5 Prueba organolépticas a soluciones

4.3.5.1 Determinación de participantes en pruebas organolépticas

Se realizó un cuestionario para la selección del panel de evaluadores de las pruebas organolépticas de las soluciones. Dicho cuestionario se distribuyó por medio de correo electrónico, redes sociales y por medio físico a diversas personas obteniendo una población de 20 individuos, donde 13 de ellos aceptaron realizar las pruebas de olor, pero solamente 10 cumplían con los requerimientos mínimos para poder participar en las pruebas. Debido a la contingencia que se vive actualmente, se consideró solamente a estas 10 personas para la realización de las pruebas. Los resultados obtenidos del cuestionario se muestran en el *Anexo 5*.

El 40% de los participantes pertenecieron al sexo femenino, entre 26 a 42 años y el resto a hombres de 25 a 60 años. De acuerdo a los resultados de dicha encuesta, el 67% de los participantes tienen buena capacidad de detección de olores. Ninguno de los participantes presenta problemas al detectar olores, pero el 40% de ellos sufre de cierta sensibilidad a los olores, de ellos solamente el 7% decidió participar en las pruebas de olor aun con su condición. Los participantes que comentaron tener alguna dificultad para determinar el tipo de olor fueron hombres entre 25 a 29 años. Esto está acorde a [275] donde se explica que la capacidad olfativa de las mujeres esta mayormente desarrollado, con un 43% más de células en los bulbos olfativos.

Las diferencias en la agudeza olfativa general pueden deberse a muchos factores, como la edad [276, 277], el sexo, los hábitos de fumar o el peso corporal de un individuo [276]. Las disfunciones olfativas, como las resultantes de la contaminación ambiental [278], las enfermedades neurodegenerativas [279] o las infecciones [280], también pueden explicar las diferencias en la agudeza olfativa.

4.3.5.2 Efectos neutralizadores de las soluciones desarrolladas

Se realizaron pruebas de efectos neutralizador de olores en 4 soluciones problema; A perteneciente a los olores de tipo ácido graso, B y C del tipo aminado y el D de tipo mercaptano.

A los participantes no se les informó sobre qué malos olores tenían que evaluar con el fin de no tener una superposición subconsciente del aroma. Dicha información se les proporcionó al final de la evaluación. Se realizaron pruebas con el recipiente cerrado y agitando para promover la interacción (1, 5 y 20 min.) y al pasar una hora se dejó destapado durante 5 minutos y se realizó una última evaluación.

En la Figura 36 se muestra el desarrollo de las pruebas organolépticas. De la Figura 37 a 39 se muestran los resultados de las soluciones por parte del panel de evaluadores y en los Anexos 6 y 7 se muestra la ponderación de los resultados de cada uno de los participantes.



Figura 36: Evidencia de la realización de las pruebas de eliminación de olores en 5 de los 10 participantes.

En cuanto a los resultados obtenidos, las soluciones sin NPs que tuvieron buena actividad antimicrobiana (Ds) presentaron una eliminación de olores de manera casi

inmediata que se mantuvo durante toda la duración de la prueba (1 hora y 10 min) en los cuatro malos olores evaluados. De acuerdo a la evaluación las mejores tres soluciones fueron D₅, D₂ y D₄, pero de manera de apreciación, les pareció más agradable a D₂, D₄ y D₅ en ese orden.

En cambio, las soluciones con NPs (1, 3, 4 y 5) tuvieron un buen efecto de neutralización, pero el aroma residual, característico de la solución no era muy agradable. De acuerdo a los evaluadores, las muestras maestras de mal olor no se detectaron a no ser que se pusiera mucha atención y con el conocimiento de qué olor esperar a detectar. En el caso de 2 y 6 que se utilizó en la formulación a W/X tuvieron un mejor aroma y eliminación de olores, siendo superior 6 a D₂, D₄ y D₅ contra B, C y D y muy cercano a los resultados obtenidos por estos en A.

Ahora bien, las soluciones neutralizadoras N0, N1, N2 y N3 se evaluaron con las cinco fragancias utilizadas a lo largo de este trabajo. En el caso de N, aun se percibía el aroma característico de la solución con una fuerte presencia de glicoles. En N1 solamente se obtuvo un buen resultado en la fragancia 3, en cambio la fragancia 2 quedó mermada. Por lo anterior, estas soluciones no fueron evaluadas por el panel de evaluadores.

En N2 se obtuvieron resultados iguales a los obtenidos en las soluciones Ds contra el mal olor C y D por lo que pareciera ser que si elimina los olores de manera promedio, pero con una fragancia menos intensa. Finalmente, las soluciones N3 también presentaron neutralización de los malos olores dejando un aroma residual suave y agradable mucho menor que en N2, que para la mayoría de los participantes era indetectable o agradable.

El efecto inhibitor de olores fue mayormente notorio al obtenerse un aroma residual neutro en las soluciones N3 que contienen AgNPs y W/X al igual que N2, que generan una mayor liberación de iones de plata por la presencia de tioles, azufre y oxígeno [156], así como por tener un área superficial mayor para reaccionar con grupos de malos olores.

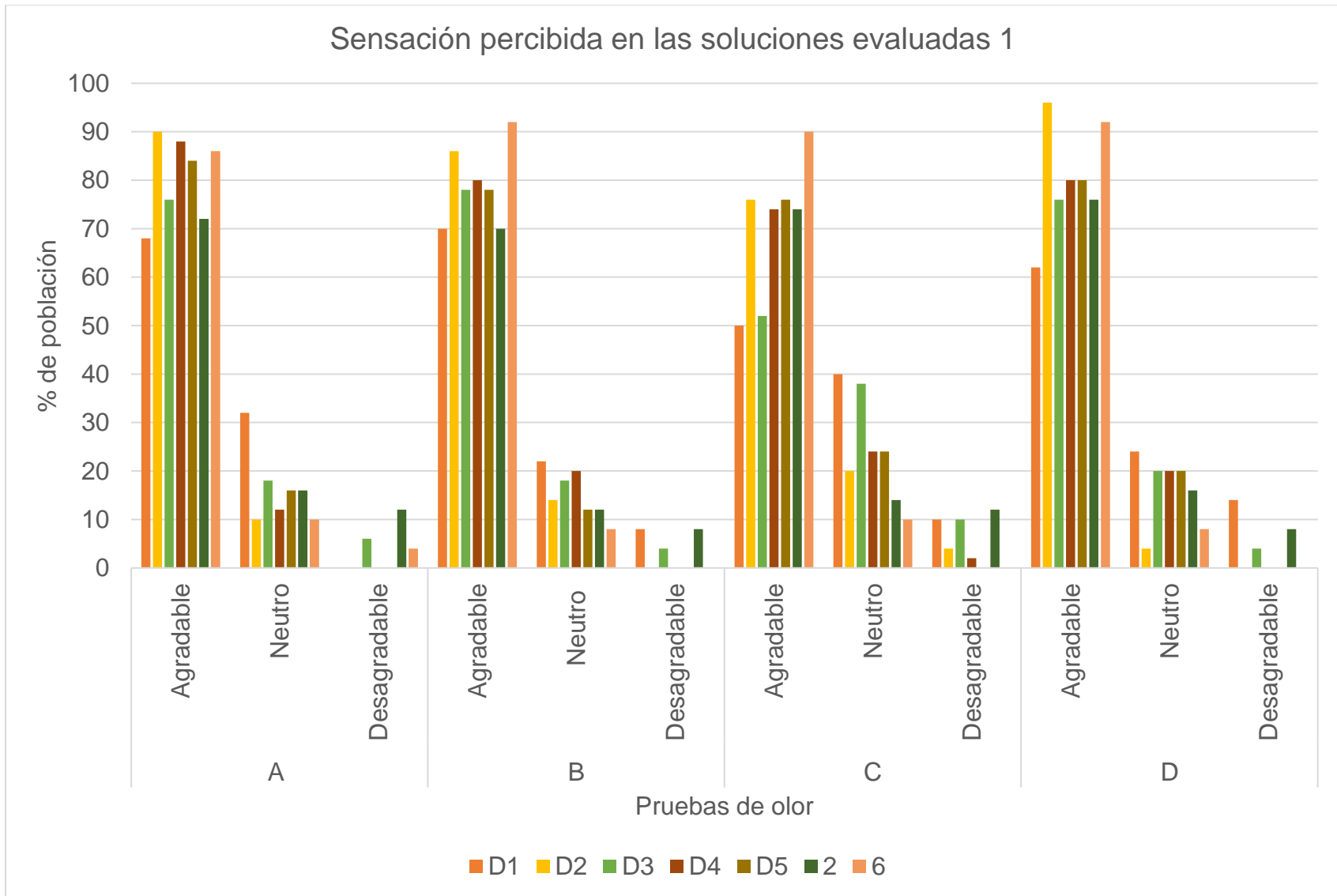


Figura 37: Sensaciones percibidas por los participantes en las soluciones desinfectantes en cada mal olor.

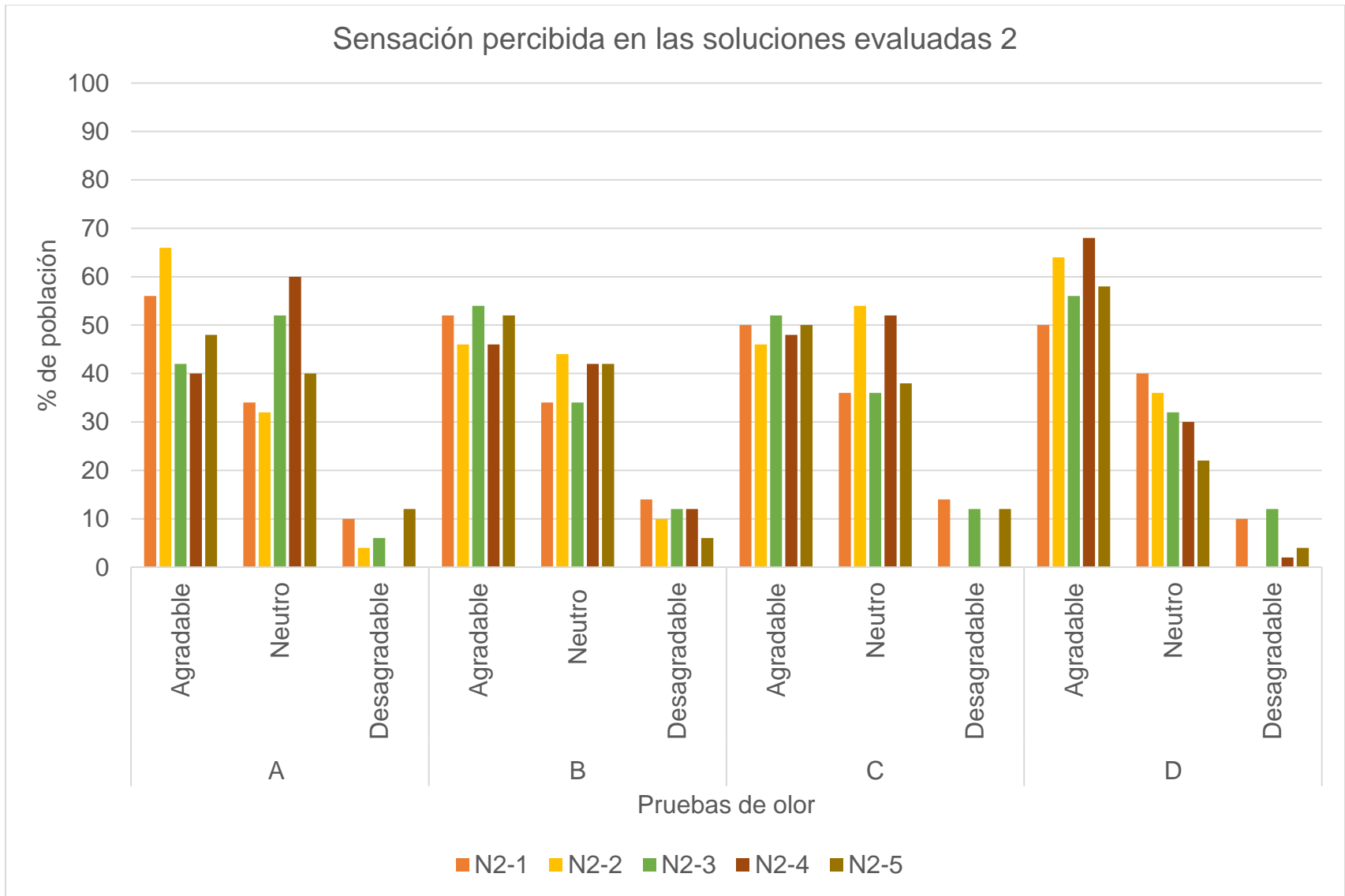


Figura 38: Sensaciones percibidas por los participantes en las soluciones N2 en cada mal olor.

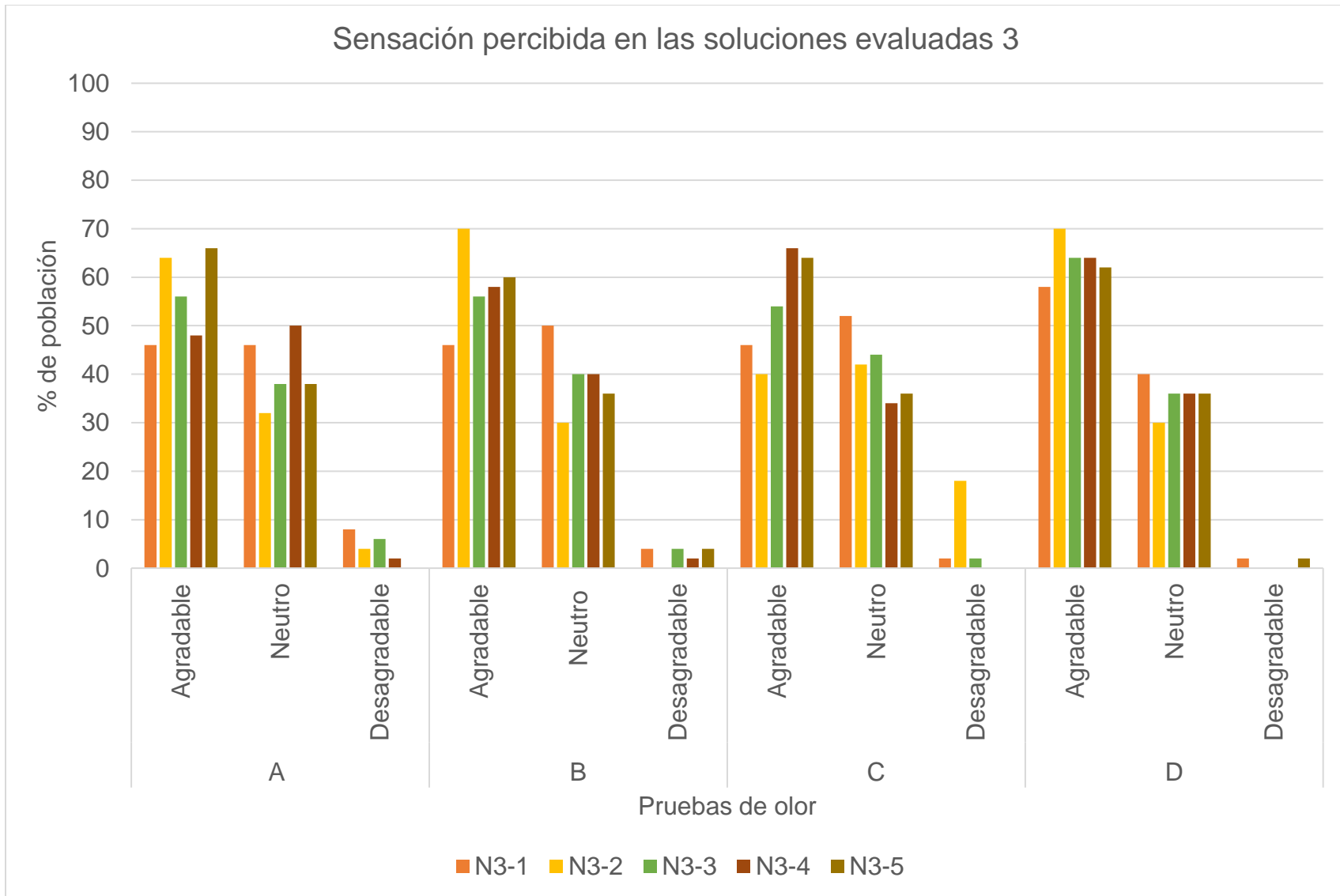


Figura 39: Sensaciones percibidas por los participantes en las soluciones N3 en cada mal olor.

El efecto neutralizador de olores fue mayormente notorio en la muestra maestra de mal olor D, de tipo mercaptano, seguida por C, aunque la ponderación muestre valores no tan notorios en este último mal aroma debido a que dos participantes evaluaron de manera negativa en diversas soluciones sin tener una tendencia, sino solamente apreciación personal.

De acuerdo a los comentarios del panel de evaluadores, las soluciones tuvieron una mejora inmediata, ya que el 80% de ellos aseguraron no haber detectado en ningún momento a los malos olores evaluados. En la Tabla 16 se muestran las tres mejores soluciones por familia donde se concluye que D₂, 6, D₄, N₂₂, N₂₁, N₂₅, N₃₂₋₅ tienen una sensación agradable.

Tabla 16: Mejores soluciones de acuerdo a la evaluación por el panel por mal olor y tipo de solución.

Solución	Muestra maestra de mal olor				
	Sensación	A	B	C	D
Desinfectantes	Agradable	D ₂ , D ₄ , 6	6, D ₂ , D ₄	6, D ₂ , D ₅	D ₂ , 6, D ₄₋₅
	Neutra	D ₁ , D ₃ y D ₄	D ₁ , D ₄ , D ₃	D ₁ , D ₃ , D ₄₋₅	D ₁ , D ₃₋₅
N2	Agradable	N ₂₂ , N ₂₁ , N ₂₅	N ₂₃ , N ₂₁ , N ₂₂	N ₂₃ , N ₂₁ , N ₂₅	N ₂₄ , N ₂₂ , N ₂₅
	Neutra	N ₂₄ , N ₂₃ , N ₂₅	N ₂₂ , N ₂₄ , N ₂₅	N ₂₂ , N ₂₄ , N ₂₅	N ₂₁ , N ₂₂ , N ₂₃
N3	Agradable	N ₃₅ , N ₃₂ , N ₃₃	N ₃₂ , N ₃₅ , N ₃₄	N ₃₄ , N ₃₅ , N ₃₃	N ₃₂ , N ₃₃ , N ₃₄
	Neutra	N ₃₄ , N ₃₁ , N ₃₃₋₅	N ₃₁ , N ₃₃ , N ₃₄	N ₃₁ , N ₃₃ , N ₃₂	N ₃₁ , N ₃₃₋₅

Algunos de los evaluadores comentaron que algunas soluciones no eran de su agrado pero que no detectaron ningún mal olor, por lo que solamente fue apreciación personal ya que las fragancias percibidas por unos eran agradables para otros. Por otro lado, también mencionaron que las soluciones D₁, D₃, D₅, N₂₃, N₂₄, N₂₅, y N₃₁, N₃₃ no percibieron un olor residual fuerte, sino más bien una sensación neutra, mayormente en N₃'s, como ya se había mencionado.

Finalmente, a los participantes se les entregó un kit con las soluciones Ds (Figura 40) y de acuerdo a la retroalimentación obtenida tanto de los participantes, así como sus familiares, han utilizado a las soluciones en los siguientes espacios y actividades: en el baño, al cocinar pescado, cambio de pañales, al cocinar comida alta en grasa, en carros, desechos orgánicos, basura, cajas de arena, olores extraños y muy desagradables, espacios de descanso de mascotas, pisos sucios e impregnados con orina de perro, recipientes de plástico con comida echada a perder, hasta en establecimientos

comerciales (pescaderías y carnicerías) y después de pintar un cuarto teniendo resultados inmediatos y satisfactorios con una baja cantidad utilizada (aproximadamente de 3 a 5 dosificaciones).

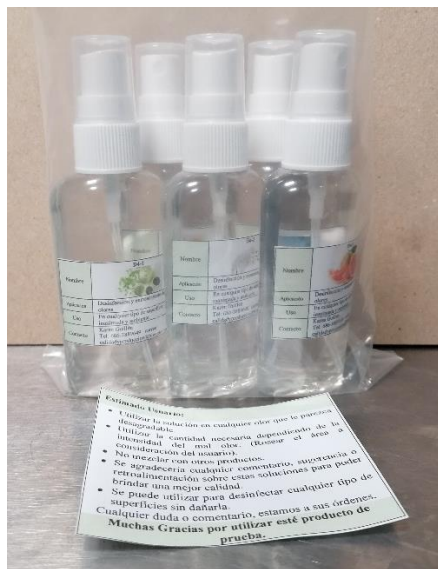


Figura 40: Kit de soluciones Ds para ser usado por los evaluadores.

También informaron que las soluciones al quedar en telas o superficies y estas al moverlas o pasar la mano sobre ella, se percibía el aroma de la solución, por lo que se considera que se depositan y vuelven a activarse.

Así mismo, al querer utilizar a las soluciones como aromatizantes, estos no tuvieron tanto poder como se hubiera querido obtener ya que las formulaciones están encaminadas a desinfectar y eliminar olores no a aromatizar. En dichos casos, la solución D₂ mantuvo un buen aroma, pero D₁ y D₅ resaltaron el olor de W, que, de igual manera, puede ser agradable o desagradable dependiendo del individuo que la utilice.

Algunos manifestaron su interés comercial por D₂, D₃, D₄, D₅, de 2 y 6, mayormente en D₂; como de N₃₂, N₃₃ y N₃₄, tanto por el alto aroma agradable y por el efecto de neutralizar sin dejar un aroma fuerte (N₃'s).

4.3.5.3 Prueba de neutralización de olores a soluciones diluidas

Finalmente, se realizaron diluciones a 50%, 25% y 12.5% con el fin de demostrar si sigue existiendo el mismo efecto neutralizador en las soluciones mejor evaluadas por el panel de evaluadores. Los rendimientos se muestran en la Tabla 17. Como se puede observar, se puede diluir a las soluciones hasta 12.5% y seguir teniendo un buen efecto y olor residual agradable, pero este no se cumple en las cuatro muestras de mal olor por solución evaluada a excepción de D₄. Por facilidades en su futura comercialización, se estandarizaría a que la dilución máxima fuera de 25%.

Tabla 17: Dilución máxima evaluada para no detectar a las muestras maestras de mal olor.

Solución	Muestra maestra de mal olor			
	A	B	C	D
D ₁	25%	50%	50%	12.5%
D ₂	12.5%	25%	12.5%	12.5%
D ₃	25%	50%	12.5%	12.5%
D ₄	12.5%	12.5%	12.5%	12.5%
D ₅	12.5%	25%	12.5%	12.5%
Desinfectante 2	12.5%	50%	12.5%	12.5%
Desinfectante 6	12.5%	50%	25%	12.5%
N2 ₁	50%	-	12.5%	12.5%
N2 ₂	12.5%	25%	12.5%	12.5%
N2 ₃	25%	25%	12.5%	12.5%
N2 ₄	12.5%	25%	12.5%	12.5%
N2 ₅	12.5%	25%	12.5%	12.5%
N3 ₁	12.5%	50%	12.5%	12.5%
N3 ₂	12.5%	25%	12.5%	12.5%
N3 ₃	25%	50%	12.5%	12.5%
N3 ₄	25%	25%	12.5%	12.5%
N3 ₅	12.5%	50%	12.5%	12.5%





4.3.5.3 Hojas de seguridad: Pictogramas

De acuerdo a los componentes en cada composición desinfectante / elimina olores, se determinaron los pictogramas y advertencias para cada solución en el sistema eQgest. El resumen de los resultados se muestra en la Tabla 18.

Tanto las soluciones D_s, N2 y N3 no generaron un pictograma de peligro o advertencia, por lo que son amigables con el ambiente y pudieran ser utilizados en la piel humana para desinfectar y eliminar olores.

Las soluciones desinfectantes 1, 2, 5 y 6 generaron el pictograma de Atención debido a la concentración de componentes como G y J, que pueden resultar ser tóxicos para los cuerpos organismos acuáticos, como para el ser humano por generar irritación cutánea y ocular.

Tabla 18: Información obtenida a partir de las Hojas de seguridad generadas en eQgest en cada solución desarrollada.

Solución	Palabra de peligro	Pictograma	Otros
Ds	No aplica	<p>Esta sustancia no es peligrosa según los criterios del SGA y la NOM-018-STPS-2015</p> 	N/A
N2	Atención	<p>Esta sustancia no es peligrosa según los criterios del SGA y la NOM-018-STPS-2015</p> 	Líquido inflamable. Líquido combustible.
Se le asignan estos valores por la cantidad de alcohol en la formulación (2% w/w). La solución en forma diluida al 25% con 0.5% w/w de alcohol sigue marcando la misma información.			
N3	Atención	<p>Esta sustancia no es peligrosa según los criterios del SGA y la NOM-018-STPS-2015</p> 	Líquido inflamable. Líquido combustible.
Se le asignan estos valores por la cantidad de alcohol en la formulación (2% w/w). La solución en forma diluida al 25% con 0.5% w/w de alcohol sigue marcando la misma información.			
Desinfectante 1, 2, 5 y 6	Atención		<p>Toxicidad aguda para el medio ambiente acuático. Nocivo para los organismos acuáticos. Líquido inflamable. Líquido combustible. Irritación ocular. Irritación cutánea.</p>
Se le asignan estos valores por el exceso de H y K (1.56% y 1% w/w respectivamente) en la formulación.			

4.3.5.4 Reformulación de soluciones desinfectantes con nanopartículas.

Debido a los resultados presentados en el apartado 4.3.5.3 *Hojas de seguridad: Pictogramas* de las soluciones desinfectantes con NPs de la Tabla 8, se realizó una reformulación de las soluciones con el fin de obtener un resultado adecuado de actividad inhibitoria, eliminación de olores siendo amigable con el ambiente.

Al realizar dicha reformulación se evaluaron a las soluciones de acuerdo a la metodología previamente presentada y los resultados se muestran en la Figura 41.

El porcentaje de inhibición disminuyó, obteniéndose una dilución mínima de 25%, lo cual, no se considera un valor bajo debido a que los componentes G y J disminuyeron un tercio de su concentración inicial.

Al evaluar las formulaciones con los nuevos parámetros en el programa eQgest, se obtuvo la palabra de Atención con la leyenda de Líquido inflamable - Líquido combustible como en N2 y N3.

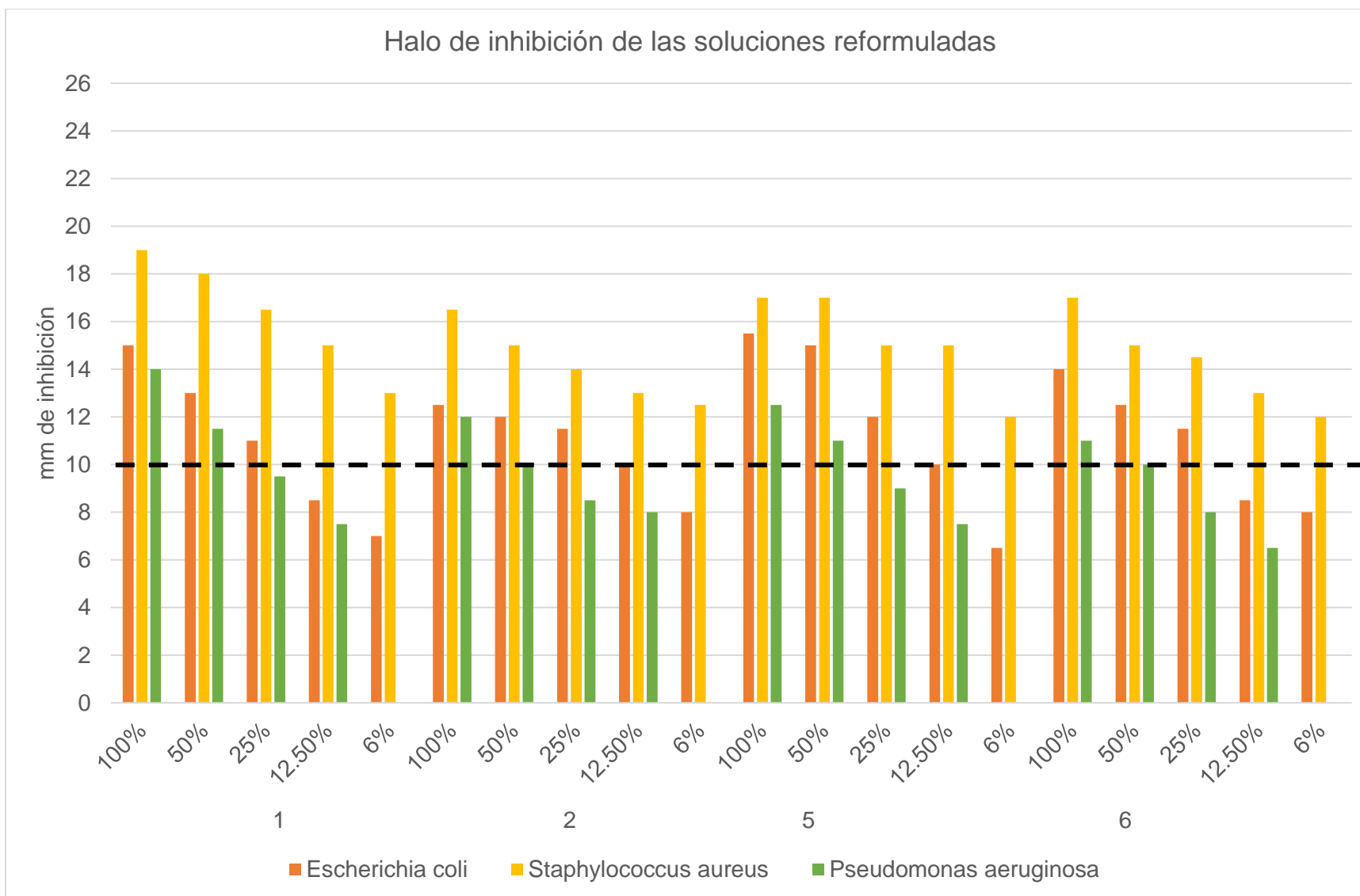


Figura 41: Halos de inhibición en mm de las soluciones desinfectantes con nanopartículas reformuladas.

Conclusiones

- El extracto obtenido contiene una gran variedad de metabolitos como lo son las saponinas, terpenoides y esteroides, flavonoides, carbohidratos, antraquinonas y taninos. La cantidad de esteroides y terpenoides aumentó con el tiempo, mientras que los carbohidratos y las antraquinonas disminuyen un poco. Entre el segundo y quinto mes se obtiene una mayor cantidad y variedad de metabolitos en el extracto y se considera que el extracto es estable a lo largo de este periodo.
- El extracto agua-etanol es capaz de sintetizar AgNPs, CuNPs y ZnONPs dependiendo de su metodología aplicada. Se pueden obtener NPs menores a 100 nm en forma semiesférica para la plata. De nanowires entrecruzados y semiesferas para óxido de zinc, donde dichas NPs tuvieron poca resistencia al impacto de los electrones ya que se destruían en alta resolución. Se obtuvieron NPs semiesféricas con formación de clusters en cobre. El análisis EDS mostró una pequeña cantidad de cobre y de óxido de zinc ligado al bajo rendimiento en la síntesis.
- Los elementos capeadores claves en las NPs utilizadas en este trabajo son aquellos que contienen cloro (organoclorados) y en el caso particular de las ZnONPs los terpenoides y esteroides y probablemente también las saponinas. Las NPs en solución presentan mayor estabilidad debido a los demás componentes de tipo surfactante.
- Las NPs tuvieron un aumento en su actividad antimicrobiana cuando se presentan las tres NPs sintetizadas en este trabajo en la misma solución, en caso contrario, solamente las AgNPs muestran una actividad satisfactoria. Las soluciones pueden atacar bacterias Gram-negativas como Gram-positivas por los ingredientes activos selectivos, pero se recomienda su evaluación con más tipos de microorganismos.
- En la mayoría de las pruebas organolépticas se tuvo una mejor respuesta cuando el recipiente estaba abierto y cuando el recipiente estaba quieto, que asemejan las condiciones reales de operación. Se tuvieron efectos neutralizantes altos al inicio de las interacciones las cuales se mantuvieron en su mayoría constantes. No se descarta la posibilidad de suministrar más producto para aumentar el efecto en un menor tiempo.

- Las soluciones son eficaces contra olores generados por microorganismos. Son eficientes contra malos olores de tipo ácido grasos, mercaptanos y aminas.
- Algunos componentes tienen capacidad de aumentar la actividad inhibitoria de los activos desinfectantes y hasta realizar efecto de conservante por sí mismos. La presencia de surfactantes promueve la diseminación de la solución. Por lo anterior, existe un efecto sinérgico entre los elementos utilizados.
- Los compuestos que generaron actividad antimicrobiana inmediata fueron G y J pero tanto las NPs como W/X permiten tener mayor tiempo de residencia y actuación prolongada, ya que se mostró un aumento en la inhibición al comparar los resultados obtenidos a las 24 y 48 h. De igual manera, en cuanto a las NPs se concluye debido a sus bajos resultados presentados tanto en las pruebas microbiológicas en las soluciones desinfectantes 1 a 6 como en las soluciones modificadas, que el tiempo de vida útil de las mismas no debe de ser mayor a dos meses lo que pudiera suponer un aumento en la actividad antimicrobiana si se usan recién sintetizadas o con una vejez no mayor a dos meses. Lo anterior se muestra en los resultados presentados en el *Anexo 8*, ya que al usar NPs recientes los resultados aumentan.
- El mecanismo de acción general de las soluciones desinfectantes / elimina olores se debe primeramente a la disminución y erradicación de los microorganismos responsables de generar las moléculas de mal olor, en donde los otros elementos de la formulación o ingredientes activos, así como las fragancias, atacan a dichas moléculas por diferentes métodos dejando un agradable aroma residual o hasta nulo.
- Las soluciones obtenidas, aunque originalmente se habían desarrollado con un fin en particular, se probó su poder en las pruebas de desinfección y eliminación de olores concluyéndose que tienen la capacidad de ser desinfectantes / elimina olores con un mínimo de componentes. Se presentan en forma concentrada y pueden diluirse hasta 6% en su actividad desinfectante y 12.5% en su actividad neutralizador de olores dependiendo de la solución, pero se recomienda diluir hasta 4 veces (25%) para tener una mayor eficiencia.

En términos generales, las NPs tuvieron cierta influencia en la actividad elimina olores y antimicrobiana, pero no tan notoria como G y J. Se podrían esperar mejores resultados si las NPs obtenidas tuvieran un menor tamaño y una forma mayormente

esféricas. Las NPs pueden tener un mejor resultado en conjunto que libres por las interacciones que presentan con los demás elementos presentes. En materia ecológica, en México, para las NPs no existe una metodología y estandarización definida para evaluar su eficacia, así como los criterios que regulen las concentraciones permitidas de uso y desecho lo que deja al aire la evaluación de los daños a organismos vivos y la incertidumbre de su seguridad. Por el momento, se cuenta con un proyecto de Norma Mexicana, NMX-R-20660-SCFI-2019, *Nanotecnologías-especificación de materiales-nanopartículas antibacteriales de plata* [281], la cual sería una guía para la especificación de características y métodos de medición de AgNPs ya sea en forma coloidal o en polvo para aplicaciones antibacterianas, pero no cubre las consideraciones específicas de salud y de seguridad tanto en su fabricación y uso.

Finalmente, con base a los resultados obtenidos se definen como las mejores soluciones teniendo la dualidad de desinfectante/elimina olores a D2, D3, D4, D5, Desinfectante 2 y 6, N2₂, N2₄ y N2₅. Las soluciones N3₍₁₋₅₎ tienen mayor actividad neutralizadora que desinfectante y las soluciones Desinfectante 1 y 5 tienen mayor poder antimicrobial que neutralizador de olores. Las soluciones son, además, amigables con el ambiente y pueden usarse aparentemente en piel humana sin sufrir algún riesgo.

Las personas siguen prefiriendo un producto que contenga alguna fragancia o aroma a dejar una sensación neutra en el ambiente, aunque se esté hablando de un producto desinfectante o elimina olores. Algunos aromas son agradables para ciertas personas mientras que para los demás no y viceversa, todo se debe a la apreciación personal, por lo que existen fragancias para los diferentes gustos que pueden estar dirigidas para diversos espacios; por ejemplo, el aroma 2 para casas y oficinas, el aroma 1 y 3 para hospitales, 4 para cocinas, así como 1 y 5 para baños.

Las especialidades químicas desarrolladas tienen alto potencial comercial de acuerdo con la revisión y entrega de un informe técnico a Industrias Bioquim donde manifiestan su carácter innovador y oportunidad de negocio, lo cual puede verse en el *Anexo 9 y 10*.

Bibliografía

- [1] Nyco, «Types of Disinfectants: How to Make the Best Choice for Your Facility, » Disinfecting & Sanitizing Educational, 21 febrero 2016, [En Línea]. Recuperado de: <https://www.nycoproducts.com/resources/blog/types-of-disinfectants-how-to-make-the-best-choice-for-your-facility/> [Ultimo acceso: 14 de octubre de 2020].
- [2] E. J. L., Lowbury, A. S. Ayliffe; A. M., Geddes, J. D., Williams. *Control of Hospital Infection: A Practical Handbook*. Springer-Science, Second edition, 1981.
- [3] Asociación Española para la Calidad (2018). Contaminación Olorífera. Recuperado de: https://www.aec.es/c/document_library/get_file?uuid=3527643c-0525-42fd-99431c881254e44f&groupId=10128
- [4] J. Sierra. *España. Patente N°. 2,285,944*. Barcelona, España: Oficina Española de Patentes y marcas, 2009.
- [5] The Procter & Gamble Company. *EE.UU. Patente N°. 5,882,638*. Cincinnati, Ohio: U.S. Patent and Trademark Office, 1999.
- [6] The Procter & Gamble Company. *EE.UU. Patente N°. 9,260,817* Cincinnati, Ohio: U.S. Patent and Trademark Office, 2016.
- [7] M. Goswami, D. Baruah y A. M. Das, «Green synthesis of silver nanoparticles supported on cellulose and their catalytic application in the scavenging of organic dyes, *New J. Chem.*, 2018.
- [8] N. K. Kalita y J. N. Ganguli, «Hibiscus sabdariffa L. leaf extract mediated green synthesis of silver nanoparticles and its use in catalytic reduction of 4-nitrophenol,» *Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry*, 2016.
- [9] V. K. V., A. S., R. C. Lawrence, S. Nagarajan y P. Savarimuthu, «Bio-functionalized silver nanoparticles for selective colorimetric sensing of toxic metal ions and antimicrobial studies, » *Spectrochimia Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 129, pp. 35-42, 2014. DOI: 10.1016/j.saa.2014.03.020
- [10] P. Cardoso, «Nanopartículas de plata: Obtención, utilización como antimicrobiano e impacto en el área de la salud,» *Rev. Hosp. Niños*, vol. 58, nº 260, pp. 19-28, 2016.
- [11] I. Majidul, Y. Rumana, A. Hanif, M. Ayshasiddeka, C. K. Polash, H. Rowshanul, A. A. K. y Y. Tanzima, «Antineoplastic Properties of Phyto-synthesized Silver Nanoparticles from Hibiscus sabdariffa Linn. Bark Extract,» *Cent Asian J Med Sci.*, vol. 4, nº 4, pp. 281-292, 2018.
- [12] K. M. S., B. V. S., R. K. C. R. , V. S. P. y L. M. S. , «In vitro Antibacterial, Antioxidant and Cytotoxic Potential of Silver Nanoparticles Synthesized Using Novel Eucalyptus tereticornis Leaves Extract,» *Jornal of Inorganic and Organometallic Polimers and Materials*, 2020.
- [13] S.H., Lee; B.H., Jun. «Silver Nanoparticles: Synthesis and Application for Nanomedicine, » *Int J Mol Sci.*, vol. 20, nº 4, pp. 865, 2019. DOI 10.3390/ijms20040865. PMID: 30781560; PMCID: PMC6412188.
- [14] S. Prabhu y E. Poulouse, «Silver nanoparticles: mechanism of antimicrobial action, synthesis, medical applications, and toxicity effects, » *International Nano Letters*, Vol. 2, nº 32, 2012, DOI: 10.1186/2228-5326-2-32.
- [15] Z.A. Ratan, M.F. Haidere, M. Nurunnabi, S.M. Shahriar, A. J. S. Ahammad, Y. Y. Shim, M. J. T. Reaney, J. Y. Cho. «Green Chemistry Synthesis of Silver Nanoparticles and Their Potential Anticancer Effects, » *Cancers (Basel)*. Vol. 12, nº 4, 2020, 855. DOI: 10.3390/cancers12040855. PMID: 32244822; PMCID: PMC7226404.
- [16] M. Rafique, I. Sadaf, S. Rafique, M. Tahir, «A review on green synthesis of silver nanoparticles and their applications,» *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, vol. 45, nº 7, pp. 1272-1291, 2017. DOI: 10.1080/21691401.2016.1241792

- [17] H. Lara, E. Garza Treviño, L. Ixtepan Turrent y D. Singh, «Silver nanoparticles are broad-spectrum bactericidal and virucidal compounds,» *Journal of nanobiotechnology*, vol. 9, nº 30, 2011.
- [18] S. Tyagi, A. Kumar y P. K. Tyagi, «Comparative analysis of metal nanoparticles synthesized from Hibiscus Rosa-Sinesis and their antibacterial activity estimation against nine pathogenic bacteria,» *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, vol. 10, nº 5, pp. 323-329, 2017.
- [19] D. Nayak, S. Ashe, P. R. Rauta y B. Nayak, «Biosynthesis, characterisation and antimicrobial activity of silver nanoparticles using Hibiscus rosa-sinesis petals extracts,» *IET Nanobiotechnology*, vol. 9, nº 8, pp. 288-293, 2015. DOI: 10.1049/iet-nbt.2014.0047. PMID: 26435282.
- [20] G. Qingxin, X. Chanchan y L. Wei, «Bio-friendly controllable synthesis of silver nanoparticles and their enhanced antibacterial property,» *Catalysis Today*, 327, 2018. DOI: 10.1016/j.cattod.2018.05.004.
- [21] K. Hirotsuka, K. Takuya, y W. Hiroyuki. «In situ synthesis of silver nanoparticles on zinc oxide whiskers incorporated in a paper matrix for antibacterial applications,» *J. Mater. Chem.*, 19, pp. 2135-2140, 2009.
- [22] Park S, Park HH, Kim SY, Kim SJ, Woo K, Ko G. Antiviral properties of silver nanoparticles on a magnetic hybrid colloid. *Appl Environ Microbiol.* vol. 80, nº 8, pp. 2343-2350, 2014. DOI: 10.1128/AEM.03427-13. PMID: 24487537; PMCID: PMC3993170.
- [23] M. P. Hernández, «*Síntesis de nanopartículas de plata biológicamente asistida con Opuntia SP. y su incorporación en membranas poliméricas nanofibradas*,» (Tesis de maestría), Saltillo, Coahuila: Centro de Investigación en Química Aplicada, 2013.
- [24] S. Ullah Khan, T. A. Saleh, A. Wahab, M. H. U. Khan, D. Khan, W. Ullah Khan, Rahim A, Kamal S, Ullah Khan F, Fahad S. «Nanosilver: new ageless and versatile biomedical therapeutic scaffold. » *Int J Nanomedicine.* vol. 2, nº 13, pp. 733-762, 2018. DOI: 10.2147/IJN.S153167. PMID: 29440898; PMCID: PMC5799856.
- [25] A. Avalos, Haza, A.; Morales, P. «Nanopartículas de plata: Aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente, » *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, vol. 7, no. 1, pp. 1-23, 2013. DOI: [0.5209/rev_RCCV.2013.v7.n2.43408](https://doi.org/10.5209/rev_RCCV.2013.v7.n2.43408)
- [26] M. Sánchez Moreno, *Nanopartículas de plata: Preparación, caracterización y propiedades con aplicación en inocuidad de los alimentos*, (Tesis de maestría), Madrid: Universidad Nacional de Educación a Distancia, 2017.
- [27] I. Haytham, «Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using banana pee extract and their antimicrobial activity against representative microorganisms,» *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, pp. 1-11, 2015.
- [28] A. Gour y N. K. Jain, «Advances in green synthesis of nanoparticles,» *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, vol. 47, nº 1, pp. 844-851, 2019.
- [29] H. Adamu y R. Nywu, «Phytochemical Screening and Antibacterial Activities of HIBISCUS SABDARIFFA L. Leaf Extracts,» *Nigerian Journal of Chemical Research*, vol. 20, pp. 46-52, 2015.
- [30] B. Ali, N. Al Wabel y G. Blunden, «Phytochemical, pharmacological and toxicological aspects of Hibiscus sabdariffa L: a review,» *Phytotherapy Research*, vol. 19, nº 5, pp. 369-375, 2005.
- [31] I. Da-Costa Rocha, B. Bonnlaender, H. Sievers, I. Pischel y M. Heinrich, «*Hibiscus sabdariffa* L. A phytochemical and pharmacological review,» *Food Chemistry*, vol. 165, pp. 424-443, 2014.
- [32] A. A. Eltayeib y H. Hamade, «Phytochemical and Chemical Composition of Water Extract of *Hibiscus Sabdariffa* (Red Karkade Calyces) in North Kordofan,» *International Journal of Advanced Research in Chemical Science*, vol. 1, nº 6, pp. 10-13, 2014.

- [33] M. Garbi, M. Saleh, A. Badri, I. Ibrahim, S. Mohammed, M. Alhassan, A. Elshirk y A. Kabbashi, «Antibacterial activity, phytochemical screening and cytotoxicity of *Hibiscus sabdariffa* (Calyx),» *Advancement in Medicinal Plant Research*, vol. 4, nº 4, pp. 116-121, 2016.
- [34] C. Okereke, F. Iroka y M. Chukwuna, «Phytochemical analysis and medical uses of *Hibiscus sabdariffa*,» *International Journal of Herbal Medicine*, vol. 2, nº 6, pp. 16-19, 2015.
- [35] M. M. Zangeneh y A. Zangeneh, «Novel green synthesis of *Hibiscus sabdariffa* flower extract conjugated gold nanoparticles with excellent anti-acute myeloid leukemia effect in comparison to daunorubicin in a leukemic rodent model,» *Applied Organometallic Chemistry*, pp. 1-13, 2019.
- [36] A. R., E. Siva, C. D., y S. S. A., «Green and Facile Approach for the Synthesis Copper Oxide Nanoparticles Using Hibiscus rosa-sinensis Flower Extracts and Its Antibacterial Activities, » *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, vol. 8, nº 3, 2018 DOI:10.4172/2155-9821.1000324
- [37] R. M. Paixão, I. M. Reck, M. F. Vieira, R. Bergamasco y A. M. S. Vieira, (29 de mayo a 3 de junio de 2017) «Green synthesized copper nanoparticles into granular activated carbon of babassu coconut by Hibiscus Sabdariffa flowers for removal of nitrate, » XVI World Water Congress, IWRA, Cancún, Quintana Roo, México. Recuperado de: http://iwra.org/member/index.php?page=286&abstract_id=3721
- [38] F. Catoldo, O. Ursini y G. Angelini, Synthesis of silver nanoparticles by radiolysis, photolysis and chemical reduction of AgNO₃ in Hibiscus sabdariffa infusion (Karkade), *Budapest: Springer*, 2015.
- [39] N. Thouhogi, A. Diallo, A. Gurib Fakim y M. Maaza, «Nanoparticles green synthesis by Hibiscus sabdariffa flower extract: Main physical properties,» *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 647, pp. 392-396, 2015.
- [40] Z. Kweyama, N. Thouhogi, B. Kibirige y M. Maaza, «Green synthesis of Cerium oxide Nanoparticles by Hibiscus sabdariffa flower natural extract: Main physical properties,» *de 4th Global Summit on Toxicology*, Cape Town, 2016.
- [41] C. A. Soto Robles, P. A. Luque, C. M. Gómez Gutiérrez, O. Nava, A. R. Vilchis Nestor, E. Lugo Medina, R. Ranjuthkumar y A. Castro Beltrán, «Study on the effect the concentration of Hibiscus sabdariffa extract on the green synthesis of ZnO nanoparticles,» *Results in Physics*, 2019.
- [42] A. R., E. P. E., K. R. F. y M. E., «Synthesis of ZnO-gold nanoparticles composite using Hibiscus sabdariffa extract as reductor,» *de Journal of Physics: Conferences Series 1307 012006*, 2019.
- [43] Shekhawat, Mahipal & Manokari, M., «Biosynthesis of Zinc Oxide Nanoparticles from the Aerial Parts of Hibiscus rosa-sinensis L.,» 2017.
- [44] N. Thouhogi, E. Park, E. Manikandan, M. Maaza y A. Gurib Kakim, «Physical properties of CdO nanoparticles synthesized by green chemistry via Hibiscus sabdariffa flower extract,» *Journal of Alloys and Compounds*, vol. 655, pp. 314-320, 2016.
- [45] S. A. y S. S., «Phytochemical Synthesis and Preliminary Characterization of Silver Nanoparticles Using Hesperidin,» *Journal of Nanoscience*, pp. 1-6, 2013.
- [46] Ucha, F. (04 de Marzo de 2019). DefiniciónABC. [En línea]. Recuperado de: <https://www.definicionabc.com/ciencia/especializacion.php>
- [47] Real Academia Española. (05 de Marzo de 2019). [En línea]. Definición de Especialización. Recuperado de: <https://dle.rae.es/>
- [48] SAGARPA, «Conoce más sobre la flor de jamaica,» Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural, 19 junio 2016. [En línea]. Recuperado de: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/conoce-mas-sobre-la-flor-de-jamaica>. [Último acceso: 3 junio 2020].

- [49] A. Reyes Luengas, Y. Salinas Moreno, M. Ovando Cruz, R. Arteaga Garibay y M. Martínez Peña, «Análisis de ácidos fenólicos y actividad antioxidante de extractos acuosos de variedades de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) con cálices de colores diversos,» *Agrociencia*, vol. 49, nº 3, pp. 277-290, 2015.
- [50] K. Mclean, «Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.), or karkadi as cultivated edible plants,» *Agricultural Science*, vol. 170, nº 543, 1973.
- [51] S. G. Sáyago Ayerdi, C. Velázquez López, E. Montalvo González y I. Goñi , «By-product from decoction process of *Hibiscus sabdariffa* L. calyces as a source of polyphenols and dietary fiber,» *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 94, nº 5, pp. 898-904, 2014.
- [52] Z. C. Guerrero Cázares, «*Caracterización fitoquímica y funcional de extractos de cálices de diversos genotipos de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.)*,» (Tesis de maestría), Aguascalientes: Universidad Autónoma de Aguascalientes, 2018.
- [53] I. Jabeur, E. Pereira, L. Barros, R. C. Calhelha, M. Sovoki, M. B. P. P. Oliveira y I. C. F. R. Ferreira, «*Hibiscus sabdariffa* L. as source of nutrients, bioactive compounds and colouring agents,» *Food Research International*, vol. 100, pp. 717-723, 2017.
- [54] M. T. Sumaya Martínez, R. E. Medina Carrillo, M. L. Machuca Sánchez, E. Jiménez Ruiz, R. Balois Morales y L. M. Sánchez Herrera, «Potencial de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) En la elaboración de alimentos funcionales con actividad antioxidante,» *Revista Mexicana de Agronegocios*, vol. 18, nº 35, pp. 1082-1088, 2014.
- [55] C. Sánchez Fera, V. A. González Hernández, Y. Salinas Moreno y N. Cruz Huerta, «Efecto de genotipo y ambiente en la calidad fisicoquímica de variedades mexicanas de *Hibiscus sabdariffa*,» *Agrociencia*, vol. 51, nº 5, pp. 525-541, 2017.
- [56] A. Y. Tetteh, N. A. Ankrah, N. Coffie y A. Niagiah, «Genetic diversity, variability and characterization of the agro-morphological traits of Northern Ghana Roselle (*Hibiscus sabdariffa* var *altissima*) accessions,» *African Journal of Plant Science*, vol. 3, nº 6, pp. 168-189, 2019.
- [57] Y. Salinas-Moreno, A. Zúñiga-Hernández, L. Jiménez-De la Torre, V. Serrano-Altamirano y C. Sánchez-Feria, «Color en cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) y su relación con características fisicoquímicas de sus extractos acuosos,» *Revista Chapingo. Serie horticultura*, vol. 18, nº 3, pp. 395-407, 2012. DOI: [10.5154/r.rchsh.2011.08.038](https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2011.08.038)
- [58] G. Riaz, R. A. Chopra, «A review on phytochemistry and therapeutic uses of *Hibiscus sabdariffa* L.,» *Biomedicine and Pharmacotherapy*, vol. 102, pp. 575-586, 2017. DOI: [10.1016/j.biopha.2018.03.023](https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.03.023)
- [59] M. M. Ramírez-Rodrigues, M. L. Plaza, A. Azeredo, M. O. Balaban, M. R. Marshall, «Phytochemical, sensory attributes and aroma stability of dense phase carbon dioxide processed *Hibiscus sabdariffa* beverage during storage,» *Food Chem.* vol. 134, nº 3, pp. 1425-1431, 2012. DOI: [10.1016/j.foodchem.2012.03.042](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.03.042). PMID: 25005962.
- [60] M. Hosokam, K. Noyi, M. Naito, T. Yokoyama, *Nanoparticle Technology Handbook*. Elsevier, p. 5, 2007.
- [61] Technical Committees, «ISO/TC 229, Nanotechnologies, » International Organization for Standardization, [En línea]. Recuperado de: <https://www.iso.org/committee/381983.html> [Último acceso: 12 enero 2021].
- [62] ASTM, «Standard Terminology Relating to Nanotechnology, » ASTM E2456-06(2020). En línea]. Recuperado de: <https://www.astm.org/Standards/E2456.htm> [Último acceso: 12 enero 2021].
- [63] M. Vert, Y. Doi, K. H. Hellwich, M. Hess, P. Hodge, P. Kubisa, M. Rinaudo, F. Schué, «Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012) , » *Pure Appl. Chem.* vol. 84, pp. 377-410, 2012. [Google Scholar]

- [64] B. K. Lee, Y. H. Yun, & K. Park. «Smart nanoparticles for drug delivery: Boundaries and opportunities, » *Chemical Engineering Science*, vol 125, pp. 158–164, 2015. DOI: 10.1016/j.ces.2014.06.042
- [65] K. Watanabe. (2017). *Photochemistry on Nanoparticles. Reference Module in Chemistry, Molecular Sciences and Chemical Engineering*. DOI:10.1016/b978-0-12-409547-2.13211-1
- [66] COFEPRIS, [En línea]. Recuperado de: <https://www.gob.mx/cofepris> [Último acceso: 12 diciembre 2020].
- [67] PROY-NOM-256-SSA1-2011. Diario Oficial de la Federación, México, 19 de julio de 2012.
- [68] Secretaría de Salud, «Manual de Buenas Prácticas de Higiene y Sanidad, » Dirección General de Calidad Sanitaria de Bienes y Servicios, agosto de 1999. [En línea]. Recuperado de: <http://www.salud.gob.mx/unidades/cdi/documentos/sanidad.html> [Último acceso: 15 diciembre 2020].
- [69] EPA, «What are Antimicrobial Pesticides?, » Pesticide Registration. [En línea]. Recuperado de: <https://www.epa.gov/pesticide-registration/what-are-antimicrobial-pesticides> [Último acceso: 18 enero 2021].
- [70] STERILEX, Interpreting an EPA Label: Sanitizer vs Disinfectant, » 16 de julio de 2018. [En línea]. Recuperado de: <https://www.sterilex.com/2018/07/16/interpreting-an-epa-label-sanitizer-vs-disinfectant/#:~:text=Disinfectant%3A%20a%20substance%20or%20mixture,EPA%20Website%2C%2040%20CFR%20158.2203> [Último acceso: 18 enero 2021].
- [71] T. C. Dakal, A. Kumar, R. S. Majumdar, V. Yadav, «Mechanistic basis of antimicrobial actions of silver nanoparticles., » *Front. Microbiol.*, vol. 7, n° 1831, 2016.
- [72] Congreso Nacional del Medio Ambiente (CONAMA). (2012). GT-6 Contaminación Olorífera. [En línea]. Recuperado de: <https://www.malosolores.org/pdf/cliente/contaminacion-odorifera-CONAMA-2012.pdf>
- [73] N. Yoshihito y N. Masatoshi, «Evolutionary dynamics of olfactory and other chemosensory receptor genes in vertebrates, » *J. Hum. Genet.* vol. 51, n° 6, pp. 505-517, 2006. DOI: 10.1007/s10038-006-0391-8
- [74] P. Ricardo. (2016, Febrero 25). *Ciencia y mucho más*. [En línea]. Obtenido de: La Química del mal olor: <https://sites.google.com/site/cienciaymuchomas/home/articulos/laquimicadelmalolor>
- [75] *Instituto Valenciano de Microbiología* . (2012, Febrero 2). [En línea]. Recuperado de <https://www.ivami.com/es/microbiologia-clinica/353-olor-de-pies-pies-malolientes-causas-bacterias-implicadas-y-medidas-de-control>
- [76] M. Allevarto, (2006). Navegando por internet. *Act Terap Dermatol*, 29, 44-54. [En línea]. de: Mal olor corporal - Un freno en las relaciones: http://www.atdermae.com/pdfs/atd_29_01_06.pdf
- [77] A. Valle, (2017, Octubre 17). Fierros Industrial. *Control de olores en plantas industriales*. Bogotá, Colombia. [En línea]. Recuperado de: <https://fierrosindustrial.com/noticias/control-olores-en-plantas-industriales/>
- [78] L. Pertejo. (2014). CONAMA. [En línea]. Recuperado de: Industrias Potencialmente Generadoras de Contaminación Olorífera: http://www.conama.org/conama/download/files/conama2014/GTs%202014/1896712300_ppt_LPertejo.pdf
- [79] Symrise AG, Haarmann and Reimer Corp. *España. Patente N° 2,231,305*. Barcelona, España: Oficina Española de Patentes, 2005
- [80] Symrise GmbH & Co. KG. *Alemania. Patente N° 7,157,411*. U.S. Patent and Trademark Office, 2007.
- [81] I. Pascual. (05 de Junio de 2018). *Desinfecta: Revista de limpieza e higiene profesional*. [En línea]. Recuperado de: <http://desinfecta.es/2018/06/05/eliminacion-malos-olores-neutralizacion/>

- [82] McGinley, M. St. Croix Sensory, Inc. Performance Verification of Air Freshener Products and Other Odour Control Devices for Indoor Air Quality Malodours. Presentado en el 8th *Workshop on Odour and Emissions of Plastic Materials*, Alemania, 2006.
- [83] Kupildoma. (2017, Diciembre 24). [En línea]. Recuperado de: ¿Qué es sulfuro de hidrógeno y qué es peligroso? Envenenamiento por sulfuro: <https://kupildoma.ru/es/water/what-is-hydrogen-sulphide-and-what-is-it-dangerous-sulfide-poisoning/>
- [84] F. Cantini, *Italia*. *Patente N° WO 2010/106488*. Florencia, Italia: World Intellectual Property Organization, 2010.
- [85] Avícola de Tarragona, S.A. *España*. *Patente N° 2, 344,049*. Madrid, España: Oficina Española de Patentes y marcas, 2011.
- [86] Green Planet Solutions International, S. L. (n.d.). *Limpia olores*. [En línea]. Recuperado de: Diferencia entre ambientador y limpia olores: <http://limpiaolores.eu/wp-content/uploads/2018/02/Diferencia-entre-ambientador-y-Limpia-Olores.pdf>
- [87] PURAC BIOCHEM BV. *España*. *Patente N° 2, 406,421*. Barcelona, España: Oficina Española de Patentes y marcas, 2013.
- [88] Tamanoisu Kk. *EE.UU.* *Patente N° 4,994,292*. Osaka, Japón: U.S. Patent and Trademark Office, 1991.
- [89] M. L. Morales, & A. M. Troncoso. «Note: Evaluation of Aroma Compounds in Wine Vinegars: Effect of Previous Neutralisation of Samples, » *Food Science and Technology International*, vol. 9, nº 6, pp. 397–402, 2003. DOI: [10.1177/1082013203041037](https://doi.org/10.1177/1082013203041037)
- [90] D. Simões, M. Quieroz, G. Volpato & L. Queiroz. «Desodorización de la base proteica de pescado (BPP) con ácido fosfórico, » *Cienc. Tecnol. Aliment.*, vol. 24, nº 1, pp. 23-26, 2004.
- [91] Herrera, Y., Mendoza, R., García, O., Cruz, S., & Muñoz, O. «El fascinante mundo de los olores, » *Revista de Divulgación científica y tecnológica de la Universidad Veracruzana*, vol. 23, nº 1, 2010 [En Línea]. Recuperado de: <https://www.uv.mx/cienciahombre/revistae/vol23num1/articulos/olores/index.html>
- [92] J. Amore, J. Johnston & M. Rubin. «The Stereochemical Theory of Odor, » *Scientific American*, vol. 210, nº 2, pp. 42-49, 1964. DOI: [10.1038/scientificamerican0264-42](https://doi.org/10.1038/scientificamerican0264-42)
- [93] G. Martínez, «Ciclodextrinas: complejos de inclusión con polímeros, » *Revista Iberoamericana de Polímeros*, La Rioja, España, vol. 8, nº 2, 8, 4, pp. 300-312, 2007.
- [94] A. Pineda, *Utilidad de las ciclodextrinas y derivados en el campo farmacéutico*. (Tesis licenciatura). Universidad de Sevilla. España, 2017.
- [95] The Procter & Gamble Company. *EE.UU.* *Patente N° 5,534,165*. Cincinnati, Ohio: U.S. Patent and Trademark Office, 1996.
- [96] The Procter & Gamble Company. *EE.UU.* *Patente N° 6,528,013* Cincinnati, Ohio: U.S. Patent and Trademark Office, 2003.
- [97] J. Wang, Y. Cao, B. Sun & C. Wang, «Physicochemical and release characterisation of garlic oil- β -cyclodextrin inclusion complexes, » *Food Chemistry*, vol. 127, nº 4, pp. 1680-1685, 2011. DOI: [10.1016/j.foodchem.2011.02.036](https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2011.02.036)
- [98] A. Capelezzo, L. Cassol, F. Dalcaton, J. Muneron de Mello & M. Fiori, « β -Cyclodextrins as Encapsulation Agents of Essential Oils. Cyclodextrin: A Versatile Ingredient, » *InterchOpen*. 2018. DOI: [10.5772/intechopen.73568](https://doi.org/10.5772/intechopen.73568)
- [99] H. Cabral, «A review on cyclodextrin encapsulation of essential oils and volatiles, » *Flavour and Fragrance Journal*, pp. 313-326, 2010. DOI: [10.1002/ffj.2019](https://doi.org/10.1002/ffj.2019)

- [100] M. Mercader. «Encapsulación de flavonoles en ciclodextrinas: Efecto en su actividad antioxidante,» (Tesis doctoral). Universidad Católica San Antonio. Murcia, España, 2006
- [101] M. Del Valle, «Cyclodextrins and their uses: a review,» *Process Biochemistry Elsevier*, vol. 39, nº 9, pp. 1033-1046, 2003. DOI: [10.1016/S0032-9592\(03\)00258-9](https://doi.org/10.1016/S0032-9592(03)00258-9)
- [102] The Procter & Gamble Company. *EE.UU. Patente N°. 2018/0,028,706*. Cincinnati, Ohio: U.S. Patent and Trademark Office, 2018.
- [103] Ciencia clarificada. (Consultado el 16 de octubre de 2020). "We are ssurrounded". [En Línea]. Recuperado de Scienceclarified.com. <http://www.scienceclarified.com/scitech/Bacteria-and-Viruses/We-Are-Surdered.html>
- [104] J. L. P. Jing, T. Pei Yi, R. J. C. Bose, J. R. McCarthy, N. Tharmalingam, & T. Madheswaran, «Hand Sanitizers: A Review on Formulation Aspects, Adverse Effects, and Regulations, » *International Journal of Environmental Research and Public Health*, vol. 17, nº 9, pp. 3326, 2020. DOI:10.3390/ijerph17093326
- [105] Centers of Disease Control and Prevention, «Guideline for Disinfection and Sterilization in Healthcare Facilities, 2008,» *Disinfection and Sterilization*, 24 mayo 2019. [En línea]. Recuperado de: <https://www.cdc.gov/infectioncontrol/guidelines/disinfection/> [Último acceso: 12 marzo 2021].
- [106] World Healt Organization, «CHEMISTRY OF DISINFECTANTS AND DISINFECTANT BY-PRODUCTS» Publications. [En línea]. Recuperado de: https://www.who.int/ipcs/publications/ehc/216_disinfectants_part_2.pdf. [Último acceso: 11 marzo 2021].
- [107] M. Teodorescu, M. Bercea, «Poly(vinylpyrrolidone)–A Versatile Polymer for Biomedical and Beyond Medical Applications, » *Polym. Plast. Technol. Eng.* vol. 54, pp. 923–943, 2015.
- [108] O. Traoré, S. F. Fayard, H. Laveran, «An in-vitro evaluation of the activity of povidone-iodine against nosocomial bacterial strains, » *J. Hosp. Infect.* 1996, vol. 34, pp. 217–222, 1996.
- [109] P. D. Goldenheim, «*In vitro* efficacy of povidone-iodine solution and cream against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, » (Postgrado de Medicina) 1993, 69 (Suppl. 3), S62–S65.
- [110] J. G. Davies, J. R. Babb, C. R. Bradley, Ayli_y G.A.J. «Preliminary study of test methods to assess the virucidal activity of skin disinfectants using poliovirus and bacteriophages, » *J. Hosp. Infect.* vol. 25, pp. 125–131, 1993.
- [111] R. L. Anderson, «Iodophor Antiseptics: Intrinsic Microbial Contamination with Resistant Bacteria. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* vol. 10, pp. 443–446, 1989.
- [112] A. Diamedi, E. Chacón, L. Delpiano, B. Hervé, M. I. Jemenao, M. Medel, ... M. Cifuentes, «Antisépticos y desinfectantes: apuntando al uso racional. Recomendaciones del Comité Consultivo de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud, Sociedad Chilena de Infectología,» *Revista Chilena de Infectología*, vol. 34, nº 2, pp. 156–174, 2017. DOI:10.4067/s0716-10182017000200010
- [113] Y. Ali, M. J. Dolan, E. J. Fendler, E. L. Larson, *Alcohols. In: Block SS, ed. Disinfection, sterilization, and preservation*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp. 229-54, 2001.
- [114] H. E. Morton, *Alcohols. In: Block SS, ed. Disinfection, sterilization, and preservation*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp. 225-239, 1983.
- [115] R. J. Cheung, D. Ortiz, A. J. Jr. DiMarino, «GI endoscopic reprocessing practices in the United States, » *Gastrointest. Endosc.* vol. 50, pp. 362-368, 1999.
- [116] E. M. Scott & S. P. Gorman. «*Glutaraldehyde. In: Block SS, ed. Disinfection, sterilization, and preservation*, » Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp. 361-81,2001.
- [117] E. M. Scott & S. P. Gorman. «*Glutaraldehyde. In: Block SS, ed. Disinfection, Sterilization, and Preservation*, » Philadelphia: Lea & Febiger, pp. 596-616, 1991.
- [118] W. A. Rutala, M. F. Gergen, D. J. Weber, «Sporicidal activity of chemical sterilant used in hospitals, » *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* Vol. 14, pp. 713-718., 1993.

- [119] Block SS. Peroxygen compounds. In: Block SS, ed. Disinfection, sterilization, and preservation. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins, pp. 185-204, 2001.
- [120] LeBel, G., Haas, B., Adam, A.-A., Veilleux, M.-P., Lagha, A. B., & Grenier, D. «Effect of cinnamon (Cinnamomum verum) bark essential oil on the halitosis-associated bacterium Solobacterium moorei and in vitro cytotoxicity, » *Archives of Oral Biology*, vol. 83, pp. 97–104, 2017. DOI: [10.1016/j.archoralbio.2017.07.005](https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.07.005)
- [121] M. E. Guynot, A. J. Ramos, L. Seto, P. Purroy, V. Sanchis, & S. Marin. «Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products, » *Journal of Applied Microbiology*, vol. 94, n° 5, pp. 893–899, 2003. DOI: [10.1046/j.1365-2672.2003.01927.x](https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2003.01927.x)
- [122] R. Piletti, A. Bugiereck, E. Gussati, E. Dal Magro, J. Mello, F. Dalcanton, R. Ternus, C. Soares, H. Riella, M, Fiori, «Microencapsulation of eugenol molecules by beta-cyclodextrin as a thermal protection method of antibacterial action, » *Elsevier*, pp. 259-271, 2017. DOI: [10.1016/j.msec.2017.02.075](https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.02.075).
- [123] Laboratoire M2. *EE.UU. Patente N°. 8,691.292 B2*, Sherbrooke, California: U.S. Patent and Trademark Office, 2014.
- [124] Laboratoire M2. *EE.UU. Patente N°. 2010/0034907 A1*, Sherbrooke, California: U.S. Patent and Trademark Office, 2010.
- [125] Öktem. *Alemania. Patente N°. DE202011102567U1*, Bielefeld, Renania: Oficina de patentes y marcas registradas, 2010.
- [126] Horne, et al, «Antimicrobial Effects of Essential Oils on Streptococcus pneumoniae, » *J. Essent. Oil Res.*, vol. 13, pp. 387-392, 2011.
- [127] Lacoste et al, «Antiseptic properties of Lippia sidoides Cham. Application to the cutaneous microflora, » *Ann Pharm Fr*, vol. 54, n° 5, pp. 228-230, 1996.
- [128] Manohar et al, «Antifungal activities of organic oil against Candida albicans » *Molecular and Cellular Biochemistry*, vol. 228 (1/2): pp: 111-117, 2001.
- [129] J. Rhoades, K. Gialagkolidou, M. Gogou, O. Mavridou, N. Blatsiotis, C. Ritzoulis, & E. Likotrafiti, «Oregano essential oil as an antimicrobial additive to detergent for hand washing and food contact surface cleaning, » *Journal of Applied Microbiology*, n/a–n/a, 2013. DOI:10.1111/jam.12302
- [130] Temel, Metin & Uruc, Vedat & Cevik, Cengiz & Yula, Erkan & Yildiz, Omer & Onlen, Cansu & Arslan, Mehmet & Yengil, Erhan. «Surgical Hand Antiseptic Potential of Oregano Essential Oil, » *Euras J Fam Med*. Vol. 3. pp. 149-156, 2014.
- [131] J. H. Lee, Y. G. Kim, & J. Lee, «Carvacrol-rich oregano oil and thymol-rich thyme red oil inhibit biofilm formation and the virulence of uropathogenic Escherichia coli, » *Journal of Applied Microbiology*, vol. 123, n° 6, pp.1420–1428, 2017. DOI:10.1111/jam.13602
- [132] Sim, J. X. F., Khazandi, M., Chan, W. Y., Trott, D. J., & Deo, P. «Antimicrobial activity of thyme oil, oregano oil, thymol and carvacrol against sensitive and resistant microbial isolates from dogs with otitis externa, » *Veterinary Dermatology.*, 2019. DOI:10.1111/vde.12794
- [133] Gilling, D. H., Kitajima, M., Torrey, J. R., & Bright, K. R. «Antiviral efficacy and mechanisms of action of oregano essential oil and its primary component carvacrol against murine norovirus, » *Journal of Applied Microbiology*, vol. 116, n° 5, pp. 1149–1163, 2014. DOI:10.1111/jam.12453
- [134] Ultee, A., Bennik, M.H.J. and Moezelaar, R. «The phenolic hydroxyl group of carvacrol is essential for action against the food-borne pathogen Bacillus cereus, » *Appl Environ Microbiol*, vol. 68, pp. 1561–1568, 2002.
- [135] Malik, Y.S., Maherchandani, S., Allwood, P.B. and Goyal, S.M. «Evaluation of animal origin cell cultures for in vitro cultivation of noroviruses, » *J Appl Res*, vol. 5, pp. 312–317, 2005.

- [136] R. Garcia-Garcia, A. Lopez-Malo and E. Palou, «Bactericidal action of binary and ternary mixtures of carvacrol, thymol, and eugenol against *Listeria innocua*, » *J Food Sci* vol 76, M95–M100
- [137] B. S. Atiyeh, M. Costagliola, S. N. Hayek, & S. A. Dibo, «Effect of silver on burn wound infection control and healing: Review of the literature, » *Burns*, vol. 33, n° 2, pp. 139-148, 2007. DOI: 10.1016/j.burns.2006.06.010
- [138] A. D. Politano, K. T. Campbell, L. H. Rosenberger, & R. G. Sawyer, «Use of Silver in the Prevention and Treatment of Infections: Silver Review, » *Surgical Infections*, vol. 14, n° 1, pp. 8–20, 2013. DOI:10.1089/sur.2011.097
- [139] E. Sánchez-López, D. Gomes, G. Esteruelas, L. Bonilla, A. L. López-Machado, R. Galindo, A. Cano, M. Espina, M. Ettcheto, A. Camins, A. M. Silva, A. Durazzo, A. Santini, M. L. García, E. B. Souto, «Metal-Based Nanoparticles as Antimicrobial Agents: An Overview, » *Nanomaterials* 10, n° 2: 292, 2020. DOI: 10.3390/nano10020292.
- [140] Vimbela GV, Ngo SM, Frazee C, Yang L, Stout DA. «Antibacterial properties and toxicity from metallic nanomaterials, » *Int J Nanomedicine*. Vol. 12, pp.3941-3965, 2017 DOI: 10.2147/IJN.S134526
- [141] Syafiuddin, A.; Salmiati; Salim, M.R.; Kueh, A.B.H.; Hadibarata, T.; Nur, H. « A Review of silver nanoparticles: Research trends, global consumption, synthesis, properties, and future Challenges, » *J. Clin. Chem. Soc.* Vol. 64, pp. 732–756, 2017.
- [142] Kumar, A.; Vemula, P.K.; Ajayan, P.M.; John, G. « Silver-nanoparticle-embedded antimicrobial paints based on vegetable oil, » *Nat. Mater.* vol. 7, pp. 236–241, 2008.
- [143]. Desireddy, A.; Conn, B.E.; Guo, J.; Yoon, B.; Barnett, R.N.; Monahan, B.M.; Kirschbaum, K.; Griffith, W.P.; Whetten, R.L.; Landman, U.; et al. «Ultrastable silver nanoparticles, » *Nature* vol. 501, pp. 399–402, 2013.
- [144]. Y. Sun, Y. Xia, «Shape-controlled synthesis of gold and silver nanoparticles » *Science*, vol. 298, pp. 2176–2179, 2002.
- [145] Wang, L.; Zhang, T.; Li, P.; Huang, W.; Tang, J.; Wang, P.; Liu, J.; Yuan, Q.; Bai, R.; Li, B.; et al. «Use of synchrotron radiation-analytical techniques to reveal chemical origin of silver-nanoparticle cytotoxicity, » *ACS Nano*. vol. 9, pp. 6532–6547, 2015.
- [146] H. A. Atwater, A. Polman, «Plasmonics for improved photovoltaic devices, » *Nat. Mater.*, vol. 9, pp. 205–213, 2010.
- [147] El-Nour, K.M.M.A.; Eftaiha, A.; Al-Warthan, A.; Ammar, R.A.A. «Synthesis and applications of silver nanoparticles, » *Arab. J. Chem.* vol. 3, pp. 135–140, 2010.
- [148] Heiligtag, F.J.; Niederberger, M. «The fascinating world of nanoparticle research, » *Mater. Today*. vol. 16, pp. 262–271, 2013.
- [149] A. Ávalos, A. Haza & P. Morales, «Nanopartículas de plata: Aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud y el medio ambiente,» *Revista Complutense de Ciencias veterinarias*. Vol 7. pp.1-23, 2013. DOI: 10.5209/rev_RCCV.2013.v7.n2.43408.
- [150] M. I. Sriram, K. Kalishwaralal, S. Barathmanikanth, S. Gurunathani, «Size-based cytotoxicity of silver nanoparticles in bovine retinal endothelial cells, » *Nanosci. Methods*, vol. 1, pp. 56–77, 2012.
- [151] Y. Sun, B. Mayers, T. Herricks, Y. Xia, «Polyol synthesis of uniform silver nanowires: a plausible growth mechanism and the supporting evidence, » *Nano Lett.* vol. 3, pp. 955–960, 2003.
- [152] L. C. Stoehr, E. Gonzalez, A. Stampfl, E. Casals, A. Duschl, V. Puntès, G. J. Oostingh, «Shape matters: Effects of silver nanospheres and wires on human alveolar epithelial cells, » *Part. Fiber Toxicol.* Vol. 8, pp. 36, 2011.

- [153] Li, W.-R.; Xie, X.-B.; Shi, Q.-S.; Zeng, H.-Y.; OU-Yang, Y.-S.; Chen, Y.-B. «Antibacterial activity and mechanism of silver nanoparticles on Escherichia coli, » *Appl. Microbiol. Biotechnol.* Vol. 85, pp. 1115–1122, 2010.
- [154] C. Greulich, D. Braun, A. Peetsch, J. Diendorf, B. Siebers, M. Epple, M. Köller, «The toxic effect of silver ions and silver nanoparticles towards bacteria and human cells occurs in the same concentration range, » *RSC Adv.* vol. 2, pp. 6981–6987, 2012.
- [155] Abuayyash, A.; Ziegler, N.; Gessmann, J.; Sengstock, C.; Schildhauer, T.A.; Ludwig, A.; Köller, M. «Antibacterial efficacy of sacrificial anode thin films combining silver with platinum group elements within a bacteria-containing human plasma clot, » *Adv. Eng. Mater.*, vol. 20, 1700493, 2018.
- [156] Maurer, L.L.; Meyer, J.N. «A systematic review of evidence for silver nanoparticle-induced mitochondrial toxicity,» *Environ. Sci. Nano.*,vol. 3, pp. 311–322, 2016.
- [157] J. L. Nadeau, J. Priester, G. Stucky, P. Holden. «Bacterial Interactions with CdSe Quantum Dots and Environmental Implications, » *Nanoscience and Nanotechnology: Environmental and Health Impacts.* pp. 197, 2008. DOI: 10.1002/9780470396612.ch9.
- [158] Kim, S.-H.; Lee, H.-S.; Ryu, D.-S.; Choi, S.-J.; Lee, D.-S. «Antibacterial activity of silver-nanoparticles against Staphylococcus aureus and Escherichia coli, » *Korean J. Microbiol. Biotechnol.* vol. 39, pp. 77–85, 2011.
- [159] A. Tamayo, L. Zapata, P. Vejar, N. D. Azócar, M. I. Gulppi, M. A. Zhou, X. Thompson, G.E. Rabagliati, F. M. Páez, «Release of silver and copper nanoparticles from polyethylene nanocomposites and their penetration into Listeria monocytogenes, » *Mat. Sci. Eng.*, vol 40, pp. 24–31, 2014.
- [160] A. Abbaszadegan, Y. Ghahramani, B. Gholami, B. Hemmateenejad, S. Dorostkar, M. Nabavizadeh, H. Sharghi, «The effect of charge at the surface of silver nanoparticles on antimicrobial activity against grampositive and gram-negative bacteria: A preliminary study, » *J. Nanomater.*, 720654, 2015.
- [161] S. Shende, A. P. Ingle, A. Gade, M. Rai, «Green synthesis of copper nanoparticles by Citrus medica Linn. (Idilimbu) juice and its antimicrobial activity, » *World J Microbiol Biotechnol.* vol. 31, nº 6, pp. 865-73, 2015. DOI: 10.1007/s11274-015-1840-3. Epub 2015 Mar 12. PMID: 25761857.
- [162] K. M. Rajesh, B. Ajitha, Y. A. K. Reddy, Y. Suneetha, & P.S. Reddy, «Assisted green synthesis of copper nanoparticles using Syzygium aromaticum bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties, » *Optik*, vol. 154, pp. 593–600, 2018. DOI:10.1016/j.ijleo.2017.10.074
- [163] Seyedeh-Maryam Hasheminya, Jalal Dehghannya. «Composition, phenolic content, antioxidant and antimicrobial activity of Pistacia atlantica subsp. kurdica hulls' essential oil, » *Food Bioscience* vol. 34, pp. 100510, 2020.
- [164] J. V. Prado, A. R. Vidal, T. C. Durán, «Aplicación de la capacidad bactericida del cobre en la práctica médica [Application of copper bactericidal properties in medical practice],» *Rev Med Chil.* Vol. 140, nº 10, pp. 1325-32, 2012. DOI: 10.4067/S0034-98872012001000014. PMID: 23559292.
- [165] Pavithran, M. Pappuswamy, Y. Annadurai, V. A. Armugam, and T. Periyaswamy, «Green Synthesis of Copper Nanoparticles, Characterization and Their Applications, » *JALSI*, vol. 23, nº 7, pp. 10-24, 2020. DOI: 10.9734/jalsi/2020/v23i730172.
- [166] Mahmoodi, S., Elmi A., & Hallaj Nezhadi, S. «Copper Nanoparticles as Antibacterial Agents, » *Journal of Molecular Pharmaceutics & Organic Process Research*, vol. 6, nº 1, 2018. DOI: 10.4172/2329-9053.1000140
- [167] A. P. Ingle, N. Duran, & M. Rai, «Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: A review, » *Appl Microbiol Biotechnol* vol. 98, pp. 1001–1009, 2014. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5422-8>
- [168] M. J. Hajipou, K. M. Fromm, A. A. Ashkarran, D. Jimenez de Aberasturi, I. R. de Larramendi, T. Rojo, V. Serpooshan, W. J. Parak, M. Mahmoudi, «Antibacterial properties of nanoparticles, » *Trends Biotechnol.*

vol. 30, n° 10, pp. 499-511, 2012. DOI: 10.1016/j.tibtech.2012.06.004. Epub 2012 Aug 9. Erratum in: Trends Biotechnol. 2013 Jan;31(1):61-2. PMID: 22884769.

[169] O. Bondarenko, K. Juganson, A. Ivask, K. Kasemets, M. Mortimer, A. Kahru, «Toxicity of Ag, CuO and ZnO nanoparticles to selected environmentally relevant test organisms and mammalian cells in vitro: a critical review, » *Arch Toxicol.* vol. 87, n° 7, pp. 1181-2013. DOI: 10.1007/s00204-013-1079-4. Epub 2013 Jun 1. PMID: 23728526; PMCID: PMC3677982.

[170] Raffi, M., Mehrwan, S., Bhatti, T.M. *et al.* «Investigations into the antibacterial behavior of copper nanoparticles against *Escherichia coli* » *Ann Microbiol*, vol. 60, pp. 75–80, 2010. <https://doi.org/10.1007/s13213-010-0015-6>

[171] Saravanakumar K, Sathiyaseelan A, Mariadoss AVA, Xiaowen H, Wang MH. «Physical and bioactivities of biopolymeric films incorporated with cellulose, sodium alginate and copper oxide nanoparticles for food packaging application, » *Int J Biol Macromol.* Vol. 153, pp. 207-214, 2020. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2020.02.250. Epub 2020 Feb 24. PMID: 32105688.

[172] Sunmon Technology Wuxi Co. *China. Patente N°.* CN 109819979 A. Wuxi, provincia de Jiangsu, Oficina Estatal de Propiedad Intelectual de la República Popular China, 2019.

[173] B. Valdez-Salas, E. Beltrán-Partida, R. Zlatev, M. Stoytcheva, D. Gonzalez-Mendoza, J. Salvador-Carlos, ... N. Cheng, «Structure-activity relationship of diameter controlled Ag@Cu nanoparticles in broad-spectrum antibacterial mechanism,» *Materials Science and Engineering: C*, Vol. 119, n° 111501, 2020. DOI: 10.1016/j.msec.2020.111501

[174] Ghosh, T., Das, A. B., Jena, B., & Pradhan, C. «Antimicrobial effect of silver zinc oxide (Ag-ZnO) nanocomposite particles, » *Frontiers in Life Science*, vol. 8, n° 1, pp. 47–54, 2014. DOI:10.1080/21553769.2014.95204

[175] A. Fortuny, C. Bengoa, J. Font, A. Fabregat, «Bimetallic catalysts for continuous catalytic wet air oxidation of phenol, » *J Hazard Mater.* vol. 64, n° 2: pp. 181-93, 1999. DOI: 10.1016/s0304-3894(98)00245-3. PMID: 10337397.

[176] Padmavathy, N., & Vijayaraghavan, R. (2008). « Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—an antimicrobial study, » *Science and Technology of Advanced Materials*, vol. 9, n° 3, 035004. DOI: 10.1088/1468-6996/9/3/035004

[177] A. Kołodziejczak-Radzimska, & T. Jesionowski, «Zinc Oxide—From Synthesis to Application: A Review, » *Materials*, vol. 7, n° 4, pp. 2833–2881, 2014. DOI:10.3390/ma7042833

[178] M. Iqtedar, H. Riaz, A. Kaleem, R. Abdullah, A. Aihetasham, S. Naz, & S. Sharif, «Biosynthesis, optimization and characterization of ZnO nanoparticles using *Bacillus cereus* MN181367 and their antimicrobial activity against multidrug resistant bacteria, » *Revista Mexicana De Ingeniería Química*, vol. 19(Sup. 1), pp. 253-266, 2020. DOI: 10.24275/rmiq/Bio1605

[179] Abdelhakim H. K., El-Sayed, E. R., y Rashidi, F. B. «Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles with antimicrobial, anticancer, antioxidant and photocatalytic activities by the endophytic *Alternaria tenuissima*» *Journal of Applied Microbiology*, vol. 128, pp.1634-1646, 2020. DOI: 10.1111/jam.14581

[180] Mahendiran, D., Subash, G., Arumai Selvan, D., Rehana, D., Senthil Kumar, R., & Kalilur Rahiman, A. «Biosynthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Plant Extracts of Aloe vera and Hibiscus sabdariffa: Phytochemical, Antibacterial, Antioxidant and Anti-proliferative Studies, » *BioNanoScience*, vol 7, n° 3, pp. 530–545, 2017. DOI:10.1007/s12668-017-0418-y

[181] Kassegn Weldegebrerial, G. (2020). «Synthesis method, antibacterial and photocatalytic activity of ZnO nanoparticles for azo dyes in wastewater treatment: a review, » *Inorganic Chemistry Communications*, 108140. doi:10.1016/j.inoche.2020.108140

[182] Manna, J., Goswami, S., Shilpa, N., Sahu, N., & Rana, R. K. «Biomimetic Method To Assemble Nanostructured Ag@ZnO on Cotton Fabrics: Application as Self-Cleaning Flexible Materials with Visible-

Light Photocatalysis and Antibacterial Activities, » *ACS Applied Materials & Interfaces*, vol. 7, nº 15, pp. 8076–8082, 2015. DOI:10.1021/acsami.5b00633

[183] Jang Eui Soon Jo Ara. *Corea. Patente N°. KR102089178B1*: Oficina de Propiedad Intelectual de Corea (KR), 2020.

[184] The Procter & Gamble Company. *EE.UU. Patente N°. WO 99/55813*. Cincinnati, Ohio: U.S. World Intellectual Property Organization, 1996.

[185] R. Jahromi, V. Mogharab, H. Jahromi, & A. Avazpour, (2020). «Synergistic effects of anionic surfactants on coronavirus (SARS-CoV-2) virucidal efficiency of sanitizing fluids to fight COVID-19, » *Food and Chemical Toxicology*, vol. 145, nº 111702, 2020. DOI: 10.1016/j.fct.2020.111702

[186] S. Rassameemasmaung S, P. Phusudsawang & V. Sangalungkarn, «Effect of green tea mouthwash on oral malodor, » *ISRN Prev Med*. Vol. 2013, nº 975148, 2012. DOI: 10.5402/2013/975148. PMID: 24977093; PMCID: PMC4062838.

[187] Hideyuki Yasuda & Tsutomu Arakawa «Deodorizing Mechanism of (–)-Epigallocatechin Gallate against Methyl Mercaptan, » *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry*, vol. 59, nº 7, pp. 1232-1236, 1995. DOI: [10.1271/bbb.59.1232](https://doi.org/10.1271/bbb.59.1232)

[188] P. Lodhia, K. Yaegaki, A. Khakbaznejad, T. Imai, T. Sato, T. Tanaka, T. Murata, T. Kamoda, «Effect of Green Tea on Volatile Sulfur Compounds in Mouth Air, » *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, vol. 54, nº 1, pp. 89–94, 2008. DOI:[10.3177/jnsv.54.89](https://doi.org/10.3177/jnsv.54.89)

[189] T. Bahared & S. Roya, «Effect of Camellia sinensis plant on decreasing the level of halitosis: A systematic review, » *Dental research journal*. Vol. 15 nº 6, pp. 379-384,2018. DOI: [10.4103/1735-3327.245226](https://doi.org/10.4103/1735-3327.245226)

[190] Xu, X., Zhou, XD. & Wu, CD. «Tea catechin EGCg suppresses the mgl gene associated with halitosis, » *J Dent Res* vol. 89, pp. 1304-1308, 2010. DOI: [10.1177/0022034510378682](https://doi.org/10.1177/0022034510378682)

[191] The Procter & Gamble Company. *EE.UU. Patente N°. 9,592,168* Cincinnati, Ohio: U.S. Patent and Trademark Office, 2017.

[192] VEREINIGTE PAPIERWERKE SCHICKEDANZ AND Co. *EE.UU. Patente No. 3,172,817*. Patent and Trademark Office, 1965.

[193] P. Ongsri, C. Leeyaphan, P. Limphoka, et. al. «*Effectiveness and Safety of Zinc Oxide Nanoparticle-Coated Socks Compared to Uncoated Socks For the Prevention of Unpleasant Foot Odour: A Double-Blinded, Randomized, Controlled Trial Study*, » Abstract no 18, EADV Virtual, pp. 29-31, October 2020

[194] A. M. Aboelenin, R. Hassan, & E. S. Abdelmegeed, «The effect of EDTA in combination with some antibiotics against clinical isolates of gram-negative bacteria in Mansoura, Egypt, » *Microbial pathogenesis*, vol. 154, nº 104840, 2021. Publicación avanzada en línea. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2021.104840>

[195] S. A. Firmenich, *Suiza. Patente N°. 4,803,195* U.S. Patent and Trademark Office, 1989.

[196] A. Kielbania, *EE.UU. Patente N°. WO 2016/197148*. Chalfont, Pensilvania: U.S. World Intellectual Property Organization, 2016.

[197] OXISCIENCE, LLC, *EE.UU. Patente N°. 2020/0085987 A1*. Langley, Washington: U.S. Patent and Trademark Office, 2020.

[198] Klmperry-Ulark Worldwide, Inc., *EE.UU. Patente N°. US 7,879,350 B2*. Neenah, Wisconsin: U.S. Patent and Trademark Office, 2011.

[199] Klmperry-Ulark Worldwide, Inc., *EE.UU. Patente N°. US 7,678,367 B2*. Neenah, Wisconsin: U.S. Patent and Trademark Office, 2010.

- [200] Colgate-Palmolive Company, *EE.UU. Patente N° US 6,358,499 B2*. New York, New York: U.S. Patent and Trademark Office, 2002.
- [201] Chugh H., Sood D., Chandra I., Tomar V., Dhawan G., Chandra, R. «Role of gold and silver nanoparticles in cancer nano-medicine, » *Artif. Cell. Nanomed. Biotechnol*, vol. 46, pp. 1210–1220, 2018.
- [202] Zhang, X.-F.; Liu, Z.-G.; Shen, W.; Gurunathan, S. «Silver nanoparticles: Synthesis, characterization, properties, applications, and therapeutic approaches, » *Int. J. Mol. Sci*, vol. 17, n° 1534, 2016.
- [203] J. Gardea-Torresdey, K. Tiemann, G. Gamez, K. Dokken, I. Cano-Aguilera, L. Furenlid, M. Renner, «Reduction and accumulation of gold (III) by *Medicago sativa* alfalfa biomass: X - ray absorption spectroscopy, pH, and temperature dependence, » *Environmental Science and Technology*, Vol. 34, 20, pp. 4392–4396, 2000.
- [204] Yates, B., Myre, E., Breetz, D., Dionysiou, D. «Biotemplating of nanoparticles for environmental applications using phytomining techniques, » *Abstracts of Papers, 230 th ACS National Meeting, United States*, 2005.
- [205] Shankar, S.S., Rai, A., Ahmad, A., Sastry, M. «Rapid synthesis of Au, Ag, and bimetallic Au core - Ag shell nanoparticles using Neem (*Azadirachta indica*) leaf broth, » *Journal of Colloid and Interface Science*. 2004, Vol. 275, 2, pp. 496 – 502.
- [206] Mukherjee, P., Senapati, S., Mandal, D., Ahmad, A., Khan, M.I., Kumar, R., Sastry, M. «Extracellular synthesis of gold nanoparticles by the fungus *Fusarium oxysporum*, » *ChemBioChem*, Vol. 3, n° 5, pp. 461-463, 2002. DOI: 10.1002/1439-7633(20020503)3:5<461::AID-CBIC461>3.0.CO;2-X
- [207] Shankar, S.S., Ahmad, A., Sastry, M. «Geranium leaf assisted biosynthesis of silver nanoparticles, » *Biotechnology Progress* 1, Vol. 19, n° 6, pp. 1627 – 1631, 2003.
- [208] Chandran, S.P., Chaudhary, M., Pasricha, R., Ahmad, A., Sastry, M. «Synthesis of gold nanotriangles and silver nanoparticles using Aloe vera plant extract, » *Biotechnology Progress*, Vol. 22, n° 2, pp. 577-583, 2006.
- [209] Ankamwar, B., Damle, C., Ahmad, A., Sastry, M. «Biosynthesis of gold and silver nanoparticles using *Embllica offi cinalis* fruit extract, their phase transfer and transmetallation in an organic solution, » *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, Vol. 5, n° 10, pp. 1665–1671, 2005.
- [210] Li, S., Shen, Y., Xie, A., Yu, X., Qiu, L., Zhang, L., Zhang, Q. «Green synthesis of silver nanoparticles using *Capsicum annuum* L. extract, » *Green Chemistry*, Vol. 9, n° 8, pp. 852–858, 2007.
- [211] Chandra, H., P. Kumari, E. Bontempi and S. Yadav. «Medicinal plants: Treasure trove for green synthesis of metallic nanoparticles and their biomedical applications, » *Biocatalysis and agricultural biotechnology*, vol. 24, n° 101518, 2020.
- [212] Nath, D., & Banerjee, P. (2013). «Green nanotechnology – A new hope for medical biology, » *Environmental Toxicology and Pharmacology*, vol. 36, n° 3, pp. 997–1014, 2013. DOI: 10.1016/j.etap.2013.09.002
- [213] Dang TMD, Le TTT, Fribourg-Blanc E, Dang MC. «The influence of solvents and surfactants on the preparation of copper nanoparticles by a chemical reduction method, » *Vietnam Academy of Science & Technology*, vol. 2, pp.1-3, 2011.
- [214] M. Martínez, «*Formación y caracterización de emulsiones altamente concentradas de betún en agua*,» (Tesis doctoral). Universitat de Barcelona. España, 2006.
- [215] P. Becher, «*Emulsions: theory and practice*, » New York. Reinhold Publ. Corp., 1965.
- [216] Lopretti, M., Barreiro, F., Fernandes, I., Damborrarena, A., Ottati, C., & Olivera, A. (2007). «Microencapsulación de compuestos de actividad biológica, » *INNOTECH*, 19-23.

- [217] R. Laughlin, «*The Aqueous Phase Behavior of Surfactants (Colloid Science)*, » Academic Press; New edition, 1996. ISBN-10: 0124377602
- [218] M. B. Sierra, «Consideraciones sobre surfactantes,» Repositorio digital, 2009. [En línea]. Recuperado de: [Último acceso: 3 junio 2020].
<http://repositoriodigital.uns.edu.ar/bitstream/123456789/1992/5/CAPITULO%201.pdf>
- [219] R.J. Hunter «*Foundations of Colloid Science*, » Clarendon Vol. 2, Oxford, 1995.
- [220] Aranberri I., Binks B. P., Clint J. H., Fletcher P. D. I., «Elaboración y caracterización de emulsiones estabilizadas por polímeros y agentes tensioactivos,» *Revista Iberoamericana de Polímeros*, vol. 7, nº 3, pp. 211-231, 2006. Recuperado de: <http://www.ehu.es/reviberpol/pdf/AGO06/aranberri.pdf>
- [221] Clint, J. H., «*Surfactant Aggregation*, » Springer, New York, 1991. DOI: 10.1007/978-94-011-2272-6
- [222] P. C. Hiemenz & R. Rajagopalan, «*Principles of colloid and surface chemistry, Undergraduate chemistry*, » vol. 4, New York, M. Dekker, 1977.
- [223] Xu, L., Liang, H.-W., Yang, Y., & Yu, S.-H., «Stability and Reactivity: Positive and Negative Aspects for Nanoparticle Processing, » *Chemical Reviews*, vol. 118, nº 7, pp. 3209–3250, 2018. DOI: 10.1021/acs.chemrev.7b00208
- [224] H. T. Phan, & A. J. Haes, «What Does Nanoparticle Stability Mean?, » *The Journal of Physical Chemistry C.*, vol. 123, nº 27, pp. 16495–16507 2019. DOI: 10.1021/acs.jpcc.9b00913
- [225] Jia, C. J.; Schuth, F. «Colloidal Metal Nanoparticles as a Component of Designed Catalyst, » *Phys. Chem. Chem. Phys.*, vol. 13, pp. 2457–2487, 2011.
- [226] L. Xu, Y. Yang, Z. W. Hu, S. H. Yu, «Comparison Study on the Stability of Copper Nanowires and Their Oxidation Kinetics in Gas and Liquid, » *ACS Nano*, vol. 10, pp. 3823–3834, 2016.
- [227] B. L. Cushing, V. L. Kolesnichenko, C. J. O'Connor, «Recent Advances in the Liquid-Phase Syntheses of Inorganic Nanoparticles, » *Chem. Rev.* vol. 104, pp. 3893–3946, 2004.
- [228] Hotze, E. M.; Phenrat, T.; Lowry, G. V. «Nanoparticle Aggregation: Challenges to Understanding Transport and Reactivity in the Environment, » *J. Environ. Qual.* Vol. 39, pp. 1909–1924, 2010.
- [229] Xi, W.; Phan, H. T.; Haes, A. J. «How To Accurately Predict Solution-Phase Gold Nanostar Stability, » *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 410, pp. 6113–6123, 2018.
- [230] Wijenayaka, L. A.; Ivanov, M. R.; Cheatum, C. M.; Haes, A. J. «Improved Parametrization for Extended Derjaguin, Landau, Verwey, and Overbeek Predictions of Functionalized Gold Nanosphere Stability, » *J. Phys. Chem. C.*, vol. 119, pp. 10064–10075, 2015.
- [231] Yin, Y.; Li, Z.-Y.; Zhong, Z.; Gates, B.; Xia, Y.; Venkateswaran, S. «Synthesis and Characterization of Stable Aqueous Dispersions of Silver, » *Journal of Materials Chemistry*, vol. 12, nº 3, 2002. DOI: 10.1039/b107469e
- [232] Levard, C.; Reinsch, B. C.; Michel, F. M.; Oumahi, C.; Lowry, G. V.; Brown, G. E. «Sulfidation Processes of PVP-Coated Silver Nanoparticles in Aqueous Solution: Impact on Dissolution Rate, » *Environ. Sci. Technol.*, vol. 45, pp. 5260–5266, 2011.
- [233] Mirgorod, Y.A., Borodina, V.G., & Borsch, N.A., «Investigation of interaction between silver ions and rutin in water by physical methods, » *Biophysics (Russian Federation)*. Vol. 58, nº 6, pp. 743–747, 2013.
- [234] Mirgorod, Y.A. and Borodina, V.G., «Preparation and bactericidal properties of silver nanoparticles in aqueous tea leaf extract, » *Inorganic Materials*. Vol. 49, nº 10, pp. 980–983, 2013.
- [235] Mourdikoudis, S., Pallares, R. M., & Thanh, N. T. K., «Characterization techniques for nanoparticles: comparison and complementarity upon studying nanoparticle properties, » *Nanoscale*, Vol. 10, nº 27, pp. 12871–12934, 2018. DOI:10.1039/c8nr02278j

- [236] Titus, D., James Jebaseelan Samuel, E., & Roopan, S. M., Capítulo 12 «Nanoparticle characterization techniques en Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles, » *Elsevier*, pp. 303–319, 2019. DOI:10.1016/b978-0-08-102579-6.00012-5, ISBN 9780081025796.
- [237] M. Naito, T. Yokoyama, K. Hosokawa, K. Nogi, Capítulo 5, «Characterization Methods for Nanostructure of Materials, » en *Nanoparticle Technology Handbook*, *Elsevier*, pp. 255–300, 2018. DOI:10.1016/b978-0-444-64110-6.00005-6, ISBN 9780444641106.
- [238] Nanocomposix, «*UV/Vis/IR Spectroscopy Analysis of NPs*, » septiembre 2012, NanoComposix (Nanocomposix.com). [En línea]. Recuperado de: [Último acceso: 20 febrero 2021].
<http://50.87.149.212/sites/default/files/nanoComposix%20Guidelines%20for%20UV-vis%20Analysis.pdf>
- [239] Nanocomposix, «*Nanoparticle Characterization Techniques*, » NanoComposix (Nanocomposix.com). [En línea]. Recuperado de: [Último acceso: 20 febrero 2021].
<https://nanocomposix.com/pages/nanoparticle-characterization-techniques#target>
- [240] Cytodiagnosics, «Silver Nanoparticle Properties,» [En línea]. Recuperado de: <https://www.cytodiagnosics.com/pages/silver-nanoparticle-properties>. [Último acceso: 28 Junio 2020].
- [241] Rades, S., Hodoroaba, V.-D., Salge, T., Wirth, T., Lobera, M. P., Labrador, R. H., ... Unger, W. E. S., «High-resolution imaging with SEM/T-SEM, EDX and SAM as a combined methodical approach for morphological and elemental analyses of single engineered nanoparticles, » *RSC Adv.*, vol. 4, nº 91, pp. 49577–49587, 2014. DOI:10.1039/c4ra05092d
- [242] G. L. Hornyak, H. F. Tibbals, J. Dutta, y J. J. Moore, «Introduction to Nanoscience & Nanotechnology, » Taylor & Francis Group, CRC Press, 2009.
- [243] Mittal, A. K., Chisti, Y. y Banerjee, U. C. 2013. «Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts, » *Biotechnology Advances*, vol. 31, pp. 346-356, 2013.
- [244] «Nanoparticle characterization instrumentation » [Australian Government, National Measurement] Institute – Nanometrology Section. Presentación de Power point, noviembre 2012, [En Línea]. Recuperado de: measurement.gov.au
- [245] M. Wolfgang, «Nanoparticle Size Analysis: A Survey and Review, » en *Nanomedicines Alliance*, October, 2da Conferencia de Advancing Product Quality, Presentación de Power point, 2015. En Línea]. Recuperado de: <https://pdf4pro.com/amp/view/nanoparticle-size-analysis-a-survey-and-review-1a63e.html>
- [246] A. Kumar & C. Dixit Kumar, «Methods for characterization of nanoparticles, » *Advances en Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids*, pp. 43–58, 2017.
- [247] E. Beltrán-Partida, B. Valdez Salas, E. Valdez-Salas, G. Pérez-Cortéz & N. Nedev, Synthesis, «Characterization, and In Situ Antifungal and Cytotoxicity Evaluation of Ascorbic Acid-Capped Copper Nanoparticles, » *Journal of Nanomaterials*. pp. 1-10, 2019. DOI: 10.1155/2019/5287632.
- [248] S. Biren, A. Seth, *Textbook of Pharmacognosy and Phytochemistry*. Elsevier, 2010.
- [249] V. Flores Morales, O. Castañeda Hernández, T. Montiel Santillán y G. P. Hernández Delgadillo, «Análisis fitoquímico preliminar del extracto hexánico de hojas de *Hemiphylacus novogalicianus*, una especie endémica de México,» *Investigación y Ciencia*, vol. 22, no 63, pp. 18-23, 2014.
- [250] Domínguez, X. «*Métodos de INVESTIGACION FITOQUIMICA*. Editorial Limusa, 1979.
- [251] Bruno, T.; Svoronos, P. Capítulo 8 «Preparation of Special Analytical Reagents, » en *CRC Handbook of Chemistry and Physics*, *CRC Taylor Francis*, 2012.
- [252] C. Delporte, «Farmacognosia, Trabajos prácticos, Departamento de farmacología y toxicología,» *Facultad de ciencias químicas y farmacéuticas, Universidad de Chile*, vol. 31, 2010.
- [253] R. Gutiérrez Meléndez, «*Relación entre los espectros UV-Vis y el tamaño y morfología de nanopartículas de oro y plata*,» (Tesis de maestría), Saltillo: Centro de Investigación en Química Aplicada, 2008.

- [254] M. Sánchez Moreno, «*Nanopartículas de plata: Preparación, caracterización y propiedades con aplicación en inocuidad de los alimentos,*» (Tesis de maestría), Madrid: Universidad Nacional de Educación a Distancia, 2017.
- [255] L. Cornejo, «Resonancia del plasmón de la superficie (RPS); propiedades optoelectrónicas,» *Nuevas Tecnologías y Materiales*, 11 Agosto 2015. [En línea]. Recuperado de: <https://nuevastecnologiasymateriales.com/resonancia-del-plasmon-de-la-superficie-rps-propiedades-optoelectronicas/>. [Último acceso: 28 Junio 2020].
- [256] Masoud, F.; Zainab, F.; Reza, E.; Reza, R. «Different morphologies of ZnO nanostructures via polymeric complex sol-gel method: synthesis and characterization, » *Springer*, vol. 64, pp. 193-199, 2012.
- [257] Kayani, Z.; Saleemi, F.; Batool, I. «Synthesis and characterization of ZnO nanoparticles, » *Materials Today: Proceeding*, vol 2, pp. 5619-5621, 2015.
- [258] E. Goh, X. Xu & P. McCormick, «Effect of particle size on the UV absorbance of zinc oxide nanoparticles, » *Scripta Materialia*, vol. 78-79, pp. 49-52, 2014.
- [259] A. Rajendra, E. Siva, C. Dhanraj & S. Senthikumar «A Green and Facile Approach for the synthesis Copper Oxide Nanoparticles Using Hibiscus rosa-sinesis Flower Extracts and It's Antibacterial Activities, » *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, vol. 8, nº 3, 2018.
- [260] A. Obouayeba, M. Diarrassouba, E. Soumahin y T. Kovakou, «Phytochemical Analysis, Purification and Identification of Hibiscus Anthocyanins,» *Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, vol. 3, nº 2, pp. 156-168, 2015.
- [261] A. Obouayeba, N. DJYH, S. Diabate, A. Djaman, J. N'Guessan, M. Kone y T. Kouakou, «Phytochemical and antioxidant activity of Roselle (Hibiscus Sabdariffa L.) Petal Extracts,» *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, vol. 5, nº 2, pp. 1453-1465, 2014.
- [262] I. Herrera Fuentes, K. Quimis Ponce, N. Sorroza Rojas, F. García Larreta, W. Mariscal Santi y R. Mariscal García, «Determinación de taninos y cumarinas presentes en la planta tres filos,» *Polo del conocimiento*, vol. 2, nº 7, pp. 500-522, 2017.
- [263] E. Olivo Puebla, «*Caracterización fitoquímica de la fracción hipoglucemiante aislada del extracto de la vaina de frijol (Phaseolus vulgaris L.)*,» (Tesis de maestría), México: Instituto Politécnico Nacional, 2015.
- [264] Desconocido, «Sistema de bibliotecas y biblioteca central,» [En línea]. Recuperado de: <https://sisbib.unmsm.edu.pe/BibVirtualData/Libros/Quimica/pigmentos/archivos%20PDF/antraquinonas.pdf>. [Último acceso: 17 Julio 2020].
- [265] P. Magudapathy, P. Gangopadhyay, B.K. Panigrahi, K. G. M. Nair and S. Dhara, «Electrical Transport Studies of Ag Nanoclusters Embedded in Glass Matrix», *Physica B: Condensed Matter*, vol. 299, nº 1-2, pp. 142-146, 2001.
- [266] S. Öztürk, N. Kılınç, N. Taşaltın, & Z. Z. Öztürk, «Fabrication of ZnO nanowires and nanorods, » *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, vol. 44, nº 6, pp. 1062–1065, 2012. DOI: 10.1016/j.physe.2011.01.015
- [267] Wu, L., Wu, Y., & Lü, W. (2005). «Preparation of ZnO Nanorods and optical characterizations, » *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, vol. 28, nº 1, pp. 76–82, 2005. DOI: 10.1016/j.physe.2005.02.005
- [268] B. M. R. y U. M., «Synthesis of monodispersed silver nanoparticles using Hibiscus cannabinus leaf extract and its antimicrobial activity,» *Spectrochimica Acta A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, vol. 101, pp. 184-190, 2013.
- [269] K. Anandalakshmi, J. Venugobal, & V. Ramasamy, «Characterization of silver nanoparticles by green synthesis method using Pedalium murex leaf extract and their antibacterial activity», *Appl Nanosci*, vol 6, pp. 399–408, 2016. DOI: 10.1007/s13204-015-0449-z.
- [270] P. Apaez-Barrios, M. E. Pedraza-Santos, M. Rodríguez-Mendoza, R. A. Raya-Montaño, D. Jaén-Contreras, «Yield and anthocyanin concentration in *Hibiscus sabdariffa* L. with foliar application of

micronutrients, » *Rev. Chapingo Ser.Hortic* [En Línea]. vol. 24, nº. 2, pp.107-120, 2018, ISSN 2007-4034. DOI: 10.5154/r.rchsh.2017.06.020.

[271] J. D. Clogston & A. K. Patri, Capítulo 6 «Zeta Potential Measurement » en: McNeil S. (eds) *Characterization of Nanoparticles Intended for Drug Delivery. Methods in Molecular Biology (Methods and Protocols)*, vol 697, 2011. *Humana Press*. DOI: 10.1007/978-1-60327-198-1_6

[272] The Procter & Gamble Company. *EE.UU. Patente N°. 6,503,413* Cincinnati, Ohio: U.S. Patent and Trademark Office, 2003.

[273] Mahamuni, P; Patil, P.; Dhanavade, M.; Badiger, M.; Shadija PG.; Lokhande AC.; Bohara RA., «Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles by using polyol chemistry for their antimicrobial and antibiofilm activity». *Biochem Biophys Rep.* vol.17, pp. 71-80, 2019. DOI: 10.1016/j.bbrep.2018.11.007. PMID: 30582010; PMCID: PMC6295600.

[274] M. Flores, «Efecto bactericida de nanopartículas de plata y desinfectantes sobre bacterias multirresistentes», (Tesis de maestría), Universidad Autónoma del Estado de México, Ed. México, 2017.

[275] A. Oliveira-Pinto, R. Santos, R. Coutinho, L. Oliveira, G. Santos, A. Alho, R. Leite, J. Farfel, C. Suemoto, L. Grinberg, C. Pasqualucci, W. Jacob-Filho y R. Lent, «Sexual Dimorphism in the Human Olfactory Bulb: Females Have More Neurons and Glial Cells than Males, » *PLoS ONE*, vol. 9, nº 11, 2014. DOI: 10.1371/journal.pone.0111733

[276] A. Keller, M. Hempstead, I. Gomez & L. Vosshall, « An olfactory demography of a diverse metropolitan population,» *BMC Neurosci.*, vol. 13, nº 122, 2012. DOI:[10.1186/1471-2202-13-122](https://doi.org/10.1186/1471-2202-13-122)

[277] S. Schiffman, «Taste and smell losses in normal aging and diseases,» *JAMA*, vol. 278, pp. 1357-1362, 1997. DOI:[10.1001/jama.278.16.1357](https://doi.org/10.1001/jama.278.16.1357)

[278] M. Guarneros, T. Hummel, M. Martínez-Gómez & R. Hudson, «Mexico City Air Pollution Adversely Affects Olfactory Function and Intranasal Trigeminal Sensitivity,» *Chemical Senses*, vol. 34, nº 9, pp. 819-826, 2009. DOI:[10.1093/chemse/bjp071](https://doi.org/10.1093/chemse/bjp071)

[279] R. Doty, «Odor Perception in Neurodegenerative Diseases,» en R. Doty, *Handbook of olfaction and gustation* (2 ed.). New York: Marcel Dekker, 2003.

[280] A. Welge-Lüssen & M. Wolfensberger, «Olfactory Disorders following Upper Respiratory Tract Infections,» In A. Welge-Lüssen, & M. Wolfensberger, *Taste and Smell. An Update*, Vol. 63, pp. 125-132). Basel: Adv Otorhinolaryngol. Karger, 2006. DOI:[10.1159/000093758](https://doi.org/10.1159/000093758)




[281] Nanotecnologías-especificación de materiales-nanopartículas antibacteriales de plata. Proyecto de Norma Mexicana NMX-R-20660-SCFI-2019, Diario Oficial de la Federación, 5 de julio de 2019.

Anexo 2: Evaluación de soluciones neutralizadoras

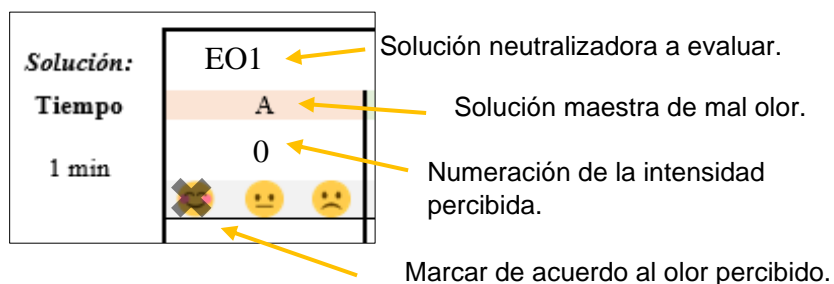
Instrucciones:

1. Colocar el número que mejor responda solamente a la sensación del mal olor percibida en cada una de las pruebas.
2. Es importante que cada vez que se realice la evaluación se revise la tapadera del envase a evaluar con el fin de que corresponda con el inciso a contestar.
3. Se debe aspirar profundamente cada vez que se realice una medición, tanto durante la prueba como al finalizar para poder limpiar las vías respiratorias.
4. Al cambiar de prueba – solución problema maestra; se debe de realizar una limpieza de la nariz al aspirar el olor de café o al tallarse la nariz con el torso del brazo.

Escala para determinación de la intensidad del olor.

Escala	Significado	Molestia de olor	
0	Inodoro	No hay olores detectables / No hay olor desagradable.	Que tan intenso y malo es el mal olor a evaluar.
1	Muy leve	Olor que no percibiría una persona promedio, pero que podría ser detectado por una persona con experiencia o un individuo muy sensible.	
2	Leve	Olor que es tan débil que una persona promedio podría detectarlo si se le dice que ponga atención, pero que de otra manera no atraería su atención.	
3	Fácilmente notable	Olor de moderada intensidad que podría ser detectado inmediatamente y podría considerarse negativa (posible malestar en áreas habitadas).	
4	Fuerte	Olor que llama la atención y que puede convertir el aire limpio en un aire muy desagradable (probable malestar si se encuentra en áreas habitadas).	
5	Muy fuerte	Olor de tal intensidad que el aire sería absolutamente no apropiado para respirar (termino que se debe usar sólo en casos extremos).	
	Olor agradable	El olor percibido es agradable.	Apreciación personal.
	Olor neutro	No se percibe un olor o el olor percibido no es ni agradable ni desagradable.	
	Olor desagradable	El olor percibido es desagradable.	





























































Ejemplo de llenado:































































Evaluador: _____

Favor de responder con la mayor honestad posible:

Solución:

Tiempo	A	B	C	D
1 min	  	  	  	  
5 min	  	  	  	  
20 min	  	  	  	  
1 hora	  	  	  	  
Abierto	  	  	  	  
Comentarios				

Solución:

Tiempo	A	B	C	D
1 min	  	  	  	  
5 min	  	  	  	  
20 min	  	  	  	  
1 hora	  	  	  	  
Abierto	  	  	  	  
Comentarios				

Firma

Anexo 3: Halos de inhibición de las soluciones desinfectantes / elimina olores a las 24 y 45 h contra *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*

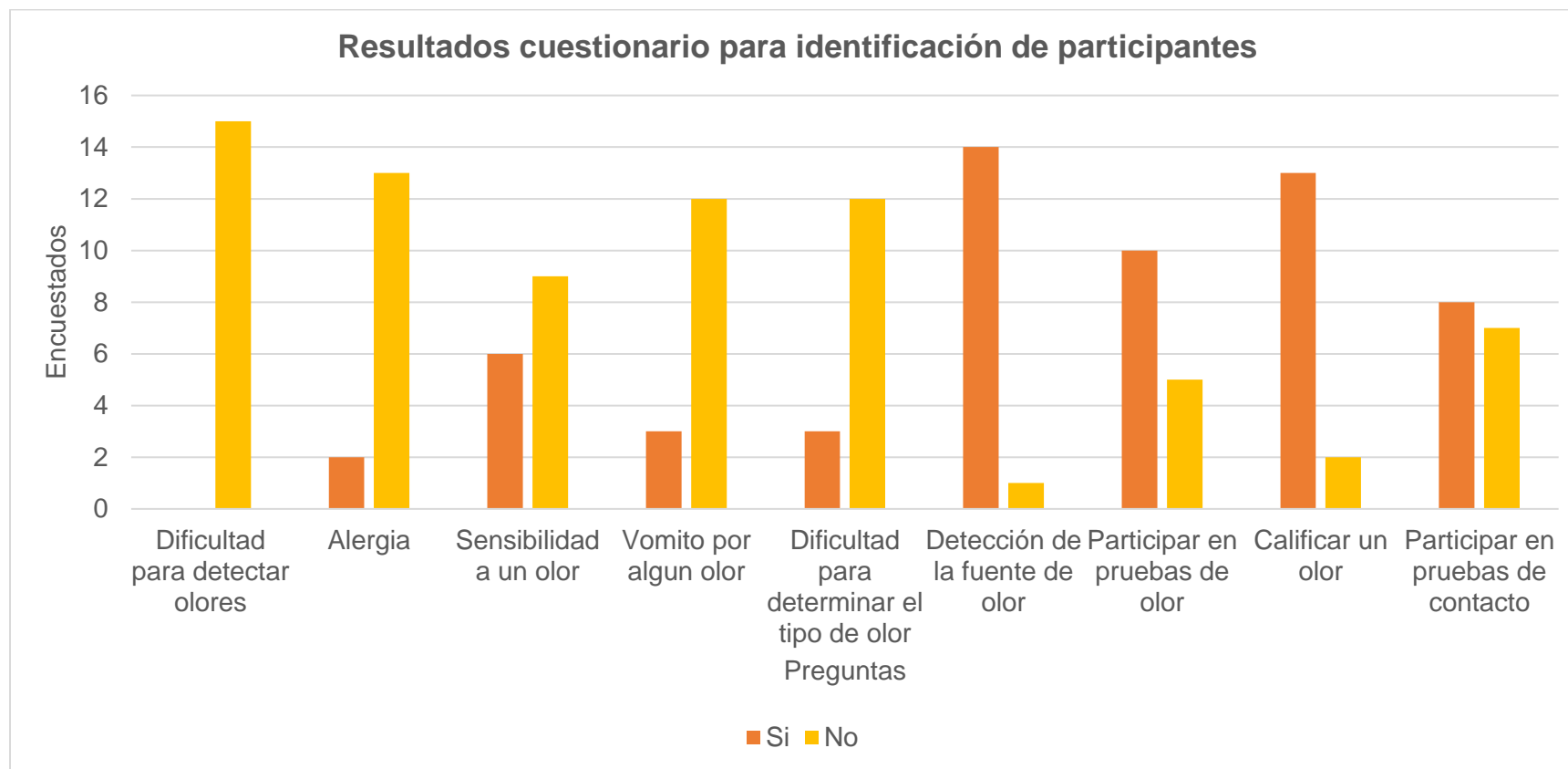
Muestra		Halo de inhibición (mm)					
		<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
		24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
D1	100%	19	19	19	18.5	10	10
	50%	19.5	21.5	17.5	17	9	8.5
	25%	16	16.5	16	16	7.5	7
	12.50%	13.5	14	14	14	SV	SV
	6%	12.5	14	14	14.5	SV	SV
D2	100%	19	19	19	19	9	8.5
	50%	17	18.5	19.5	20.5	7	8
	25%	17	19.5	19	22	5	SV
	12.50%	15	17	17	17	SV	SV
	6%	15	16	15	17	SV	SV
D3	100%	17.5	18	25.5	24.5	8.5	8.5
	50%	17	17	23.5	23.5	8	8
	25%	16.5	18.5	17	16	6	SV
	12.50%	17.5	19	13.5	14	SV	SV
	6%	14.5	14.5	14	14	SV	SV
D4	100%	19.5	18	20	21	9	9
	50%	17.5	17	16	17	7.5	7
	25%	14	15	15.5	15.5	7	SV
	12.50%	16	19	13	14	SV	SV
	6%	13.5	14.5	11.5	11.5	SV	SV
D5	100%	22	24.5	17.5	18	9	9
	50%	19	19.5	20	20	8	8
	25%	15	14.5	15	14	SV	SV
	12.50%	14	13	13	13	SV	SV
	6%	12	12	12.5	12	SV	SV
1	100%	17	18	18	18	12	12.5
	50%	11.5	17	17.5	17.5	11	11.5
	25%	14	17	16	16	8.5	8
	12.50%	13	15	15	15	SD	SD
	6%	12	12.5	13	13	SD	SD
2	100%	16.5	17	16.5	17	12	12.5
	50%	15	16.5	16.5	16.5	11	11
	25%	14	14.5	14	15.5	9	9.5
	12.50%	13.5	14	14.5	14.5	SD	SD

	6%	12.5	12	14.5	13	SD	SD
3	100%	14.5	14.5	18.5	17.5	11	10.5
	50%	13	13	14	14	9	9
	25%	12	12.5	12	11.5	8	8
	12.50%	10.5	10	10.5	9.5	SD	SD
	6%	8.5	9	9.5	10.5	SD	SD
4	100%	18.5	21	16.5	17	11	12
	50%	14	14	14	14	10	9
	25%	11	11	12	11.5	8.5	8.5
	12.50%	9.5	10.5	8.5	10	SD	SD
	6%	9.5	10	9	9	SD	SD
5	100%	17	18.5	18	19	12	12
	50%	15	17	15	17	11	11.5
	25%	15	15.5	15	16	9	9.5
	12.50%	14	14.5	14	14	SD	SD
	6%	13	14	13	13.5	SD	SD
6	100%	16.5	17.5	14.5	17	12.5	12.5
	50%	16.5	18	14.5	15.5	11	11
	25%	15	15	14	15	SD	SD
	12.50%	14	14	15	14.5	SD	SD
	6%	10.5	12	12.5	12.5	SD	SD

Anexo 4: Halos de inhibición de las soluciones desinfectantes / elimina olores (Ds) originales a las 24 y 45 hr contra *E. coli*, *S. aureus* y *P. aeruginosa*.

Muestra	Halo de inhibición (mm)		
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
DI 100%	17	15	14
DI 50%	14	14	12
DI 25%	12	13	17
DI 12.5%	12	12	15
DI 6%	12	9	10

Anexo 5: Ponderación de los resultados obtenidos en el cuestionario proporcionado.



Anexo 6: Ponderación de los resultados obtenidos en las pruebas organolépticas de las soluciones desinfectantes con y sin NPs que fueron seleccionadas para pruebas con panel de evaluadores.

Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	D1	1 min	9	1				
		5 min	8	2				
		20 min	8	2				
		1 hr	4	4	2			
		Abierto	8	1	1			
Suma			37	10	3	0	0	0
B	D1	1 min	8	1	1			
		5 min	8	1	1			
		20 min	10					
		1 hr	8	1	1			
		Abierto	8	2				
Suma			42	5	3	0	0	0
C	D1	1 min	6	2	2			
		5 min	8	2				
		20 min	6	4				
		1 hr	5	4			1	
		Abierto	7	2	1			
Suma			32	14	3	0	1	0
D	D1	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	10					
Suma			50	0	0	0	0	0
A	D2	1 min	8	1	1			
		5 min	9		1			
		20 min	10					
		1 hr	9	1				
		Abierto	9	1				
Suma			45	4	1	0	0	0
B	D2	1 min	8	1	1			
		5 min	9		1			
		20 min	10					
		1 hr	9	1				
		Abierto	10					
Suma			46	2	1	1	0	0
C	D2	1 min	7	3				
		5 min	9	1				
		20 min	9	1				
		1 hr	8	2				
		Abierto	7	2	1			
Suma			40	9	1	0	0	0
D	D2	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	10					
Suma			50	0	0	0	0	0
A	D3	1 min	9	1				
		5 min	9	1				
		20 min	10					
		1 hr	9	1				
		Abierto	7	2	1			
Suma			44	5	1	0	0	0
B	D3	1 min	9			1		
		5 min	9		1			
		20 min	10					
		1 hr	8	1			1	
		Abierto	8	2				
Suma			44	3	1	1	1	0
C	D3	1 min	9	1				
		5 min	9	1				
		20 min	8	1			1	
		1 hr	7	1			2	
		Abierto	6	3		1		
Suma			39	7	0	1	3	0
D	D3	1 min	9	1				
		5 min	9	1				
		20 min	9	1				
		1 hr	8	2				
		Abierto	8	2				
Suma			43	7	0	0	0	0
A	D4	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	8	2				
		Abierto	9	1				
Suma			47	3	0	0	0	0
B	D4	1 min	9	1				
		5 min	9			1		
		20 min	10					
		1 hr	9		1			
		Abierto	10					
Suma			47	1	1	1	0	0
C	D4	1 min	9	1				
		5 min	9	1				
		20 min	10					
		1 hr	7	1	1		1	
		Abierto	7	2		1		
Suma			42	5	1	1	1	0
D	D4	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	9	1				
		Abierto	9			1		
Suma			48	1	0	1	0	0

Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	D5	1 min	9		1			
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	9		1			
Suma			48	0	2	0	0	0
B	D5	1 min	9		1			
		5 min	10					
		20 min	9		1			
		1 hr	9		1			
		Abierto	9		1			
Suma			46	0	4	0	0	0
C	D5	1 min	9	1				
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	10					
Suma			49	1	0	0	0	0
D	D5	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	10					
Suma			50	0	0	0	0	0

Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	6	1 min	10					
		5 min	9	1				
		20 min	8	1			1	
		1 hr	7	1	1	1		
		Abierto	8	2				
Suma			42	5	1	1	1	0
B	6	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	9	1				
		Abierto	9	1				
Suma			48	2	0	0	0	0
C	5	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10	1				
		1 hr	10					
		Abierto	9	1				
Suma			49	2	0	0	0	0
D	5	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	10					
Suma			50	0	0	0	0	0

Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	2	1 min	10					
		5 min	9	1				
		20 min	8	1			1	
		1 hr	6	2		1	1	
		Abierto	8	2				
Suma			41	6	0	1	2	0
B	2	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	9	1				
		Abierto	9	1				
Suma			48	2	0	0	0	0
C	2	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	9	1				
		Abierto	9	1				
Suma			48	2	0	0	0	0
D	2	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	9	1				
		Abierto	10					
Suma			49	1	0	0	0	0

Anexo 7: Ponderación de los resultados obtenidos en las pruebas organolépticas de las soluciones neutralizadoras con NPs que fueron seleccionadas para pruebas con panel de evaluadores

Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	N2-1	1 min	5	3	2			
		5 min	4	5	1			
		20 min	7	3				
		1 hr	7	2	1			
		Abierto	9	1				
		Suma		32	14	4	0	0
B	N2-1	1 min	6	1	3			
		5 min	7	1	2			
		20 min	6	2	2			
		1 hr	4	5	1			
		Abierto	9	1				
		Suma		32	10	8	0	0
C	N2-1	1 min	6	2	2			
		5 min	7	2	1			
		20 min	6	4				
		1 hr	5	4	1			
		Abierto	7	3				
		Suma		31	15	4	0	0
D	N2-1	1 min	8	1	1			
		5 min	8	2				
		20 min	7	3				
		1 hr	8	2				
		Abierto	9	1				
		Suma		40	9	1	0	0
Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	N2-2	1 min	7	3				
		5 min	10					
		20 min	6	4				
		1 hr	5	5				
		Abierto	5	4	1			
		Suma		33	16	1	0	0
B	N2-2	1 min	7	1	1	1		
		5 min	7	2	1			
		20 min	7	3				
		1 hr	6	3			1	
		Abierto	9	1				
		Suma		36	10	2	1	1
C	N2-2	1 min	8	2				
		5 min	8	2				
		20 min	9	1				
		1 hr	8	2				
		Abierto	8	2				
		Suma		41	9	0	0	0
D	N2-2	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	10					
		Suma		50	0	0	0	0
Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	N2-3	1 min	7		3			
		5 min	8		2			
		20 min	6	4				
		1 hr	5	4	1			
		Abierto	6	3	1			
		Suma		32	11	7	0	0
B	N2-3	1 min	6	1	2			
		5 min	8	1	1			
		20 min	8	1	1			
		1 hr	7	2	1			
		Abierto	7	2	1			
		Suma		36	7	6	0	0
C	N2-3	1 min	6	3	1			
		5 min	6	3	1			
		20 min	7	3				
		1 hr	6	4				
		Abierto	9	1				
		Suma		34	14	2	0	0
D	N2-3	1 min	6	1	2			
		5 min	5	4				
		20 min	7	3				
		1 hr	7	1	2			
		Abierto	9	1				
		Suma		34	10	4	0	0
Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	N2-4	1 min	7	3				
		5 min	9	1				
		20 min	7	3				
		1 hr	4	4	2			
		Abierto	9		1			
		Suma		36	11	3	0	0
B	N2-4	1 min	6	2	2			
		5 min	8	2				
		20 min	7	2	1			
		1 hr	6	3		1		
		Abierto	7	2		1		
		Suma		34	11	3	2	0
C	N2-4	1 min	8	2				
		5 min	10					
		20 min	9	1				
		1 hr	9	1				
		Abierto	9	1				
		Suma		45	5	0	0	0
D	N2-4	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	9	1				
		1 hr	9	1				
		Abierto	9	1				
		Suma		47	3	0	0	0

Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	N2-5	1 min	9	1				
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	8	2				
		Abierto	7	3				
Suma			44	6	0	0	0	0
B	N2-5	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	7	3				
		Abierto	10					
Suma			47	3	0	0	0	0
C	N2-5	1 min	8	2				
		5 min	9	1				
		20 min	9	1				
		1 hr	9	1				
		Abierto	8	2				
Suma			43	7	0	0	0	0
D	N2-5	1 min	9	1				
		5 min	9	1				
		20 min	9	1				
		1 hr	10					
		Abierto	10					
Suma			47	3	0	0	0	0
Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	N3-2	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	9	1				
		1 hr	7	1	2			
		Abierto	10					
Suma			46	2	2	0	0	0
B	N3-2	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	9	1				
		1 hr	9	1				
		Abierto	8	2				
Suma			46	4	0	0	0	0
C	N3-2	1 min	8	2				
		5 min	8	2				
		20 min	8	2				
		1 hr	6	3	1			
		Abierto	7	2	1			
Suma			37	11	2	0	0	0
D	N3-2	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	10					
Suma			50	0	0	0	0	0

Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	N3-1	1 min	9	1				
		5 min	10					
		20 min	9	1				
		1 hr	9	1				
		Abierto	9	1				
Suma			46	4	0	0	0	0
B	N3-1	1 min	10					
		5 min	9	1				
		20 min	9	1				
		1 hr	8	2				
		Abierto	8	2				
Suma			44	6	0	0	0	0
C	N3-1	1 min	8	2				
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	7	3				
		Abierto	8	2				
Suma			43	7	0	0	0	0
D	N3-1	1 min	10					
		5 min	9	1				
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	10					
Suma			49	1	0	0	0	0
Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	N3-3	1 min	9		1			
		5 min	7	2	1			
		20 min	8	2				
		1 hr	8	2				
		Abierto	9	1				
Suma			41	7	2	0	0	0
B	N3-3	1 min	9	1				
		5 min	9		1			
		20 min	9	1				
		1 hr	8	2				
		Abierto	8	2				
Suma			43	6	1	0	0	0
C	N3-3	1 min	8	2				
		5 min	8	2				
		20 min	9	1				
		1 hr	8	2				
		Abierto	7	3				
Suma			40	10	0	0	0	0
D	N3-3	1 min	9	1				
		5 min	8	2				
		20 min	9		1			
		1 hr	9	1				
		Abierto	9	1				
Suma			44	5	1	0	0	0

Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	N3-4	1 min	9	1				
		5 min	9	1				
		20 min	9	1				
		1 hr	9	1				
		Abierto	10					
Suma			46	4	0	0	0	0
B	N3-4	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	8	2				
		Abierto	10					
Suma			48	2	0	0	0	0
C	N3-4	1 min	9	1	1			
		5 min	8	2				
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	9	1				
Suma			46	4	1	0	0	0
D	N3-4	1 min	9	1				
		5 min	9	1				
		20 min	9	1				
		1 hr	9	1				
		Abierto	10					
Suma			46	4	0	0	0	0

Mal olor	Muestra	Tiempo	Escala de intensidad					
			0	1	2	3	4	5
A	N3-5	1 min	9	1				
		5 min	10					
		20 min	9	1				
		1 hr	9	1				
		Abierto	9	1				
Suma			46	4	0	0	0	0
B	N3-5	1 min	10					
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	9	1				
		Abierto	10					
Suma			49	1	0	0	0	0
C	N3-5	1 min	8	2				
		5 min	7	3				
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	9	1				
Suma			44	6	0	0	0	0
D	N3-5	1 min	9	1				
		5 min	10					
		20 min	10					
		1 hr	10					
		Abierto	10					
Suma			49	1	0	0	0	0

Anexo 8: Halos de inhibición obtenidos en las soluciones modificadas utilizando AgNPs y ZnONPs nuevas contra *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* y *Pseudomonas aeruginosa*. SV (Sin valor) y SD (Sin datos).

Muestra	Halo de inhibición (mm)					
	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
	24 h	48 h	24 h	48 h	24 h	48 h
SM1 100%	17	16	16.5	16.5	12.5	12
SM1 50%	15.5	15.5	15	15.5	10	11.5
SM1 25%	12.5	12.5	12.5	13	8.5	9
SM1 12.5%	13	13	12	12.5	7	7
SM1 6%	11.5	11.5	12	12	SV	SV
SM2 100%	15	14.5	14.5	15	10.5	10.5
SM2 50%	14	14	14	14.5	9	9.5
SM2 25%	12.5	12.5	13	13	8	8
SM2 12.5%	11.5	12	11.5	11.5	6.5	6.5
SM2 6%	10	10.5	10.5	10.5	SV	SV
SM5 100%	16	16.5	16	16	11.5	11.5
SM5 50%	15.5	15	14	14.5	10	10
SM5 25%	14	14	14	14	7.5	7.5
SM5 12.5%	13	13	13	13	6.5	6.5
SM5 6%	11.5	11	11	10	SV	SV
SM6 100%	15.5	16	15	16	11	11
SM6 50%	15	15.5	14.5	15	9	8.5
SM6 25%	14	14	13	13	8.5	8.5
SM6 12.5%	12	12.5	12	12	7	7
SM6 6%	11	11.5	10.5	10.5	SV	SV
AgNPs AE	10	10	9	9	SV	SV

Anexo 9: Carta oficio de aceptación de formulaciones para su posible comercialización.




17 de marzo de 2021, Mexicali, Baja California
Asunto: Carta oficio

A QUIEN CORRESPONDA

Por medio de la presente se hace constar que se hizo entrega de un Informe técnico sobre las formulaciones desarrolladas en el trabajo de tesis de maestría titulado “ESPECIALIDADES QUÍMICAS FUNCIONALIZADAS CON NANOPARTÍCULAS PARA DESINFECCIÓN DE SUPERFICIES Y ELIMINACIÓN DE OLORES” de la autoría de la C. Karen Michelle Guillén Carvajal, donde se reconoce la innovación y oportunidad de negocio de las soluciones desinfectantes/elimina olores.

Sin más por el momento, reciba un cordial saludo de nuestra parte.

Atentamente



José Ángel Zaizar Prado
Director General de Industrias Bioquim

Anexo 10: Portada del Informe técnico entregado a Industrias Bioquim sobre las formulaciones desarrolladas.



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA

Instituto de Ingeniería

Maestría y Doctorado en Ciencias e Ingeniería

INFORME TÉCNICO

A : Lic. José Angel Zaizar Prado
Director General de Industrias Bioquim
Dra. Nallely Erandi Rivera
Gerente de Industrias Bioquim

De: : Ing. Karen Michelle Guillén Carvajal
Estudiante de la Maestría en Ingeniería

Asunto : DESARROLLO DE PRODUCTO NUEVO
DESINFECTANTE Y ELIMINA OLORES

Fecha : Mexicali, Baja California, 11 de marzo de 2021