



SEP

SES

TecNM

INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TOLUCA

**“FITOSÍNTESIS DE NANOPARTÍCULAS MONOMETÁLICAS DE
Ag, Cu, Zn, Fe Y Ti CON APLICACIONES EN MICROBIOLOGÍA
Y FOTOCATÁLISIS”**

**QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
DOCTORA EN CIENCIAS AMBIENTALES**

**PRESENTA:
ANGÉLICA MONSERRAT VELÁZQUEZ HERNÁNDEZ
No. CONTROL: 0828D1047**

**DIRECTOR DE TESIS:
DRA. MARIA SONIA MIREYA MARTÍNEZ GALLEGOS**

**CODIRECTOR DE TESIS:
DR. PABLO SAMUEL SCHABES RETCHKIMAN**

METEPEC, ESTADO DE MÉXICO, AGOSTO DE 2022



EDUCACIÓN
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

Instituto Tecnológico de Toluca
División de Estudios de Posgrado e Investigación

Metepec, Edo. de México., 10/agosto/2022
DEPI-3200-DCAM-064/2022

C. Angélica Monserrat Velázquez Hernández
CANDIDATA AL GRADO DE DOCTOR
EN CIENCIAS AMBIENTALES
PRESENTE

De acuerdo con los Lineamientos para la Operación de los Estudios de Posgrado en el Tecnológico Nacional de México y las disposiciones en este Instituto, habiendo cumplido con todas las indicaciones que la Comisión Revisora realizó con respecto a su Trabajo de Tesis titulado "**Fitosíntesis de nanopartículas monometálicas de Ag, Cu, Zn, Fe y Ti con aplicaciones en microbiología y fotocatalisis**", la División de Estudios de Posgrado e Investigación de este Instituto, concede la Autorización para que proceda a la impresión del mismo.

Sin más por el momento, quedo de usted.

ATENTAMENTE

"Excelencia en educación tecnológica"

"Educación, integridad y ciencia"

JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN



ccp. Archivo
JLGR/IMAB



Av. Tecnológico S/N, Col. Agrícola Bellavista, C.P.52149, Metepec, Edo. de México. Tels. Dirección 722 208 72 05, Subd. Académica 722 208 7207, Subd. de Planeación 208 7206, Subd. Administrativa 722 208 7208, Conmut. 722 208 72 00, e-mail: info@toluca.tecnm.mx, tecnm.mx | toluca.tecnm.mx



2022 Flores
Año de Magón
PRESENCIA DE LA REVOLUCIÓN MEXICANA



Metepec, Edo. de México, 8/agosto/2022

DR. JOSÉ LUIS GARCÍA RIVAS
JEFE DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE
POSGRADO E INVESTIGACIÓN
PRESENTE

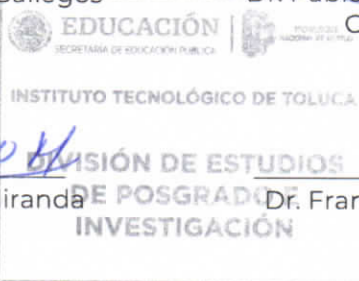
Por este medio comunicamos a usted que la comisión Revisora designada para analizar la tesis denominada **"Fitosíntesis de nanopartículas monometálicas de Ag, Cu, Zn, Fe y Ti con aplicaciones en microbiología y fotocatalisis"**, que como parte de los requisitos para obtener el grado académico de Doctor en Ciencias Ambientales presenta la **C. Angélica Monserrat Velázquez Hernández** con número de control **0828D1047** para sustentar el acto de Recepción Profesional, ha dictaminado que dicho trabajo reúne las características de contenido y calidad para proceder a la impresión del mismo.

ATENTAMENTE

Dra. María Sonia Mireya Martínez Gallegos
DIRECTORA DE TESIS

Dr. Pablo Samuel Schabes Retchkiman
CODIRECTOR DE TESIS

Dra. María Guadalupe Macedo Miranda
REVISORA DE TESIS



Dr. Francisco Javier Illescas Martínez
REVISOR DE TESIS

Dr. Jesús Ángel Arenas Alatorre
REVISOR DE TESIS

Dr. Alfredo García Mendieta
REVISOR DE TESIS

ccp. Archivo
JLGR/IMAB



DEDICATORIA

Mi nombre es Sherlock Holmes y mi trabajo es saber lo que otras personas no saben

Sir Arthur Conan Doyle

Agradezco a mi increíble comité tutorial por sus consejos, correcciones y paciencia, por el tiempo y esfuerzo que han dedicado para la elaboración de este trabajo de investigación.

Agradezco a CONACYT por la beca escolar que me otorgó, para la realización de mis estudios de posgrado.

Querido Dios, se mi guía, mi luz, mi verdad y mi camino.

Si quieres encontrar los secretos del Universo piensa en términos de energía, frecuencia y vibración.

Nikola Tesla

RESUMEN

El agua es el fundamento de la vida: un recurso crucial para la humanidad y para el resto de los seres vivos.

Los recursos hídricos están amenazados por diversos contaminantes; por un lado, están las sustancias químicas como por ejemplo los compuestos fenólicos y por el otro, microorganismos bacterianos Gram negativos (*Escherichia coli*) y Gram positivos (*Staphylococcus aureus*). Todos estos contaminantes desencadenan problemas de salud pública y, al mismo tiempo que dañan el medio ambiente en general.

Entre las propuestas que buscan mitigar la contaminación ambiental está la nanotecnología, que apunta a soluciones vanguardistas para los problemas ambientales que enfrenta la humanidad, por su campo de acción como agentes fotocatalizadores y microbicidas, debido a sus características físicas y químicas, las cuales incluyen una alta proporción de superficie a volumen, estructura, composición química y tamaño nanométrico.

En el presente trabajo de investigación, se propone la síntesis de nanopartículas (NPs) monometálicas de Plata (AgNPs), Cobre (CuNPs), Zinc (ZnNPs), Hierro (FeNPs) y Titanio (TiNPs) empleando un método simple y amigable con el medio ambiente, el proceso de fitosíntesis emplea extracto de hoja de *Eichhornia crassipes* como agente reductor y estabilizador. Estas nanopartículas serán evaluadas, por un lado, como agentes fotocatalíticos frente a soluciones fenólicas [10 mg/l] y por otro, como agentes microbicidas midiendo su efectividad contra las bacterias *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* como microorganismos modelo.

Para valorar la formación de NPs monometálicas de Ag, Cu, Zn, Fe y Ti, se emplearon técnicas de espectroscopía Ultravioleta visible (UV-Vis), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR), microscopía electrónica de barrido (SEM), espectroscopía de rayos X por energía dispersiva (EDS) y microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM), revelando así la naturaleza cristalina y morfológica de las NPs sintetizadas. Para probar que la influencia de los fitoquímicos presentes en la planta de *E. crassipes* es eficiente en la síntesis, sin que afecte el lugar

de origen de la planta se tomaron muestras de *E. crassipes* provenientes del Estado de México y después de la síntesis de NPs, se repitió el proceso de fitosíntesis con *E. crassipes* de Puebla aquellas NPs (NPs EMex), de acuerdo a aquellas que hayan obtenido los mejores resultados en sus evaluación fotocatalítica y microbiciada teniendo en consideración a estudios anteriores (con NPs EMex) quienes sugieren que las AgNPs obtenidas por fitosíntesis resultan más eficientes como agentes microbicidas y/o fotocatalizadores que las nanopartículas de Cu, Zn, Fe y Ti obtenidas por el mismo método.

El análisis por UV-Vis para las nanopartículas fitosintetizadas con extracto de *E. crassipes* del Estado de México, indica valores de longitud de onda y banda prohibida de 470 nm y 3.65 eV (AgNPs), 800 nm y 4.86 eV (CuNPs), 300nm y 3.72eV (ZnNPs), 300 nm y 4.93 eV (FeNPs), 224 nm y 4.3 eV (TiNPs), mientras que para las nanopartículas fitosintetizadas con extracto de *E. crassipes* del Estado de Puebla indica valores de longitud de onda y banda prohibida de 420 nm y 4.93 eV (AgNPs Puebla), 300 nm y 4.93 eV (CuNPs Puebla), 327 nm y 3.2 eV (TiNPs Puebla), respectivamente.

Los análisis en TEM sugieren que a pH ácidos (pH 4) se obtienen nanopartículas más pequeñas, no aglomeradas y de formas y bordes bien definidos, en comparación con las nanopartículas sintetizadas a pH neutro (pH 7) y alcalinos (pH 12). En general, la mayor parte de las nanopartículas preparadas en este trabajo se obtuvieron con estructura cúbica, con tamaños diversos y de composición variable.

En condiciones experimentales óptimas para evaluar la eficiencia fotocatalítica de las NPs, revelaron que las ZnNPs demuestran tener una excelente actividad fotocatalítica hacia la fotodegradación de fenol como contaminante modelo y peligroso, seguidas por las FeNPs, TiNPs, CuNPs y AgNPs.

La actividad antibacteriana mostró que las nanopartículas fitosintetizadas mostraron una alta efectividad hacia dos cepas patogénicas probadas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, por el grado de efectividad se ordenan TiNPs > CuNPs > AgNPs > ZnNPs > FeNPs, a concentraciones de 100 mg/L.

ABSTRACT

Water is the foundation of life: a crucial resource for humanity and all other living beings.

Water resources are threatened by various pollutants; On the one hand, we have chemical substances such as phenolic compounds, and on the other, Gram-negative (*Escherichia coli*) and Gram-positive (*Staphylococcus aureus*) bacterial microorganisms. All these pollutants trigger public health problems, while at the same time damaging the environment in general.

Among the proposals that seek to mitigate environmental pollution is nanotechnology, which points to cutting-edge solutions for the environmental problems facing humanity, due to its field of action as photocatalyst agents and microbicides, due to its physical and chemical characteristics, which include a high surface area to volume ratio, structure, chemical composition and nanometer size.

In this research work, the synthesis of monometallic nanoparticles (NPs) of Silver (AgNPs), Copper (CuNPs), Zinc (ZnNPs), Iron (FeNPs) and Titanium (TiNPs) was proposed using a simple and user-friendly environmental method. The phytosynthesis process uses *Eichhornia crassipes* leaf extract to reduce and stabilise agents. These nanoparticles were evaluated, on the one hand, as photocatalytic agents against phenolic solutions [10 mg/] and, on the other, as microbicide agents, measuring their effectiveness against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria as model microorganisms.

To assess the formation of monometallic NPs of Ag, Cu, Zn, Fe and Ti, Ultraviolet-Visible Spectroscopy (UV-Vis), Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR), Scanning Electron Microscopy (SEM) techniques were used, Energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS) and High-Resolution Transmission Electron Microscopy (HR-TEM), thus revealing the crystalline and morphological nature of the synthesized NPs. And to prove that the influence of the phytochemicals present in the *E. crassipes* plant were efficient in the synthesis, without affecting the place of origin of the plant. Samples of *E. crassipes* from the State of Mexico were taken and after the synthesis of NPs, the phytosynthesis process was repeated with *E. crassipes* from Puebla for those NPs

(NPs EMex) that have obtained the best results in their photocatalytic and microbicidal evaluation, taking into account previous studies that suggest that AgNPs obtained by phytosynthesis are more efficient as microbicidal agents and/or photocatalysts than Cu, Zn, Fe and Ti nanoparticles obtained by the same method.

The UV-Vis analysis for the phytosynthesized nanoparticles with extract of *E. crassipes* from the State of Mexico, indicates values of wavelength and a forbidden band of 470 nm and 3.65 eV (AgNPs), 800 nm and 4.86 eV (CuNPs), 300nm and 3.72eV (ZnNPs), 300 nm and 4.93 eV (FeNPs), 224 nm and 4.3 eV (TiNPs), while for nanoparticles phytosynthesized with extract of *E. crassipes* from the State of Puebla, it indicates values of wavelength and forbidden band around 420 nm and 4.93 eV (AgNPs Puebla), 300 nm and 4.93 eV (CuNPs Puebla), 327 nm and 3.2 eV (TiNPs Puebla), respectively.

TEM analyses suggested that smaller, non-agglomerated nanoparticles with well-defined shapes and edges were obtained at acid pH (pH 4), compared to nanoparticles synthesized at neutral pH (pH 7) and alkaline pH (pH 12). In general, most of the nanoparticles prepared in this work were obtained with a cubic structure, with different sizes and variable compositions.

Under optimal experimental conditions to evaluate the photocatalytic efficiency of NPs, they revealed that ZnNPs demonstrate excellent photocatalytic activity towards the photodegradation of phenol as a model and hazardous pollutant, followed by FeNPs, TiNPs, CuNPs, and AgNPs.

The antibacterial activity demonstrated that the phytosynthesized nanoparticles showed high effectiveness against two tested pathogenic strains of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, according to the obtained results and was reported as follows TiNPs > CuNPs > AgNPs > ZnNPs > FeNPs, at concentrations of 100 mg/L. Finally, the difference in antibacterial effect between Gram-positive and Gram-negative bacteria could be related to the composition of their cell wall.

CONTENIDO

1	FUNDAMENTOS	1
1.1	Contaminantes del agua	1
1.2	Factores químicos	1
1.3	Factores microbiológicos.....	2
1.4	Nanotecnología	2
1.5	Nanomateriales	3
1.6	Método de síntesis de nanopartículas.....	3
1.7	<i>Eichhornia crassipes</i>	5
1.8	Nanopartículas de plata (AgNPs).....	7
1.9	Nanopartículas de cobre (CuNPs).....	8
1.10	Nanopartículas de zinc (ZnNPs)	9
1.11	Nanopartículas de hierro (FeNPs)	10
1.12	Nanopartículas de titanio (TiNPs)	11
1.13	Espectroscopía UV-visible	12
1.14	Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)	12
1.15	Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y EDS	13
1.16	Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM).....	13
1.17	Actividad fotocatalítica de las NPs	14
1.18	Actividad microbicida de las NPs	15
2	MÉTODO	17
2.1	Muestreo	18
2.1.1	Acondicionamiento de <i>Eichhornia crassipes</i>	18
2.1.2	Fitosíntesis de NPs.....	18
2.1.3	Espectroscopía UV-visible.....	19
2.1.4	Espectroscopía FT – IR.....	19

2.1.5	Microscopía electrónica de barrido SEM y EDS	20
2.1.6	Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM)...	20
2.1.7	Pruebas de actividad fotocatalítica	21
2.1.8	Pruebas de actividad microbici da	22
3	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	24
3.1	Caracterización de nanopartículas	24
3.1.1	Espectroscopía UV-visible	24
3.1.2	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)	30
3.1.3	Microscopía electrónica de barrido SEM y EDS	36
3.1.4	Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM)...	38
3.2	Pruebas de actividad microbici da.....	52
3.2.1	AgNPs	52
3.2.2	AgNPs Puebla	56
3.2.3	CuNPs EMex	59
3.2.4	CuNPs Puebla	63
3.2.5	ZnNPs EMex.....	67
3.2.6	FeNPs EMex.....	70
3.2.7	TiNPs EMex.....	74
3.2.8	TiNPs Puebla.....	77
3.3	Pruebas de actividad fotocatalítica.....	80
3.3.1	AgNPs	80
3.3.2	CuNPs	84
3.3.3	ZnNPs.....	87
3.3.4	FeNPs.....	89
3.3.5	TiNPs.....	90

RELACIÓN DE FIGURAS

Figura 3.1 Micrografía SEM de la muestra AgNPs EMex pH 12 con amplificación de 5000X y análisis EDS.	36
Figura 3.2 Micrografía en SEM de la muestra CuNPs EMex pH 12 con amplificación de 50,000X y análisis EDS.	37
Figura 3.3 Micrografía SEM de la muestra de ZnNPs EMex pH 12 con amplificación de 80,000X y análisis EDS.	38
Figura 3.4 Micrografías en TEM de AgNPs EMex pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).	39
Figura 3.5 Micrografías en TEM de AgNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).	39
Figura 3.6 Micrografías en TEM de AgNPs EMex pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).	40
Figura 3.7 Micrografías en TEM de AgNPs Puebla pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).	40
Figura 3.8 Micrografías en TEM de AgNPs Puebla pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).	41
Figura 3.9 Micrografías en TEM de AgNPs Puebla pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).	41
Figura 3.10 Micrografías en TEM de CuNPs EMex pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).	42
Figura 3.11 Micrografías en TEM de CuNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).	42
Figura 3.12 Micrografías en TEM de CuNPs EMex pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).	43
Figura 3.13 Micrografías en TEM de CuNPs Puebla pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).	43
Figura 3.14 Micrografías en TEM de CuNPs Puebla pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).	44
Figura 3.15 Micrografías en TEM de CuNPs Puebla pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).	45
Figura 3.16 Micrografías en TEM de ZnNPs EMex pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).	45

Figura 3.17 Micrografías en TEM de ZnNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).	46
Figura 3.18 Micrografía en TEM para ZnNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).	46
Figura 3.19 Micrografías en TEM de FeNPs EMex pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).	47
Figura 3.20 Micrografías en TEM de FeNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).	48
Figura 3.21 Micrografías en TEM de FeNPs EMex pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).	48
Figura 3.22 Micrografías en TEM de TiNPs EMex pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).	49
Figura 3.23 Micrografías en TEM de TiNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).	49
Figura 3.24 Micrografías en TEM de TiNPs EMex pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).	50
Figura 3.25 Micrografías en TEM de TiNPs Puebla pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).	50
Figura 3.26 Micrografías en TEM de TiNPs Puebla pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).	51
Figura 3.27 Micrografías en TEM de TiNPs Puebla pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).	51

RELACIÓN DE GRÁFICOS

Gráfico 1.1 Representación esquemática del posible mecanismo de fitosíntesis de NPs metálicas empleando una suspensión acuosa de <i>Eichhornia crassipes</i> (Elaboración propia).	4
Gráfico 1.2 Planta acuática <i>Eichhornia crassipes</i> .	5
Gráfico 1.3 Mecanismo fotocatalítico de NPs bajo la irradiación de luz UV, basada en la propuesta de Djokić et al., (2020).	14
Gráfico 1.4 Estructura de las Gram-positivas y Gram-negativas (Casca et al., 2010)	15
Gráfico 1.5 Esquema de interacción de NPs y una célula bacteriana, basada en la propuesta de Rodríguez Pava et al., (2017).	16
Gráfico 2.1 Diagrama del proceso experimental del proyecto.	17
Gráfico 3.1 Caracterización de AgNPs EMex, (a) Espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.	24
Gráfico 3.2 Caracterización de CuNPs EMex, (a) Espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.	25
Gráfico 3.3 Caracterización de ZnNPs EMex, (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.	26
Gráfico 3.4 Caracterización de FeNPs EMex (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.	27
Gráfico 3.5 Caracterización de TiNPs EMex, (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.	27
Gráfico 3.6 Caracterización de AgNPs Puebla, (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.	28
Gráfico 3.7 Caracterización de CuNPs Puebla (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.	29
Gráfico 3.8 Caracterización de TiNPs Puebla, (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.	30
Gráfico 3.9 Espectro FTIR de AgNPs EMex a pH 12, 7 y 4.	31
Gráfico 3.10 Espectro FTIR de AgNPs Puebla a pH 12, 7 y 4	31
Gráfico 3.11 Espectro FTIR de CuNPs EMex pH 12, 7 y 4.	32
Gráfico 3.12 Espectro FTIR de CuNPs Puebla pH 12, 7 y 4.	32

Gráfico 3.13 Espectro FTIR de ZnNPs EMex a pH 12, 7 y 4.....	33
Gráfico 3.14 Espectro FTIR de FeNPs EMex a pH 12, 7 y 4.....	34
Gráfico 3.15 Espectro FTIR de TiNPs EMex a pH 12, 7 y 4.....	35
Gráfico 3.16 Espectro FTIR de TiNPs Puebla a pH 12, 7 y 4.....	35
Gráfico 3.17 Eficiencia de AgNPs EMex en contacto con <i>Escherichia coli</i>	54
Gráfico 3.18 Eficiencia de AgNPs EMex en contacto con <i>Staphylococcus aureus</i> . ..	55
Gráfico 3.19 Eficiencia de AgNPs Puebla en contacto con <i>Escherichia coli</i>	58
Gráfico 3.20 Eficiencia de AgNPs Puebla en contacto con <i>Staphylococcus aureus</i> . 59	
Gráfico 3.21 Eficiencia de CuNPs EMex en contacto con <i>Escherichia coli</i>	61
Gráfico 3.22 Eficiencia de CuNPs EMex en contacto con <i>Staphylococcus aureus</i> . ..	62
Gráfico 3.23 Eficiencia de CuNPs Puebla en contacto con <i>Escherichia coli</i>	64
Gráfico 3.24 Eficiencia de CuNPs Puebla en contacto con <i>Staphylococcus aureus</i> . 66	
Gráfico 3.25 Eficiencia de ZnNPs EMex en contacto con <i>Escherichia coli</i>	68
Gráfico 3.26 Eficiencia de ZnNPs EMex en contacto con <i>Staphylococcus aureus</i> . ..	70
Gráfico 3.27 Eficiencia de FeNPs EMex en contacto con <i>Escherichia coli</i>	71
Gráfico 3.28 Eficiencia de FeNPs EMex en contacto con <i>Staphylococcus aureus</i> . ..	73
Gráfico 3.29 Eficiencia de TiNPs EMex en contacto con <i>Escherichia coli</i>	75
Gráfico 3.30 Eficiencia de TiNPs EMex en contacto con <i>Staphylococcus aureus</i>	76
Gráfico 3.31 Eficiencia de TiNPs Puebla en contacto con <i>Escherichia coli</i>	78
Gráfico 3.32 Eficiencia de TiNPs Puebla en contacto con <i>Staphylococcus aureus</i> ...	80
Gráfico 3.33 Pruebas fotocatalíticas de AgNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.	81
Gráfico 3.34 Pruebas fotocatalíticas de AgNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.	83
Gráfico 3.35 Pruebas fotocatalíticas de CuNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.	85
Gráfico 3.36 Pruebas fotocatalíticas de CuNPs Puebla (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.	86
Gráfico 3.37 Pruebas fotocatalíticas de ZnNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.	88

Gráfico 3.38 Pruebas fotocatalíticas de FeNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia	89
Gráfico 3.39 Pruebas fotocatalíticas de TiNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.	91
Gráfico 3.40 Pruebas fotocatalíticas de TiNPs Puebla (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.	92

RELACIÓN DE TABLAS

Tabla 1.1 Inconvenientes asociados con la síntesis química y física de nanopartículas (Ahmad et al., 2020).	4
Tabla 1.2 Análisis cuantitativo de los fitoquímicos de <i>Eichhornia crassipes</i> (Anusiya et al., 2020; Dubey & Lata, 2010; Rodríguez Pava et al., 2017)	6
Tabla 1.3 AgNPs obtenidas mediante fitosíntesis.	7
Tabla 1.4 CuNPs obtenidas mediante fitosíntesis.	8
Tabla 1.5 ZnNPs obtenidas con el método de fitosíntesis.	9
Tabla 1.6 FeNPs obtenidas mediante fitosíntesis.	10
Tabla 1.7 TiNPs obtenidas mediante fitosíntesis.	11
Tabla 3.1 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y AgNPs EMex.	53
Tabla 3.2 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y AgNPs EMex.	55
Tabla 3.3 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y AgNPs Puebla.	57
Tabla 3.4 Cuenta en placa del crecimiento <i>Staphylococcus aureus</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y AgNPs Puebla.	58
Tabla 3.5 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y CuNPs EMex.	60
Tabla 3.6 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y CuNPs EMex.	62
Tabla 3.7 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y CuNPs Puebla.	64
Tabla 3.8 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y CuNPs Puebla.	65
Tabla 3.9 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y ZnNPs EMex.	67
Tabla 3.10 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y ZnNPs EMex.	69

Tabla 3.11 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y FeNPs EMex.	71
Tabla 3.12 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y FeNPs EMex.	72
Tabla 3.13 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y TiNPs EMex.	74
Tabla 3.14 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> con diferentes concentraciones de inóculo y TiNPs EMex.	76
Tabla 3.15 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Escherichia coli</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y TiNPs Puebla.	77
Tabla 3.16 Cuenta en placa del crecimiento de <i>Staphylococcus aureus</i> , con diferentes concentraciones de inóculo y TiNPs Puebla.	79

INTRODUCCIÓN

1 FUNDAMENTOS

1.1 Contaminantes del agua

El agua es una de las fuentes de vida más importantes de nuestro planeta. No existe vida sin agua (Assaf et al., 2020). Los contaminantes de agua fresca incluyen, por un lado, microorganismos bacterianos y por el otro, sustancias químicas simples o complejas (Gómez-Duarte, 2018).

1.2 Factores químicos

Los recursos hídricos están amenazados por diversos contaminantes, por ejemplo, los compuestos fenólicos son uno de los contaminantes orgánicos comunes en las aguas residuales industriales (Zhang et al., 2020).

De acuerdo con la Agencia de Protección Ambiental de los Estados Unidos (U.S. Environmental Protection Agency, US EPA), desde 1979, estableció como contaminante prioritario al fenol, debido a su naturaleza tóxica y peligrosa. Además, el fenol puede derivar en la formación de otros compuestos sustituidos (clorados y nitrogenados) de mayor toxicidad y, de difícil degradación (Hamdaoui et al., 2018; Scott et al., 2019).

Por otra parte, el fenol tiene un efecto corrosivo sobre la piel humana, provoca enfermedades graves, como hepatitis, insuficiencia renal, daña el sistema nervioso central y tiene una alta probabilidad de desarrollar cáncer, todo esto debido a su alta toxicidad (Assaf et al., 2020; Zhang et al., 2020).

1.3 Factores microbiológicos

El alto grado de contaminación puede encontrarse en el agua potable se traduce en problemas de salud pública, que afectan no solo a las poblaciones humanas y animales, sino también el ambiente natural en general (Gómez-Duarte, 2018).

Los indicadores microbiológicos de calidad de agua son organismos que tienen un comportamiento similar a microorganismos patógenos. Su presencia está asociada a la existencia de patógenos y permite comparar sus reacciones cuando se someten a cambios de pH y temperatura o aplicación a medios físicos o químicos de desinfección, con la ventaja de ser cultivables o identificables con mayor facilidad y además económicamente factibles (Ríos-Tobón et al., 2017).

De acuerdo con la Norma Oficial Mexicana, NOM-210-SSA1-2014, (2016). “Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos, Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos”, considera a los géneros *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli* como agentes indicadores microbianos u patógenos en alimentos, bebidas y agua para uso y consumo humano. El empleo de estas cepas se justifica porque ambas tienen respuesta a los procedimientos de desinfección similar al de las cepas patógenas.

1.4 Nanotecnología

La nanotecnología permite que la síntesis de nanopartículas metálicas y no metálicas tengan un amplio campo de acción (Vasantharaj, Sathiyavimal, Senthilkumar, et al., 2019). Debido a la eficiencia de varios materiales en tamaño nanométrico, en la inhibición contra diversos microorganismos patógenos o como agentes fotocatalizadores (Ramanathan & Aqra, 2019).

El interés por la investigación en el área de la nanotecnología ha ido aumentando exponencialmente debido a sus características físicas y químicas distintivas, tales

como durabilidad, dureza, alta difusividad, conductividad eléctrica y resistividad, así como su diversa actividad química y biológica (Sharmila et al., 2018).

1.5 Nanomateriales

Las nanopartículas (NPs) han recibido un gran interés en las aplicaciones científicas modernas, debido a sus características únicas, que incluyen una mayor proporción de superficie a volumen, forma y dimensiones nanométricas (Ahmad et al., 2020).

De acuerdo con la Comisión Europea (European Commission, EC.) un “nanomaterial” es un material natural, incidental o manufacturado que contiene partículas, en un estado no unido o como un agregado o un aglomerado y en el que para, el 50% o más de las partículas en la distribución del tamaño del número, una o más dimensiones externas está en el rango de tamaño de 1 a 100 nm (Duffy et al., 2018). Por otra parte, y manteniendo el mismo enfoque, la Organización Internacional para la Estandarización (International Organization for Standardization, ISO), establece que un nanomaterial es un material con cualquier dimensión exterior entre 1 y 100 nm (Deshmukh et al., 2019). Entre los diversos materiales que pueden alcanzar tamaños nanométricos se encuentran metales inorgánicos como la Plata (Ag), Cobre (Cu), Zinc (Zn), Hierro (Fe) y Titanio (Ti).

1.6 Método de síntesis de nanopartículas

La nanotecnología se basa en la manipulación de un átomo o molécula individual, mediante dos enfoques diferentes: de “arriba hacia abajo (Top – down), método físico” y las de “abajo hacia arriba (Bottom – up), método químico” (Khajuria et al., 2019). Sin embargo, estos métodos de producción suelen requerir equipos caros y reactivos tóxicos peligrosos para el medio ambiente y los organismos vivos (Chien et al., 2021), como se resume en la Tabla 1.1.

Tabla 1.1 Inconvenientes asociados con la síntesis química y física de nanopartículas (Ahmad et al., 2020).

Métodos	Inconvenientes
Químico	Participación de compuestos químicos peligrosos como agentes reductores y estabilizantes. Productos químicos costosos que aumentan el costo de producción final y hacen que el enfoque de síntesis sea económicamente inviable. Alcance médico y comercial limitado debido a los efectos peligrosos y cancerígenos de los productos químicos.
Físico	La maquinaria costosa y multifacética ha provocado una escalada incontrolable en el costo del proceso de síntesis. Alcance comercial limitado debido al alto costo operativo. Preocupación medioambiental debido a la alta temperatura de procesamiento (25 a 1200°C).

La síntesis biológica es una alternativa ecológica que emplea rutas simplificadas, energéticamente eficientes y es respetuosa con el medio ambiente. El empleo de los fitoquímicos obtenidos de los extractos de hojas, frutos, cortezas y flores de plantas para la síntesis de nanopartículas metálicas, recibe el nombre de “fitosíntesis”. Este procedimiento de síntesis reduce o elimina el uso y/o la generación de sustancias tóxicas (Bonnia et al., 2018; Chien et al., 2021). El Gráfico 1.1 describe el posible mecanismo para la fitosíntesis de NPs.

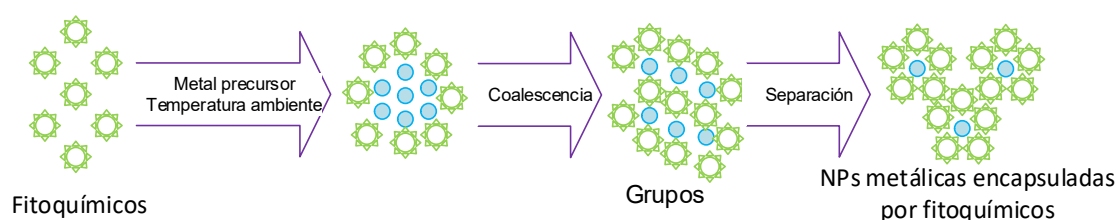


Gráfico 1.1 Representación esquemática del posible mecanismo de fitosíntesis de NPs metálicas empleando una suspensión acuosa de *Eichhornia crassipes* (Elaboración propia).

La fitosíntesis, refuerza la idea de que es posible optimizar las condiciones, como la concentración de los reactivos, el pH y la temperatura (Silva et al., 2019), el control del tamaño y la morfología de las nanopartículas metálicas debido a la presencia de una

innumerable cantidad de biomoléculas que puedan actuar como agentes reductores, de recubrimiento y estabilizadores (Sharma et al., 2019; Vélez et al., 2018), las cuales son responsables de la reacción entre los productos biológicamente activos aislados de las plantas con los óxidos metálicos en estado reducido.

Las ventajas que conllevan el empleo de la fitosíntesis como método para la síntesis de NPs, son que las nanopartículas producidas de esta manera son más estables y eficaces en comparación con las producidas por métodos físicos o químicos. Además, son ecológicas, sostenibles, económicas y libres de contaminantes, son eficientes desde el punto de vista energético y no necesitan altas presiones, temperaturas o productos químicos tóxicos. Como ventaja principal es que las NPs producidas por fitosíntesis muestran excelentes propiedades antifúngicas, antibacterianas y antiparasitarias; otras ventajas, son la facilidad de síntesis a gran escala y la eliminación de los residuos no tóxicos (Ramanathan & Aqra, 2019).

1.7 *Eichhornia crassipes*

Eichhornia crassipes (*E. crassipes*) es una planta hidrófita libre flotadora (Gráfico 1.2). Perteneciente al Reino: *Plantae*; División: *Magnoliophyta*; Clase: *Liliopsida*, Orden: *Commelinales*; Familia: *Pontederiaceae*; Género: *Eichhornia* y Especie: *E. crassipes*, (Dubey & Lata, 2010; Rodríguez Pava et al., 2017).



Gráfico 1.2 Planta acuática *Eichhornia crassipes*.

Su hábitat abarca desde zonas desérticas tropicales a subtropicales o templadas cálidas hasta zonas de selva tropical, tolera temperaturas anuales que van de 21 a 27 °C, su tolerancia al pH se estima entre 5.0 y 7.5. La planta es *eurihalina*, por lo que tolera el agua dulce y marina; siendo esta la razón de que su propagación no conozca fronteras (Dubey & Lata, 2010), provocando efectos negativos sobre el medio ambiente, la salud y desarrollo económico por la invasión que realiza en los cuerpos de agua. Por otra parte, la eficacia del extracto crudo de *Eichhornia crassipes* frente a bacterias Gram-negativas y Gram-positivas, presenta actividad antibacteriana (Rodríguez Pava et al., 2017). En la Tabla 1.2 se mencionan los fitoquímicos presentes en la planta de *Eichhornia crassipes*.

Tabla 1.2 Análisis cuantitativo de los fitoquímicos de *Eichhornia crassipes* (Anusiya et al., 2020; Dubey & Lata, 2010; Rodríguez Pava et al., 2017)

Fitoquímicos	Planta	Hojas	Tallos	Raíz
Taninos	+	+	+	+
Terpenoides	+	+	+	+
Alcaloides	+	-	-	+
Flavonoides	+	-	+	+
Contenido fenólico	+	+	+	+
Quinona	+	-	+	+
Saponinas	+	+	+	+

Clave: + muestra la presencia de fitoquímicos, - muestra abstinencia de fitoquímicos.

Compuestos como los polifenoles, alcaloides, terpenoides y saponinas son los principales precursores fitoquímicos en la síntesis de NPs, debido a su gran capacidad intrínseca de oxidación que reduce los iones metálicos. El principio químico reside en que los anillos aromáticos tienen un carácter nucleófilo y pueden quelar iones metálicos, haciendo que el ion metálico quede atrapado dentro del compuesto. Los alcaloides suelen caracterizarse por sus estructuras complejas y la presencia de nitrógeno, mostrando un carácter alcalino y fungiendo como estabilizadores en la superficie de las NPs. Los terpenoides son responsables de la reducción, mientras que las saponinas se encargan del recubrimiento. Sin embargo, cabe destacar que cada clase de compuesto puede tener mayor afinidad por alguna etapa del proceso, contribuyendo a la formación de NPs (Silva et al., 2019).

1.8 Nanopartículas de plata (AgNPs)

Las nanopartículas de plata (AgNPs) poseen aplicaciones en varias áreas como la medicina, biología, ciencia de los materiales, física y química, debido a sus únicas propiedades únicas que incluyen buena conductividad eléctrica, estabilidad química, actividad catalítica y antibacterial, por su pequeño tamaño y gran relación superficie/volumen además la plata posee riesgo mínimo de toxicidad en humanos haciéndolo una elección popular para ser incorporado en la industria de la salud, almacenamiento de alimentos, textiles, recubrimientos y diversas aplicaciones ambientales (Bonnia et al., 2018; Charindika & Annadurai, 2018). En la Tabla 1.3, se presenta un resumen de las AgNPs obtenidas mediante fitosíntesis.

Tabla 1.3 AgNPs obtenidas mediante fitosíntesis.

Planta utilizada	Precursor	Tamaño (nm)	Observación
<i>Imperata cylindrica</i>	AgNO ₃ 5mM	22 - 37	La capacidad reductora entre hojas frescas y secas indican que el empleo de la hoja fresca da como resultado un tamaño de NPs pequeño con menor aglomeración (Bonnia et al., 2018).
<i>Abutilon indicum</i>	AgNO ₃ 1mM	50 - 100	La obtención de un extracto de la planta por etanol aseguró que la reducción de los iones de Ag en AgNPs es observable en el cambio de color de amarillo a marrón (Charindika & Annadurai, 2018)
<i>Bacopa monnieri</i>	AgNO ₃ 1mM	25	La actividad antibacteriana de las AgNPs contra bacterias Gram-positivas y Gram-negativas es notable y el efecto citotóxico de las AgNPs sugiere su aplicación en el campo biomédico por su efecto anticancerígeno significativo contra células de adenocarcinoma del pulmón humano (Suganya et al., 2018)
<i>Aloe vera</i>	AgNO ₃ 1mM	Etanol 2 - 7 Acuoso 3 - 14	Se prefiere el extracto etanólico en la fitosíntesis de NPs, la eliminación efectiva del Hg (II) con una concentración del 20% v/v para ambos extractos el porcentaje de eliminación es del 95%. (Vélez et al., 2018).
<i>Cúrcuma longa</i>	AgNO ₃ 1mM 1M	1 - 36 3 - 59	Las AgNPs fitosintetizadas promueven a la actividad anticancerígena dirigida a reducir células de cáncer en mama (Sheikh et al., 2018).

Recientemente, basándose en el efecto antibacteriano de las AgNPs, se ha añadido al diseño de muchos productos para hacerlos autolimpiables y antibacterianos, considerando así un entorno seguro e higiénico (Chien et al., 2021).

1.9 Nanopartículas de cobre (CuNPs)

Las nanopartículas de cobre (CuNPs), poseen propiedades únicas como la alta conductividad térmica y eléctrica, durabilidad en altas temperaturas y resistencia mecánica, empleadas para fines eléctricos, catalíticos, ópticos. Asimismo, presentan un amplio espectro de actividad antimicrobiana contra diferentes especies de microorganismos (Rajesh et al., 2016; Sharmila et al., 2018). En la Tabla 1.4 se presenta un resumen de los reportes para CuNPs basados en la síntesis de NPs por el método de fotosíntesis.

Tabla 1.4 CuNPs obtenidas mediante fitosíntesis.

Planta	Metal	Tamaño NP (nm)	Aplicación
<i>Syzygium aromaticum</i>	(CH ₃ COO) ₂ Cu·H ₂ O 0.001 M	20	Las NPs poseen una morfología esférica y se encuentran monodispersas. Las propiedades microbidas de las CuNPs fueron estudiadas contra <i>Aspergillus niger</i> , <i>Aspergillus flavus</i> y <i>Penicillium spp.</i> Mostrando una excelente actividad microbida (Rajesh et al., 2018)
<i>Ruellia tuberosa</i>	CuSO ₄	83	Se obtuvieron nanovarillas de composición CuO, La actividad microbida mostró una mayor eficiencia sobre las bacterias Gram-positivas (<i>S. aureus</i>) que sobre las Gram-negativas (<i>E. coli</i>) (Vasantharaj et al., 2019).
<i>Tinospora cardifolia</i>	CuCl ₂ 0.25 mM	63 – 143	Las NPs poseen una actividad antimicrobiana que las hace útiles en el tratamiento de varias infecciones tópicas causadas por bacterias, suponiendo un empleo en la industria textil (Sharma et al., 2019).
<i>Cuscuta reflexa</i>	CuCl ₂ ·2H ₂ O 5 mM	75	Se utiliza extracto de la planta en base acuosa, para la elaboración primaria de CuNPs, las cuales se emplean para la elaboración de un nanocomposito de Cu/MnO ₂ , como agente reductor obtiene resultados favorables en la degradación de colorantes orgánicos (Naghdi et al., 2018).
<i>Acalypha indica</i>	CuCl ₂ ·2H ₂ O 8 mM 5 mM	5 - 30	El método de extracción de la planta asegura la estabilidad de las NPs elaboradas hasta por 20 días, sin variaciones significantes en estructura y morfología (Nasrollahzadeh et al., 2018)

La estrecha interacción entre las CuNPs con la membrana bacteriana permite la liberación de iones metálicos dentro de la célula (Jagathesan & Rajiv, 2018; Sharma et al., 2019; Vasantharaj et al., 2019).

1.10 Nanopartículas de zinc (ZnNPs)

Las nanopartículas de zinc (ZnNPs) son un material semiconductor, no tóxico, químicamente estable, biocompatible (oligoelemento esencial después del hierro con diversas funciones metabólicas en el cuerpo (Umar et al., 2019)), posee una amplia banda prohibida y alta movilidad de electrones, tiene propiedades anticorrosivas, antifúngicas, fotoquímicas, catalíticas eléctricas, antibacterianas, anticancerígenas y fotovoltaicas, se emplea en diversos sectores en la elaboración de medicamentos, celdas solares, agricultura, medicina, textiles, cosméticos y ambientales (Khalafi et al., 2019; Uekawa et al., 2001). En la Tabla 1.5 se enumeran algunos ejemplos de la literatura que emplean extractos de plantas para la fitosíntesis de ZnNPs.

Tabla 1.5 ZnNPs obtenidas con el método de fitosíntesis.

Planta	Precursor	Tamaño (nm)	Observación
<i>Albizia lebbbeck</i>	Zn (NO ₃) ₂ 0.1 M	66	Las ZnNPs mostraron una fuerte actividad microbicida contra <i>B. cereus</i> , <i>S. aureus</i> , <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> y <i>S. typhi</i> , además mostraron efectos citotóxicos significativos contra células cancerígenas de mama (Umar et al., 2019).
<i>Tabernaemontana divaricata</i>	Zn (NO ₃) ₂ 1M	20 - 50	Las ZnNPs muestran mayor actividad antibacteriana contra <i>S. aureus</i> y <i>E.coli</i> , así como una menor actividad contra <i>S. paratphi</i> en comparación con la formulación farmacéutica estándar (Raja et al., 2018)
<i>Achyranthes aspera</i> <i>Couroupita guianensis</i>	Zn (NO ₃) ₂ 0.1M	30 - 40	El estudio de la actividad fotocatalítica demuestra que las ZnNPs son eficientes en la degradación del colorante azul de metileno (Duraimurugan et al., 2019)
<i>Cordyceps militaris fungus</i>	Zn (NO ₃) ₂ 0.1M	10 - 20	ZnNPs tienen la capacidad de degradar el colorante azul de metileno en un 97% en presencia de radiación UV (Li et al., 2019).
<i>Pisona grandis R. Br</i>	Zn (NO ₃) ₂ 1M	70	ZnNPs exhibe una alta actividad antibacteriana contra <i>M. luteus</i> y especies bacterianas de <i>K. pneumonia</i> , los resultados sugieren que las cepas patógenas son susceptibles contra ZnNPs (Joghee et al., 2019)

Las ZnNPs han despertado el interés mundial por ser biocompatibles, biodegradables, ecológicas, no tóxicas y económicas. La FDA de EE. UU., las consideró y alistó como óxidos metálicos “generalmente reconocidos como seguros” (Khajuria et al., 2019; Zhu et al., 2019).

1.11 Nanopartículas de hierro (FeNPs)

Las nanopartículas de hierro (FeNPs), debido a su alta susceptibilidad magnética, alta actividad catalítica y reactividad intrínseca de sus sitios superficiales, son agentes prometedores para aplicaciones relacionadas con la degradación de contaminantes orgánicos ambientales, tratamiento de agua y estudios biomédicos (Devatha et al., 2018; Gabrielyan et al., 2020). En la Tabla 1.6 se presentan algunos trabajos de investigación donde sintetizan FeNPs mediante fitosíntesis y su aplicación en diversos campos.

Tabla 1.6 FeNPs obtenidas mediante fitosíntesis.

Planta	Precursor	Tamaño NP (nm)	Observación
<i>Eichhornia crassipes</i>	FeSO ₄ 100 mM	20 - 90	Mediante el extracto de la planta se asegura la formación de NPs de óxido de hierro; las cuales muestran claramente la actividad biocida a una concentración de 25µg/mL, el cual es mayor en <i>S. aureus</i> que en la bacteria <i>E. coli</i> (Wei et al., 2017)
<i>Myrtus communis</i>	FeCl ₃ 100 mM	40 - 60	Los extractos obtenidos de la planta son ricos en taninos y pueden prevenir la toxicidad de la reacción de Fenton, y también aseguran la disminución del estrés oxidativo de las NPs metálicas (Eslami et al., 2018).
<i>Azadirachta Indica</i>	FeSO ₄ 100 mM	96 - 110	El efecto de las FeNPs en diferentes proporciones para el tratamiento de un agua residual de origen petroquímico elimina el 77% de la DQO y en cuanto a la actividad antibacteriana se observó una mayor zona de inhibición en <i>S.aureus</i> que en la <i>E. coli</i> (Devatha et al., 2018).
<i>Daphne mezereum</i>	FeCl ₃ 100 mM	7 - 15	El extracto acuoso actúa como agente reductor y estabilizante, en pruebas para la eliminación de color, la reacción catalizada por FeNPs tiene una eficiencia del 81% en 6 h (Beheshtkhoo et al., 2018).
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	FeCl ₃ 10 mM	11	Se emplea un extracto de semilla en medio acuoso, en aplicaciones fotocatalíticas son muy efectivas para degradación de colorante naranja de metilo bajo la luz UV; en cuanto a su actividad antibacteriana fue más efectiva para la <i>E. coli</i> que para la <i>S. aureus</i> (Radini et al., 2018).

La estabilidad y el tamaño superficial de las FeNPs está influida por la fuente y tipo de extracto vegetal (Chen et al., 2019).

1.12 Nanopartículas de titanio (TiNPs)

Las nanopartículas de titanio (TiNPs) tienen diversas aplicaciones ambientales, como lo son la purificación del aire y agua, así como en el desarrollo de dispositivos ópticos, dieléctricos y antimicrobianos, fotocatalizadores y pigmentos, debido a sus altos índices de refracción y a sus propiedades eléctricas magnéticas y ópticas (Manikandan et al., 2018). En la Tabla 1.7 se presentan algunos ejemplos

Tabla 1.7 TiNPs obtenidas mediante fitosíntesis.

Planta	Precursor	Tamaño NP (nm)	Observación
<i>Jatropha curcas</i> L.	TiCl ₄ 500 mM	13	Las TiO ₂ NPs sintetizadas mostraron una eliminación del 82.26% DQO y de 76.48% de Cr ⁶⁺ , simultáneamente, después de su tratamiento fotocatalítico solar (Goutam et al., 2018)
<i>Moringa oleifera</i>	C ₁₂ H ₂₈ O ₄ Ti 100 mM	4 - 12	Alrededor del 96% de las moléculas de fosfato son degradadas por las nanopartículas de TiO ₂ al exponerse a la irradiación con LED rojo (Manikandan et al., 2018)
<i>Trigonella foenum-graecum</i>	TiOSO ₄ 500 mM	25 - 30	Las TiO ₂ NPs mostraron una actividad antimicrobiana significativa contra <i>S. aureus</i> y <i>E. coli</i> entre otras siendo más efectiva contra esta última en un 1.5% (Subhapiya & Gomathipriya, 2018).
<i>Vigna unguiculata</i>	TiO ₂ 100 mM	12	Las TiO ₂ NPs tienen forma ovalada y son efectivas contra la mayoría de patógenos clínicos, tienen características altamente antioxidantes y citotóxicas en líneas celulares de osteosarcoma (Chatterjee et al., 2017) .
<i>Moringa oleifera</i>	C ₁₂ H ₂₈ O ₄ Ti 500 mM	12	La síntesis de NPs a partir de un extracto de hojas tiene una estructura tetragonal, corroborando así que esta técnica de síntesis es rentable y amigable con el ambiente (Patidar & Jain, 2017).

El dióxido de titanio (TiO₂) se ha convertido en uno de los fotocatalizadores ambientales más populares y prometedores debido a su alta estabilidad química, bajo costo y ausencia de toxicidad ambiental (Subhapiya & Gomathipriya, 2018). La acción fotocatalítica del TiO₂ se emplea para matar patógenos presentes en el agua y puede considerarse un agente de esterilización eficaz en el tratamiento de aguas residuales industriales, debido a su alta área superficial y su pequeño tamaño (Im et al., 2020).

1.13 Espectroscopía UV-visible

La resonancia de plasmón superficial (Surface Plasmon's Resonance - SPR) se define como la excitación colectiva de iones cargados negativamente (electrones) en una banda de conducción alrededor de la superficie de las nanopartículas (Sharma et al., 2019).

La banda prohibida de las nanopartículas monometálicas es estudiada por espectroscopía UV-visible. La energía de la banda prohibida de un semiconductor describe la energía necesaria para excitar un electrón de valencia a la banda de conducción (Makula et al., 2018). La cual se puede determinar a partir de la ecuación de Tauc, el método se basa en la suposición de que el coeficiente de absorción del material α puede ser expresado por la ecuación 1.1:

$$(\alpha \cdot h\nu)^{1/\gamma} = \beta (h\nu - E_g) \quad \text{Ec. 1.1}$$

Donde h es la constante de Planck, ν es la frecuencia de la luz, γ denota la naturaleza de la transición del material ($\gamma = 1/2$ para transiciones directas permitidas, $\gamma = 3/2$ prohibidas directas, $\gamma = 2$ indirectas permitidas y $\gamma = 3$ prohibidas indirectas), β es una constante de proporcionalidad y E_g es la energía de banda prohibida (Goutam et al., 2018; Kamarulzaman et al., 2015; Makula et al., 2018).

1.14 Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR)

La espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FT-IR) es una técnica versátil, sensible, empleada para identificar la composición molecular y las características estructurales finas de los grupos funcionales en los materiales (Khan et al., 2018) (Kamnev et al., 2021). La espectroscopía infrarroja mide la absorción de la radiación IR realizada por cada enlace en la molécula y como resultado da un espectro que se designa comúnmente como porcentaje de transmitancia frente al número de onda (cm^{-1}) (Khan et al., 2018)

1.15 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM) y EDS

La microscopía electrónica de barrido (Scanning Electron Microscope – SEM) es una técnica que basa su funcionamiento en la generación de un haz de electrones incidentes sobre una muestra que es barrida por dichos electrones, esto permite la observación y caracterización superficial de los materiales. Con esta técnica se puede estudiar la morfología, realizar análisis elemental puntual de la composición química de los materiales, así como estimar el tamaño de grano promedio de las nanopartículas sintetizadas (Ivask et al., 2018).

La espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (Energy Dispersive X-ray Spectroscopy – EDS), es una técnica que permite identificar a los elementos y estados químicos presentes en la superficie de los materiales sólidos. Las aplicaciones más importantes de esta técnica se basan en el principio de la interacción de los electrones con la materia a energías características para cada elemento, los fotoelectrones son retenidos en el interior de la muestra debido a su baja energía, pero fuerte interacción con la materia, solo los electrones que son eyectados de la superficie son emitidos y detectados para ser analizados. Esta técnica se emplea para conocer la composición elemental de las NPs (Goutam et al., 2018; Rajesh et al., 2016; Santhoshkumar et al., 2017).

1.16 Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM)

La microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (High – Resolution Transmission Electronic Microscopy, HR – TEM), se emplea en la caracterización estructural de las micro y nanoestructuras de materiales sólidos. Permite determinar e identificar distribuciones de fases, estructura cristalográfica mediante difracción de electrones, medidas de tamaños, morfología y defectos cristalinos. Las imágenes obtenidas por TEM son el resultado de la captura de los electrones transmitidos, mientras que, en SEM, los electrones son reflejados por la muestra. Las dos técnicas permiten obtener información cualitativa y cuantitativa sobre las NPs como la

morfología y la distribución del diámetro respectivamente. La mayor desventaja es la necesidad de un alto vacío (Scott et al., 2019; Silva et al., 2019).

1.17 Actividad fotocatalítica de las NPs

Los procesos de oxidación avanzada (Advanced Oxidation Processes - AOP) son efectivos para degradar una amplia variedad de compuestos orgánicos a través de la reacción con varias especies reactivas de oxígeno. Como un tipo de AOP, la fotocatálisis heterogénea es un proceso ampliamente utilizado, en el que los radicales hidroxilos ($\cdot\text{OH}$) son generados por la interacción de los catalizadores semiconductores con irradiación de luz UV y son capaces de minimizar eficazmente compuestos persistentes como el fenol en CO_2 y H_2O (Gráfico 1.3) (Elemike et al., 2017; Kumar et al., 2020; Shahzeydi et al., 2019). El proceso ha ganado atención porque tiene una alta eficacia, es económico y evita la contaminación secundaria (Scott et al., 2019).

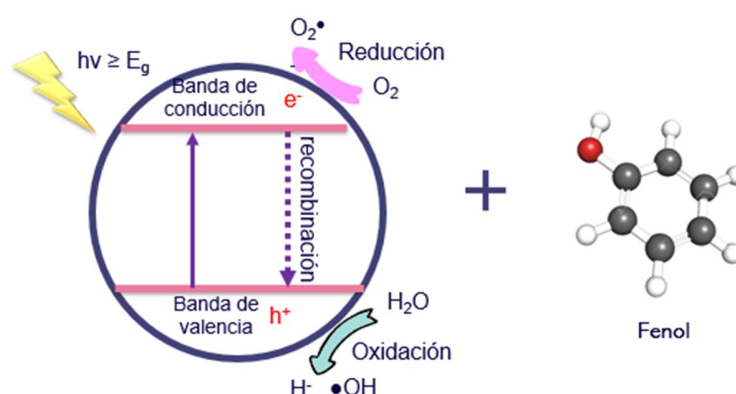


Gráfico 1.3 Mecanismo fotocatalítico de NPs bajo la irradiación de luz UV, basada en la propuesta de Djokić et al., (2020).

El proceso fotocatalítico heterogéneo está basado en la excitación de un sólido (fotocatalizador), normalmente un semiconductor de banda ancha, mediante la irradiación con luz de una energía igual o superior a su banda prohibida (band gap),

produciendo la transición de un electrón de la banda de valencia (BV) a la banda de conducción (BC) y formando pares electrón – hueco (e^-/h^+). Estos pares e^-/h^+ fotogenerados pueden migrar a la superficie del catalizador y reaccionar con especies adsorbidas o próximas a la superficie. También pueden sufrir procesos de recombinación que disminuyen la eficiencia de la reacción fotocatalítica. Los huecos (h^+) formados en la BV del semiconductor, pueden reaccionar con especies donadoras de electrones (e^-), como son las moléculas de agua adsorbidas, generando radicales hidroxilos ($\cdot OH$) muy reactivos, y capaces de degradar la materia orgánica. Mientras que los electrones pueden reaccionar con especies aceptoras de electrones como el O_2 , dando lugar a radicales superóxido O_2^- (Arasu et al., 2019).

1.18 Actividad microbicida de las NPs

La actividad microbicida de las NPs hacia los patógenos está vinculada por las diversas características morfológicas entre microorganismos Gram-negativos y Gram-positivos (Elemike et al., 2017). En la Gráfico 1.4 se muestra una representación gráfica de las bacterias Gram-negativas y Gram-positivas.

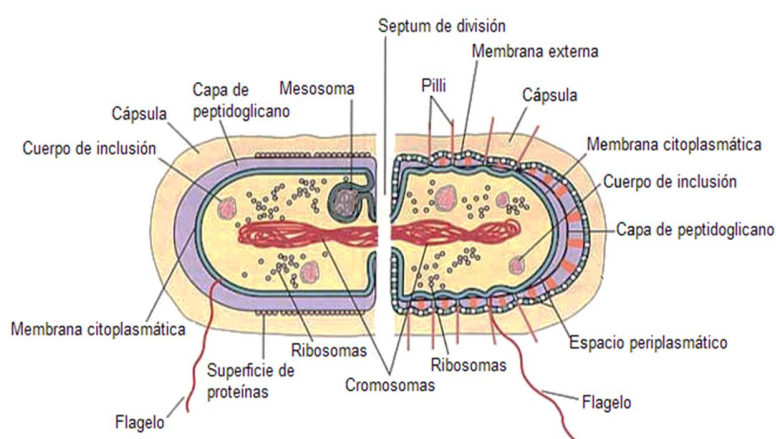


Gráfico 1.4 Estructura de las Gram-positivas y Gram-negativas (Casca et al., 2010)

Las bacterias Gram-negativas tienen una membrana de liposacáridos externos que hacen que la pared celular sea impermeable a los solutos lipofílicos, mientras que las bacterias Gram-positivas son más susceptibles ya que tienen una capa externa de peptidoglicano más permeable. (Devatha et al., 2018; Jagathesan & Rajiv, 2018; Sharmila et al., 2018).

El mecanismo de toxicidad de las NPs consiste en atacar a la pared celular bacteriana formando zonas corroídas que causan la permeabilidad, desacoplan la cadena de transporte eléctrico e inhiben la respiración celular, provocando la muerte (Sharmila et al., 2018). O bien las NPs se introducen en las estructuras intracelulares dañándolas e inducen a la liberación de especies reactivas de oxígeno (Reactive Oxygen Species - ROS), los cuales forman radicales libres, como consecuencia los ribosomas se desnaturalizan por la inhibición de la síntesis de proteínas, descomponiendo la membrana externa (Eslami et al., 2018; Goutam et al., 2018; Jagathesan & Rajiv, 2018). El proceso se describe en el Gráfico 1.5.

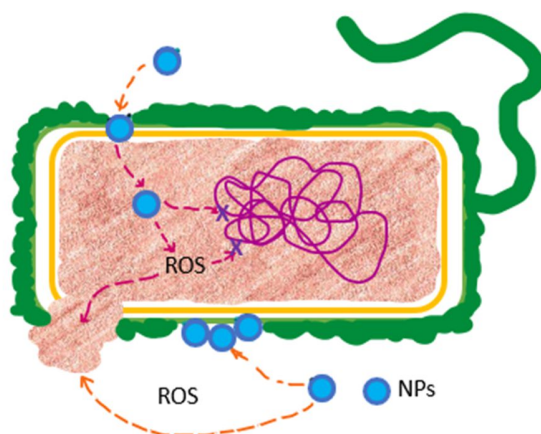


Gráfico 1.5 Esquema de interacción de NPs y una célula bacteriana, basada en la propuesta de Rodríguez Pava et al., (2017).

Las NPs presentan una alta capacidad microbicida, con potenciales aplicaciones biomédicas relacionadas con la ingeniería de biomateriales.

2 MÉTODO

El procedimiento y las actividades para la fitosíntesis de nanopartículas monometálicas con aplicaciones en microbiología y fotocatalisis, se presentan el diagrama de la Figura 2.1, y posteriormente son descritas cada una de las etapas.

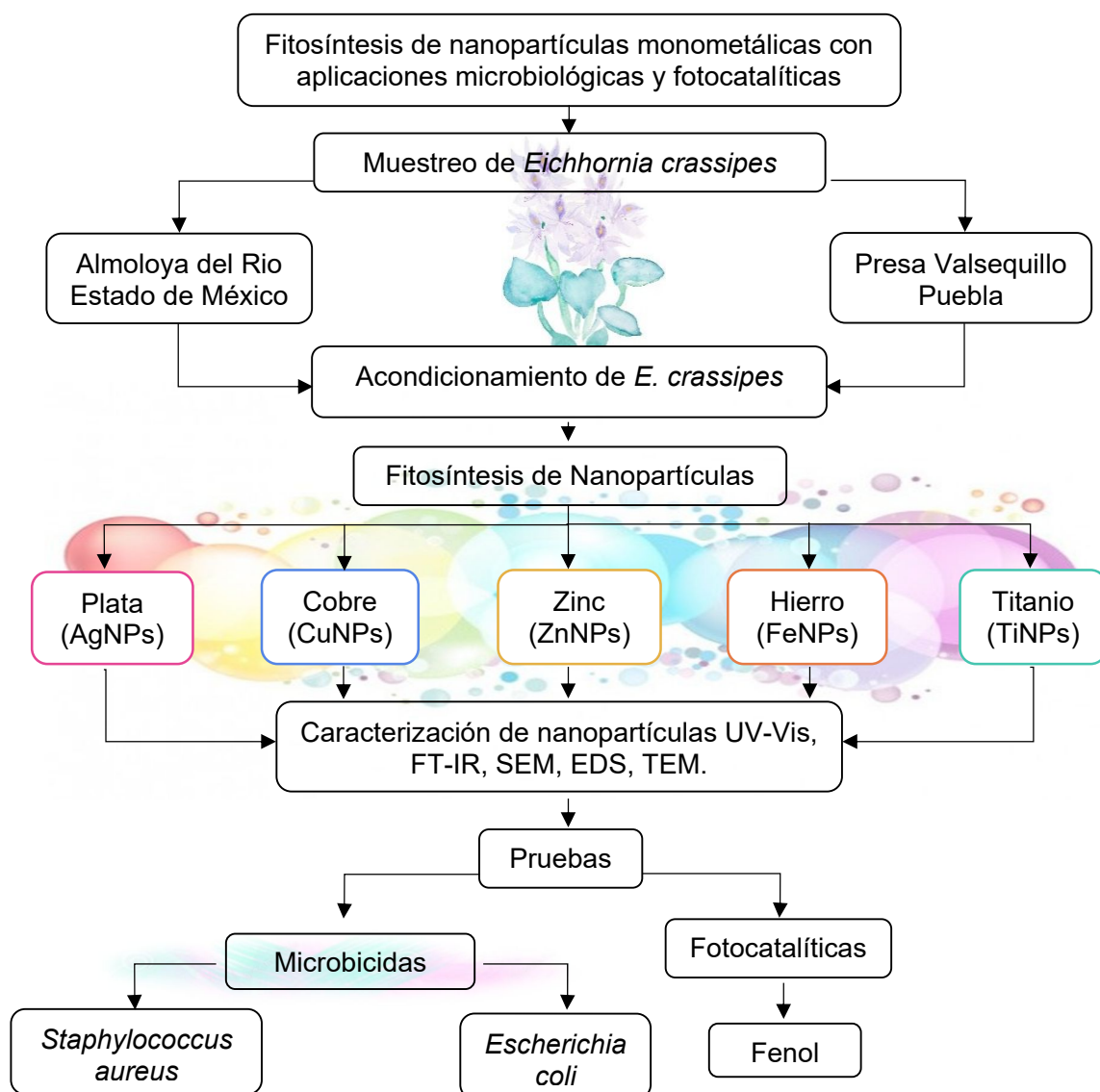


Gráfico 2.1 Diagrama del proceso experimental del proyecto.

2.1 Muestreo

Se realizó el muestreo de *Eichhornia crassipes*, para el cual se seleccionó y recolectó 1 m² de individuos, de la laguna de Chignahuapan, ubicada en el municipio de Almoloya del Río en el Estado de México (EMex), y la presa Valsequillo en el Estado de Puebla (Puebla).

2.1.1 Acondicionamiento de *Eichhornia crassipes*

La *E. crassipes* colectada, se lavó con agua corriente, se seleccionaron únicamente las hojas y durante 30 días a temperatura ambiente se dejaron secar.

Las hojas secas fueron seleccionadas en trozos y deshidratadas en un horno de secado Riossa H-33 previamente calentado a 50 ± 5 °C durante 36 horas, posteriormente se trituraron en un mortero de ágata hasta obtener un polvo fino que fue tamizado a 100 mesh, el polvo obtenido de las hojas deshidratadas se almacenó en frascos de vidrio en obscuridad a temperatura ambiente.

2.1.2 Fitosíntesis de NPs

Todos los reactivos empleados para la fitosíntesis de las nanopartículas monometálicas son de grado analítico, para el proceso, se prepararon soluciones individuales de concentración 0.1 M de AgNO₃, (CuNO₃)₂ (J.T. Baker), ZnN₂O₆, Fe (NO₃)₂ y TiO₂ (Sigma – Aldrich), a cada una de las cuales, se les modificó el pH =12, 7 y 4, empleando soluciones de NaOH (0.1 M, J.T. Baker) y HNO₃ (0.1 M, J.T. Baker), respectivamente.

En 25 mL de una solución etanol – agua a 80% (v/v) se añadieron 125 mg de polvo de hoja de *E. crassipes* (EMex y Puebla, de forma independiente), se dejó reposar la mezcla durante 15 minutos a -4°C en obscuridad, el extracto de color verde oliva

obtenido se filtró con una membrana de nitrocelulosa 0.45 μm (Whatman). Éste, se añadió a la solución metálica previamente preparada, en volúmenes equivalentes, posteriormente se homogeneizó en baño ultrasónico (Branson Emerson; Modelo: M2800H) durante 15 minutos.

Después, las nanopartículas (NPs) de cada metal se separaron del sobrenadante a través de centrifugación (Frontier 5714 OHAUS; Modelo: FC5714) a 5000 rpm durante 15 minutos. El sobrenadante se decantó y el precipitado se recogió, manteniéndolo a temperatura ambiente en un desecador, dentro de frascos ámbar, en oscuridad, para su posterior análisis.

2.1.3 Espectroscopía UV-visible

La obtención de los espectros de absorción óptica de cada una de las NPs metálicas, fue identificada en el espectrofotómetro UV-visible Thermo Scientific (Evolution Array), realizando un barrido a una longitud de onda comprendida en el rango que abarca de 200 – 1000 nm para ubicar la longitud de onda correspondiente para cada metal. Posteriormente se determinó la energía de la banda prohibida de cada nanomaterial empleando el método de Tauc (Makula et al., 2018).

2.1.4 Espectroscopía FT – IR

El análisis de cada una de las nanopartículas metálicas (Ag, Cu, Zn, Fe y Ti) por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (Fourier Transform Infrared Spectroscopy, FT- IR), se realizó en el equipo Varían 640 – IR con ATR de diamante, generando los espectros correspondientes en el intervalo de 4000 a 500 cm^{-1} , con una resolución de 4 cm^{-1} y 32 barridos.

2.1.5 Microscopía electrónica de barrido SEM y EDS

El análisis de las nanopartículas metálicas se realizó colocando una gota de la suspensión nanometálica en una rejilla de cobre 300 μm para las muestras de AgNPs, ZnNPs, FeNPs y TiNPs; mientras que para las muestras de CuNPs se utilizó una rejilla de oro de 300 μm . Todas las rejillas empleadas fueron previamente recubiertas con una fina película de carbón y posteriormente fueron secadas a condiciones de alto vacío.

Para el estudio de las nanopartículas metálicas por microscopía electrónica de barrido (Scanning Electron Microscopy, SEM), se utilizó el equipo JEOL Field Emission (JSM – 7800 FEG) con una resolución de 0.7 nm. El equipo JSM – 7800 FEG cuenta con un detector de Rayos X acoplado marca Oxford con una ventana de 50 nm – X – máx, a través de la cual, se realizó la espectroscopía de rayos X de energía dispersiva (Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy, EDS) para cada una de las muestras de nanopartículas metálicas.

2.1.6 Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM)

El análisis de microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (High Resolution Transmission Electron Microscopy, HR-TEM), se realizó en el equipo JEM – 2010 FEG, con una resolución espacial punto a punto de 0.19 nm, en el Instituto de Física de la UNAM. La muestra fue preparada como se describió en la sección 2.1.5. Las micrografías obtenidas del HR-TEM fueron individualmente analizadas con Software Digital Micrograph.

2.1.7 Pruebas de actividad fotocatalítica

Las pruebas fotocatalíticas fueron realizadas empleando una solución de fenol (Baker 99.9%) a una concentración de 10 mg/L, para el contacto heterogéneo se utilizaron concentraciones de 10, 50 y 100 mg/L de cada tipo de NPs metálica (Ag, Cu, Zn, Fe y Ti) por separado, primero se probaron las NPs sintetizadas con *E. crassipes* del Estado de México y después, solo seleccionando las NPs cuyos experimentos obtuvieron los mejores resultados de degradación de fenol, se probaron las NPs sintetizadas con *E. crassipes* de Puebla. Todos los experimentos se desarrollaron por duplicado.

Todas las soluciones se dejaban estabilizar durante 60 minutos en estado estacionario en completa oscuridad, una vez concluido este proceso la muestra fue ingresada a un fotoreactor, el cual estaba compuesto por una lámpara de luz UV (UVP UVL – 18 EL, $\lambda = 254$ nm, 8w) coaxialmente ubicada en el centro a una distancia de 10 cm desde la base del reactor, la muestra se mantuvo en constante agitación y oxigenada con una bomba de aire, una vez iniciado el proceso de irradiación se extrajeron alícuotas de 5 mL cada una a los tiempos de -60, 0, 5, 15, 20, 30, 40, 60, 80, 100 y 120 min, todo el proceso se desarrolló a temperatura y presión ambiente. La determinación de fenoles totales remanentes en la solución fue cuantificada siguiendo la Norma Mexicana NMX-AA-050-SCFI-2001, (2001).

La eliminación fotocatalítica de fenol se evaluó mediante la Ley de Lambert Beer (Ecuación 1.2) (Khalafi et al., 2019).

$$R = \left[\frac{(A_0 - A)}{A_0} \right] \times 100 \quad \text{Ec. 1.2.}$$

Donde A_0 y A corresponden a la absorbancia del fenol en el tiempo $t=0$ y t , respectivamente. Los resultados indican la eficiencia fotocatalítica de la degradación de contaminantes fenólicos.

2.1.8 Pruebas de actividad microbiciada

La actividad antimicrobiana de las NPs fitosintetizadas con *Eichhornia crassipes* (EMex y Puebla) fue evaluada utilizando *Escherichia coli* ATCC 25922 y *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, con base en la Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, (1995) Bienes y Servicios. Métodos para la cuenta de bacterias aerobias en placa, al igual que en la sección 2.1.7 se probaron las NPs sintetizadas con *E. crassipes* del Estado de México y después solo seleccionando las NPs cuyos experimentos obtuvieron los mejores resultados de efecto microbiciada se probaron las NPs sintetizadas con *E. crassipes* de Puebla.

Esta Norma Oficial Mexicana establece el fundamento para determinar el número de bacterias viables (Unidades Formadoras de Colonias, UFC), término que se utiliza para reportar la cuenta de colonias en placa. Las cuales pueden surgir de una célula o de un cúmulo de células, después de su incubación a condiciones ideales. Las etapas de prueba se describen a continuación.

2.1.8.1 Siembra de cepas control

Como medio de cultivo se empleó agár de soya tripticaseína (TSA, BD Bioxon) y caldo de soya tripticaseína (TSB, BD Bioxon), siguiendo las instrucciones del fabricante, se preparó el agár y esterilizó en autoclave a 121 ± 1 °C a una presión de 1.5 ± 0.25 kg/cm³ durante 15 minutos.

En cajas Petri previamente esterilizadas, se distribuyó TSA, una vez gelificado, por separado se sembró *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus*, las placas se incubaron a 36 ± 1 °C por 24 horas. Posteriormente se tomó una asada de cada una de las cepas y se colocó en TSB contenido en un tubo de ensaye, el cual nuevamente se incubó a 36 ± 1 °C por 24 horas.

2.1.8.2 Preparación del inóculo

Para la preparación del inóculo, se siguió la metodología de la Norma Oficial Mexicana (NOM-110-SSA1-1994, 1994), Bienes y Servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. 1 mL de la suspensión incubada en TSB para cada cepa y por separado, se transfirió a un tubo de ensayo con 9 mL de solución salina estéril al 0.85% (NaCl, J.T Baker), esta dilución primaria corresponde a 1×10^{-1} UFC/mL, para la preparación de las diluciones decimales adicionales se repitió esta operación por cada dilución realizada hasta 1×10^{-7} UFC/mL, para la inoculación de los medios de cultivo.

2.1.8.3 Determinación del efecto microbicida

Después de inocular las muestras preparadas según la sección 2.1.8.2. Preparación del inóculo, en cada caja Petri estéril, se colocó 1 mL de cada inóculo de *Escherichia coli* o *Staphylococcus aureus*, de manera independiente, se adicionó 1 mL de las soluciones de NPs metálicas, probando concentraciones de 10, 50 y 100 mg/L, dándoles un tiempo de contacto de 15 min, consecutivamente, se adicionaron 10 mL de medio preparado de TSA, homogeneizado perfectamente, todos los experimentos se desarrollaron por triplicado. Asimismo, se incluyó una caja con inóculo por cada lote de cepa sin NPs, como control positivo, y una caja sin inóculo como testigo de esterilidad, posteriormente se incubaron las cajas en posición invertida a 36 ± 1 °C por 24 horas.

Una vez concluido el período de incubación, se contabilizaron las UFC/mL, teniendo en consideración que las NPs inhibieran el desarrollo bacteriano o que eliminaran el 90% de las bacterias presentes en medio, comparándolo con el control positivo.

3 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Caracterización de nanopartículas

3.1.1 Espectroscopía UV-visible

La formación de nanopartículas de plata se identifica por un cambio de color de amarillo claro a un café oscuro (Bonnia et al., 2018), lo cual indica la reducción de Ag^+ a Ag^0 , esto indica la formación de AgNPs (Valsalam et al., 2019).

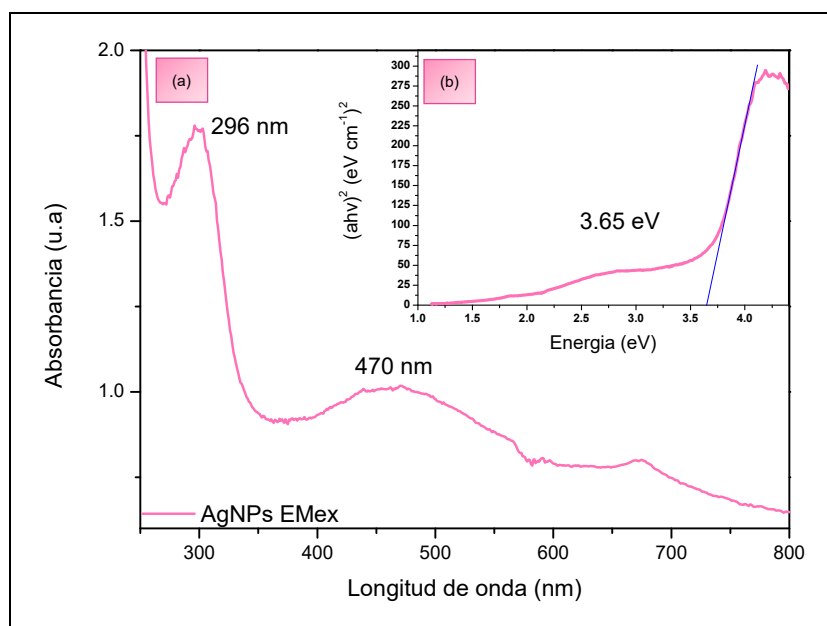


Gráfico 3.1 Caracterización de AgNPs EMex, (a) Espectro de absorción UV–Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.

Cuando el ion plata (Ag^+) el cual posee una resonancia de plasmón superficial (SPR) característico de 295 nm, se reduce al átomo de plata (Ag^0), indica la formación de AgNPs con la aparición de una banda de absorción en el rango de 350 – 450 nm (Sahu et al., 2019). La solución coloidal de las AgNPs sintetizadas con *E. crassipes* EMex

(Gráfico 3.1) exhibe un pico fuerte de absorción a 470 nm. De acuerdo con Valsalam et al., (2019), las AgNPs sintetizadas con *Tropaelum majus*, presentan un SPR a 463 nm. Mientras que la energía de banda prohibida se calcula a 3.65 eV.

Las CuNPs analizadas mediante espectroscopía UV-Vis, exhibe un SPR en el rango de 650 a 850 nm (Rajesh et al., 2016) (Gráfico 3.2), la adición del extracto de *E. crassipes* EMex a la solución de metálica resulta en un cambio de color de la solución de azul a verde azulado claro. El SPR de las CuNPs se encuentra a 800 nm, concordando con los resultados expuestos por Osonga et al., (2022), quien ubica el SPR de las CuNPs a 810 nm.

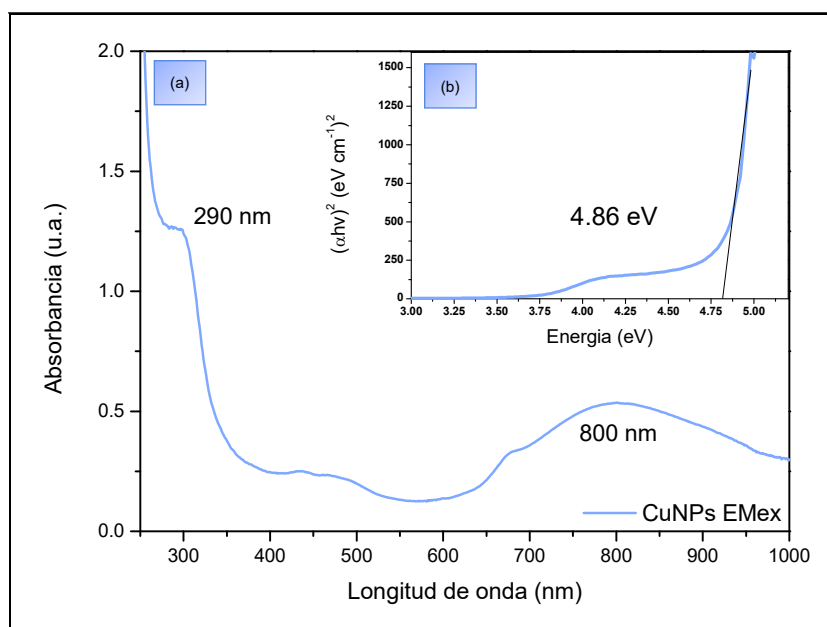


Gráfico 3.2 Caracterización de CuNPs EMex, (a) Espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.

La energía de banda prohibida (E_g) se calculó utilizando la ecuación de Tauc, claramente se puede observar que el valor de E_g para las CuNPs EMex es de 4.86 eV.

En la fitosíntesis de ZnNPs EMex el cambio gradual de color transparente a amarillo es la evidencia preliminar de la síntesis de nanopartículas. El SPR, mostró una banda de absorción máxima ubicada aproximadamente a 300 nm, la energía de banda prohibida calculada mediante la ecuación de Tauc es de 3.72 eV (Gráfico 3.3), resultados similares son obtenidos por Yudasari et al., (2021) en la síntesis de ZnNPs mediante extracto de *Pometia pinnata* cuyo SPR fue de 260 a 380 nm, y cuya banda prohibida es de 3.25 eV.

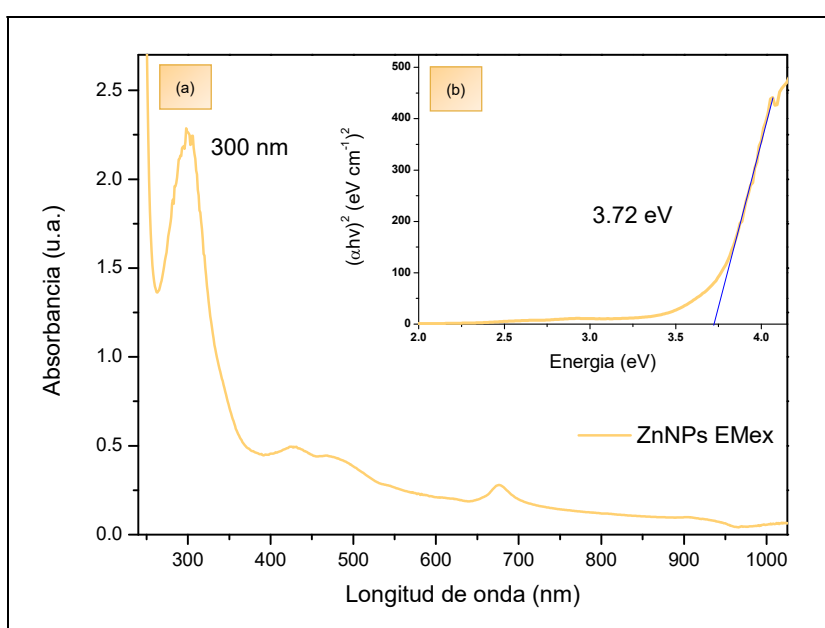


Gráfico 3.3 Caracterización de ZnNPs EMex, (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.

La fitosíntesis de FeNPs empleando el extracto de *E. crassipes* EMex, presenta un cambio de la solución de color amarillo a marrón y presenta un SPR a 300 nm y una energía de banda prohibida a 3.72 eV (Gráfico 3.4), resultados similares son presentados por Radini et al., (2018), quien sintetizó FeNPs mediante el extracto de semilla de *Trihonella foenum graecum* y cuyo pico de absorción se calculó en las longitudes de onda de 279 a 336 nm.

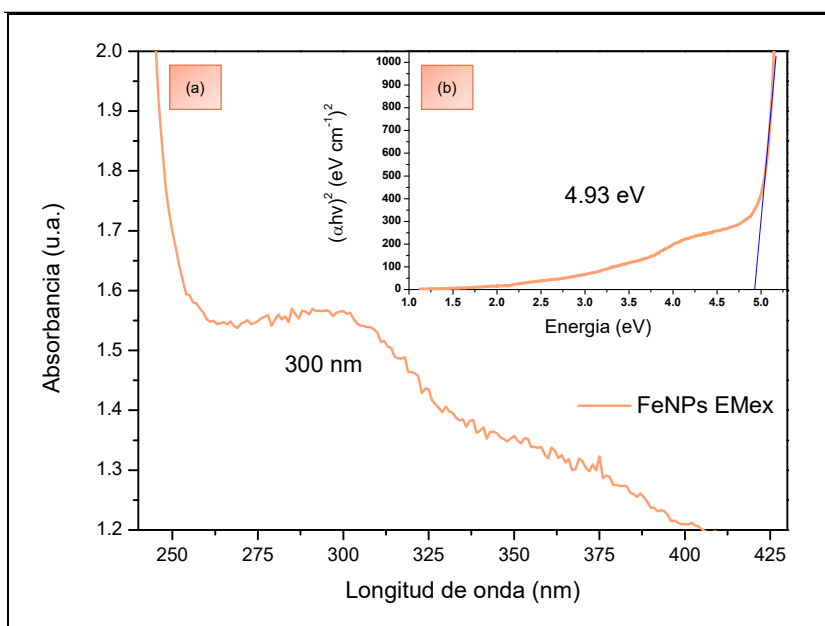


Gráfico 3.4 Caracterización de FeNPs EMex (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.

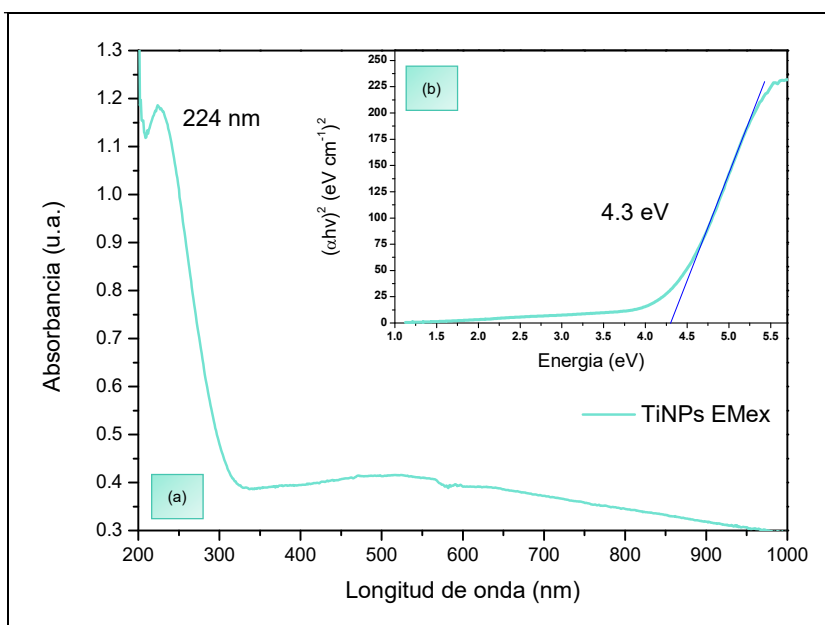


Gráfico 3.5 Caracterización de TiNPs EMex, (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.

RESULTADOS

El espectro UV-vis de las TiNPs (Gráfico 3.5) muestra un pico de absorción a 224 nm; resultados similares obtiene Moure et al., (2020), asimismo se observa que las TiNPs poseen una energía de banda prohibida de 4.3 eV.

El valor para el SPR de las AgNPs Puebla (Gráfico 3.6), se observó alrededor de 420 nm, la cual posee una energía de banda prohibida de 4.93 eV, así mismo también lo refiere Rajkumar et al., (2019), quien sintetizó AgNPs mediante extracto de *Zea mays*. Mientras que las AgNPs EMex poseen un SPR a 470 nm y su banda se localizó en 3.65 eV.

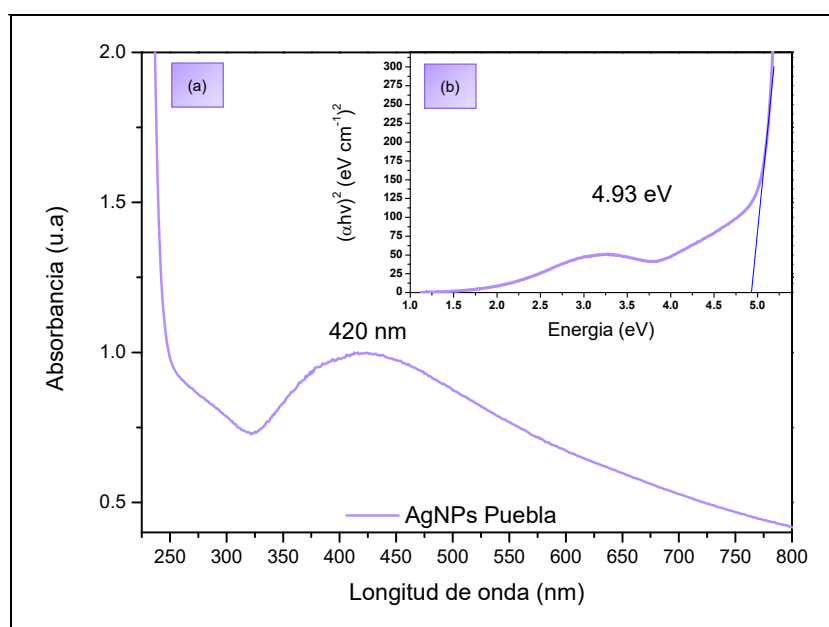


Gráfico 3.6 Caracterización de AgNPs Puebla, (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.

Los fitoquímicos de la planta *E. crassipes*, tanto del EMex como de Puebla, en el proceso de fitosíntesis crean estados superficiales permitidos en la banda prohibida y dependiendo de la cantidad de fitoquímicos, la capacidad de estabilización y reducción en la síntesis es afectada y por lo tanto altera la composición química de las NPs, en todos los casos se genera una banda, si esta banda está muy cerca del borde de la

banda de valencia o de conducción, la brecha de banda prohibida disminuirá, de aquí que se presenten diferencias significativas entre el SPR y la medición de la banda prohibida entre AgNPs EMex y AgNPs Puebla.

Para las CuNPs Puebla mostraron un pico distintivo a 300 nm (Gráfico 3.7), Vasantharaj, et al., (2019), obtuvo un SPR a 327 nm, por otra parte, la energía de banda prohibida se encuentra a 4.93 eV, que en comparación a sus contrapartes, las CuNPs EMex, poseen un valor de 4.86 eV con respecto a la energía de banda prohibida.

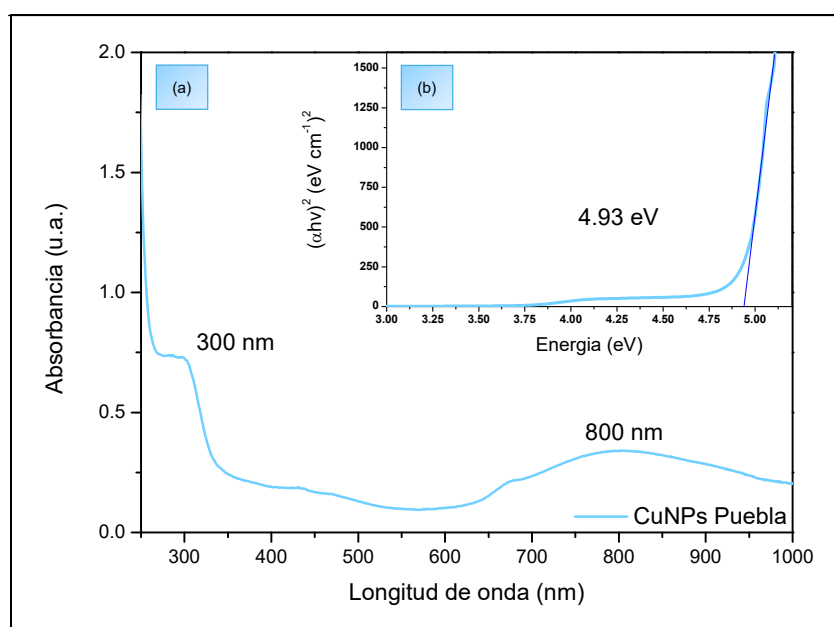


Gráfico 3.7 Caracterización de CuNPs Puebla (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.

Las TiNPs Puebla mostraron una SPR a una longitud de onda de 327 nm, además la energía de banda prohibida se calculó a 3.2 eV (Gráfico 3.8), resultados similares son publicados por Ngoepe et al., (2020), quien sintetizó TiNPs con extracto de *Monsonia burkeana* cuya longitud de onda es 327 nm y posee una energía de banda prohibida de 3.53 eV mientras que con la *E. crassipes* EMex esta banda se calculó en 4.3 eV.

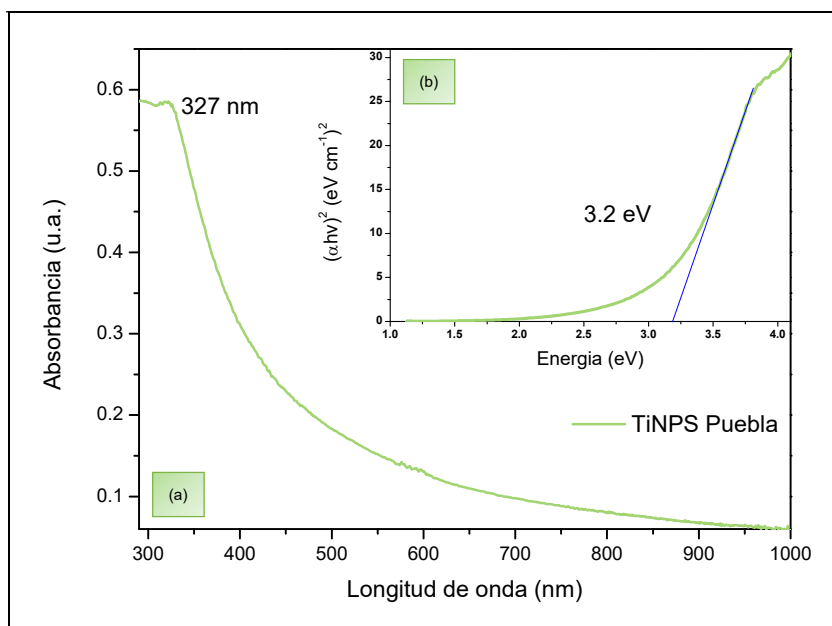


Gráfico 3.8 Caracterización de TiNPs Puebla, (a) espectro de absorción UV-Vis y (b) diagrama de Tauc para la medición de la banda prohibida.

Estas diferencias significativas entre los valores de energía de banda prohibida pueden deberse a que los compuestos fitoquímicos que desempeñan un papel importante en la síntesis de NPs, de aquí que puedan producirse diferencias significativas en la caracterización de materiales semiconductores.

3.1.2 Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

El análisis por espectroscopía de FTIR se empleó para identificar las posibles biomoléculas responsables de la reducción y estabilización de las nanopartículas monometálicas. Se analizaron las suspensiones con nanopartículas resultantes para cada uno de los metales utilizados.

Los espectros de AgNPs EMex se muestran en el Gráfico 3.9, y el espectro de FTIR de las AgNPs Puebla se muestra en el Gráfico 3.10. Únicamente para las AgNPs EMex

a un pH de 12 se presenta una banda de vibración a 2428 cm^{-1} correspondiente a las aminas primarias, pero desaparece para las AgNPs EMex pH 7 y pH 4.

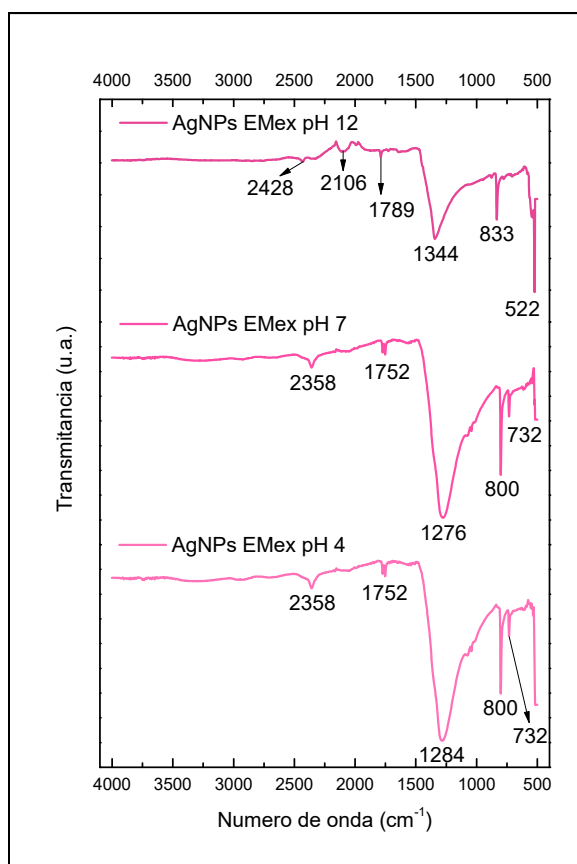


Gráfico 3.9 Espectro FTIR de AgNPs EMex a pH 12, 7 y 4.

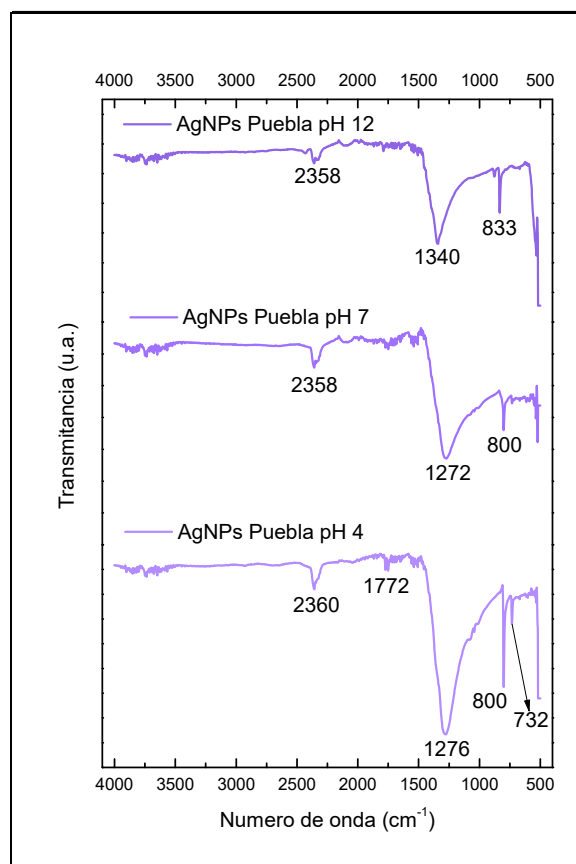


Gráfico 3.10 Espectro FTIR de AgNPs Puebla a pH 12, 7 y 4

Las bandas 2358 cm^{-1} a 2106 cm^{-1} pertenecen a los anillos arílicos (Santhoshkumar et al., 2017), mientras que las señales más sobresalientes ubicados entre 1344 y 1272 cm^{-1} corrobora la presencia de AgNPs para los pH 12, 7 y 4 empleando extracto de *E. crassipes* de EMex y Puebla sin presentar diferencias significativas (Alkawareek et al., 2019; Reddy et al., 2021).

El espectro FTIR para las CuNPs EMex se muestra en el Gráfico 3.11, mientras que el FTIR para las CuNPs sintetizadas con *E. crassipes* de Puebla se presentan en el Gráfico 3.12. Las bandas de absorción que van desde 3565 a 3421 cm^{-1} corresponden

a los grupos hidroxilo de los alcoholes, fenoles, N-H de las amidas (Choudhary et al., 2018) y al agua en la muestra (Santhoshkumar et al., 2019).

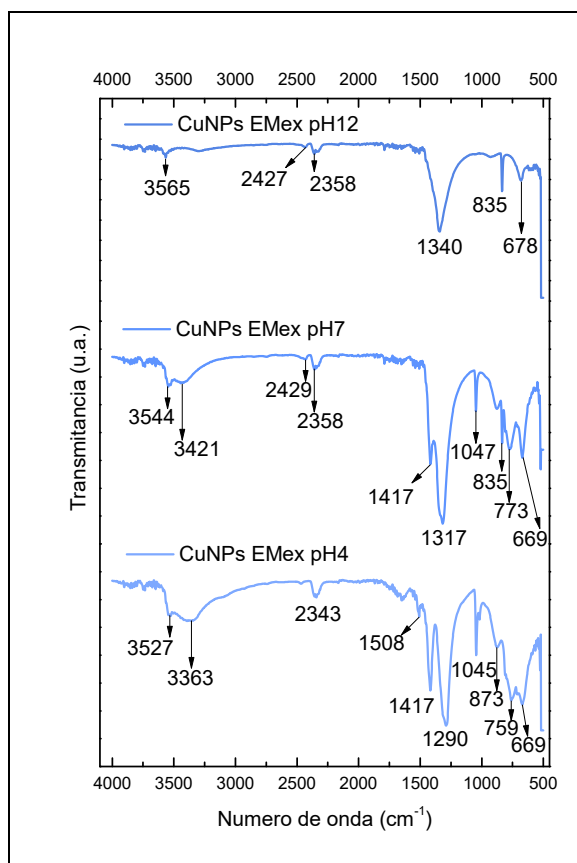


Gráfico 3.11 Espectro FTIR de CuNPs EMex pH 12, 7 y 4.

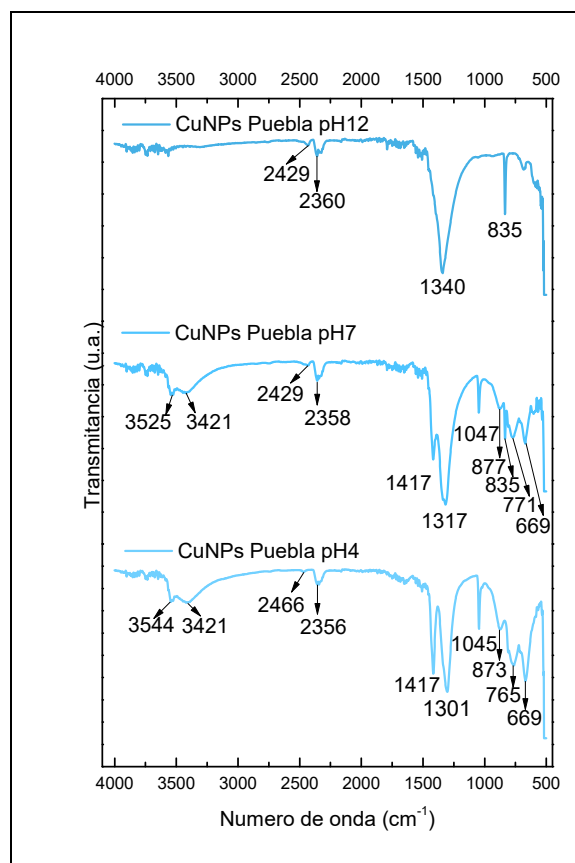


Gráfico 3.12 Espectro FTIR de CuNPs Puebla pH 12, 7 y 4.

Las bandas de 1417 y 1290 cm^{-1} pertenecen principalmente a los fitoquímicos del extracto de hoja de *E. crassipes* corroborando su participación en el proceso de bio-reducción (Chien et al., 2021).

Las bandas de estiramiento en el rango de 1000 a 669 cm^{-1} corresponden a la vibración de estiramiento del enlace CuO (Vasantharaj et al., 2019; Vivek et al., 2019). Es notable que no hay diferencias significativas en la fitosíntesis de CuNPs empleando *E. crassipes* del EMex o de Puebla.

El análisis FTIR de las ZnNPs (Gráfico 3.13) presenta una banda entre 3536 y 3195 cm^{-1} , asignadas a las vibraciones de estiramiento de las aminos primarias, los alcoholes y los alcanos (Santhoshkumar et al., 2019).

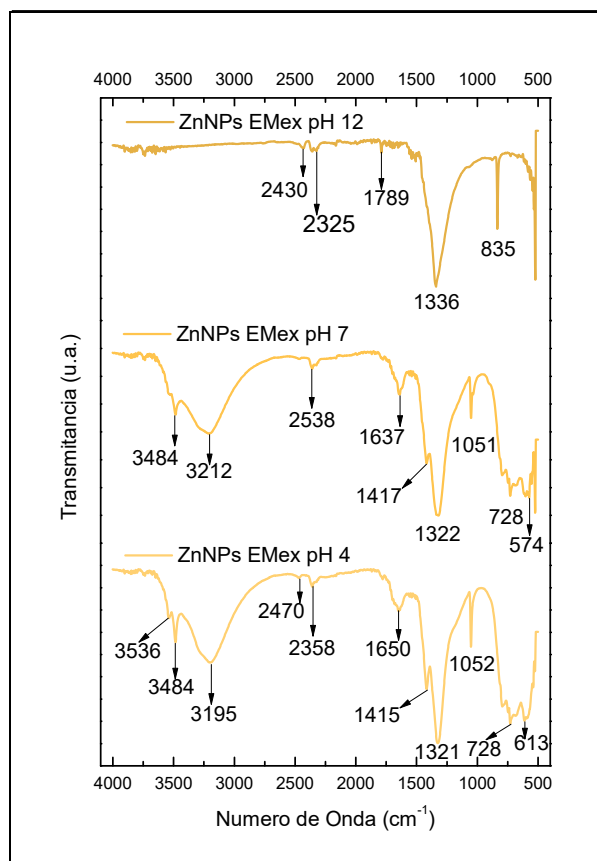


Gráfico 3.13 Espectro FTIR de ZnNPs EMex a pH 12, 7 y 4.

Las bandas de absorción de 1789 cm^{-1} , 1650 cm^{-1} y 1637 cm^{-1} están cerca de las reportadas para el C=O del ácido carboxílico y aminos primarias, lo que sugiere que éstas interactúan con las nanopartículas fitosintetizadas. La banda ubicada a 1052 cm^{-1} se debe a los fuertes enlaces del grupo C-H (Nagarajan, 2013). Los picos ubicados desde 1789 cm^{-1} hasta 1415 cm^{-1} corresponden a los enlaces de C≡C, C=C y C=O, mientras que los picos de 1336 cm^{-1} a 1321 cm^{-1} corresponden al C-O. Además, las bandas de 835 cm^{-1} a 574 cm^{-1} se atribuyen a la presencia de ZnNPs (Khajuria et al.,

2019). Se confirma que las biomoléculas del extracto de *E. crassipes* intervienen en el proceso de fitosíntesis.

El espectro FTIR de las FeNPs se muestra en el Gráfico 3.14, la presencia de FeNPs se confirma por la banda de absorción ubicada a 835 cm^{-1} .

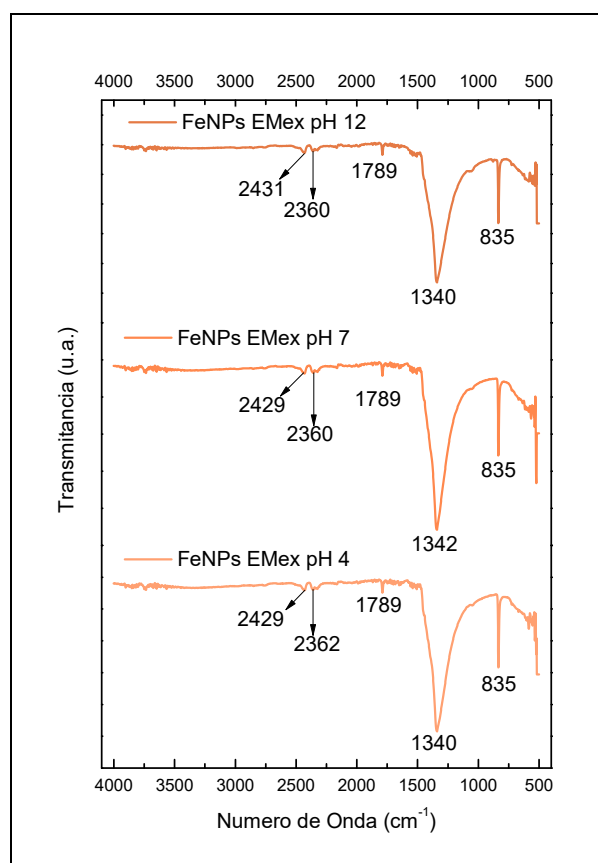


Gráfico 3.14 Espectro FTIR de FeNPs EMex a pH 12, 7 y 4.

Radini et al., (2018), sintetizaron nanopartículas de hierro empleando extracto de *Trigonella foenum-graecum*, y mencionan que las bandas desde 1069 cm^{-1} hasta 582 cm^{-1} se atribuyen a la presencia de FeNPs coincidiendo con los resultados obtenidos. El análisis FTIR para las TiNPs EMex se muestra en el Gráfico 3.15 y para las TiNPs Puebla en el Gráfico 3.16.

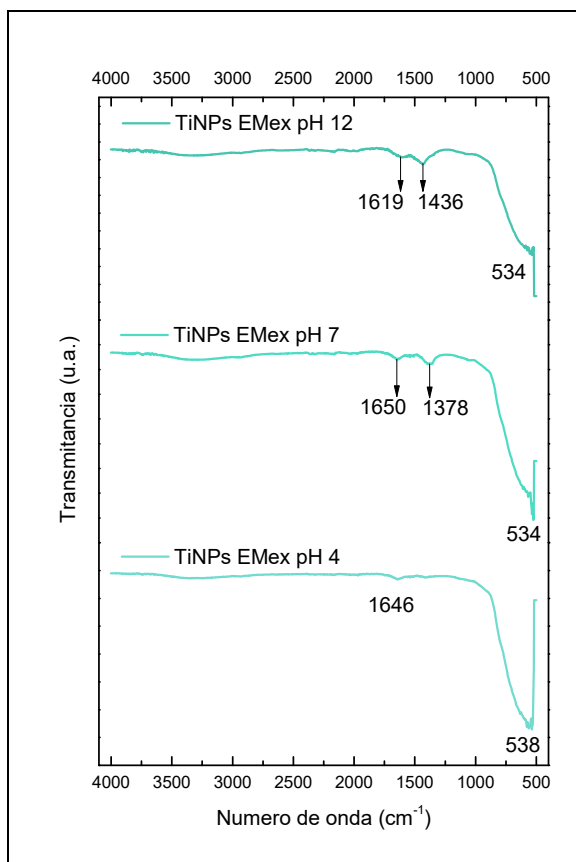


Gráfico 3.15 Espectro FTIR de TiNPs EMex a pH 12, 7 y 4.

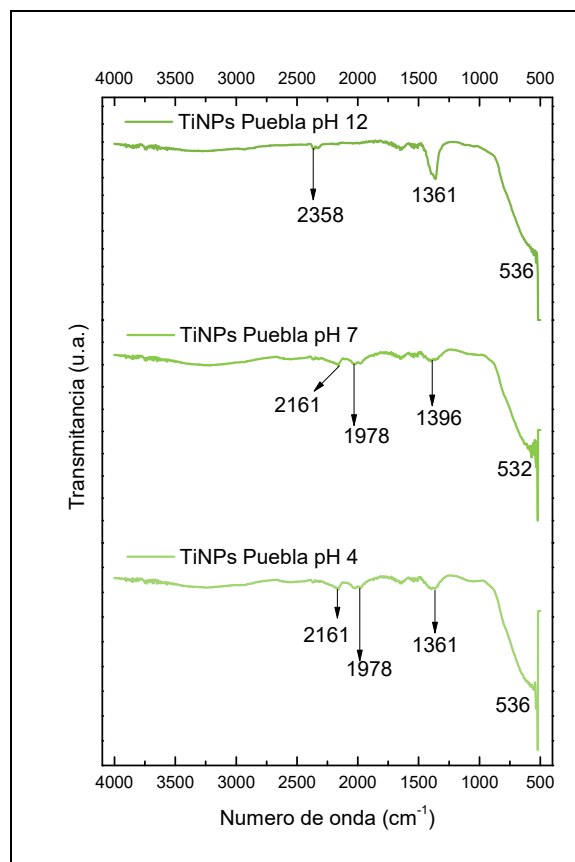


Gráfico 3.16 Espectro FTIR de TiNPs Puebla a pH 12, 7 y 4

Las bandas de absorción que aparecen desde 2358 cm^{-1} hasta 1978 cm^{-1} corresponden a los fitoquímicos presentes en el extracto de *E. crassipes* provenientes del EMex y de Puebla, las bandas desde 1436 cm^{-1} hasta 1376 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de estiramiento C-O (Joshi et al., 2019). Para todas las muestras los picos identificados de 538 cm^{-1} a 532 cm^{-1} confirman la formación de TiO_2 mediante el proceso de fitosíntesis mostrando una banda de absorción por debajo de los 1000 cm^{-1} (Ngoepe et al., 2020).

3.1.3 Microscopía electrónica de barrido SEM y EDS

La estructura morfológica y un tamaño aproximado de las NPs se determinó por SEM, obteniendo así imágenes de alta resolución de la superficie de cada muestra utilizando un haz enfocado de electrones de alta energía.

El análisis morfológico y cuantitativo de las AgNPs EMex pH 12 (Figura 3.2) muestra formas esféricas irregulares y monodispersas con tamaños que oscilan entre 98 y 25 nm, un pico plateado a 3 KeV indica la presencia de una naturaleza monocristalina. La composición elemental revela que las AgNPs EMex a pH 12 están compuestas en su mayoría por 25.99% oxígeno, 74.01% plata, en porcentaje atómico. Estos resultados son comparables con lo obtenido por Uribe-López et al., (2021), quienes sintetizaron AgNPs mediante el extracto de aceite de sésamo.

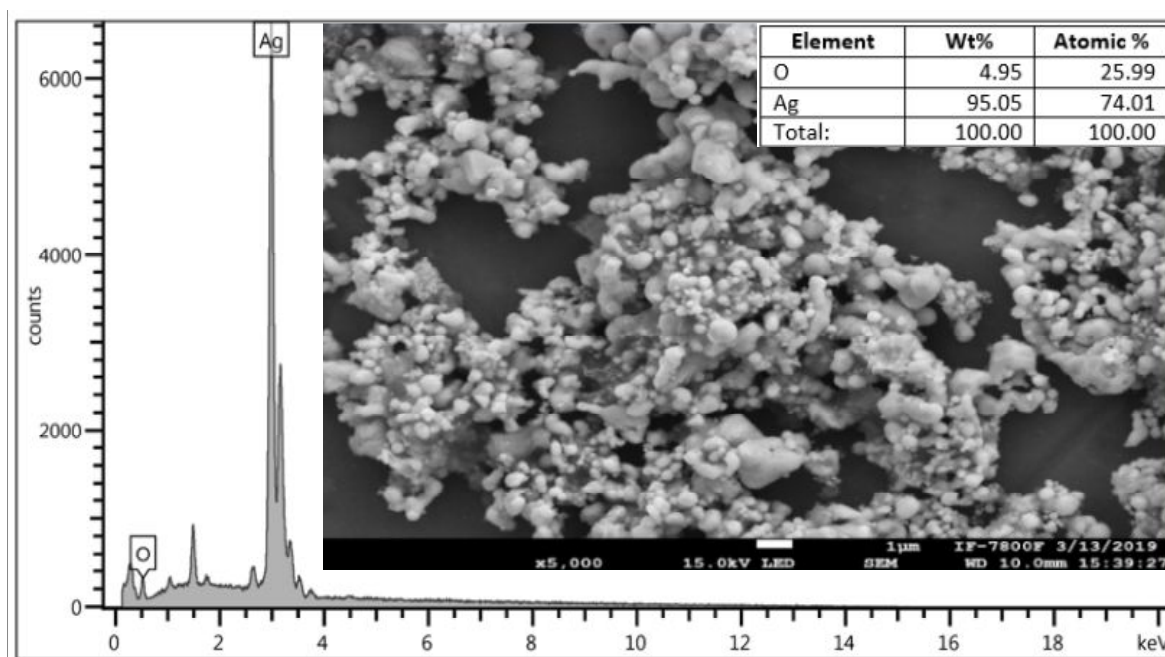


Figura 3.1 Micrografía SEM de la muestra AgNPs EMex pH 12 con amplificación de 5000X y análisis EDS.

RESULTADOS

Las imágenes SEM de las CuNPs EMex pH 12 se observan en la Figura 3.2, la presencia de estructuras en forma de tiras largas y delgadas asemejan a hojas o pastos, el ancho promedio de las nano hojas en la muestra es de 100 nm, mientras que su longitud promedio es de 1 μm , (Vasantharaj et al., 2019), sintetizaron CuNPs obteniendo una morfología muy parecida a las obtenidas con el extracto de *R. tuberosa*. Además, los análisis de EDS confirmaron la presencia de CuNPs EMex a un pH=12, las cuales se componen por 47.76% de oxígeno y 19.50% de cobre en porcentaje atómico sugiriendo una estructura cristalina.

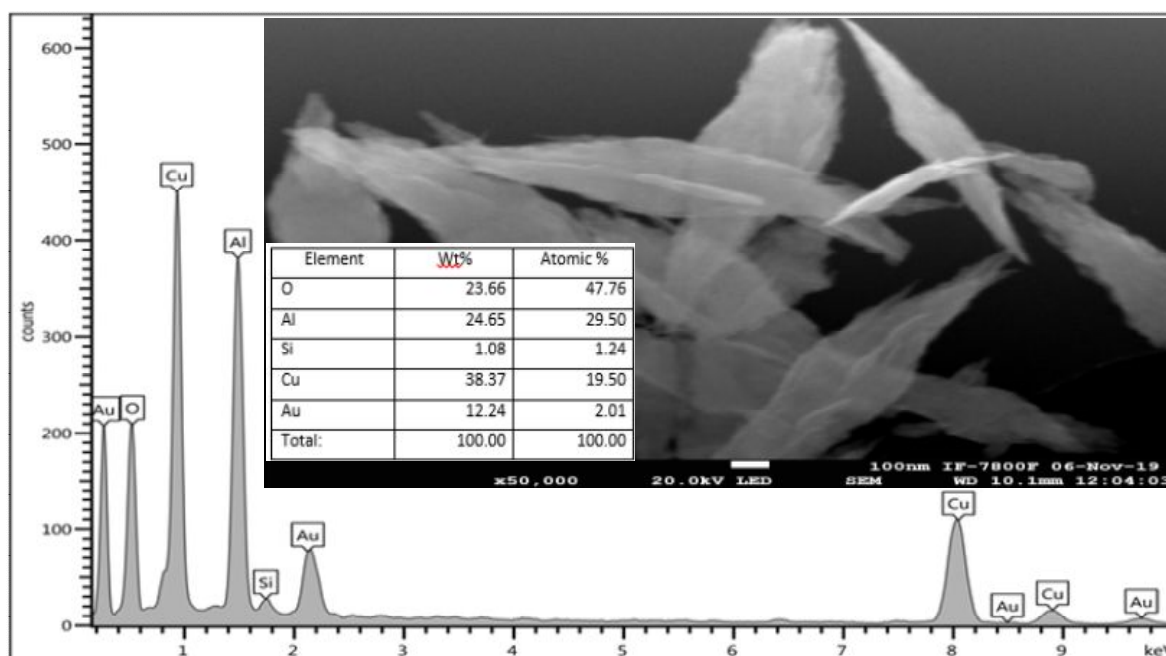


Figura 3.2 Micrografía en SEM de la muestra CuNPs EMex pH 12 con amplificación de 50,000X y análisis EDS.

En la Figura 3.3 se observa una morfología organizada que es semejante a los pétalos de una flor de ZnNPs EMex pH 12 sintetizadas mostrando una dispersión uniforme, una parte amplificada muestra una flor única de alrededor de 250 – 100 nm de grosor de pétalos y de un tamaño aproximado de 1.25 μm , Saif et al., (2021), sintetizaron nanopartículas de óxido de zinc (ZnO) mediante el extracto de *W. coagulans*.

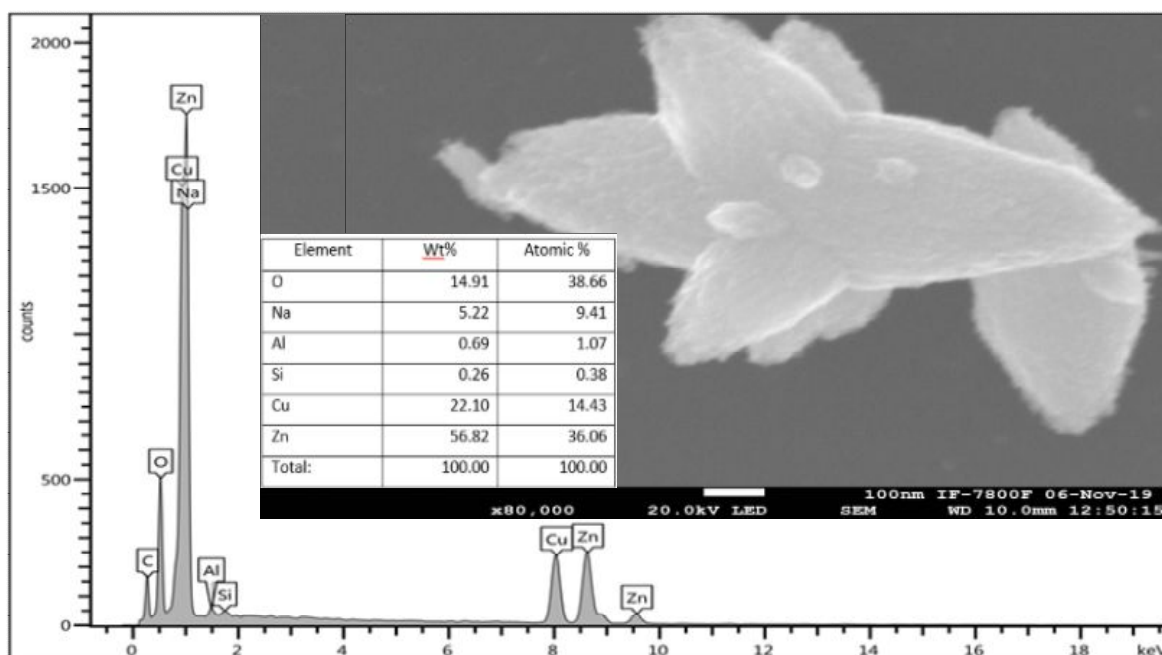


Figura 3.3 Micrografía SEM de la muestra de ZnNPs EMex pH 12 con amplificación de 80,000X y análisis EDS.

De acuerdo con Saif et al., (2021), sugieren que las ZnNPs con forma de flor, se debe a que los fitoquímicos presentes en el extracto de la planta empaquetan los iones metálicos en la solución mediante fuertes enlaces electrostáticos, iónicos y de hidrógeno para sintetizar dichas flores a nivel microscópico. La composición elemental de las ZnNPs EMex pH 12 reveló que el material sintetizado está compuesto de 38.66% oxígeno y 36.06% de zinc, resultados similares fueron obtenidos por McClements, (2020).

3.1.4 Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución (HR-TEM)

3.1.4.1 AgNPs

Las micrografías obtenidas para AgNPs EMex pH 12 muestran que las partículas se encuentran monodispersas, de forma aparente esférica, sin aglomeración y de un diámetro aproximado de 5 ± 1.5 nm, las imágenes se muestran en la Figura 3.4a y

3.4c. Empleando la transformada rápida de Fourier (Fast Fourier transform - FFT) se sabe que las AgNPs tienen una estructura cúbica y composición Ag_2O_3 (Tarjeta 72-0607). Rajeshkumar et al., (2019), sintetizaron AgNPs que tenían un tamaño promedio de 15 nm.

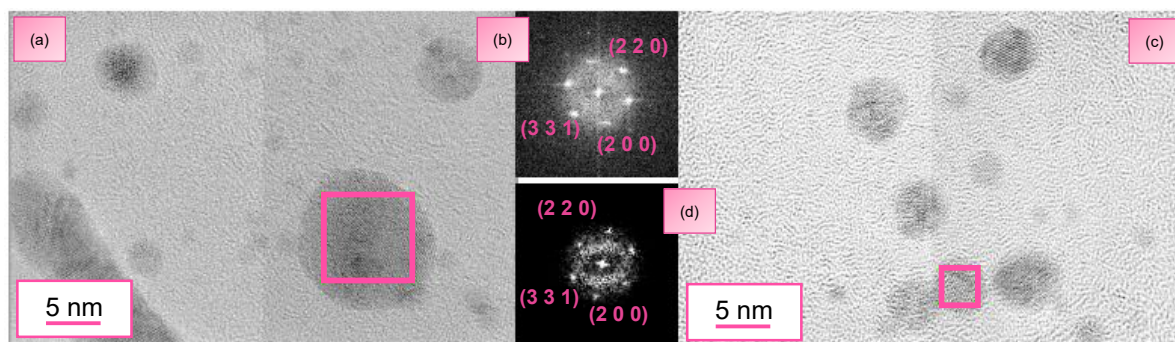


Figura 3.4 Micrografías en TEM de AgNPs EMex pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).

Las AgNPs EMex a pH 7 (Figura 3.5 a y c) muestran una distribución uniforme, de apariencia esférica, con un diámetro que oscila entre los 10 nm y 35 nm, Devanesan et al., (2018), obtuvieron AgNPs de características similares cuyos diámetros oscilaban de 20 a 40 nm, y fueron sintetizadas con extracto de *Punica granatum*. Las AgNPs EMex pH 7 tienen una estructura hexagonal de composición Ag_2O , (Figura 3.5 b y 3.5d) de acuerdo con las tarjetas PDF 19 – 1155.

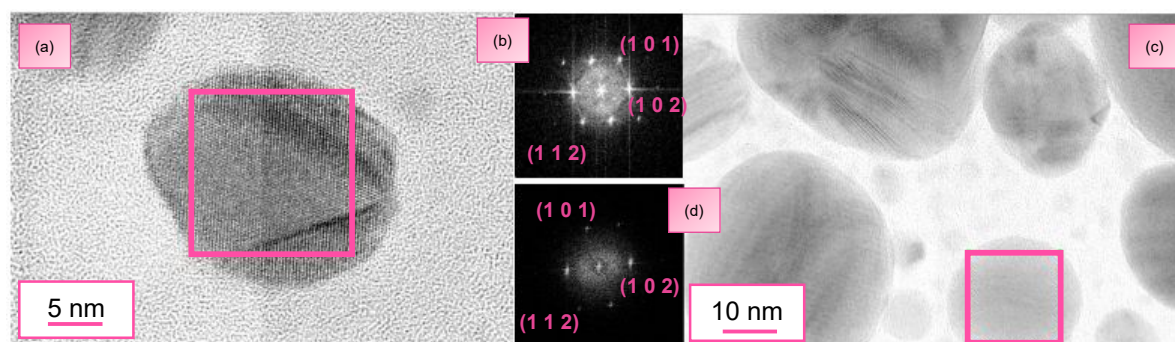


Figura 3.5 Micrografías en TEM de AgNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).

Las AgNPs EMex pH 4 (Figura 3.6) muestran partículas predominantemente esféricas, bien dispersas de 5 nm hasta 20 nm, resultados similares son obtenidos por

Choudhary et al., (2018), quienes emplearon *Cuminum cyminum* para sintetizar AgNPs. La estructura de las AgNPs es hexagonal con una fase de composición de Ag₂O (Tarjeta PDF 19 – 1155) en todas las nanopartículas analizadas para las AgNPs sintetizadas con extracto de *E. crassipes* del EMex.

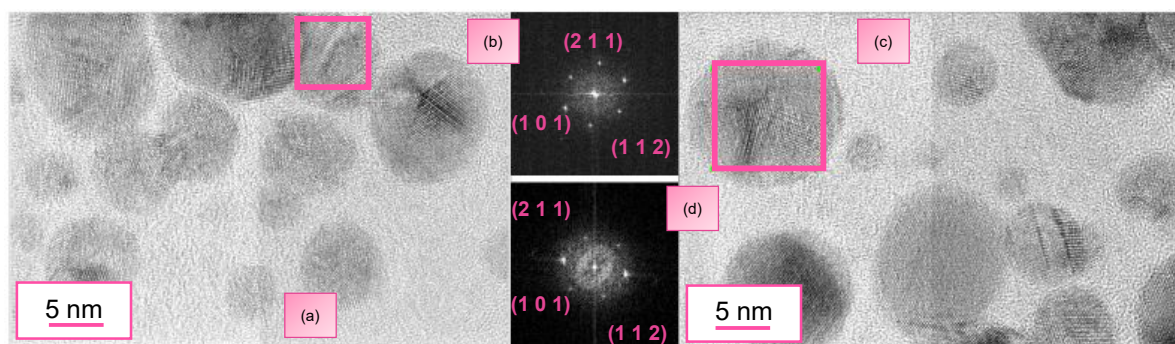


Figura 3.6 Micrografías en TEM de AgNPs EMex pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).

El análisis TEM detalló que las AgNPs Puebla pH 12 tienen formas aparentes esféricas y se encuentran monodispersas (Figura 3.7a y 3.7c), las AgNPs tenían un tamaño promedio de nanopartícula de 5 nm $\pm$ 1.5 nm de composición Ag₂O estructura hexagonal, tarjeta PDF 72 – 2108. Por su parte, Sheikh et al., (2018), sintetizaron AgNPs con extracto de *Curcuma longa* y también obtuvieron AgNPs con características similares.

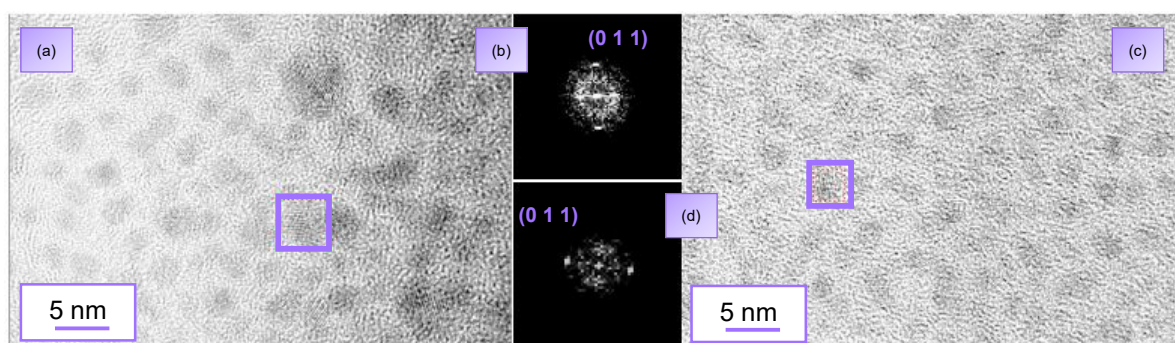


Figura 3.7 Micrografías en TEM de AgNPs Puebla pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).

La Figura 3.8a y 3.8c muestra las micrografías de TEM para AgNPs Puebla a pH 7. La imagen en TEM confirma la presencia de nanopartículas entre 7 nm y 28 nm, de forma esférica sin aglomeraciones, Vélez et al., (2018) reportó resultados similares empleando extracto de *Aloe vera*. Las AgNPs Puebla pH 7 poseen dos tipos de composiciones Figura 3.8b correspondiente a una forma hexagonal, con fase de composición Ag_6O_2 tarjeta PDF 74-0878, mientras que la Figura 3.8d corresponde a Ag_2O , con fase de composición hexagonal, tarjeta PDF 72-2108.

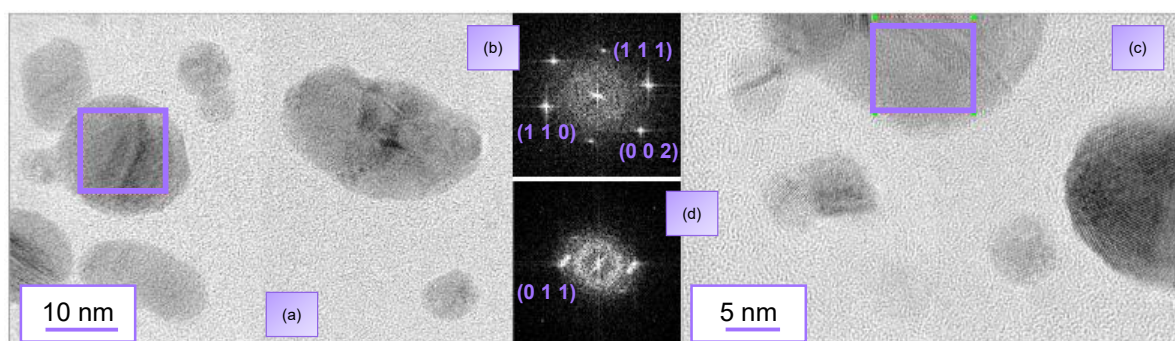


Figura 3.8 Micrografías en TEM de AgNPs Puebla pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).

Las AgNPs Puebla pH 4 poseen un tamaño que va desde los 3 nm hasta los 15 nm, tienen una composición de Ag_2O en dos fases cristalinas, ambas con forma hexagonal. La Figura 3.9b corresponde la tarjeta PDF 72-2108, mientras que la Figura 3.9d coincide con la tarjeta PDF 19-1155.

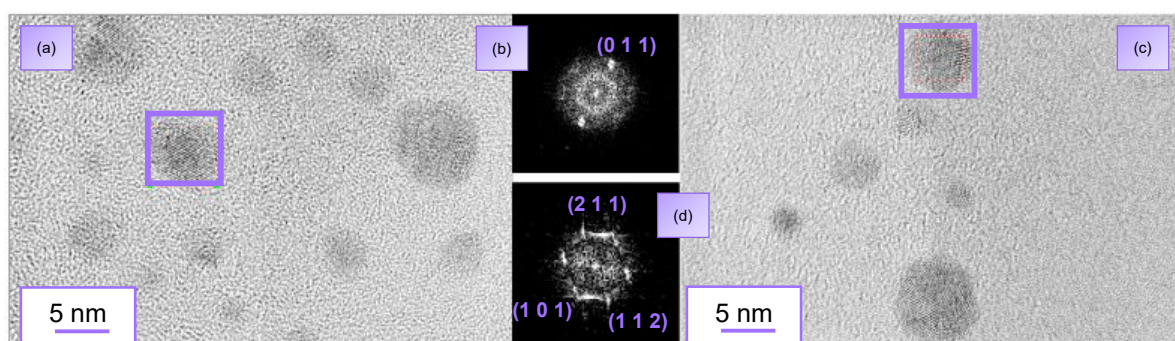


Figura 3.9 Micrografías en TEM de AgNPs Puebla pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).

3.1.4.2 CuNPs

El análisis en TEM muestra la presencia de CuNPs EMex pH 12, con bastante aglomeración y un tamaño de partícula de $5 \text{ nm} \pm 1.5 \text{ nm}$ (Figura 3.10a y 3.10c), de estructura cúbica y composición Cu_2O (Tarjeta PDF 75 – 1531), Vasantharaj et al., (2019), mencionan que la aglomeración de las nanopartículas se debe a la presencia del extracto de *E. crassipes*.

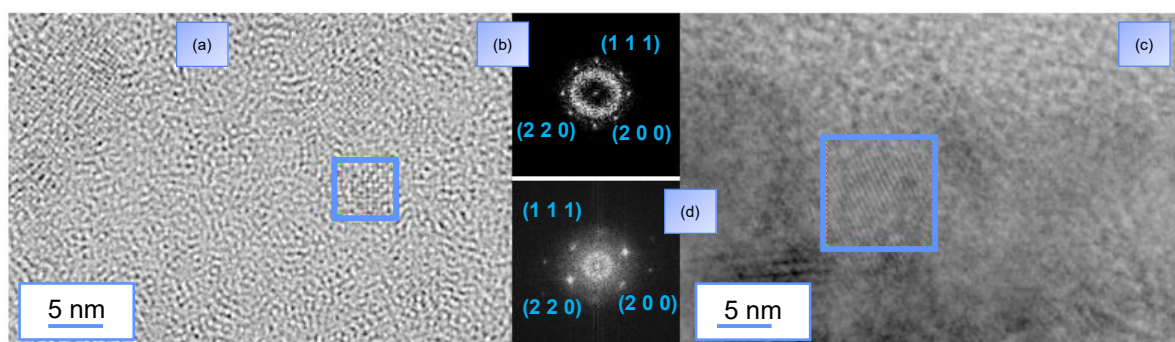


Figura 3.10 Micrografías en TEM de CuNPs EMex pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).

Por otra parte, las CuNPs EMex pH 7 (Figura 3.11a y 3.11b), tienen una morfología aparentemente esférica y aunque las nanopartículas están moderadamente agrupadas poseen un tamaño promedio de $5 \text{ nm} \pm 1.5 \text{ nm}$.

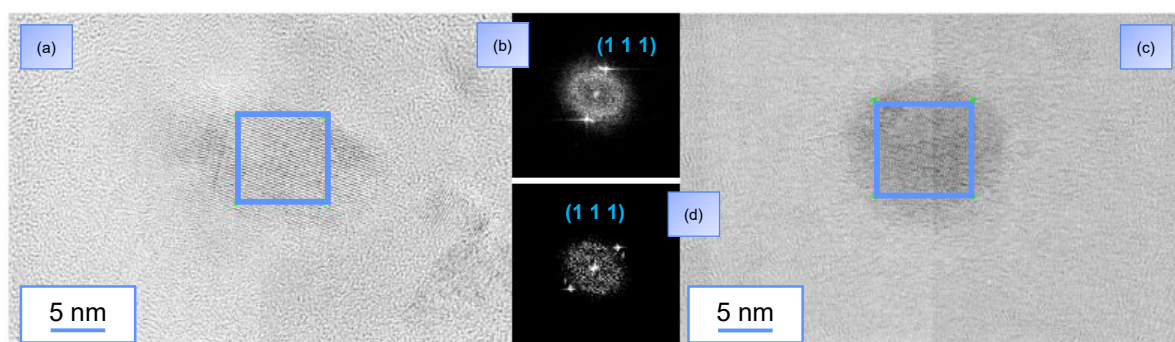


Figura 3.11 Micrografías en TEM de CuNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).

RESULTADOS

La estructura perteneciente a las CuNPs EMex pH 7 estudiadas (Figura 3.11b y 3.11d) es cúbica, de composición Cu_2O de acuerdo con la tarjeta PDF 74 – 1230, para todas las nanopartículas indexadas. Resultados morfológicos similares fueron previamente reportados por Sharmila et al., (2018), quienes utilizaron *Bauhinia tomentosa* para sintetizarlas, confirmando que la muestra estaba compuesta por nanopartículas de CuO de gran pureza.

En la Figura 3.12 se muestran las micrografías para CuNPs EMex pH 4 las cuales poseen una forma esférica bien definida y no aglomerada, de un tamaño promedio de $5 \text{ nm} \pm 1.5 \text{ nm}$, Issaabadi et al., (2017), mencionan que las CuNPs sintetizadas empleando *Thymus vulgaris* L. obtuvieron resultados similares.

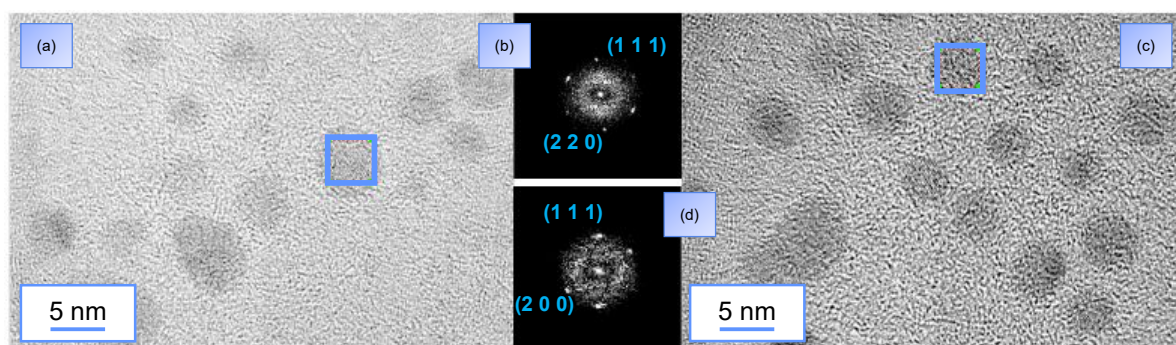


Figura 3.12 Micrografías en TEM de CuNPs EMex pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).

En su mayoría las CuNPs EMex pH 4, poseen dos formas cristalinas, ambas de forma cúbica y de composición Cu_2O , en la Figura 3.12b corresponde a la tarjeta PDF 75 – 1531, y para la Figura 3.12d pertenece a la tarjeta PDF 77 – 0199.

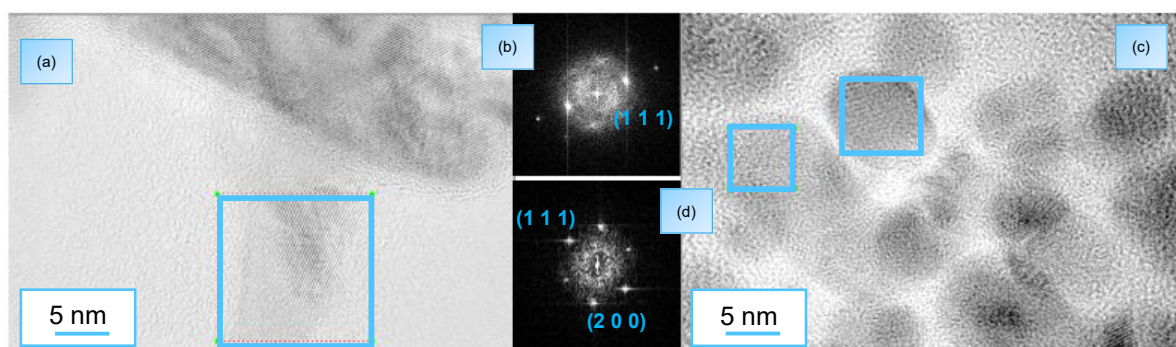


Figura 3.13 Micrografías en TEM de CuNPs Puebla pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d)

RESULTADOS

El análisis por TEM para CuNPs Puebla pH 12 (Figura 3.13 a y c), muestra que las nanopartículas formaron aglomerados, de un tamaño que va desde los 5 nm hasta los 10 nm, todas ellas de aparente forma esférica, un resultado similar lo reportan Nabila & Kannabiran, (2018) quienes sintetizaron CuNPs las cuales también se encontraban aglomeradas.

Las CuNPs Puebla pH 12 poseen una composición con dos fases cristalinas, ambas de estructura cúbica y fase de composición Cu_2O , la Figura 3.34 b corresponde a la tarjeta PDF 74 – 1230, mientras que la Figura 3.34 d pertenece a la tarjeta PDF 75-1531.

La morfología para CuNPs Puebla pH 7 se muestra en la Figura 3.14 (a y c), las nanopartículas se encuentran bien dispersas, no aglomeradas, con forma aparente esférica, con un tamaño promedio de $8 \text{ nm} \pm 2.5 \text{ nm}$.

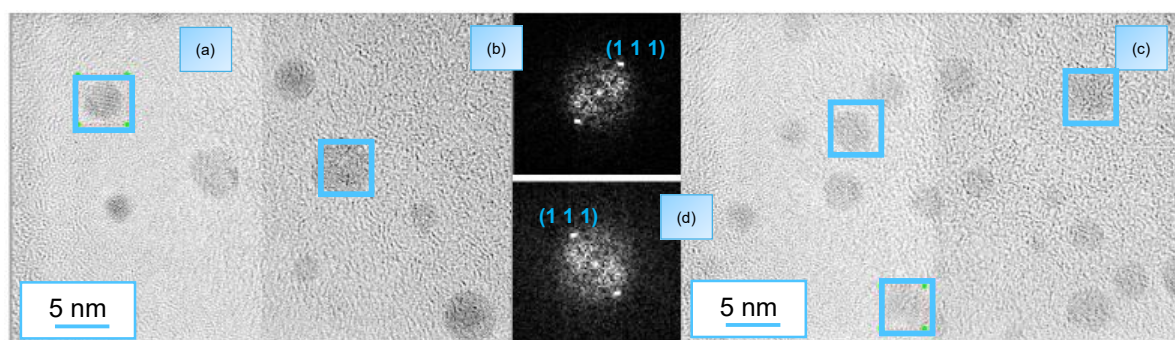


Figura 3.14 Micrográficas en TEM de CuNPs Puebla pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).

La composición para todas las CuNPs Puebla pH7 es de Cu_2O , y de estructura cúbica, de acuerdo con la tarjeta PDF 74 – 1230 Qing et al., (2018), obtuvieron CuNPs de estructura y composición similar empleando extracto de *Shewanella loihica*.

La Figura 3.15a y 3.15c muestran que las CuNPs Puebla pH 4 tienen una forma esférica con poca aglomeración y de tamaños que van desde los 7 nm hasta los 15 nm. Prakash et al., (2018), han informado una idéntica morfología empleando extracto de *Cordia sebestena*.

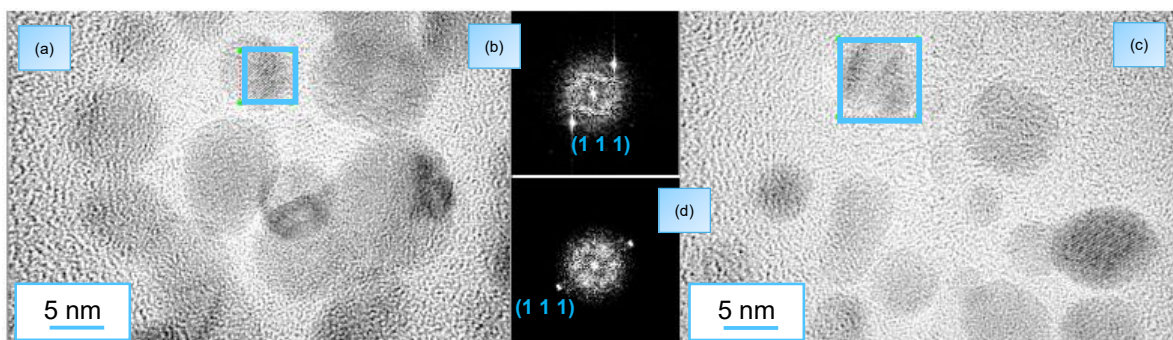


Figura 3.15 Micrografías en TEM de CuNPs Puebla pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).

La composición para todas las CuNPs es de Cu_2O , y de estructura cúbica de acuerdo con la tarjeta PDF 74 – 1230.

3.1.4.3 ZnNPs

Los resultados por TEM para ZnNPs EMex pH 12 (Figura 3.16a y 3.16c) mostraron que las nanopartículas se encuentran aglomeradas y no poseen formas definidas, y poseen un diámetro promedio de $10 \text{ nm} \pm 2.5 \text{ nm}$.

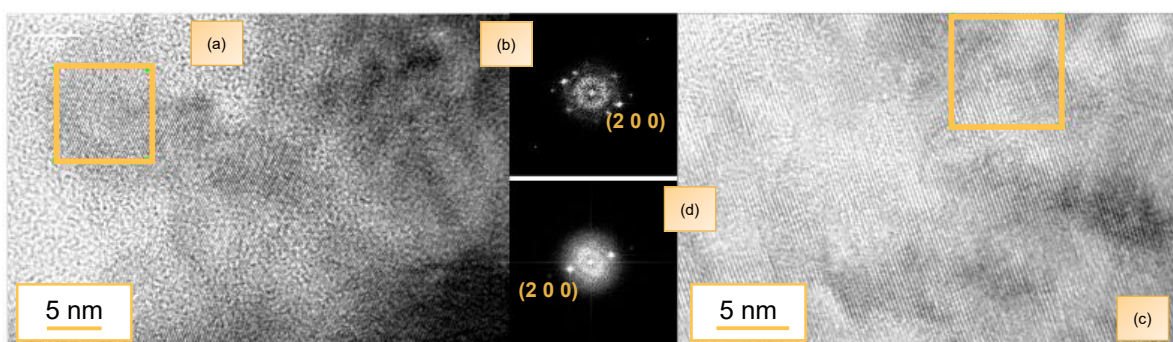


Figura 3.16 Micrografías en TEM de ZnNPs EMex pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d). El análisis por FFT revela que las nanopartículas tienen una forma cúbica (Figura 3.16 b y d) de composición ZnO_2 , tarjeta PDF 76-1364.

Las ZnNPs EMex pH 7 (Figura 3.17a y 3.17c) poseen una aparente morfología esférica con aglomeración notable y de un tamaño aproximado desde 4 nm hasta 15 nm.

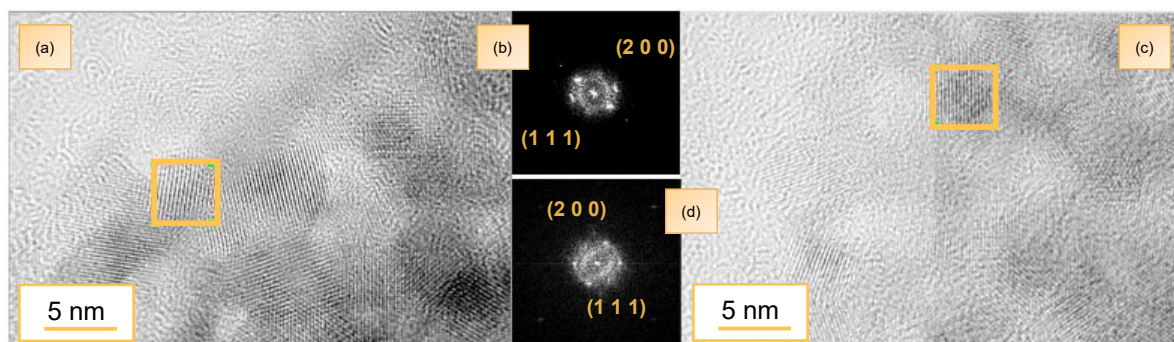


Figura 3.17 Micrografías en TEM de ZnNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).

Empleando un análisis FFT las ZnNPs EMex pH 7 (Figura 3.17b y 3.17d) tienen una forma cúbica con fase de composición ZnO_2 de acuerdo con la tarjeta PDF 78 – 1124, un resultado similar fue encontrado por Khalafi et al., (2019), quienes sintetizaron nanopartículas de zinc mediante el extracto de *microalgae Chlorella*.

En la Figura 3.18a y 3.18c se muestran las imágenes en TEM de las ZnNPs EMex pH 4, se observa que las partículas están aglomeradas y no tienen forma definida, y poseen un diámetro promedio de $5 \text{ nm} \pm 1.5 \text{ nm}$.

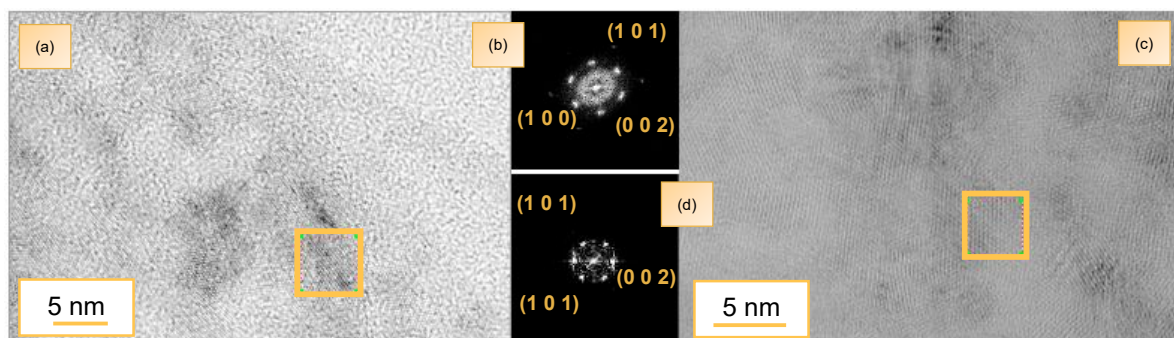


Figura 3.18 Micrografía en TEM para ZnNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).

Mediante el análisis FFT se encontró que, todas las ZnNPs analizadas, poseen una fase de composición de ZnO , así como una estructura hexagonal, la tarjeta correspondiente para esta nanopartícula es PDF 89 – 0511, resultados similares fueron obtenidos por Alizadeh-Sani et al., (2020).

3.1.4.4 FeNPs

El análisis por HR-TEM para las FeNPs se muestra en la Figura 3. 19a y 3.19c, se puede observar que las nanopartículas, se encuentran bien dispersas, no presentan aglomeración, no poseen formas bien definidas, y tienen un tamaño que va desde los 15 hasta los 25 nm.

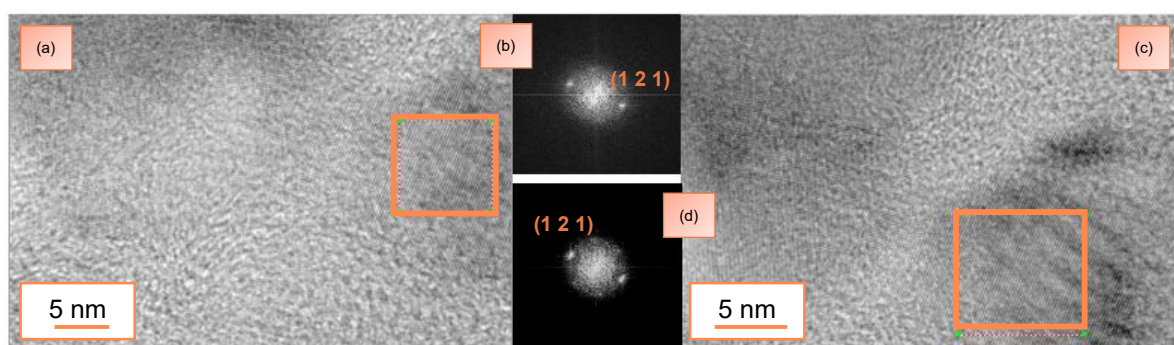


Figura 3.19 Micrografías en TEM de FeNPs EMex pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).

Mediante el análisis FFT, se sabe que las FeNPs poseen una estructura cúbica (Figura 3.19 b y d), y de composición $\text{Fe}_{2.9}\text{O}_4$, tarjeta PDF 87 – 0246, para todas las nanopartículas analizadas. Sriramulu et al., (2020), sintetizaron nanopartículas de hierro mediante fitosíntesis y emplearon extracto de *Aegle marmelos*, las nanopartículas se encontraban aglomeradas y de formas no definidas; por otra parte, Yusefi et al., (2021), emplearon extracto de *Garcinia mangostana* y obtuvieron nanopartículas de composición Fe_3O_4 y con un tamaño promedio de 6 a 20 nm.

En la Figura 3.20, se presentan las imágenes obtenidas para las FeNPs EMex pH 7, las nanopartículas presentan poca aglomeración y poseen una aparente forma esférica y de un tamaño promedio de 7 ± 1.5 nm.

Las FeNPs poseen estructuras cúbicas, en la Figura 3.20 a y b, tienen una composición $\text{Fe}_{0.925}\text{O}$, Tarjeta PDF 89 – 0686, resultados similares fueron obtenidos por Izadiyan et al., (2020), quienes sintetizaron FeNPs mediante el extracto de *Juglans regia*. En la Figura 3.20 c y d se observaron NPs de composición $\text{Fe}_{2.93}\text{O}_4$, tarjeta PDF 87 – 0245.

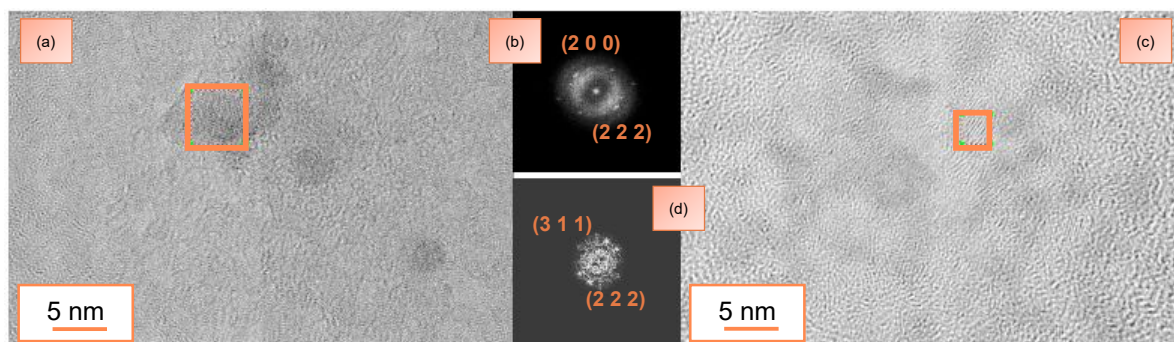


Figura 3.20 Micrografías en TEM de FeNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).

Las imágenes en TEM de FeNPs EMex pH 4 (Figura 3.28), muestran que las NPs se encuentran aglomeradas, de formas esféricas y un tamaño de 10 a 60 nm, tienen una estructura romboédrica (Figura 3.28 b y d), cuya fase de composición es Fe_2O_3 , Tarjeta PDF 80 – 2377, Ma et al., (2018), obtuvieron resultados similares a los obtenidos en el presente trabajo.

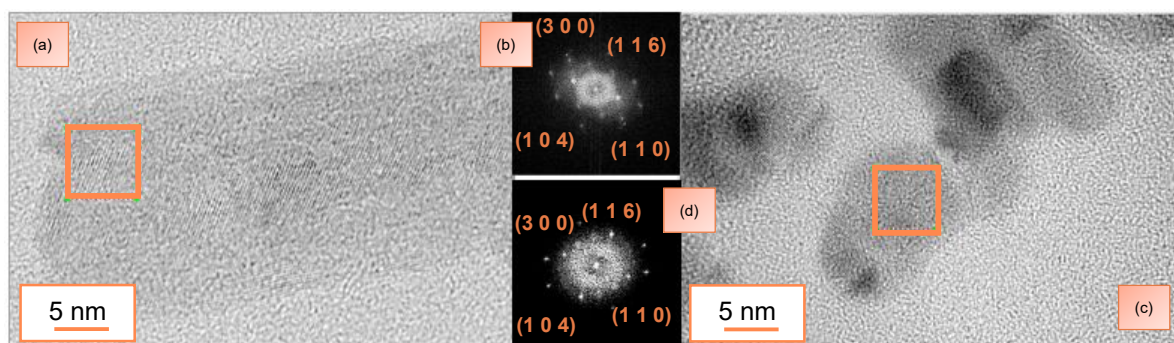


Figura 3.21 Micrografías en TEM de FeNPs EMex pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).

3.1.4.5 TiNPs

Las imágenes en TEM para TiNPs EMex pH 12 presentadas en la Figura 3.22, muestran que tenían una aparente forma esférica de bordes bien definidos, aunque se observa cierta aglomeración, las TiNPs EMex pH 12 tienen un tamaño de partícula de 5 a 10 nm, Ngoepe et al., (2020), presentaron resultados similares en la síntesis de TiNPs con extracto de *Monsonia burkeana*.

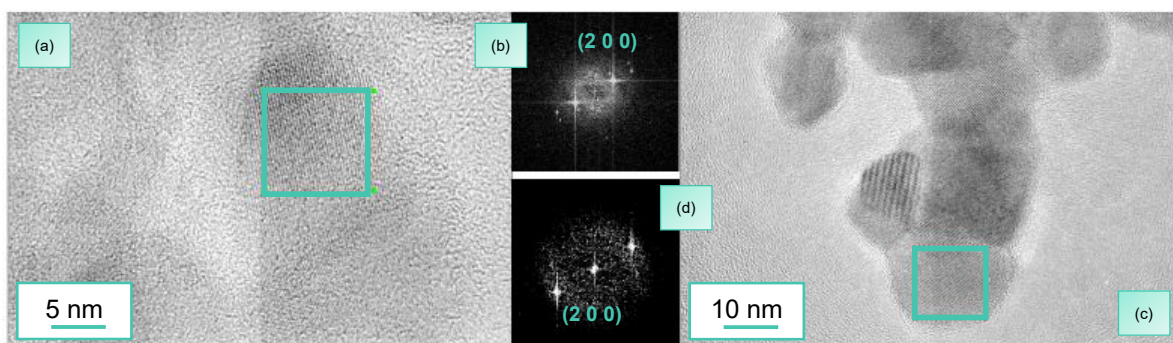


Figura 3.22 Micrografías en TEM de TiNPs EMex pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).

La estructura perteneciente a todas las TiNPs EMex pH 12 analizadas corresponden a una estructura cúbica de composición TiO correspondiente a la Tarjeta PDF 08-0117.

La Figura 3.23 muestra las imágenes en TEM par TiNPs EMex pH 7, el tamaño de las nanopartículas oscilaba de los 15 hasta los 45 nm.

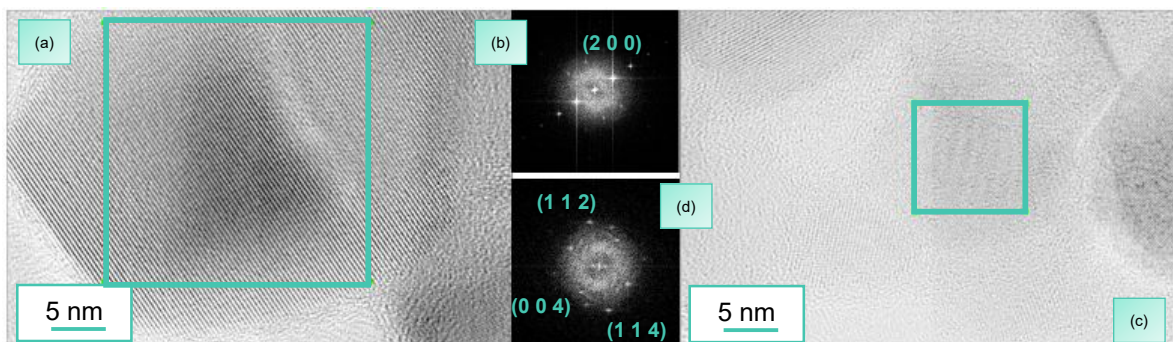


Figura 3.23 Micrografías en TEM de TiNPs EMex pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).

Krishnasamy et al., (2015), sintetizaron nanopartículas de TiNPs con extracto de *Azadirachta indica* y obtuvo nanopartículas de un tamaño similar a las estudiadas en el presente trabajo. Las TiNPs EMex pH 7 analizadas poseen formas regulares de bordes bien definidos, mediante el análisis FFT (Figura 3.23b y 3.23d) se encontraron dos tipos de composiciones la Figura 3.23b, corresponde a una estructura cúbica de composición TiO , tarjeta PDF 08 – 0117, mientras que la Figura 3.23d, pertenece a la Tarjeta PDF 72 – 1806, indicando que las nanopartículas tienen una forma hexagonal y una fase de composición Ti_3O .

En la Figura 3.24 se presentan las micrográficas para TiNPs EMex pH 4, en la Figura 3.24 a y c, las TiNPs tienen bordes bien definidos, asemejando estructuras cúbicas, presentan poca aglomeración y sus tamaños oscilan entre los 15 a los 50 nm, Azizi-Lalabadi et al., (2019), también reportaron estructuras cúbicas para TiNPs.

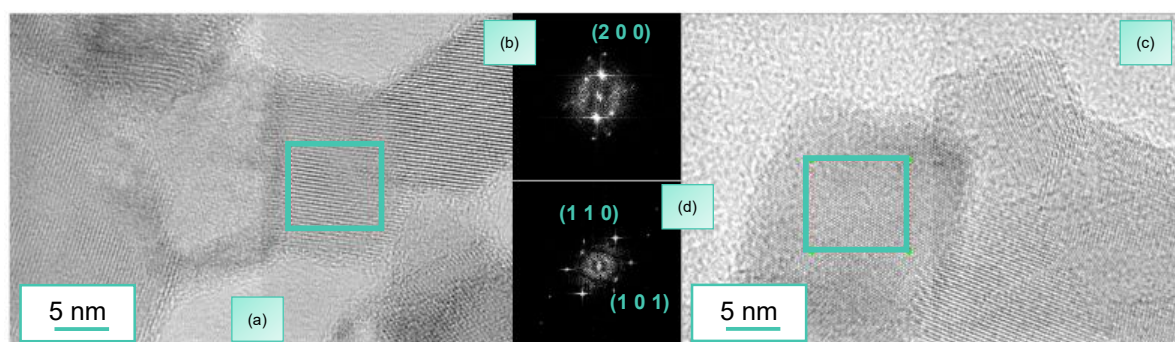


Figura 3.24 Micrográficas en TEM de TiNPs EMex pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).

De acuerdo con el análisis FFT las TiNPs EMex pH 4 poseen dos tipos de composiciones, la Figura 3.24b concierne a una estructura tetragonal, con fase de composición TiO_2 , Tarjeta PDF 75 – 1757, mientras que la Figura 3.24d pertenece a una forma hexagonal, con fase de composición Ti_3O_2 , Tarjeta PDF 72 – 1806.

El análisis en TEM para las TiNPs a pH 12 sintetizadas con extracto de la hoja de *E. crassipes* del Estado de Puebla se muestra en la Figura 3.25 a y c, indica que las nanopartículas se encuentran aglomeradas y de formas no definidas, con tamaños que varían desde los 20 hasta 50 nm.

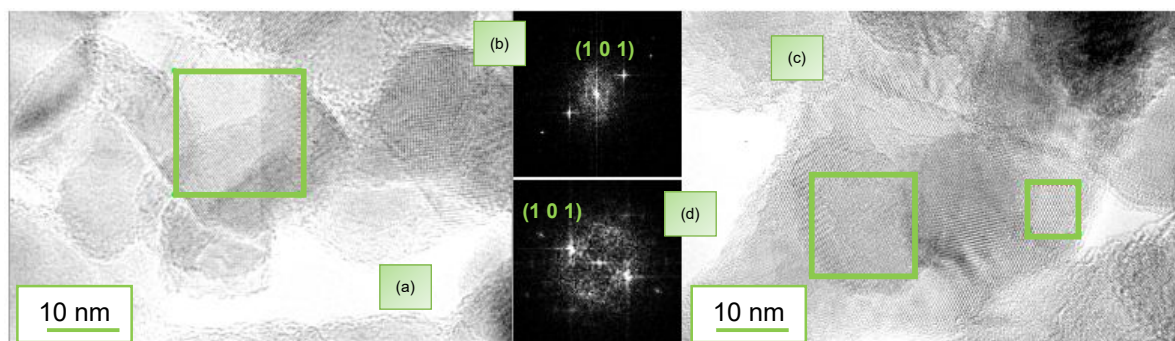


Figura 3.25 Micrográficas en TEM de TiNPs Puebla pH 12 (a y c), análisis FFT (b y d).

Las TiNPs Puebla pH 12 tienen una forma cúbica de composición TiO_2 de acuerdo con la Tarjeta PDF 78-2486, (Thakur et al., 2019), sintetizaron nanopartículas con extracto de *Azadirachta indica*, y encontraron resultados similares a los del presente trabajo.

Las TiNPs Puebla pH 7 (Figura 3.26), se encuentran aglomeradas y de formas no definidas, poseen un tamaño de partícula de 25 nm a 40 nm.

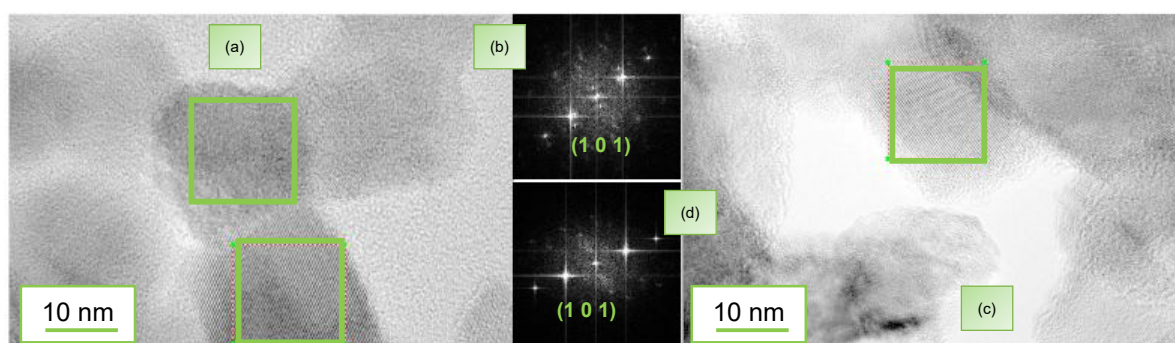


Figura 3.26 Micrografías en TEM de TiNPs Puebla pH 7 (a y c), análisis FFT (b y d).

Las TiNPs poseen una estructura cúbica de composición TiO_2 (Tarjeta PDF 78-2486), todas las TiNPs analizadas presentaron una estructura y composición uniformes, Srinivasan et al., (2019), sintetizaron nanopartículas de titanio con extracto de *Sesbania grandiflora* y presentaron resultados similares.

En la Figura 3.26 (a y c) se presentan las micrografías de las TiNPs Puebla a pH 4, se observan estructuras no definidas y forman aglomerados, el tamaño de la nanopartícula varía desde los 25 nm hasta los 50 nm.

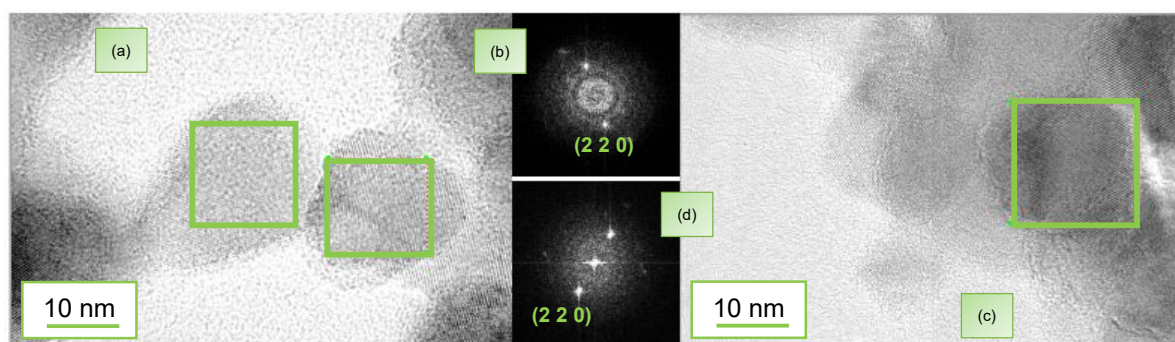


Figura 3.27 Micrografías en TEM de TiNPs Puebla pH 4 (a y c), análisis FFT (b y d).

Todas las TiNPs analizadas tienen una estructura cúbica de composición TiO_2 (Tarjeta PDF 78-2486). Resultados similares son presentados por Manikandan et al., (2018), quienes emplearon *Moringa oleífera* para la síntesis de nanopartículas de TiO_2 .

De acuerdo con los resultados de caracterización presentados, no se observa que el valor de pH utilizado para la síntesis muestra una influencia determinante en el tamaño, forma o composición de las nanopartículas. Estos tres parámetros varían para los tres valores de pH tanto para las muestras metalizadas sintetizadas con lirios del EMex o de Puebla.

Es de hacer notar el caso de las CuNPs que son las únicas que al utilizar tanto los lirios del EMex como los de Puebla, se sintetizaron con la misma estructura cristalina, la misma composición y solo varían en el tamaño de acuerdo con la variación de pH. Las AgNPs para ambos tipos de lirio, en su mayoría son hexagonales, la composición determinada con mayor frecuencia corresponde al Ag_2O y el tamaño es del mismo orden con ambos lirios.

Por último, las TiNPs muestran diversidad en la composición, la estructura y la composición, no hay ninguna estructura o composición dominantes, donde tienen una mayor similitud es en el tamaño que muestran y que para ambos lirios son del mismo orden para cada valor de pH.

3.2 Pruebas de actividad microbici

3.2.1 AgNPs

Diferentes concentraciones de nanopartículas se probaron para conocer el efecto inhibitorio ante la bacteria modelo *Escherichia coli*. En cada prueba, se probaron tres diferentes concentraciones 100, 50 y 10 mg/L de nanopartículas de AgNPs EMex, después de realizar el sembrado de las UFC/mL y después de un periodo de incubación de 24 h, se obtuvieron los resultados.

RESULTADOS

La actividad antibacteriana de las AgNPs EMex se muestra en la Tabla 3.1. Los resultados demostraron que, todas las formulaciones a una dilución de inóculo de 1×10^{-3} a 1×10^{-7} tuvieron una buena inhibición. El conteo de UFC en las placas de concentraciones del inóculo desde 1×10^{-1} hasta 1×10^{-5} , el crecimiento de bacterias fue elevado haciendo incontable el número de colonias.

Las AgNPs mostraron efectos inhibitorios significativamente notables, solo hasta que trabajó con diluciones de inóculo 1×10^{-3} y 1×10^{-7} . Sriramulu et al., (2020), demostraron que la síntesis de AgNPs con extracto de hoja de nabo, muestran nanopartículas con una actividad microbicida y antifúngica de amplio espectro.

Tabla 3.1 Cuenta en placa del crecimiento de *Escherichia coli*, con diferentes concentraciones de inóculo y AgNPs EMex.

AgNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de AgNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	270 ± 4	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	Inc.	166 ± 1	309 ± 5	Inc.
1×10^{-5}	742 ± 0	54 ± 8	119 ± 2	540 ± 4
1×10^{-6}	609 ± 14	3 ± 1	18 ± 1	69 ± 1
1×10^{-7}	244 ± 6	0 ± 0	1 ± 1	6 ± 1
AgNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	105 ± 13	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	54 ± 11	739 ± 29	
1×10^{-3}	Inc.	1 ± 0	332 ± 53	65 ± 90
1×10^{-4}	1485 ± 16	0 ± 0	150 ± 19	481 ± 13
1×10^{-5}	392 ± 6	0 ± 0	15 ± 4	167 ± 18
1×10^{-6}	180 ± 8	0 ± 0	0 ± 0	118 ± 15
1×10^{-7}	24 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 1
AgNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	659 ± 34	527 ± 81	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	355 ± 10	341 ± 19	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	145 ± 16	168 ± 13	1515 ± 39
1×10^{-4}	1485 ± 16	3 ± 1	60 ± 12	868 ± 23
1×10^{-5}	392 ± 6	0 ± 0	1 ± 0	145 ± 20
1×10^{-6}	180 ± 8	0 ± 0	0 ± 0	50 ± 17
1×10^{-7}	24 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	6 ± 0

*Inc. Incontable.

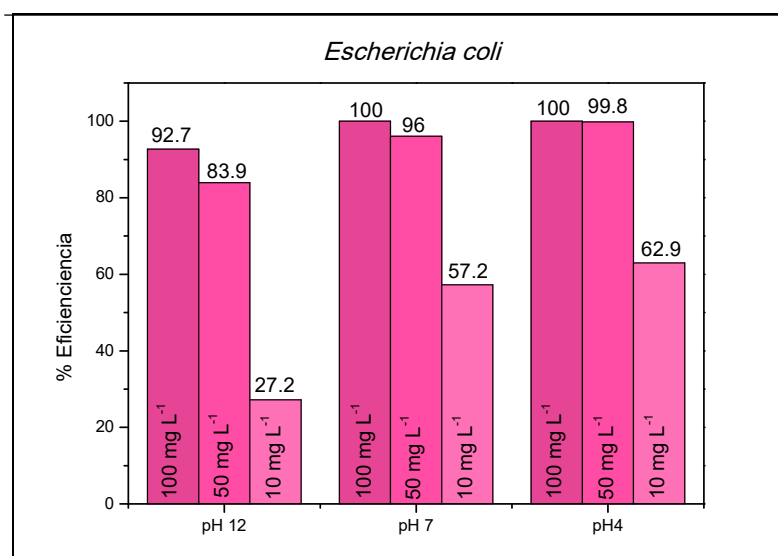


Gráfico 3.17 Eficiencia de AgNPs EMex en contacto con *Escherichia coli*.

Se probó la actividad antibacteriana de AgNPs EMex en contacto con *Staphylococcus aureus*, los resultados se encuentran en la Tabla 3.2, el crecimiento de *S. aureus* expuesta a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L de AgNPs muestra una inhibición dependiente a la concentración, revelando la mejor eficiencia a 100 mg/L y una dilución del inóculo de 1×10^{-1} para las AgNPs EMex pH 4.

La inhibición del crecimiento de *S. aureus* por las AgNPs EMex a pH 12, pH 7 y pH 4, siempre es mejor a concentraciones de 100 mg/L, pero también se observa que conforme va disminuyendo el pH con el que fueron sintetizadas las nanopartículas, aumenta su actividad microbica, indicando que el efecto bactericida de las AgNPs puede deberse a la capacidad de generar especies reactivas de oxígeno, de ahí que las NPs a pH ácidos puedan tener mayor capacidad de inhibición bactericida. La actividad microbica de las AgNPs a pH ácido en contacto con *E. coli*, reflejan un comportamiento similar, y aunque es menor su eficiencia bactericida se observa un patrón de comportamiento, y es que a mayor concentración de NPs es más notable el efecto microbica. Gabrielyan et al., (2020), indicaron que, la intensidad de los efectos bactericidas de las NPs depende de la concentración y de la cepa bacteriana con la que se esté trabajando, por lo que las AgNPs son más efectivas contra *S. aureus* que contra *E. coli*.

RESULTADOS

Tabla 3.2 Cuenta en placa del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, con diferentes concentraciones de inóculo y AgNPs EMex.

AgNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de AgNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	636 ± 7	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	359 ± 4	732 ± 5	863 ± 13
1x10 ⁻⁴	1494 ± 7	198 ± 12	516 ± 13	647 ± 3
1x10 ⁻⁵	615 ± 1	94 ± 2	197 ± 1	473 ± 3
1x10 ⁻⁶	261 ± 3	31 ± 5	75 ± 0	193 ± 8
1x10 ⁻⁷	114 ± 1	0 ± 0	13 ± 2	54 ± 4
AgNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	617 ± 5	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	480 ± 8	739 ± 13	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	252 ± 7	437 ± 20	585 ± 12
1x10 ⁻⁴	1494 ± 7	97 ± 2	193 ± 16	361 ± 5
1x10 ⁻⁵	615 ± 1	14 ± 2	10 ± 0	113 ± 2
1x10 ⁻⁶	261 ± 3	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 1
1x10 ⁻⁷	114 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
AgNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	462 ± 9	351 ± 6	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	369 ± 4	183 ± 2	625 ± 1
1x10 ⁻³	Inc.	135 ± 1	95 ± 5	421 ± 4
1x10 ⁻⁴	1494 ± 7	0 ± 0	2 ± 0	117 ± 12
1x10 ⁻⁵	615 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	45 ± 3
1x10 ⁻⁶	261 ± 3	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
1x10 ⁻⁷	114 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

*Inc. Incontable.

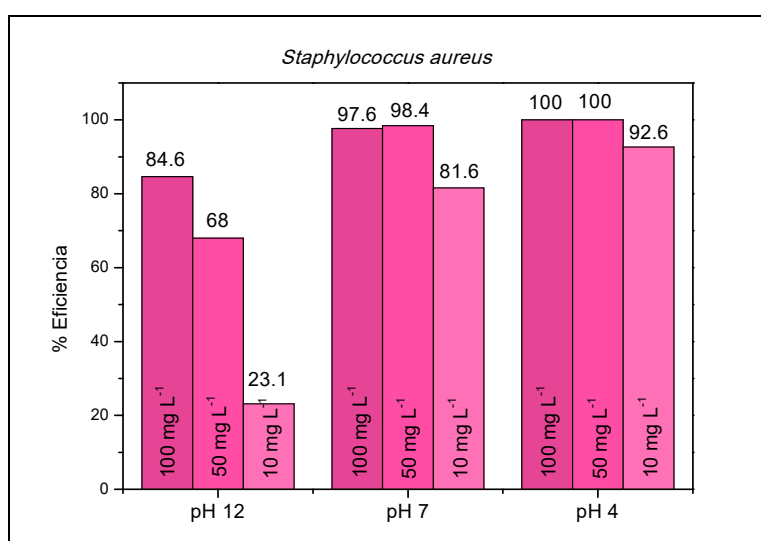


Gráfico 3.18 Eficiencia de AgNPs EMex en contacto con *Staphylococcus aureus*.

De acuerdo con el comportamiento fotocatalítico de las muestras, de nuevo se observa que el pH ácido de síntesis resulta en las nanopartículas más eficientes en fotocatálisis y microbiología, siendo a pH 4 las nanopartículas que atacan las concentraciones mayores de microorganismos. Por parte de la concentración inicial, se observa que a menor concentración menor efecto bactericida. En cuanto a la caracterización, las AgNPs EMex a pH 4 y pH 7 tienen la misma composición y estructura.

Las AgNPs pueden interactuar con la superficie de las membranas bacterianas y alterar la permeabilidad celular, penetrar en las células bacterianas, o penetrar en las células liberando iones Ag^+ , lo que puede conducir a la generación de ROS (Reactive Oxygen Species), causando daños en la membrana celular, induciendo a la lisis y, en consecuencia, la muerte celular (Silva et al., 2019). Como sucede son las células bacterianas de *E. coli*, las cuales demostraron una inhibición significativa a una dilución de inóculo más baja de 1×10^{-3} para AgNPs EMex pH 12 y pH 7. La comparación se manifiesta por la reducción del número de bacterias a medida que aumenta la concentración de las NPs. Se observa también que las AgNPs EMex muestra un mejor efecto bactericida con el *S. aureus*, ya que requiere una menor concentración para inhibir el crecimiento bacteriano.

3.2.2 AgNPs Puebla

Las nanopartículas de plata sintetizadas con extracto de *E. crassipes* proveniente del Estado de Puebla fueron sometidas a pruebas de actividad microbica, los resultados se presentan en la Tabla 3.3. Las AgNPs Puebla exhiben una actividad antibacteriana eficaz contra *E. coli*, la mejor inhibición fue obtenida para las AgNPs Puebla pH 12 para una dilución de inóculo de 1×10^{-2} en comparación con las AgNPs Puebla a pH neutro y ácido quienes a concentraciones de 100 mg/L de NPs comienzan a tener una actividad microbica observable a diluciones de inóculo de 1×10^{-5} UFC/mL.

Se observa que para AgNPs Puebla, el efecto bactericida es muy parecido entre las AgNPs Puebla pH 12 y 7, además, con estas nanopartículas es mucho menos notorio

RESULTADOS

que a menor concentración menor efecto bactericida, como se observa para las AgNPs EMex.

En estos resultados tampoco se nota la influencia debida a la estructura de las nanopartículas que en todos los casos es hexagonal, y para la composición tampoco hay un efecto ya que es la misma a pH 12 y 4 a pesar de sus diferencias en el porcentaje microbicida.

Tabla 3.3 Cuenta en placa del crecimiento de *Escherichia coli*, con diferentes concentraciones de inóculo y AgNPs Puebla.

AgNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de AgNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	377 ± 7	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	174 ± 12	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	Inc.	85 ± 4	266 ± 7	394 ± 7
1×10^{-5}	1980 ± 5	9 ± 4	65 ± 5	114 ± 3
1×10^{-6}	695 ± 8	0 ± 0	4 ± 2	4 ± 1
1×10^{-7}	290 ± 10	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
AgNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	384 ± 10	576 ± 15	Inc.
1×10^{-4}	Inc.	184 ± 12	365 ± 16	317 ± 6
1×10^{-5}	1980 ± 5	63 ± 4	60 ± 13	163 ± 3
1×10^{-6}	695 ± 8	0 ± 0	0 ± 0	28 ± 3
1×10^{-7}	290 ± 10	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 2
AgNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-5}	1980 ± 5	558 ± 4	682 ± 13	748 ± 13
1×10^{-6}	695 ± 8	70 ± 1	190 ± 13	237 ± 19
1×10^{-7}	290 ± 10	6 ± 1	17 ± 2	27 ± 1

Inc. Incontable.

Como previamente se ha observado, las AgNPs muestran un efecto bactericida más pronunciado que otras nanopartículas estudiadas, además de que muestran más efecto microbicida a bajas concentraciones. En la Tabla 3.4 se presentan los resultados de las AgNPs Puebla en contacto con *Staphylococcus aureus*.

RESULTADOS

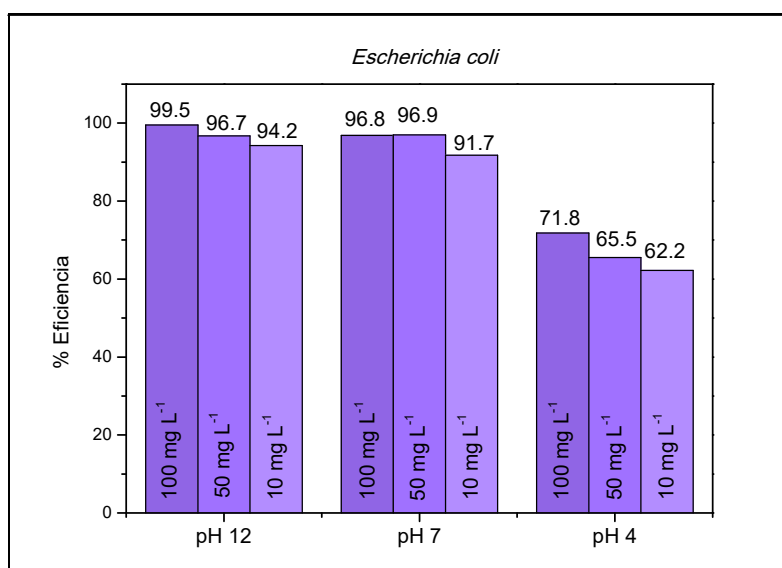


Gráfico 3.19 Eficiencia de AgNPs Puebla en contacto con *Escherichia coli*.

Tabla 3.4 Cuenta en placa del crecimiento *Staphylococcus aureus*, con diferentes concentraciones de inóculo y AgNPs Puebla.

AgNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de AgNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	954 ± 8	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	Inc.	532 ± 18	614 ± 4	757 ± 11
1x10 ⁻⁵	898 ± 3	132 ± 10	255 ± 2	351 ± 16
1x10 ⁻⁶	257 ± 1	75 ± 2	86 ± 4	178 ± 2
1x10 ⁻⁷	95 ± 3	9 ± 0	15 ± 1	24 ± 2
AgNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	596 ± 1	674 ± 14	774 ± 15
1x10 ⁻⁴	Inc.	236 ± 9	350 ± 30	484 ± 3
1x10 ⁻⁵	898 ± 3	94 ± 3	145 ± 2	274 ± 2
1x10 ⁻⁶	257 ± 1	54 ± 1	76 ± 2	95 ± 1
1x10 ⁻⁷	95 ± 3	0 ± 0	5 ± 1	14 ± 2
AgNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	413 ± 2	476 ± 3	524 ± 4
1x10 ⁻⁴	Inc.	113 ± 2	235 ± 1	292 ± 5
1x10 ⁻⁵	898 ± 3	0 ± 0	77 ± 2	95 ± 1
1x10 ⁻⁶	257 ± 1	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 0
1x10 ⁻⁷	95 ± 3	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Inc. Incontable.

El grado de inhibición de las AgNPs EMex y AgNPs Puebla contra *E. coli* y *S. aureus* es cualitativamente similar Vu et al., (2018), sugieren que la toxicidad de las AgNPs se debe principalmente al estrés oxidativo propio de las AgNPs.

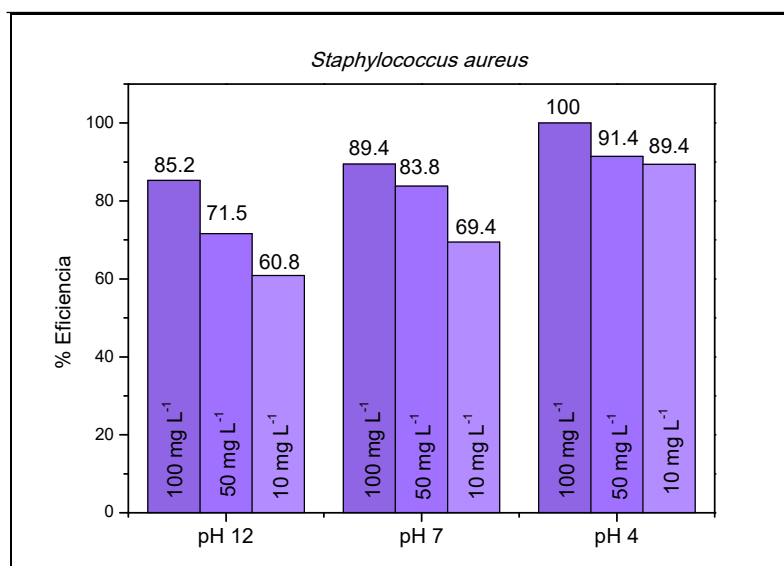


Gráfico 3.20 Eficiencia de AgNPs Puebla en contacto con *Staphylococcus aureus*.

3.2.3 CuNPs EMex

El cobre por naturaleza es un potente agente antimicrobiano y es capaz de reducir la concentración de microorganismos hasta en un 99.9%. Las CuNPs muestran una significativa actividad microbicida contra *Staphylococcus aureus* y *Escherichia coli*. Las propiedades bactericidas de las CuNPs se deben principalmente a la liberación de cationes de cobre (Cu⁺), los cuales se adhieren a la pared celular de la bacteria mediante atracción electrostática. Además, los iones metálicos no solamente interactúan con la superficie de la membrana, también penetran dentro de la bacteria (Rajesh et al., 2018). Los ensayos de inhibición del crecimiento de *E. coli*, se muestra en la Tabla 3.5, se observan disminuciones dependientes de las dosis en el crecimiento bacteriano, de manera notable se observó un decremento de la cepa de hasta el 99% cuando ésta, es expuesta a concentraciones de 100 y 50 mg/L y para diluciones de inóculo fue de 1x10⁻⁶ y 1x10⁻⁷ UFC/mL.

RESULTADOS

Tabla 3.5 Cuenta en placa del crecimiento de *Escherichia coli*, con diferentes concentraciones de inóculo y CuNPs EMex.

CuNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de CuNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-5}	742 ± 0	109 ± 1	212 ± 2	486 ± 4
1×10^{-6}	609 ± 14	3 ± 1	16 ± 1	156 ± 5
1×10^{-7}	244 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	37 ± 2
CuNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	1762 ± 18	533 ± 30	687 ± 19	718 ± 47
1×10^{-5}	796 ± 4	427 ± 62	448 ± 15	535 ± 23
1×10^{-6}	254 ± 4	156 ± 24	116 ± 7	151 ± 4
1×10^{-7}	116 ± 4	15 ± 1	16 ± 1	14 ± 4
CuNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	1562 ± 257	663 ± 21	708 ± 135	1039 ± 31
1×10^{-5}	756 ± 62	581 ± 6	591 ± 73	763 ± 4
1×10^{-6}	254 ± 5	124 ± 6	121 ± 24	130 ± 4
1×10^{-7}	116 ± 6	12 ± 2	12 ± 1	14 ± 4

*Inc. Incontable.

Para concentraciones de CuNPs EMex pH 7 y pH 4 exhiben una inhibición del crecimiento mayor, en comparación con las CuNPs EMex pH 12. En el estudio fotocatalítico, se observó que las CuNPs EMex pH 4 degradaban un poco más que las CuNPs EMex pH 12 y pH 7, no existe alguna otra variable que influya en el efecto microbiológico ya que como se mostró en la caracterización, en tamaño, forma y composición, las CuNPs no tienen diferencia. Asimismo, para *E. coli* se observa que la concentración inicial influye en el efecto microbiciida ya que a mayor concentración mejor efecto.

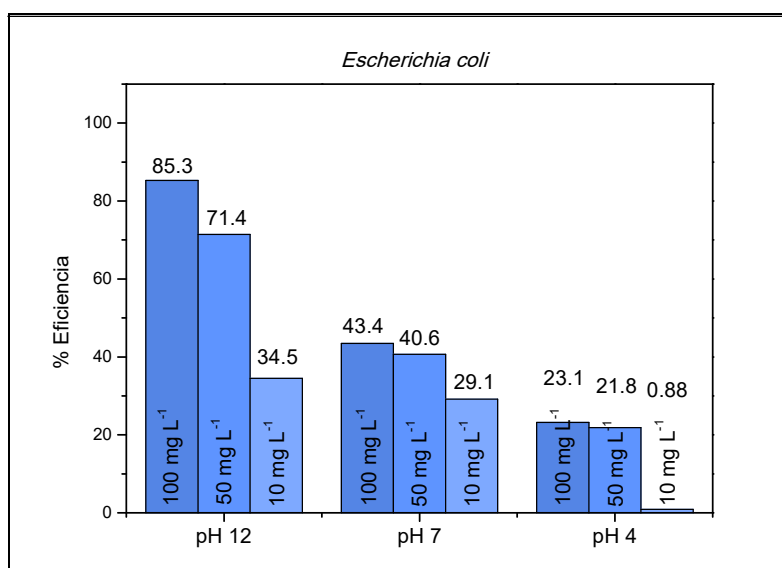


Gráfico 3.21 Eficiencia de CuNPs EMex en contacto con *Escherichia coli*.

Es notable que el crecimiento bacteriano se reduce para CuNPs EMex pH 4, observando su mejor eficiencia a una concentración de 100 mg/L, reduciéndose aproximadamente dos veces en magnitud a la misma concentración en comparación con las AgNPs pH 12 y pH 7.

La *S. aureus* (Gram positiva) exhibió una toxicidad elevada para todas las CuNPs en relación con la *E.coli* (Gram negativa), lo que sugiere, que la estructura de doble membrana que se encuentra específicamente en las bacterias Gram negativas juega un papel fundamental en la protección contra toxicidad de las nanopartículas metálicas de cobre, así también lo sugiere Kaweeteerawat et al., (2015), quienes mencionan que las bacterias Gram positivas son más sensibles a las nanopartículas en comparación con las Gram negativas en el caso de las CuNPs.

En la Tabla 3.6, se presentan los resultados obtenidos de la evaluación microbica de CuNPs EMex, contra *S. aureus*. Las CuNPs disminuyen eficazmente el crecimiento de *S. aureus*.

RESULTADOS

Tabla 3.6 Cuenta en placa del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, con diferentes concentraciones de inóculo y CuNPs EMex.

CuNPs EMex pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de CuNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	3657 ± 3	1814 ± 66	2376 ± 19	3090 ± 7
1x10 ⁻⁵	1671 ± 13	150 ± 13	164 ± 13	352 ± 5
1x10 ⁻⁶	619 ± 30	55 ± 14	43 ± 6	74 ± 9
1x10 ⁻⁷	195 ± 5	9 ± 0	1 ± 1	5 ± 0
CuNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	3657 ± 3	1101 ± 11	1450 ± 9	2408 ± 6
1x10 ⁻⁵	1671 ± 13	30 ± 1	47 ± 1	78 ± 1
1x10 ⁻⁶	619 ± 30	4 ± 2	11 ± 0	5 ± 1
1x10 ⁻⁷	195 ± 5	2 ± 0	3 ± 2	0 ± 0
CuNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	784 ± 14	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	3657 ± 3	105 ± 2	150 ± 7	276 ± 3
1x10 ⁻⁵	1671 ± 13	13 ± 1	16 ± 2	34 ± 1
1x10 ⁻⁶	619 ± 30	0 ± 0	1 ± 0	8 ± 1
1x10 ⁻⁷	195 ± 5	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

*Inc. Incontable

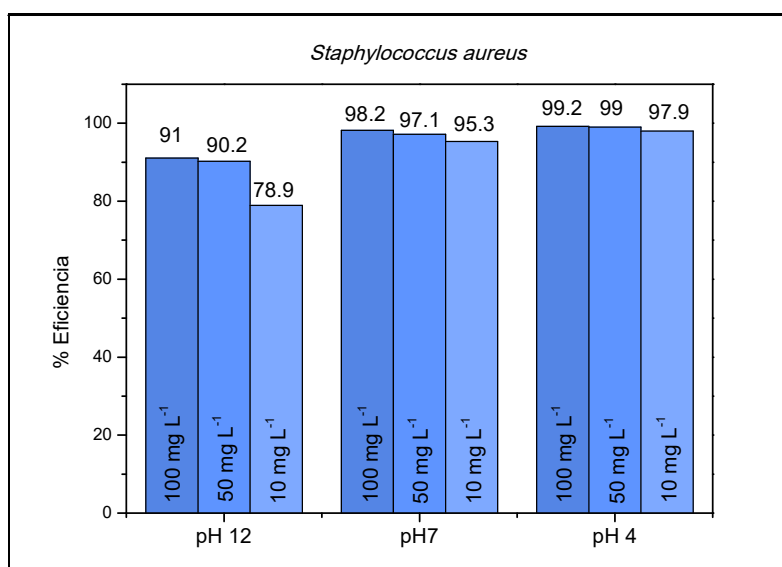


Gráfico 3.22 Eficiencia de CuNPs EMex en contacto con *Staphylococcus aureus*.

Con *S. aureus* se notan menos diferencias significativas entre CuNPs EMex pH 7 y 4; de acuerdo con los análisis por TEM se sabe que no hay diferencias significativas en cuanto a composición, estructura y tamaño, caso contrario a la *E. coli*, las CuNPs EMex pH 4 funcionan de manera más eficiente con *S. aureus*.

Estos resultados pueden referirse a las diferencias en la pared celular de cada cepa, la pared celular de las cepas Gram negativas (*E. coli*) es más ancha que la de las cepas Gram positivas (*S. aureus*). Esto se debe probablemente a que la toxicidad de los iones de cobre sobre *S. aureus* incluye una rápida degradación del ADN, seguida de una reducción de la respiración bacteriana, también se sabe que los iones de cobre inhiben ciertos citocromos de la membrana (Chien et al., 2021).

3.2.4 CuNPs Puebla

La actividad microbica de las CuNPs Puebla evaluada contra las bacterias Gram negativa (*E. coli*) y Gram positiva (*S. aureus*) (Tabla 3.7). Los resultados claramente mostraron que las CuNPs exhiben una mejor actividad microbica contra *S. aureus* seguidas por *E. coli*. Las CuNPs tienen una alta reactividad debido a su gran área superficial que les permite interactúa con las paredes celulares bacterianas así lo explica Vasantharaj et al., (2019).

Los resultados muestran que a concentraciones de 100 mg/L se obtiene las mejores inhibiciones contra la bacteria, por otra parte las CuNPs Puebla pH 4 tienen el mejor desempeño microbica, para todas las concentraciones de NPs empleadas. Sin embargo, el efecto microbica disminuye con respecto a la concentración de las NPs presentes en el medio, pero a comparación con las CuNPs Puebla pH 12 y pH 7, entre estas dos hay un aumento microbica significativo para las CuNPs Puebla pH 12 pero sigue siendo menor la eficiencia en comparación con las CuNPs Puebla pH 4 para una dilución del inóculo de 1×10^{-4} , ya que éstas logran disminuir al doble la cantidad de bacterias presentes en el inóculo.

RESULTADOS

Tabla 3.7 Cuenta en placa del crecimiento de *Escherichia coli*, con diferentes concentraciones de inóculo y CuNPs Puebla.

CuNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de CuNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	Inc.	632 ± 12	727 ± 8	877 ± 16
1x10 ⁻⁵	1169 ± 10	107 ± 12	169 ± 21	263 ± 11
1x10 ⁻⁶	238 ± 12	77 ± 1	96 ± 3	120 ± 3
1x10 ⁻⁷	150 ± 10	21 ± 9	7 ± 2	23 ± 1
CuNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁵	1169 ± 10	465 ± 10	679 ± 18	857 ± 28
1x10 ⁻⁶	238 ± 12	140 ± 18	145 ± 6	217 ± 17
1x10 ⁻⁷	150 ± 10	18 ± 7	22 ± 4	21 ± 5
CuNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	318 ± 64	602 ± 23	Inc.
1x10 ⁻⁴	Inc.	162 ± 4	56 ± 4	779 ± 14
1x10 ⁻⁵	1169 ± 10	6 ± 2	12 ± 4	450 ± 25
1x10 ⁻⁶	238 ± 12	0 ± 0	2 ± 0	120 ± 8
1x10 ⁻⁷	150 ± 10	0 ± 0	0 ± 0	22 ± 2

Inc. Incontable.

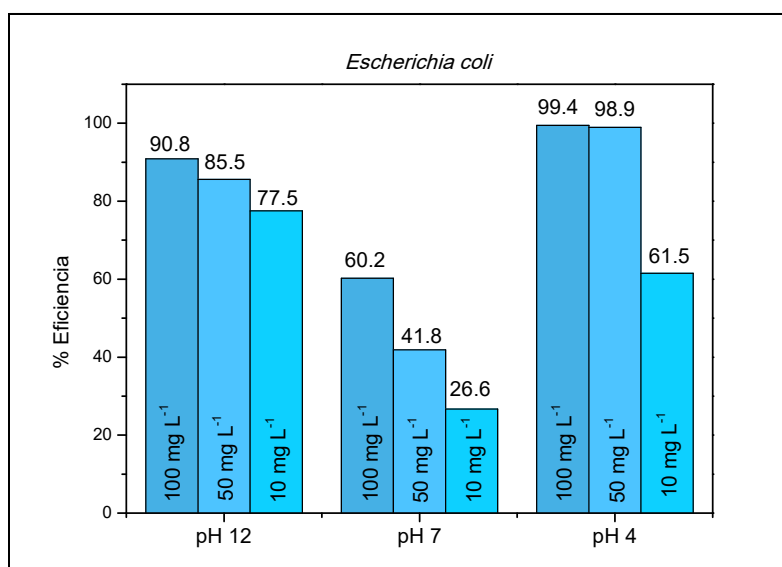


Gráfico 3.23 Eficiencia de CuNPs Puebla en contacto con *Escherichia coli*.

RESULTADOS

Se vuelve factor notable la comparación entre las CuNPs Puebla con las CuNPs EMex, y es debido a que el efecto microbicida está invertido, es decir, en las CuNPs Puebla las nanopartículas que tienen una mayor eficiencia son las sintetizadas a pH 4, y las de menor son las de pH 7, mientras que las CuNPs EMex tienen una mejor eficiencia microbicida a pH 12 y el menor es a pH 4. Para ambas nanopartículas, el tamaño, forma y composición es el mismo para los tres valores de pH por lo que la variable de mayor influencia será el pH utilizado para la síntesis.

Los resultados del contacto de *S. aureus* con CuNPs Puebla se muestran en la Tabla 3.8. En principio se pueden observar diferencias significativas en la eficiencia microbicida.

Tabla 3.8 Cuenta en placa del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, con diferentes concentraciones de inóculo y CuNPs Puebla.

CuNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de CuNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	1457 ± 22	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁵	849 ± 28	332 ± 12	636 ± 10	769 ± 21
1x10 ⁻⁶	344 ± 23	87 ± 6	185 ± 9	246 ± 7
1x10 ⁻⁷	123 ± 3	6 ± 1	12 ± 2	19 ± 3
CuNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	1457 ± 22	114 ± 11	543 ± 18	646 ± 10
1x10 ⁻⁵	849 ± 28	94 ± 3	81 ± 3	354 ± 12
1x10 ⁻⁶	344 ± 23	28 ± 3	7 ± 2	165 ± 9
1x10 ⁻⁷	123 ± 3	1 ± 0	2 ± 1	15 ± 4
CuNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	1457 ± 22	1120 ± 15	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁵	849 ± 28	137 ± 3	405 ± 4	491 ± 9
1x10 ⁻⁶	344 ± 23	35 ± 2	44 ± 3	66 ± 3
1x10 ⁻⁷	123 ± 3	0 ± 0	0 ± 0	3 ± 0

Inc. Incontable.

RESULTADOS

El efecto de inhibición de CuNPs sobre las bacterias Gram negativas fue mayor que el de las bacterias Gram positivas, lo que puede deberse principalmente a las diferencias en las estructuras de las membranas bacterianas. Sharmila et al., (2018). Sintetizaron CuNPs empleando extracto de la hoja de *Bauhinia tomentosa* los resultados indicaron que las CuNPs son un buen agente antibacteriano.

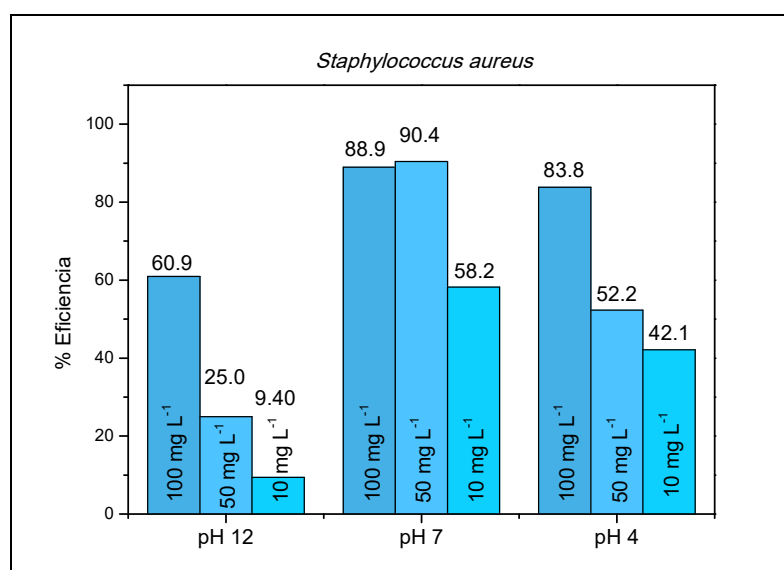


Gráfico 3.24 Eficiencia de CuNPs Puebla en contacto con *Staphylococcus aureus*.

Las CuNPs Puebla en contacto con *E. coli* son más eficientes que para *S. aureus* (Gráfica 3.31), efecto opuesto es obtenido con las CuNPs EMex, el pH 7 posee una mejor eficiencia en general. Es de notar que a diferencia con *E. coli*, no se aprecia una variable con una influencia significativa en la capacidad bactericida. Joshi et al., (2019), en su publicación mencionan que la alta eficiencia de las CuNPs en contacto con *S. aureus* se atribuye a las características de la membrana celular. Las nanopartículas de tamaño pequeño se acumulan en la superficie de las bacterias las cuales las absorben, provocando la perturbación de la integridad celular bacteriana, y tras llegar al interior de la célula, las ZnNPs producen ROS (Khajuria et al., 2019).

3.2.5 ZnNPs EMex

El efecto de la concentración de ZnNPs sobre el crecimiento de *E. coli* se muestra en la Tabla 3.9. A una concentración de 10 mg/L y dilución de 1×10^{-6} UFC/mL se inhibe el 44% de las bacterias, pero nunca se alcanza a erradicar el crecimiento de las UFC, incluso a una concentración de 100 mg/L de ZnNPs EMex que solo inhibe el 84%.

Tabla 3.9 Cuenta en placa del crecimiento de *Escherichia coli*, con diferentes concentraciones de inóculo y ZnNPs EMex.

ZnNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de ZnNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-5}	742 $\pm$ 0	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-6}	609 $\pm$ 14	177 $\pm$ 4	240 $\pm$ 14	343 $\pm$ 8
1×10^{-7}	244 $\pm$ 6	37 $\pm$ 2	48 $\pm$ 1	71 $\pm$ 2
ZnNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	878 $\pm$ 11	724 $\pm$ 4	775 $\pm$ 7	782 $\pm$ 10
1×10^{-5}	662 $\pm$ 29	468 $\pm$ 33	563 $\pm$ 21	656 $\pm$ 13
1×10^{-6}	587 $\pm$ 3	276 $\pm$ 13	367 $\pm$ 7	422 $\pm$ 14
1×10^{-7}	208 $\pm$ 1	98 $\pm$ 2	89 $\pm$ 4	108 $\pm$ 2
ZnNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	878 $\pm$ 11	742 $\pm$ 21	756 $\pm$ 23	783 $\pm$ 11
1×10^{-5}	662 $\pm$ 29	523 $\pm$ 23	634 $\pm$ 14	681 $\pm$ 14
1×10^{-6}	587 $\pm$ 3	260 $\pm$ 9	369 $\pm$ 26	425 $\pm$ 27
1×10^{-7}	208 $\pm$ 1	54 $\pm$ 2	73 $\pm$ 1	110 $\pm$ 6

*Inc. Incontable.

Para las diluciones de inóculo correspondientes a 1×10^{-5} UFC/ mL no se determinó la MCB (mínima concentración bactericida), ya que la concentración máxima de ZnNPs

RESULTADOS

que fue posible probar no fue inhibitoria. Saif et al., (2021), emplearon ZnNPs con un tamaño promedio de 4 a 5 nm, para inhibir el crecimiento de las bacterias Gram negativas, y observó que las ZnNPs solo podían penetrar en pocas células bacterianas, principalmente cuando se desarrollaba el proceso de división celular explicando de esta manera que las ZnNPs modificaban el peptidoglucano de la pared celular Gram negativa, esto se debe a que durante la división, la pared celular se vuelve más vulnerable específicamente en la red de mureína, la cual consiste en peptidoglucanos reticulados, los cuales necesitan ser escondidos para que el área del sacro sea más flexible permitiendo así la separación de la célula hija. Explicando así la resistencia que tienen las bacterias Gram negativas a las ZnNPs, hecho que también se puede observar en este trabajo de investigación.

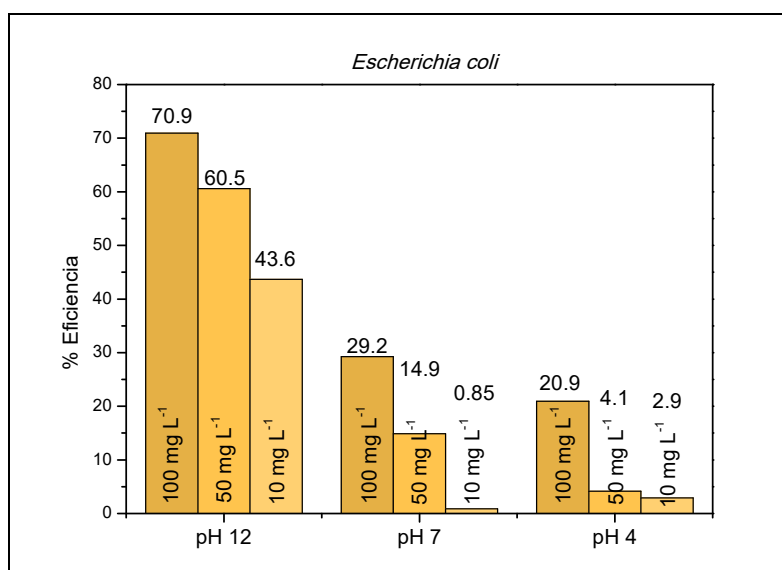


Gráfico 3.25 Eficiencia de ZnNPs EMex en contacto con *Escherichia coli*.

Es de notar que a mayor concentración inicial mayor efecto microbicida se observará, referente a las características de las nanopartículas las ZnNPs pH 12 y pH 7 tienen una estructura cúbica y la misma composición ZnO₂, mientras que a pH 4 las características cambian.

RESULTADOS

La evaluación del efecto de las ZnNPs EMex sobre *S. aureus* se muestra en la Tabla 3.10, se muestra que las ZnNPs EMex exhiben una actividad antimicrobiana creciente contra *S. aureus* a medida que aumentaba su concentración, este mismo comportamiento lo observó Liu et al., (2009), quien empleó nanopartículas de ZnO a concentraciones de 12 mMol, el crecimiento de *S. aureus* fue completamente inhibido presentando una ausencia de colonias en placas de TSA.

Tabla 3.10 Cuenta en placa del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, con diferentes concentraciones de inóculo y ZnNPs EMex.

ZnNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de ZnNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	2032 ± 8	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	3052 ± 52	784 ± 9	957 ± 4	1447 ± 9
1×10^{-5}	1211 ± 25	287 ± 20	368 ± 9	519 ± 31
1×10^{-6}	675 ± 21	37 ± 8	105 ± 8	172 ± 13
1×10^{-7}	121 ± 7	$1 \pm$	13 ± 2	21 ± 3
ZnNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	1889 ± 12	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	3052 ± 52	170 ± 20	1057 ± 13	889 ± 7
1×10^{-5}	1211 ± 25	12 ± 2	473 ± 29	146 ± 10
1×10^{-6}	675 ± 21	3 ± 2	31 ± 1	62 ± 5
1×10^{-7}	121 ± 7	0 ± 0	1 ± 0	9 ± 1
ZnNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	1462 ± 14	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	278 ± 12	963 ± 10	1136 ± 14
1×10^{-4}	3052 ± 52	42 ± 8	152 ± 15	385 ± 11
1×10^{-5}	1211 ± 25	34 ± 2	51 ± 1	71 ± 5
1×10^{-6}	675 ± 21	0 ± 0	3 ± 1	16 ± 2
1×10^{-7}	121 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1

*Inc. Incontable

La eficiencia de las ZnNPs EMex sobre *S. aureus* se muestra en el Gráfico 3.34.

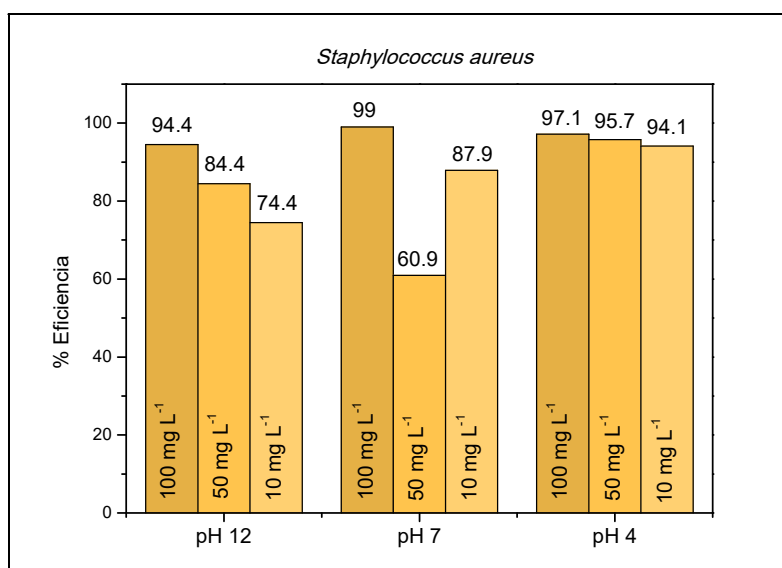


Gráfico 3.26 Eficiencia de ZnNPs EMex en contacto con *Staphylococcus aureus*.

De nueva cuenta se observa que, a mayor concentración inicial, se tiene un mejor efecto microbicida. Con respecto al pH de síntesis los mejores resultados fueron obtenidos por las ZnNPs pH 4, las cuales inhibieron el crecimiento de las bacterias Gram positivas hasta en diluciones de 1×10^{-4} UFC/ mL. Asimismo, las ZnNPs vuelven a ser más eficientes en todos los pH de síntesis para las *S. aureus*.

3.2.6 FeNPs EMex

Los resultados obtenidos de la actividad microbicida de las FeNPs EMex contra la bacteria *E. coli* se muestran en la Tabla 3. 11, en la cual se observa que el crecimiento de las células bacterianas fue menor en comparación con las placas de control positivo, este comportamiento sugiere que las FeNPs EMex pueden entrar en la membrana e inhibir el crecimiento bacteriano. Madivoli et al., (2019), sintetizaron nanopartículas de hierro mediante extracto de *Ageratum conyzoides*, y mencionan que a tamaños más pequeños las FeNPs interactúan fácilmente con las células bacterianas absorbiéndose a través de la membrana celular e interactuar con el ADN bacteriano, para finalmente conducir a la muerte celular.

RESULTADOS

Tabla 3.11 Cuenta en placa del crecimiento de *Escherichia coli*, con diferentes concentraciones de inóculo y FeNPs EMex.

FeNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de ZnNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	1305 ± 15	922 ± 27	679 ± 27	867 ± 34
1x10 ⁻⁵	1034 ± 25	273 ± 33	496 ± 68	455 ± 31
1x10 ⁻⁶	683 ± 13	138 ± 8	300 ± 30	326 ± 29
1x10 ⁻⁷	93 ± 15	49 ± 24	18 ± 7	50 ± 7
FeNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	1305 ± 15	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁵	1034 ± 25	484 ± 19	602 ± 42	1068 ± 21
1x10 ⁻⁶	683 ± 13	184 ± 12	156 ± 5	177 ± 17
1x10 ⁻⁷	93 ± 15	20 ± 3	19 ± 4	14 ± 0
FeNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	1305 ± 15	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁵	1034 ± 25	307 ± 23	536 ± 18	700 ± 31
1x10 ⁻⁶	683 ± 13	182 ± 23	166 ± 11	161 ± 22
1x10 ⁻⁷	93 ± 15	16 ± 5	14 ± 2	17 ± 3

*Inc. Incontable.

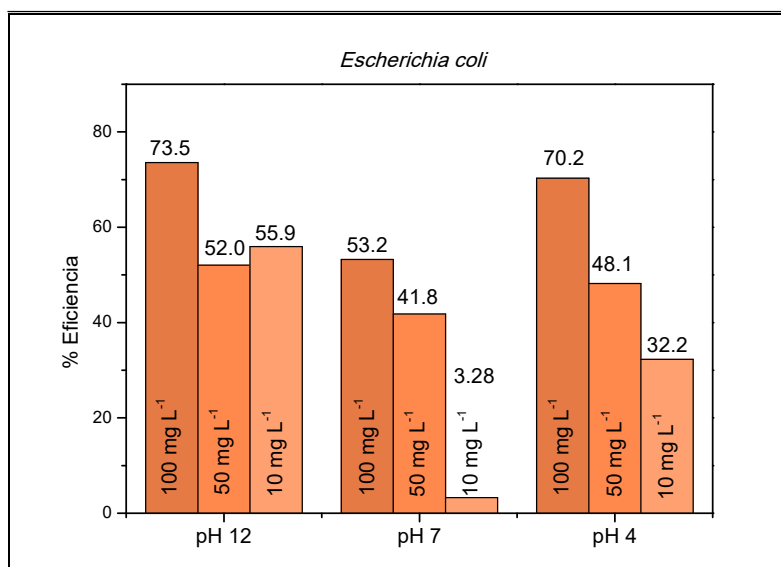


Gráfico 3.27 Eficiencia de FeNPs EMex en contacto con *Escherichia coli*.

RESULTADOS

La eficiencia microbiológica se observa en la Gráfica 3.35, el mejor desempeño se observa para las FeNPs EMex a 100 mg/L, y se sigue observando que, a mayor concentración inicial de nanopartículas, mejor capacidad bactericida. En cuanto a la estructura, se observa que las nanopartículas cúbicas y hexagonales, tienen mejor efecto microbicida a pesar de que a pH 7 también se obtuvo una estructura cúbica.

Los resultados de la actividad antibacteriana de FeNPs EMex (pH 12, 7 y 4) frente a *S. aureus* se muestran en la Tabla 3.12. En general las FeNPs tienen una eficacia ligeramente superior contra las Gram positivas (*S. aureus*) en comparación con sus contrapartes las Gram negativas (*E. coli*).

Tabla 3.12 Cuenta en placa del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, con diferentes concentraciones de inóculo y FeNPs EMex.

FeNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de ZnNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-5}	1076 ± 13	507 ± 12	786 ± 5	817 ± 5
1×10^{-6}	725 ± 11	47 ± 1	56 ± 4	65 ± 2
1×10^{-7}	126 ± 4	2 ± 1	6 ± 0	13 ± 1
FeNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-5}	1076 ± 13	449 ± 6	821 ± 6	1044 ± 17
1×10^{-6}	725 ± 11	56 ± 2	66 ± 2	73 ± 2
1×10^{-7}	126 ± 4	1 ± 1	5 ± 1	13 ± 3
FeNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-5}	1076 ± 13	283 ± 3	685 ± 8	674 ± 6
1×10^{-6}	725 ± 11	47 ± 1	55 ± 2	61 ± 2
1×10^{-7}	126 ± 4	0 ± 0	1 ± 1	4 ± 0

*Inc. Incontable

La diferencia entre el efecto antibacteriano entre bacterias Gram positivas y Gram negativas podría estar relacionado con la composición de su pared celular, así lo menciona Chien et al., (2021), ya que las bacterias Gram positivas tienen paredes celulares compuestas de peptidoglicano, mientras que las bacterias Gram negativas tienen una membrana externa compuesta de lipopolisacáridos además de las paredes celulares compuestas de peptidoglicano.

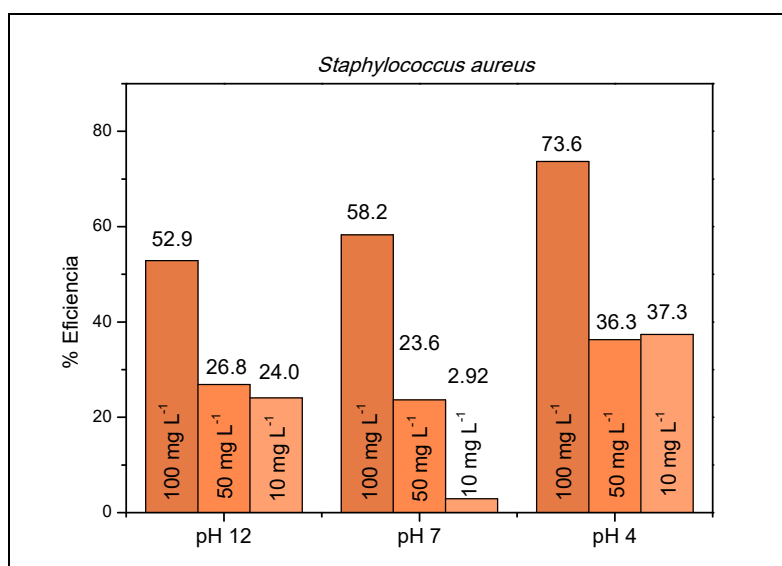


Gráfico 3.28 Eficiencia de FeNPs EMex en contacto con *Staphylococcus aureus*.

Las FeNPs muestran un comportamiento microbicida similar con *E. coli* y con *S. aureus*, el mayor efecto se observa en la concentración inicial que sigue mostrando que a mayor concentración mejor efecto microbicida, así también lo refiere Radini et al., (2018), quienes sintetizaron FeNPs empleando extracto de *Trigonella foenum – graecum*; en sus estudios los resultados mostraron solo una ligera actividad microbicida superior contra las bacterias Gram negativas en comparación con la cepa bacteriana Gram positiva.

3.2.7 TiNPs EMex

El análisis de TiNPs EMex frente a *E. coli* se muestra en la Tabla 3.13. Los resultados indican que la *E. coli* no muestra resistencia al efecto microbiciida de las TiNPs EMex, en el Gráfico 3.36 se puede observar claramente la eficiencia microbiciida de las nanopartículas. Irshad et al., (2020), mencionan que la actividad microbiciida de las TiNPs es más potente que la mostrada por las AgNPs y CuNPs, también afirma que la inhibición de las bacterias Gram negativas depende en gran medida de las concentraciones de TiNPs.

Tabla 3.13 Cuenta en placa del crecimiento de *Escherichia coli*, con diferentes concentraciones de inóculo y TiNPs EMex.

TiNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de ZnNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	80 ± 4	148 ± 6	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	54 ± 3	113 ± 5	1037 ± 31
1×10^{-3}	Inc.	27 ± 1	48 ± 6	524 ± 20
1×10^{-4}	1305 ± 15	12 ± 3	16 ± 2	240 ± 33
1×10^{-5}	1034 ± 25	3 ± 2	4 ± 3	77 ± 4
1×10^{-6}	683 ± 13	0 ± 0	0 ± 0	9 ± 4
1×10^{-7}	93 ± 15	0 ± 0	0 ± 0	2 ± 1
TiNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	187 ± 6	264 ± 11	448 ± 7
1×10^{-4}	2888 ± 13	98 ± 2	165 ± 10	219 ± 5
1×10^{-5}	1463 ± 5	39 ± 5	64 ± 4	143 ± 18
1×10^{-6}	435 ± 5	10 ± 1	22 ± 2	33 ± 2
1×10^{-7}	115 ± 1	0 ± 0	1 ± 1	7 ± 1
TiNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-1}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-2}	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1×10^{-3}	Inc.	313 ± 6	Inc.	Inc.
1×10^{-4}	2888 ± 13	236 ± 9	429 ± 12	467 ± 10
1×10^{-5}	1463 ± 5	136 ± 3	334 ± 8	376 ± 14
1×10^{-6}	435 ± 5	80 ± 4	180 ± 17	230 ± 16
1×10^{-7}	115 ± 1	34 ± 10	62 ± 3	70 ± 5

Inc. Incontable.

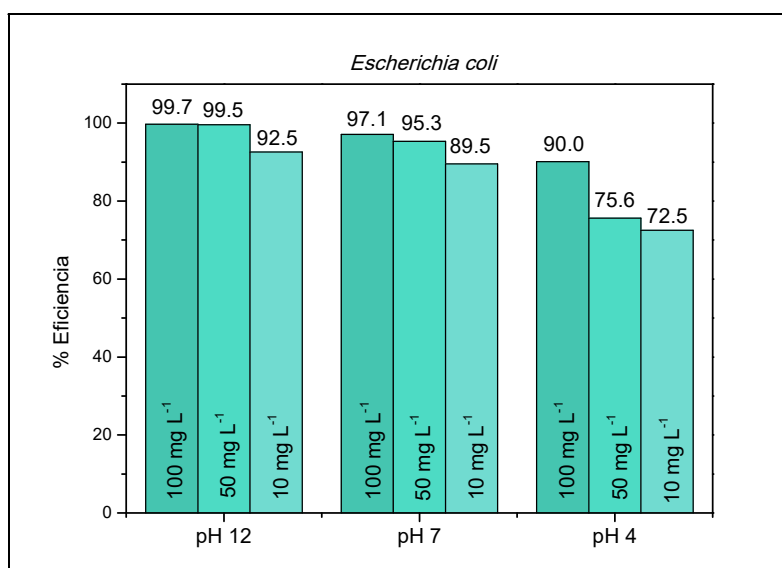


Gráfico 3.29 Eficiencia de TiNPs EMex en contacto con *Escherichia coli*.

Las TiNPs EMex han resultado las más eficientes de todas las NPs sintetizadas en este trabajo, de nuevo muestra que la concentración inicial influye en la obtención de un mejor efecto microbicida. Referente a la estructura, las TiNPs pH 12 son cúbicas y resultan ser más eficientes, mientras que en las TiNPs EMex pH 4 se observan 2 estructuras tetragonal y hexagonal, disminuye el efecto bactericida.

En la Tabla 3.14 se muestran los resultados para las TiNPs EMex en contacto con *S. aureus*, los resultados indican que las nanopartículas son más eficaces como agentes antibacterianos sobre *S. aureus* que sobre *E. coli*. En el Gráfico 3.37 se presentan los resultados de eficiencia.

Se puede observar que las TiNPs a pH 7 y 4, desde una dilución de inóculo de 1×10^{-3} UFC/mL no se ven afectadas significativamente a las concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L. El crecimiento de la *S. aureus* no se inhibe significativamente a concentraciones de 100 mg/L, los resultados sugieren que las TiNPs son más tóxicas en condiciones básicas.

RESULTADOS

Tabla 3.14 Cuenta en placa del crecimiento de *Staphylococcus aureus* con diferentes concentraciones de inóculo y TiNPs EMex.

TiNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de ZnNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	4650 ± 50	748 ± 16	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	1911 ± 21	357 ± 7	458 ± 5	664 ± 14
1x10 ⁻⁴	965 ± 3	136 ± 2	162 ± 1	249 ± 4
1x10 ⁻⁵	633 ± 12	30 ± 2	35 ± 2	46 ± 3
1x10 ⁻⁶	342 ± 5	1 ± 0	2 ± 0	6 ± 1
1x10 ⁻⁷	131 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
TiNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	4650 ± 50	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	1911 ± 21	640 ± 14	728 ± 7	904 ± 2
1x10 ⁻⁴	965 ± 3	110 ± 4	283 ± 2	148 ± 4
1x10 ⁻⁵	633 ± 12	26 ± 3	75 ± 4	14 ± 1
1x10 ⁻⁶	342 ± 5	1 ± 1	5 ± 1	0 ± 0
1x10 ⁻⁷	131 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
TiNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	4650 ± 50	635 ± 14	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	1911 ± 21	420 ± 5	551 ± 14	634 ± 5
1x10 ⁻⁴	965 ± 3	161 ± 4	194 ± 3	334 ± 6
1x10 ⁻⁵	633 ± 12	51 ± 3	60 ± 6	63 ± 2
1x10 ⁻⁶	342 ± 5	10 ± 0	3 ± 1	5 ± 1
1x10 ⁻⁷	131 ± 6	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Inc. Incontable.

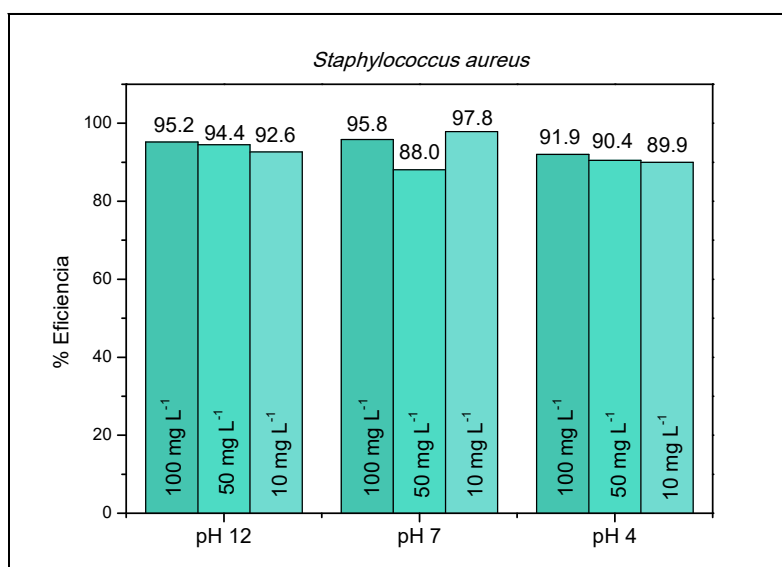


Gráfico 3.30 Eficiencia de TiNPs EMex en contacto con *Staphylococcus aureus*.

El efecto bactericida de las TiNPs, en términos prácticos, muestra diferencias mínimas entre los pH empleados en la síntesis de las nanopartículas, esta variable no muestra una influencia clara para el efecto bactericida de estas nanopartículas, como tampoco lo muestran la estructura o composición que variaron para todos los pH trabajados.

3.2.8 TiNPs Puebla

La actividad microbica de las TiNPs Puebla, se evaluó mediante conteo en placa de bacterias, los resultados se muestran en la Tabla 3.15.

Tabla 3.15 Cuenta en placa del crecimiento de *Escherichia coli*, con diferentes concentraciones de inóculo y TiNPs Puebla.

TiNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de ZnNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	508 ± 7	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	217 ± 13	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	1608 ± 9	115 ± 14	484 ± 12	Inc.
1x10 ⁻⁵	443 ± 18	64 ± 4	338 ± 9	484 ± 5
1x10 ⁻⁶	217 ± 8	13 ± 2	151 ± 10	336 ± 4
1x10 ⁻⁷	94 ± 7	1 ± 1	94 ± 3	201 ± 11
TiNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	93 ± 5	155 ± 4	269 ± 4
1x10 ⁻³	Inc.	22 ± 2	78 ± 5	130 ± 4
1x10 ⁻⁴	1608 ± 9	6 ± 1	44 ± 2	66 ± 3
1x10 ⁻⁵	443 ± 18	0 ± 0	19 ± 2	15 ± 3
1x10 ⁻⁶	217 ± 8	0 ± 0	5 ± 1	0 ± 0
1x10 ⁻⁷	94 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0
TiNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	382 ± 8	468 ± 4	583 ± 5
1x10 ⁻²	Inc.	163 ± 3	285 ± 2	360 ± 6
1x10 ⁻³	Inc.	47 ± 1	109 ± 5	253 ± 3
1x10 ⁻⁴	1608 ± 9	25 ± 3	15 ± 2	97 ± 3
1x10 ⁻⁵	443 ± 18	1 ± 0	2 ± 1	17 ± 2
1x10 ⁻⁶	217 ± 8	0 ± 0	0 ± 0	1 ± 1
1x10 ⁻⁷	94 ± 7	0 ± 0	0 ± 0	0 ± 0

Inc. Incontable.

RESULTADOS

Los valores de TiNPs Puebla pH 4 muestran que el efecto microbicida aumenta gradualmente con el aumento de la concentración de NPs (Gráfico 3.38), sin embargo, la eficiencia microbicida disminuye para las TiNPs Puebla pH 12 y pH 7, pero si se observa una disminución notable de la cantidad de bacterias presentes en las placas en comparación de las placas control.

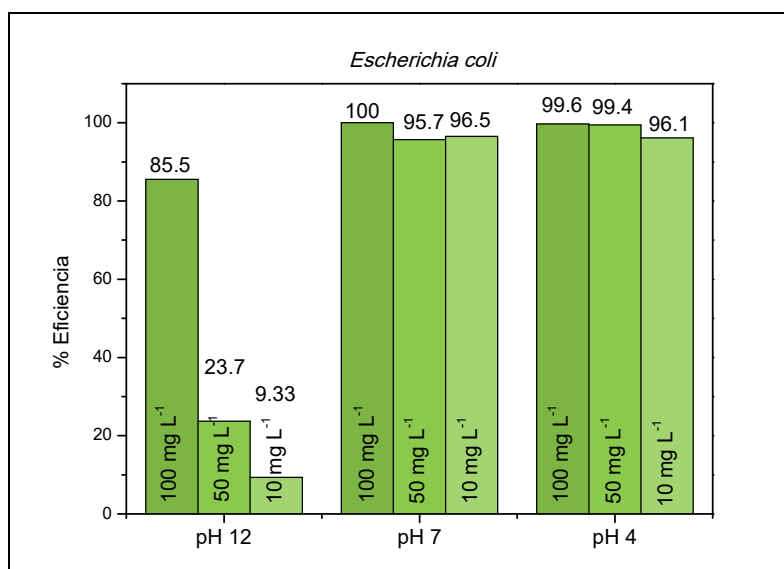


Gráfico 3.31 Eficiencia de TiNPs Puebla en contacto con *Escherichia coli*.

A diferencia de las TiNPs EMex, estas nanopartículas no presentaron diferencias en la estructura y composición (cúbica, TiO₂), y muy poco en el tamaño, por lo que estas tres características tienen poca o nula influencia en el proceso microbicida. En este sentido, y a pesar de que son las más eficientes de las AgNPs Puebla y CuNPs Puebla, su comportamiento es diferente y también más efectivo que las TiNPs EMex, mientras que para éstas últimas el comportamiento general era muy similar para los pH 12, 7 y 4, en el caso de estas muestras el que presenta la eficiencia más baja es el pH 12, por lo tanto, la variable que muestra una influencia más clara es el pH 7 y 4 con los cuales se obtienen las mejores eficiencias.

RESULTADOS

En la Tabla 3.16 se muestran los resultados obtenidos de la acción microbicida de las TiNPs Puebla fitosintetizadas con extracto de *E. crassipes* proveniente del estado de Puebla frente a una cepa de *Staphylococcus aureus*.

Tabla 3.16 Cuenta en placa del crecimiento de *Staphylococcus aureus*, con diferentes concentraciones de inóculo y TiNPs Puebla.

TiNPs a pH 12				
Dilución del inóculo	UFC/mL inicial	Concentración de ZnNPs aplicada		
		100 mg/L	50 mg/L	10 mg/L
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁵	3372 ± 7	240 ± 13	482 ± 6	752 ± 5
1x10 ⁻⁶	1558 ± 2	173 ± 8	239 ± 12	452 ± 7
1x10 ⁻⁷	643 ± 7	34 ± 1	67 ± 8	121 ± 4
TiNPs a pH 7				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁵	3372 ± 7	173 ± 6	322 ± 23	546 ± 19
1x10 ⁻⁶	1558 ± 2	63 ± 8	170 ± 5	361 ± 13
1x10 ⁻⁷	643 ± 7	55 ± 1	65 ± 2	75 ± 3
TiNPs a pH 4				
Sin diluir	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻¹	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻²	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻³	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁴	Inc.	Inc.	Inc.	Inc.
1x10 ⁻⁵	3372 ± 7	103 ± 6	239 ± 4	341 ± 9
1x10 ⁻⁶	1558 ± 2	63 ± 8	164 ± 10	242 ± 25
1x10 ⁻⁷	643 ± 7	55 ± 1	94 ± 6	108 ± 18

Inc. Incontable.

Los porcentajes microbicidas de las TiNPs Puebla, son un poco más altos que para la muestra TiNPs EMex, y para estas muestras es posible observar un comportamiento igual para los pH 12, 7 y 4, es decir, a medida que baja la concentración inicial mínima utilizada, baja también el porcentaje de eficiencia del efecto bactericidas, este mismo muestra una mejor ligera a pH 4, por lo que si se intenta definir una variable que tenga una influencia determinante en el proceso microbicida, no se haría con certeza debido a que en cada uno de los pH utilizados todas las variables aplicadas no lo muestran.

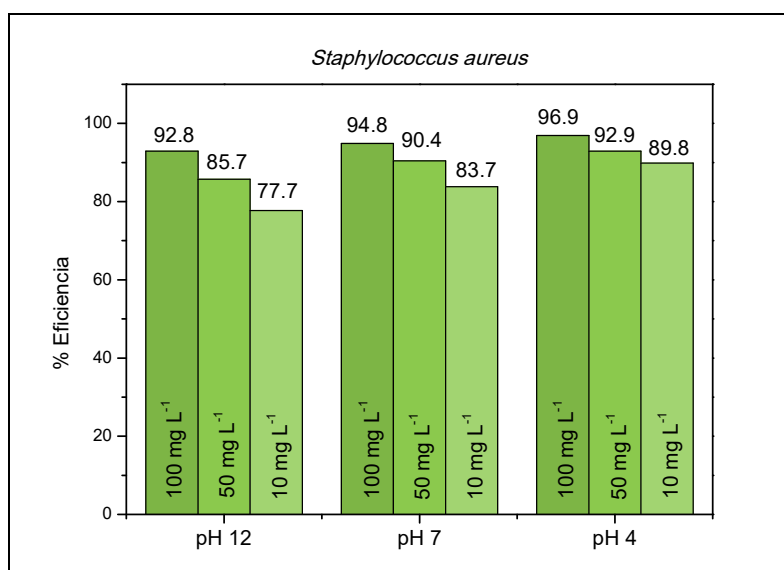


Gráfico 3.32 Eficiencia de TiNPs Puebla en contacto con *Staphylococcus aureus*.

Las TiNPs exhibieron una interesante reducción antimicrobiana, la naturaleza del Titanio puede explicar este fenómeno, así también lo afirma Albukhaty et al., (2020), quien menciona que el principal mecanismo de acción de las TiNPs es la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS).

3.3 Pruebas de actividad fotocatalítica

3.3.1 AgNPs

El mecanismo de fotocátalisis por irradiación de luz UV con AgNPs EMex fitosintetizadas a diferentes pH 12, 7 y 4 se presentan en la Figura 3.28. Como único evento se presenta el fenómeno de absorción por parte de las AgNPs EMex pH 12 a una concentración de 10 mg/L, disminuyendo su concentración inicial en 1 mg/L debido a dicho efecto.

RESULTADOS

Es observable que debido al efecto SPR, los electrones de la banda más externa de las AgNPs son excitadas bajo la irradiación de la luz UV, comenzando inmediatamente a desarrollarse el proceso fotocatalítico, a concentraciones de 100 mg/L en todos los experimentos se observa que se obtienen los mejores rendimientos de degradación del fenol siendo el de mejor desempeño las AgNPs EMex pH 4, ya que después de 120 min de irradiación se tenía una concentración final de 4.93 mg/L de fenol presente en la solución.

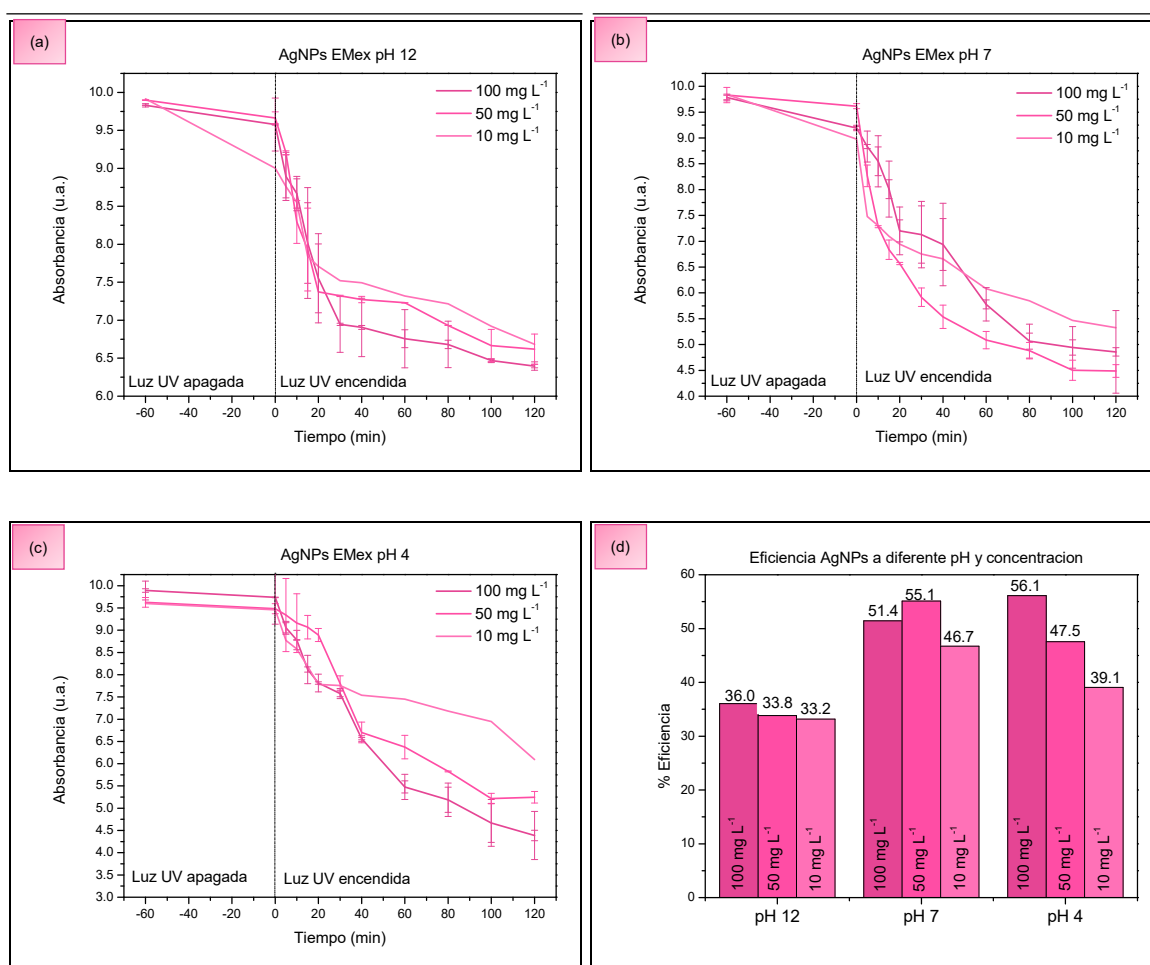


Gráfico 3.33 Pruebas fotocatalíticas de AgNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.

RESULTADOS

De acuerdo con los resultados de caracterización, las AgNPs EMex pH 12 y pH 4 poseen tamaños de partícula pequeños, los cuales no superan los 20 nm, mientras que las AgNPs EMex pH 7 tienen un tamaño de partícula más grande, por otra parte se observa que a pH 7 y 4 las NPs tienen la misma composición y estructura, dejando en claro que las AgNPs EMex pH 4 muestra un alto rendimiento fotocatalítico en comparación con las AgNPs EMex pH 12 y AgNPs pH 7.

Estos resultados son comparables con el obtenido por Sandeep et al., (2016), quienes sintetizaron AgNPs con extracto de *Convolvulus assessment* y obtuvieron una degradación fotocatalítica de fenol superior a un 70%, es notable que el pH al que son sintetizadas las NPs, juega un papel muy importante para la degradación del material contaminante.

El porcentaje de fenol que se degradó con las NPs obtenidas a diferentes valores de pH y concentración se presentan como las eficiencias fotocatalíticas, las cuales se muestran en el Gráfico 3.17d. Para AgNPs EMex pH 4 a una concentración de 100 mg/L la eficiencia fotocatalítica es del 56.1%, seguida por la AgNPs EMex pH 7 con una concentración final de fenol de 50 mg/L.

Las AgNPs fitosintetizadas con extracto de *Eichhornia crassipes* proveniente del Estado de Puebla, fueron sometidas a experimentos de fotocatálisis. Las concentraciones residuales de fenol después de 120 min de reacción se monitorearon y se muestran en el Gráfico 3.18.

Para las AgNPs EMex pH 4 cuyo tamaño promedio de partícula es de 5 ± 1.5 nm, las nanopartículas tienen forma hexagonal de composición Ag_2O y de diferente fase cristalina, el mismo fenómeno ocurre para las AgNPs EMex pH 12 solo que esta posee una fase cristalina diferente. Para estas pruebas se nota que a mayor concentración inicial se mejora el porcentaje de degradación para los tres valores de pH. A pH ácidos de síntesis se sigue observando la mejor capacidad fotocatalítica, es un comportamiento similar al que se observó con las NPs preparadas con *E. crassipes* de EMex, aunque para *E. crassipes* de Puebla se observa más acentuada la diferencia.

RESULTADOS

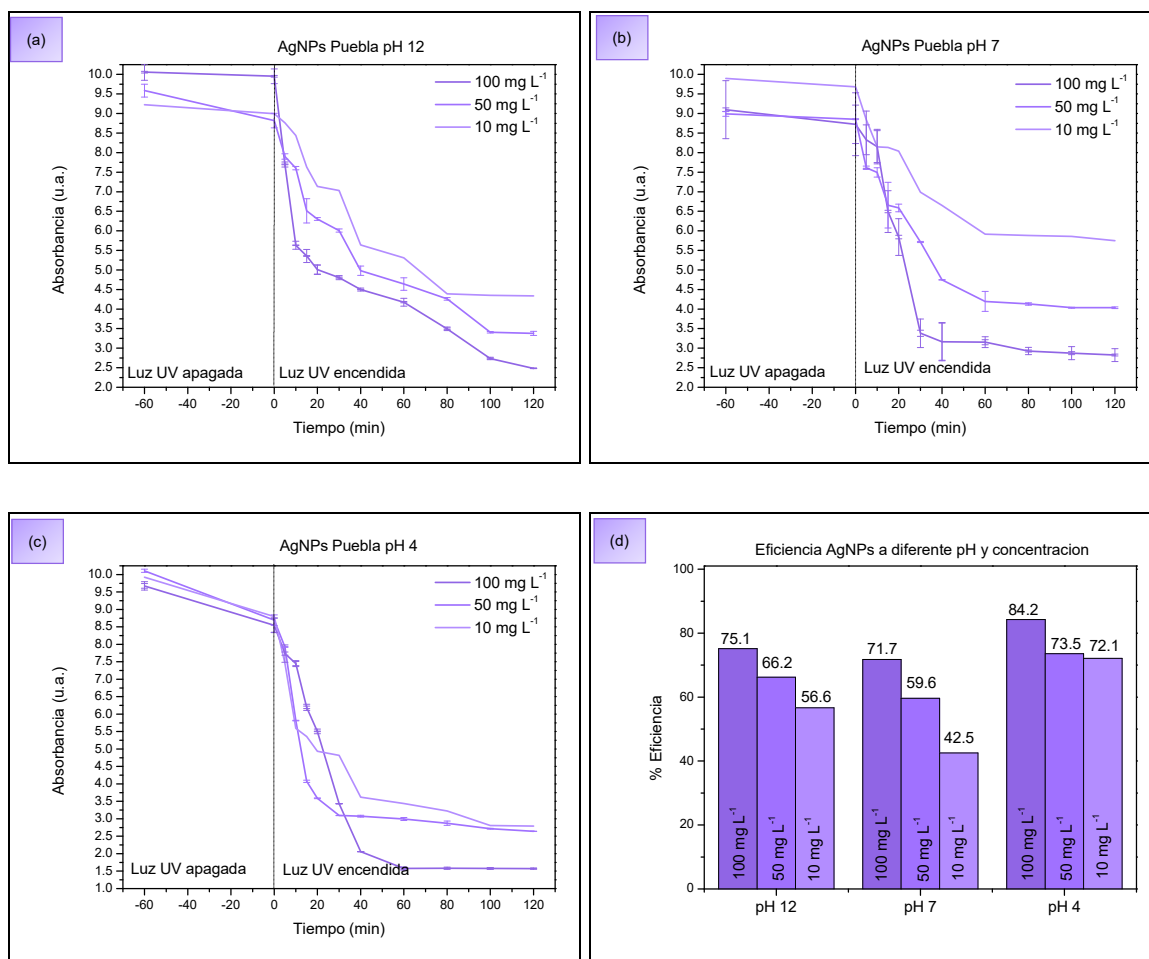


Gráfico 3.34 Pruebas fotocatalíticas de AgNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.

Los resultados muestran una reducción en la concentración inicial de fenol en todos los casos de 10 a 9 mg/L sin irradiación de luz UV, desarrollándose un proceso de adsorción. Una vez iniciado el proceso fotocatalítico, el mecanismo de acción de las AgNPs sobre el compuesto fenólico se rige puramente por interacciones electroestáticas así lo sugiere Sandeep et al., (2016). Las AgNPs adquieren valores positivos, negativos y de carga neutra respectivamente bajo condiciones de síntesis de pH ácido, básico y neutro.

Las eficiencias del proceso fotocatalítico se muestran en el Gráfico 3.18 d, la mejor degradación es efectuada por AgNPs Puebla pH 4, que reducen la carga de fenol en

un 84.3, 73.6 y 72.1%, que corresponden a concentraciones fenólicas de 1.57, 2.64 y 2.79 mg/L para las cantidades de 100, 50 y 10 mg/L de NPs. Para las AgNPs Puebla pH 12 y 7 el mejor desempeño fue obtenido para las concentraciones de 100 mg/L. Por lo tanto, se puede concluir que para las AgNPs fitosintetizadas, estas se pueden emplear en el tratamiento de fenol en disolución acuosa.

3.3.2 CuNPs

El rendimiento de la degradación fotocatalítica de las CuNPs se examinó utilizando fenol como contaminante modelo, los resultados se muestran en el Gráfico 3.19. El pico de absorción máxima del fenol a 510 nm fue disminuyendo de forma gradual hasta completar los 60 minutos de estabilización, una vez iniciado el proceso de la degradación fotocatalítica del fenol en presencia de las CuNPs, se observa la constante pero una rápida disminución de la concentración de fenol en la disolución acuosa. Informes anteriores revelaron que la actividad fotocatalítica de las nanopartículas metálicas dependería de la estructura cristalográfica, la morfología y el tamaño de las nanopartículas (Vasantharaj et al., 2019).

De acuerdo con los resultados obtenidos por caracterización en TEM para las CuNPs EMex a pH 12, 7 y 4, no hay diferencia en el tamaño, forma y composición, es claro que el pH de síntesis favorece en mayor medida la capacidad de las nanopartículas, se observa también que a concentraciones iniciales más bajas de fenol el porcentaje de degradación aumenta en cada uno de los pH.

Las CuNPs EMex pH 12 presentan un proceso de adsorción al estar en contacto durante 60 minutos con la solución fenólica sin irradiación de luz UV, disminuyendo su concentración inicial de 10 mg/L de fenol a una concentración de 7.59 mg/L, 8.60 mg/L y 9.52 mg/L para 100, 50 y 10 mg/L de concentración de CuNPs respectivamente, lo cual indica que el material nanoparticulado adsorbe fenol en proporción a su concentración en el medio líquido.

RESULTADOS

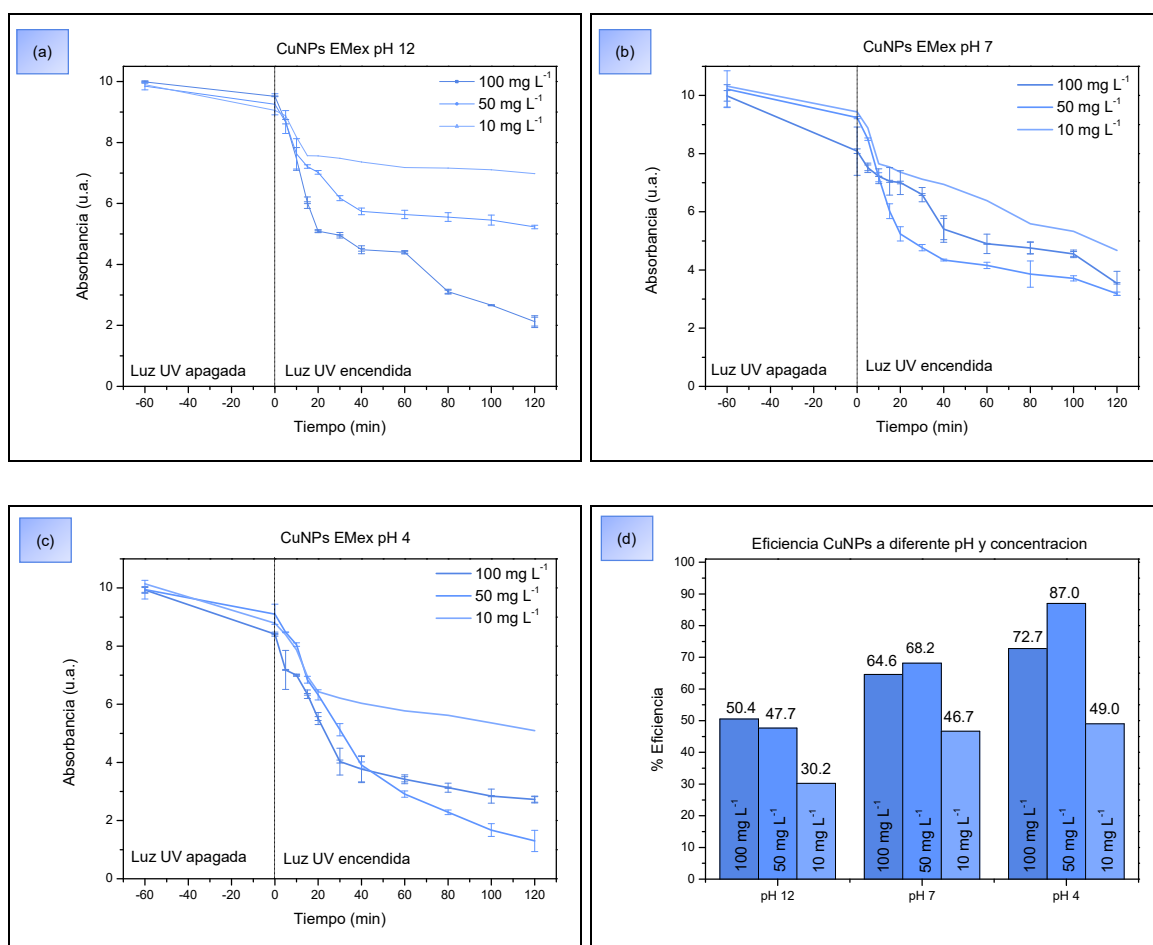


Gráfico 3.35 Pruebas fotocatalíticas de CuNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.

Las CuNPs EMex a pH 4 muestran el mejor desempeño con eficiencias mayores al 95%, los resultados se muestran en la Gráfica 3.19d, existe un patrón de comportamiento para las CuNPs a pH 12, 7 y 4 en el cual se observa que al utilizar una concentración de nanopartículas de 10 mg/L, se obtiene una mayor degradación fotocatalítica del fenol.

Por otra parte, la reducción de fenol acuoso por CuNPs sintetizadas con extracto de *E. crassipes* proveniente del Estado de Puebla se presenta en el Gráfico 3.20.

RESULTADOS

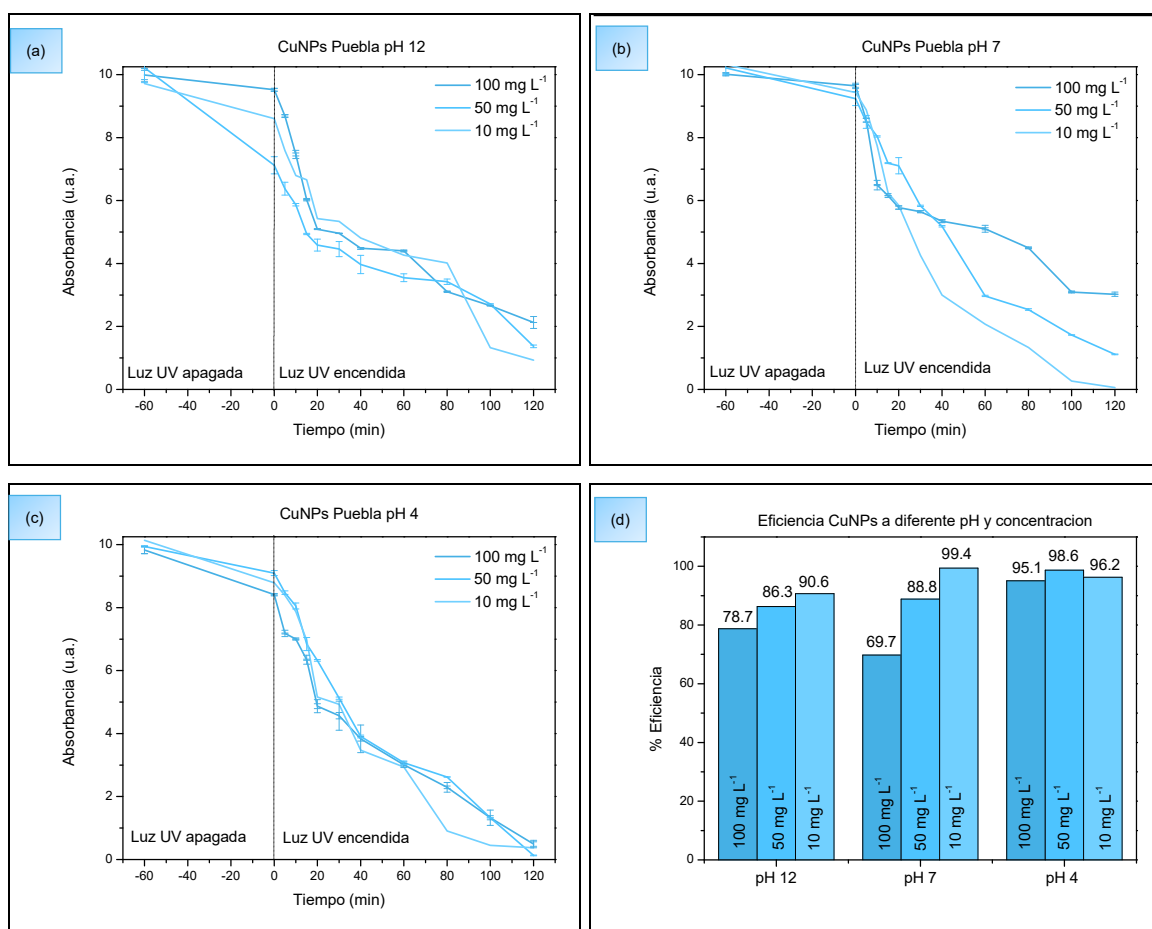


Gráfico 3.36 Pruebas fotocatalíticas de CuNPs Puebla (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.

Se determina que, entre las NPs probadas, las CuNPs Puebla pH 12 a 50 mg/L y CuNPs Puebla pH 4 a 100 mg/L, presentan un proceso de adsorción en los primeros 60 minutos de contacto con fenol acuoso sin irradiación de luz UV, en comparación con sus contrapartes las CuNPs fitosintetizadas con extracto de *E. crassipes* del Estado de México, que adsorben en menor cantidad el fenol acuoso a las mismas concentraciones. Para las CuNPs Puebla y CuNPs EMex no se observaron diferencias en estructura y composición, se mostró una diversidad de tamaño para los tres valores de pH, así que la principal influencia en la capacidad fotocatalítica se observa con el pH utilizado para la síntesis de nanopartículas.

El mejor desempeño fotocatalítico lo obtuvieron las CuNPs Puebla pH 7, las cuales degradan el fenol hasta en un 99.4% con 10 mg/L de NPs presentes en el medio, sin embargo, para las concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L de CuNPs Puebla pH 4, la eficiencia es superior al 95% (Gráfico 3.20).

3.3.3 ZnNPs

Las ZnNPs EMex pH 12 a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L emplean un tiempo de 120 minutos para disminuir 10 mg/L de fenol a 4.33, 5.13 y 6.52 mg/L respectivamente, pero para las ZnNPs EMex pH 7, se observa que a una concentración de 100 mg/L el fenol presente en el medio es degradado a 0.57 mg/L en 80 minutos bajo irradiación de luz UV, éste fenómeno es superado por las ZnNPs EMex pH 4 a la misma concentración, y cuyo tiempo de contacto solo fue de 60 minutos, quedando 0.01 mg/L de fenol en el medio.

Las ZnNPs EMex pH 12 no poseen una alta eficiencia fotocatalítica, los resultados se observan en el Gráfico 3.21, el mejor desempeño se logra con 100 mg/L de NPs cuya eficiencia es del 56.7%, mientras que las ZnNPs EMex pH 7 y 4 tienen una eficiencia del 94.3 y 98% respectivamente, logrando degradar el fenol presente en la solución. Es notable que las ZnNPs EMex exhiben buenas tasas de fotodegradación y éste fenómeno se hace más evidente con el aumento de contenido de ZnNPs en el medio.

De acuerdo con la caracterización la principal diferencia asociada a las ZnNPs es la estructura cristalina que a pH 4 es hexagonal y las ZnNPs son de tamaño homogéneo, mientras que a pH 12 y 7 hay diversidad de tamaño, en cuanto a la composición a estos dos valores de pH es la misma, mientras que a pH 4 es un óxido de zinc simple, es decir una molécula de menor tamaño.

Fröber et al., (2020), encontraron que una mayor degradación catalítica del fenol (10 mg/L) 93.3% por ZnNPs se atribuye a una mayor banda prohibida a una concentración de 10 mg/L de NPs, coincidiendo con los resultados obtenidos en el presente trabajo,

RESULTADOS

esto indica que las ZnNPs son rentables y respetuosas con el medio ambiente e, inducen un rendimiento considerablemente mayor hacia la degradación del fenol.

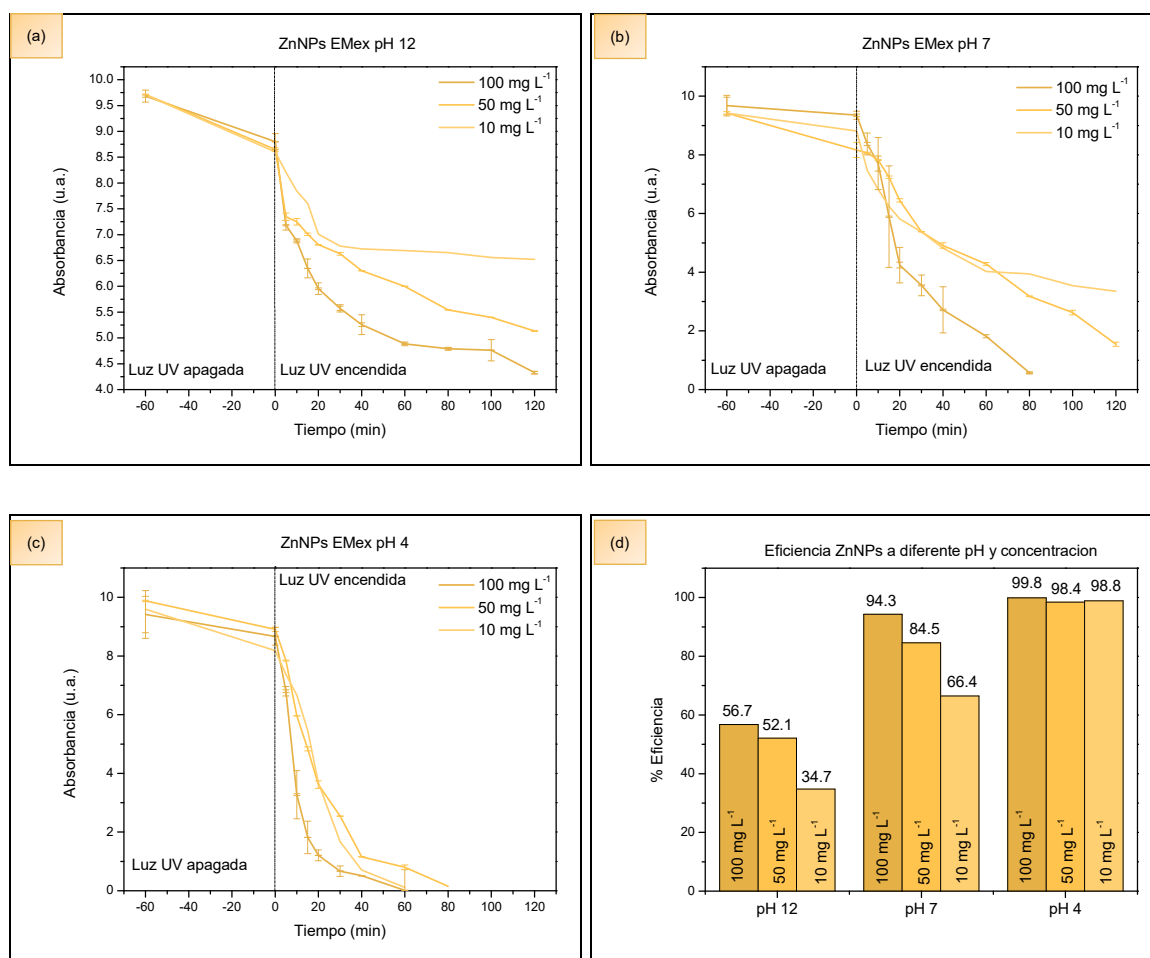


Gráfico 3.37 Pruebas fotocatalíticas de ZnNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.

Assaf et al., (2020), obtuvieron un porcentaje de adsorción de fenol con nanopartículas de ZnO del 93.86% a una concentración inicial de 100 mg/L de fenol, asimismo, menciona que la cinética de adsorción se produce rápidamente durante los primeros 10 minutos de contacto y luego se ralentiza debido a la saturación en la mayor parte de la superficie de las nanopartículas de ZnO como sustancia adsorbente, teniendo como mejor tiempo de adsorción fue a los 50 minutos de contacto.

3.3.4 FeNPs

Se observa que la mejor eficiencia de degradación de fenol empleando FeNPs EMex está en el orden de FeNPs EMex pH 4 > FeNPs EMex pH 7 > FeNPs EMex pH 12, como se muestra en el Gráfico 3.22; claramente los resultados muestran una disminución de la concentración de fenol con el aumento del tiempo de exposición a la radiación con luz UV. Por lo tanto, las FeNPs EMex actúan como un fotocatalizador eficiente para la degradación significativa del fenol.

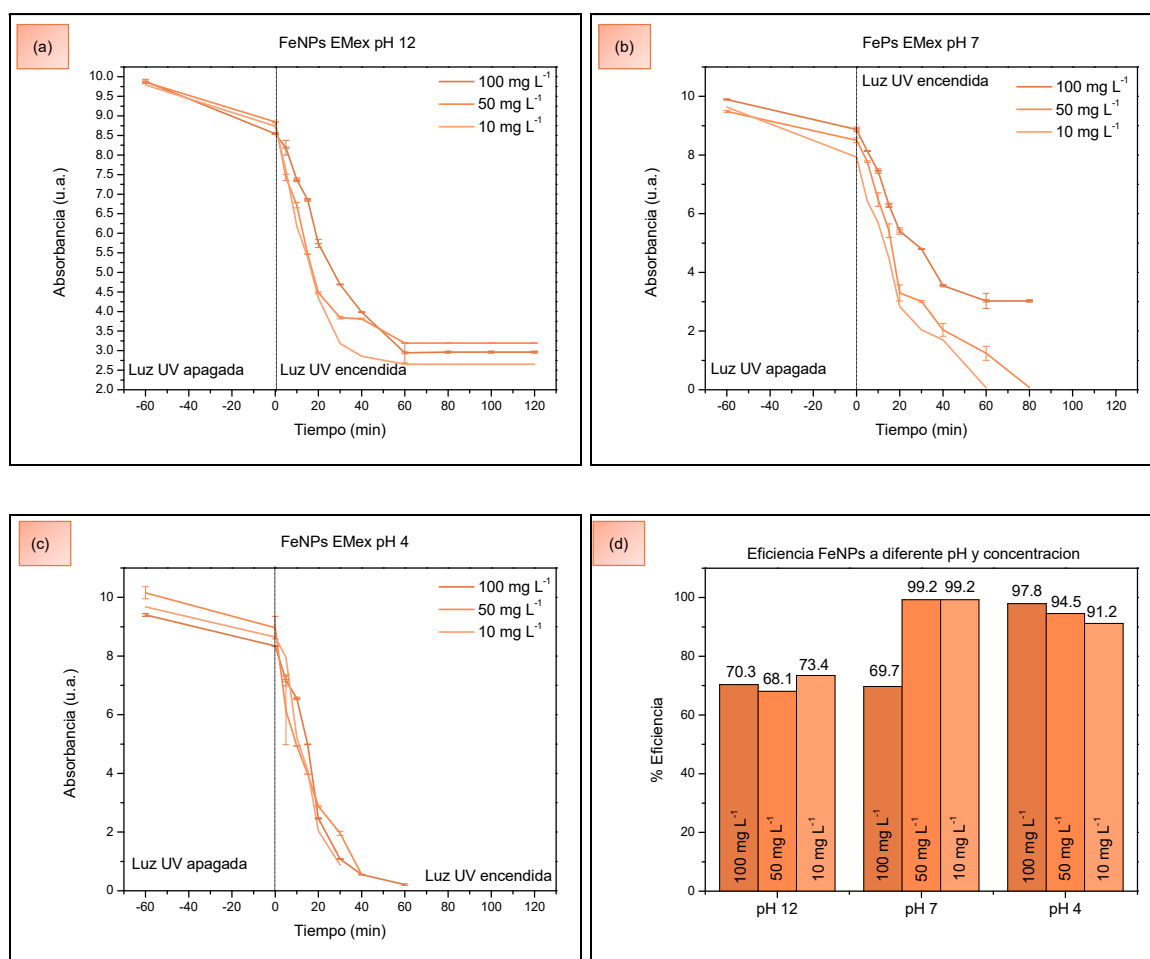


Gráfico 3.38 Pruebas fotocatalíticas de FeNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia

El tamaño promedio de las FeNPs EMex a pH 12 y 7 (15 – 35 nm), son más pequeñas que a pH 4; las cuales son más grandes (10 – 60 nm), así mismo la estructura cristalina es diferente al pH ácido, mientras que la composición de las nanopartículas es diferente para los tres valores de pH.

Para todas las FeNPs se presenta un proceso de adsorción en los 60 minutos previos al proceso catalítico, en la mayoría de los experimentos se redujo la concentración de 10 a 9 mg/L para el tiempo cero. Kuang et al., (2013), sugieren que esta disminución se puede explicar por la formación de óxido de hierro en las FeNPs, y son afectados por el pH con el cual fueron sintetizadas las nanopartículas.

Como se muestra en la Figura 3.22 a, 100 mg/L de FeNPs EMex pH 12 degradaron fenol a una concentración final de 2.66 mg/L después de 120 minutos, mientras que FeNPs EMex pH 7 alcanzan una concentración mínima de 0.07 mg/L en 30 y 80 minutos para 10 y 50 mg/L de nanopartículas disueltas en el medio. Por otra parte, las FeNPs EMex pH 4, logran disminuir la concentración de fenol hasta 0.21, 0.54 y 0.88 mg/L para 100, 50 y 10 mg/L de NPs, en un tiempo de 40 minutos, respectivamente.

En la Figura 3.22d, se observa que el mejor desempeño lo poseen las FeNPs EMex pH 7 con una eficiencia del 99.3%, solo a concentraciones de 50 y 10 mg/L; sin embargo, las FeNPs EMex pH 4 a pesar de poseer una actividad fotocatalítica menor, tienen un desempeño superior al 91% independientemente de la concentración de NPs en el medio. Khalafi et al., (2019), demostraron obtener una eliminación del 97% de fenol a los 30 minutos de interacción del material con el fenol a una concentración de 20 mg/L con FeNPs sintetizadas a pH neutro.

3.3.5 TiNPs

El proceso para la degradación de fenol con TiNPs EMex, se muestra en la Figura 3.23, para las tres formulaciones de nanopartículas se observa que a concentraciones de 100 mg/L no se obtienen los mejores desempeños de degradación de fenol.

RESULTADOS

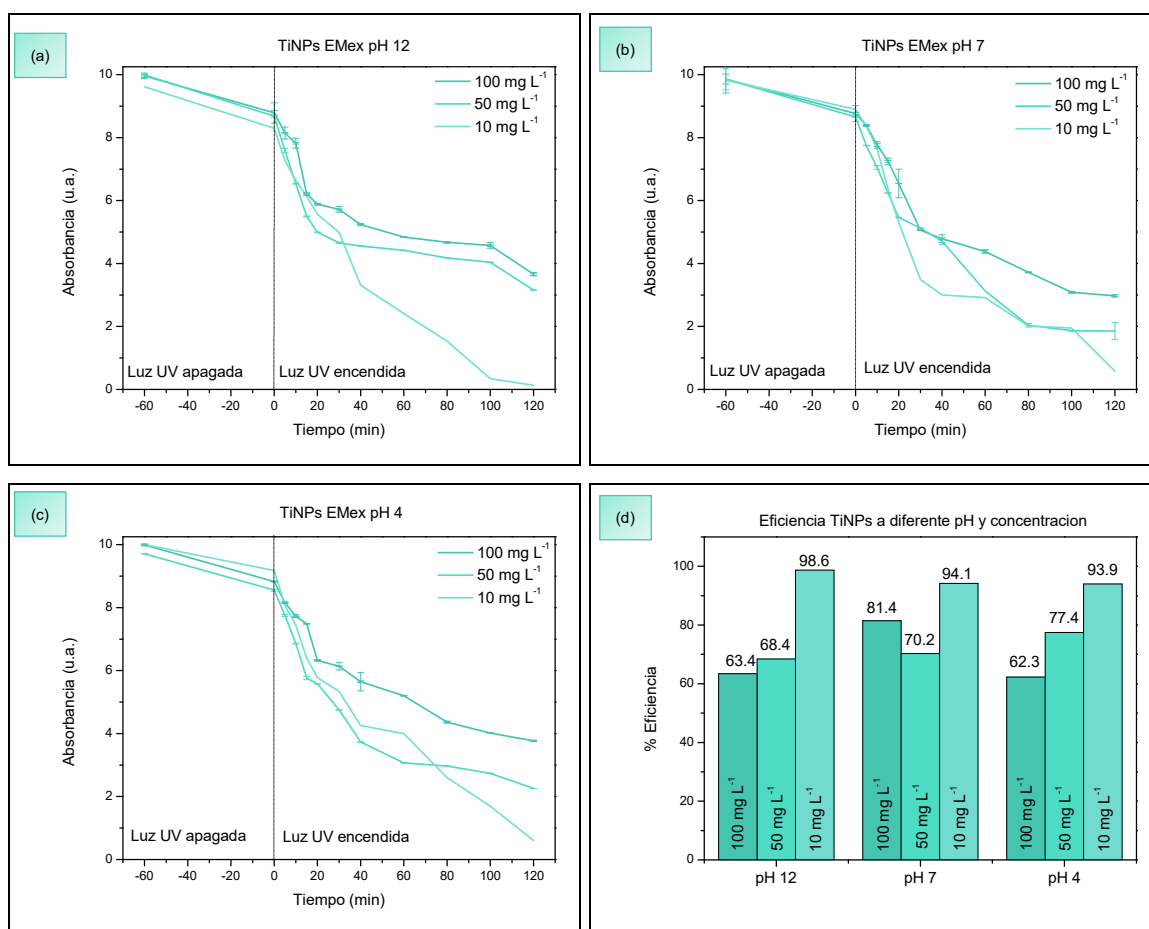


Gráfico 3.39 Pruebas fotocatalíticas de TiNPs EMex (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.

Duffy et al., (2018), sugirieron que, debido a la naturaleza de las TiNPs, cuando son dispersas en soluciones acuosas, en la mayoría de los casos tienden a formar aglomerados, proporcionando así un área de superficie disminuida y, por lo tanto, también revelaron una actividad fotocatalítica menor. En la Figura 3.23d, se resumen las eficiencias fotocatalíticas, las TiNPs EMex pH 12 a una concentración de 10 mg/L lograron disminuir la cantidad de fenol presente en el medio hasta 0.13 mg/L en 120 minutos correspondiente al 98.7%, seguidas por las TiNPs EMex pH 7 y 4 con 94.2 y 94% de eficiencia respectivamente. De acuerdo con Alizadeh-Sani et al., (2020) y Duffy et al., (2018), el rendimiento del fotocatalizador se ve afectado por la capacidad de absorción de luz UV, por lo tanto, se puede esperar que a concentraciones de 10 mg/L la eficiencia del nanomaterial sea superior al 95% para todos los casos.

RESULTADOS

De acuerdo con la relación de los resultados de caracterización para TiNPs EMex y la capacidad fotocatalítica, no se nota una influencia determinante en la fotodegradación debido al tamaño, forma o composición de las nanopartículas para todos los metales.

La principal influencia, aunque no se puede generalizar en ninguno de los casos, se debe al pH de síntesis utilizado para la fitosíntesis de las nanopartículas, seguida la diversidad de tamaño, después la composición y por último la estructura cristalina. Respecto a la concentración inicial de fenol, en la mayoría de las pruebas fotocatalíticas, el mejor porcentaje de degradación se logra a menor concentración de nanopartículas.

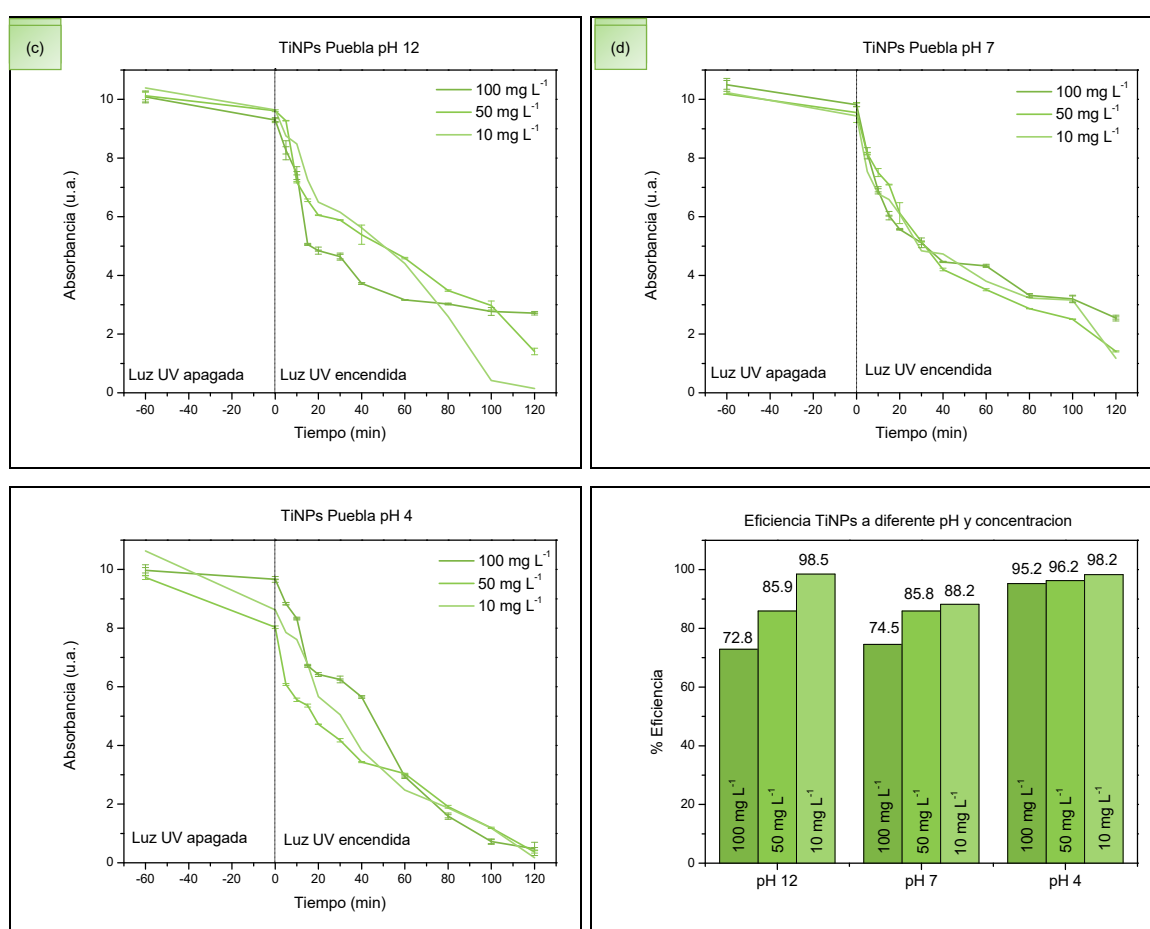


Gráfico 3.40 Pruebas fotocatalíticas de TiNPs Puebla (a) pH 12, (b) pH 7, (c) pH 4, a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L y (d) porcentaje de eficiencia.

La actividad fotocatalítica de las TiNPs sintetizadas con extracto de *E. crassipes* proveniente del Estado de Puebla de evaluó degradando fenol a una concentración de 10 mg/L, los resultados se muestran en la Figura 3.24.

Los resultados obtenidos de la caracterización de las TiNPs Puebla a pH 12, 7 y 4, no muestran diferencias significativas en cuanto a la composición y estructura, éstas no cambian para los tres pH, sin embargo, el tamaño de las nanopartículas es en general para las TiNPs Puebla el más grande observado para todas las síntesis. En este caso el pH de síntesis no muestra una influencia clara en el porcentaje de degradación de fenol, no obstante, la concentración inicial sí la muestra y es que a menor concentración de nanopartículas se obtiene una mejor eficiencia de degradación de fenol.

Las TiNPs Puebla pH 12, 7 y 4, descomponen eficientemente el fenol bajo irradiación de luz UV, superando a las TiNPs fitosintetizadas con extracto de *E. crassipes* del Estado de México, siendo las de mejor comportamiento las TiNPs Puebla pH 4, cuyas eficiencias fueron mayores al 95% (Figura 3.24 d). El comportamiento de la degradación de fenol por las TiNPs Puebla pH 7, presentan una disminución constante y gradual en comparación con las TiNPs Puebla pH 12 y pH 4, las cuales no poseen un comportamiento lineal.

Al igual que para las nanopartículas metálicas preparadas con lirio del Estado de México, no se observa una influencia determinante en las variables utilizadas, concentración inicial, estructura, tamaño y composición, la que muestra una influencia no generalizada pero más frecuente es el pH utilizado en la síntesis de las nanopartículas metálicas.

CONCLUSIONES

El proceso de fitosíntesis es simple, menos tóxico, económico y ecológico. Por la aplicación de *Eichhornia crassipes* el proceso se ha vuelto ecológico, sostenible, barato y libre de contaminantes que satisface los requisitos para ser un proceso amigable con el ambiente.

Se ha demostrado que el extracto de hoja de *E. crassipes* como agente estabilizante y reductor para la fitosíntesis de nanopartículas monometálicas hace que el proceso sea menos tóxico y beneficioso para el medio ambiente en comparación con los métodos físicos y químicos. La desventaja de la fitosíntesis es que no se logra homogeneizar el tamaño, la forma y composición de las nanopartículas metálicas sintetizadas.

El análisis espectrofotométrico de UV-vis, la resonancia de plasmón superficial (SPR) y el cálculo de la energía de banda prohibida para AgNPs EMex y AgNPs Puebla es de 470 nm (3.65 eV) y 420 nm (4.93 eV) respectivamente, CuNPs EMex y CuNPs Puebla para ambos casos se obtuvo un SPR de 800 nm pero una energía de banda prohibida de 4.86 eV y 4.93 eV correspondientemente, ZnNPs EMex y FeNPs EMex poseen un SPR de 300 nm y energía de banda prohibida de 4.86 eV y 4.93 eV respectivamente, finalmente para TiNPs EMex y TiNPs Puebla el SPR es de 224 nm (4.3 eV) y 327 nm (3.2 eV) individualmente.

Los análisis por espectroscopía de FTIR muestra que para las AgNPs se tienen picos más prominentes ubicados en 1344 cm^{-1} a 1272 cm^{-1} corroborando la presencia de AgNPs para los pH 12, 7 y 4 empleando *E. crassipes* de EMex y Puebla sin presentar diferencias significativas entre ambas plantas. Las CuNPs poseen bandas de estiramiento en el rango de 1000 cm^{-1} a 669 cm^{-1} correspondiente a la vibración de estiramiento para cobre. Para ZnNPs las bandas 335 cm^{-1} a 574 cm^{-1} son atribuidas a la presencia de zinc de tamaño nanométrico. Se confirma la presencia de FeNPs por la banda única de absorción ubicada a 835 cm^{-1} para los pH 12, 7 y 4. Finalmente, para las muestras de TiNPs EMex y TiNPs Puebla muestran picos significativos identificados de 538 cm^{-1} y 532 cm^{-1} confirmando la presencia de TiNPs. En todos los

CONCLUSIONES

casos no se presentan diferencias significativas empleando *E. crassipes* del EMex o de Puebla para la fitosíntesis de NPs.

La caracterización por SEM para AgNPs EMex pH 12 reveló que las NPs poseían formas esféricas irregulares y monodispersas con tamaños que oscilaban entre los 98 y 25 nm, asimismo el análisis por EDS demostró que las AgNPs tenían una pureza del 74.01% en peso atómico. CuNPs EMex pH 12 tiene estructuras en forma de pastos, con un tamaño de 100 nm hasta 1 μ m las cuales están compuestas por un 19.5 % de Cu en peso atómico. ZnNPs EMex pH 12 mostró una dispersión uniforme, revelando la formación de estructuras en forma de flor de alrededor de 250 – 100 nm de grosor, compuestas por 36.0 % de Zn en peso atómico.

Las micrografías obtenidas en TEM para AgNPs EMex pH 12 revelan que las NPs tienen una forma cúbica de composición Ag_2O_3 y tamaño 5 ± 1.5 nm, mostrando que las NPs se encontraban encapsuladas en la materia orgánica. AgNPs EMex pH 7 y pH 4 se caracterizaron por tener estructuras hexagonales y composición Ag_2O , con tamaños que oscilan entre los 10 nm – 35 nm y de 5nm a 20 nm respectivamente.

AgNPs Puebla pH 12 tiene una estructura hexagonal de composición Ag_2O , AgNPs Puebla pH 7 posee la misma estructura, pero tiene dos composiciones presentes Ag_6O_2 y Ag_2O con tamaño de nanopartícula de 7 nm a 28 nm. AgNPs Puebla pH 4 posee las mismas características de AgNPs Puebla pH12 con la única diferencia del tamaño nanométrico es más pequeño a pH 4.

CuNPs EMex pH 12 presenta estructuras cúbicas y composición Cu_2O con un diámetro promedio de 5 ± 1.5 nm mismas características presentan las CuNPs EMex pH 7 y CuNPs EMex pH 4.

CuNPs Puebla pH 12 tiene una estructura, composición y tamaño similares a CuNPs EMex pH 12 sin diferencias significativas, las CuNPs pH 7 solo difieren en su tamaño promedio que es de 8 ± 2.5 nm, así como CuNPs Puebla pH 4 cuyo tamaño va desde los 7 nm hasta 15 nm.

CONCLUSIONES

Por otra parte, ZnNPs EMex pH 12 tiene una forma cúbica, composición ZnO_2 y tamaño promedio de 10 ± 2.5 nm, las ZnNPs EMex pH 7 poseen características similares, finalmente las ZnNPs EMex pH 4 tienen una estructura hexagonal y una composición de ZnO con un tamaño de 5 ± 1.5 nm.

Las FeNPs EMex pH 12 son nanopartículas cúbicas de composición $\text{Fe}_{2.9}\text{O}_4$ y tamaños de 15 nm hasta 25 nm, FeNPs EMex pH 7 también posee una estructura cúbica, pero es de una composición diferente $\text{Fe}_{0.925}\text{O}$ con un diámetro de partícula promedio de 7 ± 1.5 nm, FeNPs EMex pH 4 son romboédricas y su composición es Fe_2O_3 con tamaños de partícula que van desde los 10 nm hasta los 60 nm.

TiNPs EMex pH 12 tienen una estructura cúbica, composición TiO y tamaño 5 nm a 10 nm, las TiNPs EMex pH 7 posee estructuras cúbicas y hexagonales, de composición TiO y TiO_3 respectivamente, las NPs tenían un diámetro de 15 nm a 50 nm, mientras que las TiNPs Puebla pH 12 coinciden con los resultados obtenidos con las TiNPs EMex pH 12 a excepción de que sus tamaños promedio van de 20 nm a 50 nm. TiNPs Puebla pH 7 posee una estructura uniforme tetragonal de composición TiO_2 con tamaño de 25 a 40 nm, las TiNPs Puebla pH 4 son similares a las TiNPs Puebla pH 7; no se encontraron diferencias significativas.

Los resultados de las pruebas fotocatalíticas revelan que las AgNPs EMex pH 12, 7 y 4 son buenos fotocatalizadores degradando fenol [10 mg/L] hasta en un 56% para AgNPs EMex pH 4 a una concentración de 100 mg/L de NPs, de la misma manera las AgNPs Puebla pH 12, 7 y 4 mostraron una muy buena eficiencia fotocatalítica empleando las nanopartículas sintetizadas a pH 4 a la misma concentración.

CuNPs EMex pH 4 tienen los mejores resultados a las concentraciones de 100 y 50 mg/L con un mínimo de eficiencia del 72.7%, mientras que las CuNPs Puebla pH 12, 7 y 4 tienen eficiencias superiores al 78.7% para todas las concentraciones de NPs empleadas.

Los resultados de fotocatálisis de ZnNPs EMex tienen sus mejores eficiencias desde 94.3 % y superiores a los pH 7 y pH 4 a concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L.

CONCLUSIONES

Las FeNPs EMex tienen una buena actividad fotocatalítica, los mejores resultados se obtienen a los pH 7 y pH 4, mostrando resultados más uniformes a pH 4 para las concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L de NPs con eficiencias superiores al 91.2%.

TiNPs EMex presenta sus mejores eficiencias (94.1 % y superiores) a concentraciones de 10 mg/L de NPs para los pH 12, 7 y 4, mientras que las TiNPs Puebla pH 4 tiene una eficiencia superior al 95.2% para las concentraciones de 100, 50 y 10 mg/L de NPs.

Los resultados para las pruebas microbiológicas para todas las NPs fitosintetizadas y analizadas presentaron un mejor efecto microbicida a la concentración de 100 mg/L para todos los pH (pH 12, 7 y 4) empleados sin excepción.

Las AgNPs EMex tienen un mejor efecto bactericida para *S. aureus* que para *E. coli* mientras que AgNPs Puebla son efectivas para ambos grupos.

CuNPs EMex pH 12 es más efectivo como agente bactericida en contacto con *E. coli*, por otra parte, CuNPs EMex pH 12, 7 y 4 arroja eficiencias superiores al 90.2% como mínimo a concentraciones de 100, 50 y 10 cuando se ponen en contacto con *S. aureus*. CuNPs Puebla pH 12, 7 y 4 presenta dificultades para obtener resultados similares que las CuNPs EMex a los tres pH evaluados.

Las ZnNPs EMex pH 12 tienen un efecto biocida con *E. coli*, pero éste es superado cuando se analizan las muestras con *S. aureus*, en el cual las ZnNPs EMex a pH 12, 7 y 4 en todos los casos arroja eficiencias microbicidas al 60.9% para todas las concentraciones de nanopartículas empleadas.

El efecto bactericida para las FeNPs EMex es superior al 52.9 % cuando se trabaja con *E. coli* que para *S. aureus* para los pH 12, 7 y 4 solo a concentraciones de 100 mg/L de nanopartículas.

TiNPs EMex pH 12, 7 y 4 tiene eficiencias superiores al 72.5% y 88% en contacto con *E. coli* y *S. aureus* respectivamente para todas las concentraciones de NPs evaluadas, las TiNPs Puebla tuvieron un comportamiento similar a las TiNPs EMex pH 7 y 4, con

CONCLUSIONES

la única excepción de una eficiencia menor para las TiNPs Puebla pH 12 en contacto con *E. coli*.

En general, las nanopartículas metálicas fitosintetizadas en este trabajo son una opción prometedora como materiales fotocatalíticos y/o microbiológicos, siendo el más eficiente el TiNPs > AgNPs > CuNPs > FeNPs > ZnNPs. Por el método de fitosíntesis no se logra homogenizar el tamaño, forma y composición de las nanopartículas con el fin de determinar cuál de estas tres variables tendrían una mayor influencia en los métodos de remoción considerados en este trabajo. La ventaja de la fitosíntesis es la producción mínima de residuos producidos durante la síntesis y las pruebas. Se avanzó en el proceso de optimización del método de la fitosíntesis, aunque se pueda profundizar más en su estudio.

FUENTES CONSULTADAS

- Ahmad, T., Bustam, M. A., Zulfiqar, M., Moniruzzaman, M., Idris, A., Iqbal, J., Asghar, H. M. A., & Ullah, S. (2020). Controllable phytosynthesis of gold nanoparticles and investigation of their size and morphology-dependent photocatalytic activity under visible light. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 392(February). <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112429>
- Albukhaty, S., Al-Bayati, L., Al-Karagoly, H., & Al-Musawi, S. (2020). Preparation and characterization of titanium dioxide nanoparticles and in vitro investigation of their cytotoxicity and antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Animal Biotechnology*, 0(0), 1–7. <https://doi.org/10.1080/10495398.2020.1842751>
- Alizadeh-Sani, M., Hamishehkar, H., Khezerlou, A., Maleki, M., Azizi-Lalabadi, M., Bagheri, V., Safaei, P., Azimi, T., Hashemi, M., & Ehsani, A. (2020). Kinetics Analysis and Susceptibility Coefficient of the Pathogenic Bacteria by Titanium Dioxide and Zinc Oxide Nanoparticles. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 10(1), 56–64. <https://doi.org/10.15171/apb.2020.007>
- Alkawareek, M. Y., Bahloul, A., Abulateefeh, S. R., & Alkilany, A. M. (2019). Synergistic antibacterial activity of silver nanoparticles and hydrogen peroxide. *PLoS ONE*, 14(8), 1–12. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220575>
- Anusiya, G., Bharathi, S., K, M. P., Sainandhini, G., & U, G. P. (2020). *Extraction and molecular characterization of biological compounds from water hyacinth*. 8(5), 14–19. <https://doi.org/10.22271/plants.2020.v8.i5a.1189>
- Arasu, M. V., Arokiyaraj, S., Viayaraghavan, P., Kumar, T. S. J., Duraipandiyan, V., Al-Dhabi, N. A., & Kaviyarasu, K. (2019). One step green synthesis of larvicidal, and azo dye degrading antibacterial nanoparticles by response surface methodology. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 190(November 2018), 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.11.020>

FUENTES CONSULTADAS

- Assaf, A. H., Ramizy, A., & Mohammed, A. M. (2020). Removal of phenol from water using zno nanoparticles. *International Journal of Nanoelectronics and Materials*, 13(1), 41–54.
- Azizi-Lalabadi, M., Ehsani, A., Divband, B., & Alizadeh-Sani, M. (2019). Antimicrobial activity of Titanium dioxide and Zinc oxide nanoparticles supported in 4A zeolite and evaluation the morphological characteristic. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-54025-0>
- Beheshtkhoo, N., Kouhbanani, M. A. J., Savardashtaki, A., Amani, A. M., & Taghizadeh, S. (2018). Green synthesis of iron oxide nanoparticles by aqueous leaf extract of Daphne mezereum as a novel dye removing material. *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, 124(5), 0. <https://doi.org/10.1007/s00339-018-1782-3>
- Bonnia, N. N., Fairuzi, A. A., Akhir, R. M., Yahya, S. M., Ab Rani, M. A., Ratim, S., Rahman, N. A., & Akil, H. M. (2018). Comparison study on biosynthesis of silver nanoparticles using fresh and hot air oven dried IMPERATA CYLINDRICA leaf. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 290(1). <https://doi.org/10.1088/1757-899X/290/1/012002>
- Charindika, J. U., & Annadurai, G. (2018). Biosynthesis and Characterization of Silver Nanoparticles Using Leaf Extract Abutilon indicum. *Global Journal of Biotechnology & Biochemistry*, 13(01), 7–11. <https://doi.org/10.5829/idosi.gjbb.2018.13.01.12329>
- Chatterjee, A., Ajantha, M., Talekar, A., Revathy, N., & Abraham, J. (2017). Biosynthesis, Antimicrobial and Cytotoxic Effects of Titanium Dioxide Nanoparticles Using Vigna unguiculata Seeds. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*, 9(1), 95–99. <https://doi.org/10.25258/ijpapr.v9i1.8047>

FUENTES CONSULTADAS

- Chen, L., Li, F., Wei, Y., Li, G., Shen, K., & He, H. J. (2019). High cadmium adsorption on nanoscale zero-valent iron coated Eichhornia crassipes biochar. *Environmental Chemistry Letters*, 17(1), 589–594. <https://doi.org/10.1007/s10311-018-0811-y>
- Chien, H., Tsai, M., Kuo, C., & Lin, C. (2021). Well-Dispersed Silver Nanoparticles on Cellulose Filter Paper for Bacterial Removal. *Nanomaterials*, 11(3), 595. <https://doi.org/10.3390/nano11030595>
- Choudhary, M. K., Kataria, J., & Sharma, S. (2018). Evaluation of the kinetic and catalytic properties of biogenically synthesized silver nanoparticles. *Journal of Cleaner Production*, 198, 882–890. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.09.015>
- Deshmukh, S. P., Patil, S. M., Mullani, S. B., & Delekar, S. D. (2019). Silver nanoparticles as an effective disinfectant: A review. *Materials Science and Engineering C*, 97(December 2018), 954–965. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.12.102>
- Devanesan, S., AlSalhi, M. S., Balaji, R. V., Ranjitsingh, A. J. A., Ahamed, A., Alfuraydi, A. A., AlQahtani, F. Y., Aleanizy, F. S., & Othman, A. H. (2018). Antimicrobial and Cytotoxicity Effects of Synthesized Silver Nanoparticles from Punica granatum Peel Extract. *Nanoscale Research Letters*, 13. <https://doi.org/10.1186/s11671-018-2731-y>
- Devatha, C. P., Jagadeesh, K., & Patil, M. (2018). Effect of Green synthesized iron nanoparticles by Azadirachta Indica in different proportions on antibacterial activity. *Environmental Nanotechnology, Monitoring and Management*, 9(October 2017), 85–94. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2017.11.007>
- Djokić, V. R., Marinković, A. D., Petrović, R. D., Ersen, O., Zafeiratos, S., Mitrić, M., Ophus, C., Radmilović, V. R., & Janačković, D. T. (2020). Highly Active Rutile TiO₂ Nanocrystalline Photocatalysts. *ACS Applied Materials and Interfaces*, 12(29), 33058–33068. <https://doi.org/10.1021/acsami.0c03150>

- Dubey, V., & Lata, N. (2010). Preliminary photochemical screening of Eichhornia crassipes: the world's worst aquatic weed. *Journal of Pharmacy Research*, 3(36), 1240–1242.
- Duffy, L. L., Osmond-McLeod, M. J., Judy, J., & King, T. (2018). Investigation into the antibacterial activity of silver, zinc oxide and copper oxide nanoparticles against poultry-relevant isolates of Salmonella and Campylobacter. *Food Control*, 92, 293–300. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.05.008>
- Duraimurugan, J., Kumar, G. S., Maadeswaran, P., Shanavas, S., Anbarasan, P. M., & Vasudevan, V. (2019). Structural, optical and photocatalytic properties of zinc oxide nanoparticles obtained by simple plant extract mediated synthesis. *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 30(2), 1927–1935. <https://doi.org/10.1007/s10854-018-0466-2>
- Elemike, E. E., Onwudiwe, D. C., Ekennia, A. C., Ehiri, R. C., & Nnaji, N. J. (2017). Phytosynthesis of silver nanoparticles using aqueous leaf extracts of Lippia citriodora: Antimicrobial, larvicidal and photocatalytic evaluations. *Materials Science and Engineering C*, 75, 980–989. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.02.161>
- Eslami, S., Ebrahimzadeh, M. A., & Biparva, P. (2018). Green synthesis of safe zero valent iron nanoparticles by: Myrtus communis leaf extract as an effective agent for reducing excessive iron in iron-overloaded mice, a thalassemia model. *RSC Advances*, 8(46), 26144–26155. <https://doi.org/10.1039/c8ra04451a>
- Fröber, K., Bergs, C., Pich, A., & Conrads, G. (2020). Biofunctionalized zinc peroxide nanoparticles inhibit peri-implantitis associated anaerobes and Aggregatibacter actinomycetemcomitans pH-dependent. *Anaerobe*, 62, 102153. <https://doi.org/10.1016/j.anaerobe.2020.102153>
- Gabrielyan, L., Badalyan, H., Gevorgyan, V., & Trchounian, A. (2020). Comparable antibacterial effects and action mechanisms of silver and iron oxide nanoparticles

FUENTES CONSULTADAS

- on *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*. *Scientific Reports*, 10(1), 1–12. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70211-x>
- Gómez-Duarte, O. G. (2018). Contaminación del agua en países de bajos y medianos recursos, un problema de salud pública. *Revista Facultad de Medicina*, 66(1), 7–8. <https://doi.org/10.15446/revfacmed.v66n1.70775>
- Goutam, S. P., Saxena, G., Singh, V., Yadav, A. K., Bharagava, R. N., & Thapa, K. B. (2018). Green synthesis of TiO₂ nanoparticles using leaf extract of *Jatropha curcas* L. for photocatalytic degradation of tannery wastewater. *Chemical Engineering Journal*, 336, 386–396. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2017.12.029>
- Hamdaoui, M., Hadri, M., Bencheqroun, Z., Draoui, K., Nawdali, M., Zaitan, H., & Barhoun, A. (2018). Improvement of phenol removal from aqueous medium by adsorption on organically functionalized Moroccan stevensite. *J. Mater. Environ. Sci*, 9(4), 1119–1127. <http://www.jmaterenvironsci.com>
- Im, S. Y., Kim, K. M., & Kwon, J. S. (2020). Antibacterial and osteogenic activity of titania nanotubes modified with electrospray-deposited tetracycline nanoparticles. *Nanomaterials*, 10(6). <https://doi.org/10.3390/nano10061093>
- Irshad, M. A., Nawaz, R., Zia ur Rehman, M., Imran, M., Ahmad, J., Ahmad, S., Inam, A., Razzaq, A., Rizwan, M., & Ali, S. (2020). Synthesis and characterization of titanium dioxide nanoparticles by chemical and green methods and their antifungal activities against wheat rust. *Chemosphere*, 258, 127352. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.127352>
- Issaabadi, Z., Nasrollahzadeh, M., & Sajadi, S. M. (2017). Green synthesis of the copper nanoparticles supported on bentonite and investigation of its catalytic activity. *Journal of Cleaner Production*, 142, 3584–3591. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2016.10.109>
- Ivask, A., Mitchell, A. J., Malysheva, A., Voelcker, N. H., & Lombi, E. (2018). Methodologies and approaches for the analysis of cell–nanoparticle interactions.

- Wiley Interdisciplinary Reviews: Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 10(3), 1–22. <https://doi.org/10.1002/wnan.1486>
- Izadiyan, Z., Shameli, K., Miyake, M., Hara, H., Mohamad, S. E. B., Kalantari, K., Taib, S. H. M., & Rasouli, E. (2020). Cytotoxicity assay of plant-mediated synthesized iron oxide nanoparticles using *Juglans regia* green husk extract. *Arabian Journal of Chemistry*, 13(1), 2011–2023. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2018.02.019>
- Jagathesan, G., & Rajiv, P. (2018). Biosynthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using *Eichhornia crassipes* leaf extract and assessing their antibacterial activity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 13(August 2017), 90–94. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2017.11.014>
- Joghee, S., Ganeshan, P., Vincent, A., & Hong, S. I. (2019). Ecofriendly Biosynthesis of Zinc Oxide and Magnesium Oxide Particles from Medicinal Plant *Pisonia grandis* R.Br. Leaf Extract and Their Antimicrobial Activity. *BioNanoScience*, 9(1), 141–154. <https://doi.org/10.1007/s12668-018-0573-9>
- Joshi, A., Sharma, A., Bachheti, R. K., & Husen, A. (2019). Nanomaterials and Plant Potential. *Nanomaterials and Plant Potential*. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-05569-1>
- Kamarulzaman, N., Kasim, M. F., & Rusdi, R. (2015). Band Gap Narrowing and Widening of ZnO Nanostructures and Doped Materials. *Nanoscale Research Letters*, 10(1). <https://doi.org/10.1186/s11671-015-1034-9>
- Kamnev, A. A., Dyatlova, Y. A., Kenzhegulov, O. A., Vladimirova, A. A., Mamchenkova, P. v., & Tugarova, A. v. (2021). Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopic Analyses of Microbiological Samples and Biogenic Selenium Nanoparticles of Microbial Origin: Sample Preparation Effects. *Molecules*, 26(4), 1146. <https://doi.org/10.3390/molecules26041146>
- Kaweeteerawat, C., Chang, C. H., Roy, K. R., Liu, R., Ruibin, L., Toso, D., Fischer, H., Ivask, A., Ji, Z., Zink, J. I., Zhou, H. Z., Chanfreau, G. F., Telesca, D., Cohen, Y., Holden, P. A., Nel, A. E., & Godwin, H. A. (2015). Cu Nanoparticles Have Different

- Impacts in *E. coli* and *L. brevis* than Their Micron-Sized and Ionic Analogs. *ACS Nano*, 9(7), 7215–7225. <https://doi.org/10.1021/acsnano.5b02021.Cu>
- Khajuria, A. K., Bisht, N. S., Manhas, R. K., & Kumar, G. (2019). Callus mediated biosynthesis and antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles from *Viola canescens*: an important Himalayan medicinal herb. *SN Applied Sciences*, 1(5). <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0426-3>
- Khalafi, T., Buazar, F., & Ghanemi, K. (2019). Phycosynthesis and Enhanced Photocatalytic Activity of Zinc Oxide Nanoparticles Toward Organosulfur Pollutants. *Scientific Reports*, 9(1), 1–10. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-43368-3>
- Khan, S. A., Khan, S. B., Khan, L. U., Farooq, A., Akhtar, K., & Asiri, A. M. (2018). Fourier transform infrared spectroscopy: Fundamentals and application in functional groups and nanomaterials characterization. In *Handbook of Materials Characterization* (pp. 317–344). Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-92955-2_9
- Krishnasamy, A., Sundaresan, M., & Velan, P. (2015). Rapid phytosynthesis of nano-sized titanium using leaf extract of *Azadirachta indica*. *International Journal of ChemTech Research*, 8(4), 2047–2052.
- Kuang, Y., Zhou, Y., Chen, Z., Megharaj, M., & Naidu, R. (2013). Impact of Fe and Ni/Fe nanoparticles on biodegradation of phenol by the strain *Bacillus fusiformis* (BFN) at various pH values. *Bioresource Technology*, 136, 588–594. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.018>
- Kumar, B., Smita, K., Cumbal, L., & Debut, A. (2020). Phytosynthesis of silver nanoparticles using andean cabbage: Structural characterization and its application. *Materials Today: Proceedings*, 21, 2079–2086. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.01.327>
- Li, J. F., Rupa, E. J., Hurh, J., Huo, Y., Chen, L., Han, Y., Ahn, J. chan, Park, J. K., Lee, H. A., Mathiyalagan, R., & Yang, D. C. (2019). *Cordyceps militaris* fungus mediated

- Zinc Oxide nanoparticles for the photocatalytic degradation of Methylene blue dye. *Optik*, 183, 691–697. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2019.02.081>
- Liu, Y., He, L., Mustapha, A., Li, H., Hu, Z. Q., & Lin, M. (2009). Antibacterial activities of zinc oxide nanoparticles against *Escherichia coli* O157:H7. *Journal of Applied Microbiology*, 107(4), 1193–1201. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2009.04303.x>
- Lv, Q., Zhang, B., Xing, X., Zhao, Y., Cai, R., Wang, W., & Gu, Q. (2018). Biosynthesis of copper nanoparticles using *Shewanella loihica* PV-4 with antibacterial activity: Novel approach and mechanisms investigation. *Journal of Hazardous Materials*, 347, 141–149. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.12.070>
- Ma, Q., Cui, L., Zhou, S., Li, Y., Shi, W., & Ai, S. (2018). Iron nanoparticles in situ encapsulated in lignin-derived hydrochar as an effective catalyst for phenol removal. *Environmental Science and Pollution Research*, 25(21), 20833–20840. <https://doi.org/10.1007/s11356-018-2285-7>
- Madivoli, E. S., Kareru, P. G., Maina, E. G., Nyabola, A. O., Wanakai, S. I., & Nyang'au, J. O. (2019). Biosynthesis of iron nanoparticles using *Ageratum conyzoides* extracts, their antimicrobial and photocatalytic activity. *SN Applied Sciences*, 1(5). <https://doi.org/10.1007/s42452-019-0511-7>
- Makula, P., Pacia, M., & Macyk, W. (2018). How To Correctly Determine the Band Gap Energy of Modified Semiconductor Photocatalysts Based on UV-Vis Spectra. *Journal of Physical Chemistry Letters*, 9(23), 6814–6817. <https://doi.org/10.1021/acs.jpclett.8b02892>
- Manikandan, V., Lee, J. H., Velmurugan, P., Jayanthi, P., Chang, W. S., Park, Y. J., Cho, M., & Oh, B. T. (2018). Fabrication and characterization of TiO₂-loaded *Moringa oleifera* gum-activated carbon and the photo-catalytic degradation of phosphate in aqueous solutions. *Nanotechnology for Environmental Engineering*, 3(1), 1–13. <https://doi.org/10.1007/s41204-017-0031-x>

- McClements, D. J. (2020). Advances in nanoparticle and microparticle delivery systems for increasing the dispersibility, stability, and bioactivity of phytochemicals. *Biotechnology Advances*, 38(August 2018), 107287. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2018.08.004>
- Moure-flores, F. J. de, Santos-cruz, J., Esparza-mu, R. A., & May, A. (2020). *Materials Science in Semiconductor Processing Synthesis and characterization of graphene oxide - TiO₂ thin films by sol-gel for photocatalytic applications*. 114(December 2019). <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2020.105082>
- Nabila, M. I., & Kannabiran, K. (2018). Biosynthesis, characterization and antibacterial activity of copper oxide nanoparticles (CuO NPs) from actinomycetes. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 15(May), 56–62. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2018.05.011>
- Nagarajan, S., & Arumugam Kuppusamy, K. (2013). Extracellular synthesis of zinc oxide nanoparticle using seaweeds of gulf of Mannar, India. *Journal of Nanobiotechnology*, 11(1), 1–11. <https://doi.org/10.1186/1477-3155-11-39>
- Naghdi, S., Sajjadi, M., Nasrollahzadeh, M., Rhee, K. Y., Sajadi, S. M., & Jaleh, B. (2018). Cuscuta reflexa leaf extract mediated green synthesis of the Cu nanoparticles on graphene oxide/manganese dioxide nanocomposite and its catalytic activity toward reduction of nitroarenes and organic dyes. *Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers*, 86, 158–173. <https://doi.org/10.1016/j.jtice.2017.12.017>
- Nasrollahzadeh, M., Sajjadi, M., Dasmeh, H. R., & Sajadi, S. M. (2018). Green synthesis of the Cu/sodium borosilicate nanocomposite and investigation of its catalytic activity. *Journal of Alloys and Compounds*, 763, 1024–1034. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2018.05.012>
- Ngoepe, N. M., Mathipa, M. M., & Hintsho-Mbita, N. C. (2020). Biosynthesis of titanium dioxide nanoparticles for the photodegradation of dyes and removal of bacteria. *Optik*, 224(October), 165728. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2020.165728>

FUENTES CONSULTADAS

- NMX-AA-050-SCFI-2001. (2001). Análisis De Agua - Determinación De Fenoles Totales En Aguas Naturales , Potables , Residuales Y Residuales Tratadas - Método De Prueba (Cancela a La Nmx-Aa-050-1981) Water Analisis - Determination of Total Phenols in Natural , Drinking , Wastewaters an. . . *Diario Oficial de La Federación*, 24.
- NOM-092-SSA1-1994. (1995). NOM-092-SSA1-1994, Bienes y servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. *Diario Oficial de La Federación*, 12, 1–6.
- NOM-110-SSA1-1994. (1994). NOM-110-SSA1-1994, Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras de alimentos para su análisis microbiológico. *Diario Oficial de La Federación*, 5.
- NOM-210-SSA1-2014. (2016). *Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.* Diario Oficial de La Federación. http://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5398468&fecha=26/06/2015
- Osonga, F. J., Eshun, G., Kalra, S., Yazgan, I., Sakhaee, L., Ontman, R., Jiang, S., & Sadik, O. A. (2022). Influence of Particle Size and Shapes on the Antifungal Activities of Greener Nanostructured Copper against *Penicillium italicum*. *ACS Agricultural Science and Technology*, 2(1), 42–56. <https://doi.org/10.1021/acsagscitech.1c00102>
- Patidar, V., & Jain, P. (2017). Green Synthesis of TiO₂ Nanoparticle Using Moringa Oleifera Leaf Extract. *International Research Journal of Engineering and Technology(IRJET)*, 4(3), 1–7.
- Prakash, S., Elavarasan, N., Venkatesan, A., Subashini, K., Sowndharya, M., & Sujatha, V. (2018). Green synthesis of copper oxide nanoparticles and its effective applications in Biginelli reaction, BTB photodegradation and antibacterial activity. *Advanced Powder Technology*, 29(12), 3315–3326. <https://doi.org/10.1016/j.appt.2018.09.009>

FUENTES CONSULTADAS

- Radini, I. A., Hasan, N., Malik, M. A., & Khan, Z. (2018). Biosynthesis of iron nanoparticles using *Trigonella foenum-graecum* seed extract for photocatalytic methyl orange dye degradation and antibacterial applications. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 183(January), 154–163. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.04.014>
- Raja, A., Ashokkumar, S., Pavithra Marthandam, R., Jayachandiran, J., Khatiwada, C. P., Kaviyarasu, K., Ganapathi Raman, R., & Swaminathan, M. (2018). Eco-friendly preparation of zinc oxide nanoparticles using *Tabernaemontana divaricata* and its photocatalytic and antimicrobial activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 181(February), 53–58. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.02.011>
- Rajesh, K. M., Ajitha, B., Ashok Kumar Reddy, Y., Suneetha, Y., & Sreedhara Reddy, P. (2016). Synthesis of copper nanoparticles and role of pH on particle size control. *Materials Today: Proceedings*, 3(6), 1985–1991. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2016.04.100>
- Rajesh, K. M., Ajitha, B., Reddy, Y. A. K., Suneetha, Y., & Reddy, P. S. (2018). Assisted green synthesis of copper nanoparticles using *Syzygium aromaticum* bud extract: Physical, optical and antimicrobial properties. *Optik*, 154, 593–600. <https://doi.org/10.1016/j.ijleo.2017.10.074>
- Rajeshkumar, S., Bharath, L. V., & Geetha, R. (2019). Broad spectrum antibacterial silver nanoparticle green synthesis: Characterization, and mechanism of action. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102579-6.00018-6>
- Rajkumar, T., Sapi, A., Das, G., Debnath, T., Ansari, A. Z., & Patra, J. K. (2019). Biosynthesis of silver nanoparticle using extract of *Zea mays* (corn flour) and investigation of its cytotoxicity effect and radical scavenging potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 193, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2019.01.008>

FUENTES CONSULTADAS

- Ramanathan, A., & Aqra, M. (2019). An Overview of the Green Road to the Synthesis of Nanoparticles. *Journal of Materials Science Research and Reviews*, 2(3), 1–11. <https://doi.org/10.9734/JMSRR/2019/46014>
- Reddy, N. v., Li, H., Hou, T., Bethu, M. S., Ren, Z., & Zhang, Z. (2021). Phytosynthesis of silver nanoparticles using perilla frutescens leaf extract: Characterization and evaluation of antibacterial, antioxidant, and anticancer activities. *International Journal of Nanomedicine*, 16, 15–29. <https://doi.org/10.2147/IJN.S265003>
- Ríos-Tobón, S., Agudelo-Cadavid, R. M., & Gutiérrez-Builes, L. A. (2017). Patógenos e indicadores microbiológicos de calidad del agua para consumo humano. *Revista Facultad Nacional de Salud Pública*, 35(2), 236–247. <https://doi.org/10.17533/udea.rfnsp.v35n2a08>
- Rodríguez Pava, C. N., Zarate Sanabria, A. G., & Sánchez Leal, L. C. (2017). Actividad antimicrobiana de cuatro variedades de plantas frente a patógenos de importancia clínica en Colombia. *Nova*, 15(27), 119. <https://doi.org/10.22490/24629448.1963>
- Sahu, K., Singh, J., & Mohapatra, S. (2019). Catalytic reduction of 4-nitrophenol and photocatalytic degradation of organic pollutants in water by copper oxide nanosheets. *Optical Materials*, 93(April), 58–69. <https://doi.org/10.1016/j.optmat.2019.05.007>
- Saif, M. S., Zafar, A., Waqas, M., Hassan, S. G., Haq, A. ul, Tariq, T., Batool, S., Dilshad, M., Hasan, M., & Shu, X. (2021). Phyto-reflexive Zinc Oxide Nano-Flowers synthesis: An advanced photocatalytic degradation and infectious therapy. *Journal of Materials Research and Technology*, 13, 2375–2391. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2021.05.107>
- Sandeep, S., Santhosh, A. S., Swamy, N. K., Suresh, G. S., Melo, J. S., & Mallu, P. (2016). Biosynthesis of silver nanoparticles using Convolvulus pluricaulis leaf extract and assessment of their catalytic, electrocatalytic and phenol remediation properties. *Advanced Materials Letters*, 7(5), 383–389. <https://doi.org/10.5185/amlett.2016.6067>

- Santhoshkumar, J., Agarwal, H., Menon, S., Rajeshkumar, S., & Venkat Kumar, S. (2019). A biological synthesis of copper nanoparticles and its potential applications. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102579-6.00009-5>
- Santhoshkumar, J., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. (2017). Synthesis of zinc oxide nanoparticles using plant leaf extract against urinary tract infection pathogen. *Resource-Efficient Technologies*, 3(4), 459–465. <https://doi.org/10.1016/j.reffit.2017.05.001>
- Scott, T., Zhao, H., Deng, W., Feng, X., & Li, Y. (2019). Photocatalytic degradation of phenol in water under simulated sunlight by an ultrathin MgO coated Ag/TiO₂ nanocomposite. *Chemosphere*, 216, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.10.083>
- Shahzeydi, A., Ghiaci, M., Farrokhpour, H., Shahvar, A., Sun, M., & Saraji, M. (2019). Facile and green synthesis of copper nanoparticles loaded on the amorphous carbon nitride for the oxidation of cyclohexane. In *Chemical Engineering Journal* (Vol. 370). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.03.227>
- Sharma, P., Pant, S., Dave, V., Tak, K., Sadhu, V., & Reddy, K. R. (2019). Green synthesis and characterization of copper nanoparticles by *Tinospora cardifolia* to produce nature-friendly copper nano-coated fabric and their antimicrobial evaluation. *Journal of Microbiological Methods*, 160(January), 107–116. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2019.03.007>
- Sharmila, G., Sakthi Pradeep, R., Sandiya, K., Santhiya, S., Muthukumaran, C., Jeyanthi, J., Manoj Kumar, N., & Thirumarimurugan, M. (2018). Biogenic synthesis of CuO nanoparticles using *Bauhinia tomentosa* leaves extract: Characterization and its antibacterial application. *Journal of Molecular Structure*, 1165, 288–292. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2018.04.011>
- Sheikh, E., B. Bhatt, M., & Tripathi, M. (2018). Bio-based synthesised and characterized monodispersed *Curcuma longa* silver nanoparticles induces

- targeted anticancer activity in breast cancer cells. *Pharmacognosy Magazine*, 14(57), 340. https://doi.org/10.4103/pm.pm_71_18
- Silva, L. P., Pereira, T. M., & Bonatto, C. C. (2019). Frontiers and perspectives in the green synthesis of silver nanoparticles. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102579-6.00007-1>
- Srinivasan, M., Venkatesan, M., Arumugam, V., Natesan, G., Saravanan, N., Murugesan, S., Ramachandran, S., Ayyasamy, R., & Pugazhendhi, A. (2019). Green synthesis and characterization of titanium dioxide nanoparticles (TiO₂ NPs) using *Sesbania grandiflora* and evaluation of toxicity in zebrafish embryos. *Process Biochemistry*, 80(December 2018), 197–202. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2019.02.010>
- Sriramulu, M., Balaji, & Sumathi, S. (2020). Photo Catalytic, Antimicrobial and Antifungal Activity of Biogenic Iron Oxide Nanoparticles Synthesised Using *Aegle marmelos* Extracts. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 2(0123456789). <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01812-2>
- Subhapriya, S., & Gomathipriya, P. (2018). Green synthesis of titanium dioxide (TiO₂) nanoparticles by *Trigonella foenum-graecum* extract and its antimicrobial properties. *Microbial Pathogenesis*, 116(January), 215–220. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2018.01.027>
- Suganya, M., Kavitha, S., Mythili Gnanamangai, B., & Ponmurugan, P. (2018). Phytofabrication of silver nanoparticles using *Bacopa monnieri* leaf extract and its antibacterial activity as well as oxidative stress-induced apoptosis of lung cancer. *IET Nanobiotechnology*, 12(3), 318–324. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2017.0146>
- Thakur, B. K., Kumar, A., & Kumar, D. (2019). Green synthesis of titanium dioxide nanoparticles using *Azadirachta indica* leaf extract and evaluation of their

FUENTES CONSULTADAS

- antibacterial activity. *South African Journal of Botany*, 124, 223–227. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.05.024>
- Uekawa, N., Kajiwar, J., Mochizuki, N., Kakegawa, K., & Sasaki, Y. (2001). Synthesis of ZnO nanoparticles by decomposition of Zinc peroxide. *Chemistry Letters*, 7, 606–607. <https://doi.org/10.1246/cl.2001.606>
- Umar, H., Kavaz, D., & Rizaner, N. (2019). Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using albizia lebbeck stem bark, and evaluation of its antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities on human breast cancer cell lines. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 87–100. <https://doi.org/10.2147/IJN.S186888>
- Uribe-López, M. C., Hidalgo-López, M. C., López-González, R., Frías-Márquez, D. M., Núñez-Nogueira, G., Hernández-Castillo, D., & Alvarez-Lemus, M. A. (2021). Photocatalytic activity of ZnO nanoparticles and the role of the synthesis method on their physical and chemical properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 404(August 2020). <https://doi.org/10.1016/j.jphotochem.2020.112866>
- Valsalam, S., Agastian, P., Arasu, M. V., Al-Dhabi, N. A., Ghilan, A. K. M., Kaviyarasu, K., Ravindran, B., Chang, S. W., & Arokiyaraj, S. (2019). Rapid biosynthesis and characterization of silver nanoparticles from the leaf extract of *Tropaeolum majus* L. and its enhanced in-vitro antibacterial, antifungal, antioxidant and anticancer properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 191(December 2018), 65–74. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.010>
- Vasantharaj, S., Sathiyavimal, S., Saravanan, M., Senthilkumar, P., Gnanasekaran, K., Shanmugavel, M., Manikandan, E., & Pugazhendhi, A. (2019). Synthesis of ecofriendly copper oxide nanoparticles for fabrication over textile fabrics: Characterization of antibacterial activity and dye degradation potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 191(December 2018), 143–149. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.026>

- Vasantharaj, S., Sathiyavimal, S., Senthilkumar, P., LewisOscar, F., & Pugazhendhi, A. (2019). Biosynthesis of iron oxide nanoparticles using leaf extract of *Ruellia tuberosa*: Antimicrobial properties and their applications in photocatalytic degradation. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 192(December 2018), 74–82. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2018.12.025>
- Vélez, E., Campillo, G., Morales, G., Hincapié, C., Osorio, J., & Arnache, O. (2018). Silver Nanoparticles Obtained by Aqueous or Ethanolic Aloe vera Extracts: An Assessment of the Antibacterial Activity and Mercury Removal Capability. *Journal of Nanomaterials*, 2018, 1–7. <https://doi.org/10.1155/2018/7215210>
- Vivek, E., Senthilkumar, N., Pramothkumar, A., Vimalan, M., & Potheher, I. V. (2019). Synthesis of flower-like copper oxide microstructure and its photocatalytic property. *Physica B: Condensed Matter*, 566(May), 96–102. <https://doi.org/10.1016/j.physb.2019.05.009>
- Vu, X. H., Duong, T. T. T., Pham, T. T. H., Trinh, D. K., Nguyen, X. H., & Dang, V. S. (2018). Synthesis and study of silver nanoparticles for antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 9(2). <https://doi.org/10.1088/2043-6254/aac58f>
- Wei, Y., Fang, Z., Zheng, L., & Tsang, E. P. (2017). Biosynthesized iron nanoparticles in aqueous extracts of *Eichhornia crassipes* and its mechanism in the hexavalent chromium removal. *Applied Surface Science*, 399, 322–329. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.12.090>
- Yudasari, N., Wiguna, P. A., Handayani, W., Suliyanti, M. M., & Imawan, C. (2021). The formation and antibacterial activity of Zn/ZnO nanoparticle produced in *Pometia pinnata* leaf extract solution using a laser ablation technique. *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, 127(1), 1–11. <https://doi.org/10.1007/s00339-020-04197-8>

FUENTES CONSULTADAS

- Yusefi, M., Shameli, K., Yee, O. S., Teow, S. Y., Hedayatnasab, Z., Jahangirian, H., Webster, T. J., & Kuča, K. (2021). Green synthesis of Fe_3O_4 nanoparticles stabilized by a garcinia mangostana fruit peel extract for hyperthermia and anticancer activities. *International Journal of Nanomedicine*, 16, 2515–2532. <https://doi.org/10.2147/IJN.S284134>
- Zhang, X., Chen, Y., Shang, Q., & Guo, Y. (2020). Copper doping and organic sensitization enhance photocatalytic activity of titanium dioxide: Efficient degradation of phenol and tetrabromobisphenol A. *Science of the Total Environment*, 716, 137144. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137144>
- Zhu, X., Pathakoti, K., & Hwang, H.-M. (2019). Green synthesis of titanium dioxide and zinc oxide nanoparticles and their usage for antimicrobial applications and environmental remediation. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-102579-6.00010-1>

FUENTES CONSULTADAS