



TECNOLÓGICO
NACIONAL DE MÉXICO

TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TEPIC



**SÍNTESIS Y CARACTERIZACIÓN DE UN MATERIAL COMPÓSITO CON
BASE EN NANOPARTÍCULAS DE MAGNETITA OBTENIDAS VÍA
ELECTROQUÍMICA, MODIFICADAS CON QUITOSANO, PARA SU
POTENCIAL APLICACIÓN EN LA INDUSTRIA AGROALIMENTARIA**

Por:

I.Q. FLORES RAMÍREZ ANA YARELI

TESIS PROPUESTA A LA
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO
E INVESTIGACIÓN

COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS
EN ALIMENTOS**

DIRECTOR:

DR. ULISES MIGUEL LÓPEZ GARCÍA

CO-DIRECTOR:

DR. AARÓN RODRÍGUEZ LÓPEZ

Tepic, Nayarit

Junio del 2020



“2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria”

Tepic, Nayarit, **15/JUNIO/2020**

CONSEJO DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

No. Oficio CMCA: 25-2020

M.C. Luz del Carmen Romero Islas
JEFE DE LA DIV. DE EST. DE POSG. E INV.
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TEPIC
P R E S E N T E

Por este conducto comunico a usted que el Consejo de la Maestría en Ciencias en Alimentos ha designado como revisores de la tesis de la alumna **I. Q. Ana Yareli Flores Ramírez** con número de control **G13400002**, cuyo título es **“Síntesis y caracterización de un material compósito con base en nanopartículas de magnetita obtenidas vía electroquímica, modificadas con quitosano, para su potencial aplicación en la industria agroalimentaria”** a los miembros que a continuación se enlistan, mismos que han evaluado y aprobado el contenido del manuscrito para obtener el grado de Maestro(a) en Ciencias en Alimentos y que firman de conformidad.

Dra. Ulises Miguel López García
(Presidente)

Dra. Martina Alejandra Chacón López
(Secretario)

Dra. Selene Aguilera Aguirre
(Vocal)

Dr. Aarón Rodríguez López
(Vocal suplente)

Por lo anterior, le solicito se sirva elaborar los oficios correspondientes para **AUTORIZAR LA IMPRESIÓN DE TESIS**. Agradeciendo de antemano la atención prestada a la presente, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

A T E N T A M E N T E
Excelencia en Educación Tecnológica®

Dr. Ulises Miguel López García
Presidente del Consejo de Maestría en Ciencias en Alimentos

c.c.p. Expediente

Constancia de originalidad de derechos



“2020, Año de Leona Vicario, Benemérita Madre de la Patria”

Tepic, Nayarit, 17/Junio/2020
25/337/2020

**I.Q. ANA YARELI FLORES RAMÍREZ
PRESENTE**

De acuerdo con el reglamento de los Institutos tecnológicos dependientes de la Dirección General de Educación Superior Tecnológica de la Secretaría de Educación Pública y habiendo cumplido con todas las indicaciones que la comisión revisora le hizo a su trabajo de Tesis de Maestría en Ciencias en Alimentos; denominado **“Síntesis y caracterización de un material compósito con base en nanopartículas de magnetita obtenidas vía electroquímica, modificadas con quitosano, para su potencial aplicación en la industria agroalimentaria”**.

La División de Estudios de Posgrado e Investigación le autoriza para que proceda a la **impresión** de la misma.

Sin más por el momento quedo de usted.

A T E N T A M E N T E

Excelencia en Educación Tecnológica®
Sabiduría Tecnológica, Pasión de Nuestro Espíritu.

**M.C. LUZ DEL CARMEN ROMERO ILSAS
JEFA DE LA DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN**

ccp. Archivo DEPI.

**agvl



TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO
INSTITUTO TECNOLÓGICO DE TEPIC
DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO E INVESTIGACIÓN
POSGRADO EN CIENCIAS EN ALIMENTOS

ASUNTO: CARTA DE SESIÓN DE DERECHOS

En la ciudad de Tepic, Nayarit., el mes de JUNIO de 2020, el que suscribe alumno **IQ. ANA YARELI FLORES RAMÍREZ** del Programa de **MAESTRÍA EN CIENCIAS EN ALIMENTOS** con número de control **G13400002**, manifiesta que todos los resultados derivados de sus estudios de posgrado y realizados bajo la dirección del DR. **ULISES MIGUEL LÓPEZ GARCÍA** pertenece al Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Tepic, por lo que cedo los derechos de los mismos a este instituto con fines académicos y de investigación. Así mismo manifiesto que es de mi conocimiento que si de estos resultados se originan patentes o publicaciones, participaré como coautor y de los beneficios que se deriven.



IQ. ANA YARELI FLORES RAMÍREZ

Le dedico este trabajo:

A Dios por la vida que me ha dado, por ser mi guía y acompañarme en mi camino.

A mis padres Alberta y Lorenzo por su apoyo, cuidado, educación y confianza; así como por enseñarme a tomar mis propias decisiones y respetarlas, sin dejarme dar por vencida.

A mis hermanos Yudith Lorenia, Mariano Valentín y Lorenzo Antonio por su apoyo y motivación.

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por su apoyo financiero.

A mi director de tesis, el Dr. Ulises Miguel López García, por todo el apoyo y confianza que me brindo durante la elaboración de este trabajo.

A mi co-director de tesis, el Dr. Aarón Rodríguez López, por todo el apoyo y tiempo que invirtió en esta investigación.

A la Dra. Selene Aguilera Aguirre y la Dra. Martina Alejandra Chacón López, quienes formaron parte del comité tutorial, por el tiempo que invirtieron en esta investigación, sus asesorías y aportaciones que contribuyeron a esta investigación.

A el Dr. Jhon Sánchez integrante del Laboratorio Nacional de Ciencia y Tecnología de Terahertz (LANCYTT), por su colaboración para el desarrollo de esta investigación.

A el Dr. Luis Antonio Ortiz Frade, Dr. René Antaño López, Dr. José de Jesús Pérez Bueno y la Mtra. Rubí Reséndiz Ramírez del Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica (CIDETEQ); A la Dra. Alejandra Álvarez López y el Dr. Juan de Dios Galindo de la Rosa de la Universidad Autónoma de Querétaro (UAQ); A la Dra. Flora Emperatriz Mercader Trejo de la Universidad Politécnica de Santa Rosa Jáuregui (UPSRJ), por su colaboración para la investigación y su apoyo durante mis estancias.

A la Dra. María de Lourdes García Magaña y el Dr. Víctor Zamora Gasga del Tecnológico Nacional de México, Instituto Tecnológico de Tepic, por su apoyo y asesoramiento

A todos mis compañeras y amigas, por todo su apoyo, estar conmigo y animarme.

RESUMEN

Las nanopartículas de magnetita (NPM) han despertado gran interés debido a su baja toxicidad humana y actividad antimicrobiana. Para la obtención de esta clase de nanopartículas, se han planteado métodos electroquímicos que permiten lograr un mejor control y distribución en el tamaño. Adicionalmente, se ha reportado que funcionalizadas con quitosano (Qts), su actividad antimicrobiana es más efectiva. Por lo que en esta investigación se sintetizó y caracterizó un material compósito basado en NPM modificadas con Qts (NPM/Qts) y se evaluó el efecto antimicrobiano sobre el crecimiento de *Salmonella typhimurium*, para su potencial aplicación en la industria agroalimentaria. Para ello se empleó el método electroquímico de pulsos de potencial asimétricos para la síntesis de las NPM, así como el método de modificación superficial para la obtención de las NPM/Qts. En cuanto a la caracterización se emplearon diferentes técnicas fisicoquímicas y electroquímicas. Finalmente se realizó evaluación antimicrobiana *in vitro* mediante los métodos de cinética de crecimiento y cuenta viable en placa. Los resultados obtenidos evidenciaron que al aplicar los pulsos (anódico de 0.30 V por 5 s y catódico de -0.92 V por 7 s) en la síntesis se obtienen NPM con un tamaño de 21.2 ± 3.6 y 46.2 ± 7.9 nm (por DRX y STEM, respectivamente), potencial zeta de 20.4 ± 1.4 mV. Por otro lado, al realizar la modificación se obtuvieron NPM/Qts con un tamaño de 18.5 ± 6.3 y 31.3 ± 5.9 nm (por DRX y STEM, respectivamente), potencial zeta de 32.8 ± 0.4 mV más positivo y estable que las NPM. Además, al evaluar su efecto antimicrobiano se observó mayor inhibición al utilizar como tratamientos las NPM/Qts a partir de una concentración de 9 mg/mL. Con base en lo anterior, las NPM/Qts podrían tener aplicación en la industria agroalimentaria.

Palabras clave: Nanocomposito, Magnetita, Quitosano, Electroquímica, *S. typhimurium*.

ABSTRACT

Magnetite nanoparticles (NPM) have aroused great interest due to their low human toxicity and antimicrobial activity. To obtain this class of nanoparticles, electrochemical methods have been proposed that allow to achieve better control and distribution in the size. Additionally, it has been reported that functionalized with chitosan (Qts), its antimicrobial activity is more effective. So, this research synthesized and characterized a composite material based on NPM modified with Qts (NPM/Qts) and evaluated the antimicrobial effect on the growth of *Salmonella typhimurium*, for its potential application in the agri-food industry. To this end, the electrochemical method of asymmetrical potential pulses was used for the synthesis of NPM, as well as the surface modification method for obtaining NPM/Qts. Different physicochemical and electrochemical techniques were used in terms of characterization. In vitro antimicrobial evaluation was finally performed using the methods of growth kinetics and viable plaque count. The results obtained showed that when applying the pulses (anode 0.30 V by 5 s and cathode of -0.92 V by 7 s) in the synthesis NPM with a size of 21.2 ± 3.6 and 46.2 ± 7.9 nm (per DRX and STEM, respectively), zeta potential of 20.4 ± 1.4 mV. On the other hand, NPM/Qts with a size of 18.5 ± 6.3 and 31.3 ± 5.9 nm (per DRX and STEM, respectively), zeta potential of 32.8 ± 0.4 mV more positive and stable than NPM, was obtained when making the modification. In addition, increased inhibition was observed when using NPM/Qts as a treatment from a concentration of 9 y 1.2 mg/mL when evaluating its antimicrobial effect. Based on the above, NPM/Qts could be applicable in the agri-food industry.

Keywords: Nanocomposite, Magnetite, Chitosan, Electrochemistry, *S. typhimurium*.

CONTENIDO

LISTA DE FIGURAS	x
LISTA DE CUADROS	xii
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN	1
CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES	3
2.1 Nanotecnología en alimentos	3
2.1.1 Nanopartículas metálicas aplicadas en alimentos	4
2.1.1.1 Nanopartículas de magnetita	5
2.2 Principales métodos de síntesis de nanopartículas de magnetita	9
2.2.1 Métodos electroquímicos	9
2.2.1.1 Quitosano (Qts)	13
2.3 Materiales nanocompuestos en envases activos	15
2.3.1 Materiales compósitos de polímeros y nanopartículas metálicas	15
2.3.2 Materiales compósitos con base en NPM y Qts	17
2.4 Microorganismos presentes en alimentos	18
2.4.1 <i>Salmonella</i> y sus repercusiones económicas	19
2.4.2 Control e inhibición de la <i>Salmonella</i> en los alimentos	20
CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN	22
CAPÍTULO 4. OBJETIVOS	23

4.1. Objetivo general.....	23
4.2. Objetivos específicos	23
CAPÍTULO 5. MATERIALES Y MÉTODOS	24
5.1 Esquema general de la Metodología	24
Etapa 1. Síntesis electroquímica de NPM y obtención del material compuesto de NPM/Qts.	25
5.2 Síntesis electroquímica de NPM mediante pulsos de potencial asimétricos.	25
5.2.1 Montaje experimental	25
5.2.2 Selección de potenciales y tiempo para la síntesis.....	26
5.2.3 Síntesis electroquímica de pulsos de potencial asimétricos.....	27
5.3 Desarrollo del material compuesto (NPM/Qts)	27
Etapa 2 Caracterización fisicoquímica y electroquímica de las NPM y del material compósito (NPM/Qts).....	28
5.4 Caracterización por técnicas fisicoquímicas	28
5.4.1 Difracción de Rayos X (DRX).....	28
5.4.2 Microscopía Electrónica de Transmisión con unidad de Barrido (STEM).....	29
5.4.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	29
5.4.4 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR).....	30
5.4.5 Potencial Zeta (pot. Z)	30
5.4.6 Análisis Termogravimétrico (TGA)	30
5.5 Caracterización por técnicas electroquímicas	31
5.5.1 Preparación del Electrodo de Pasta de Carbón (EPC)	31

5.5.2 Sistema electroquímico.....	31
5.5.3 Voltamperometría lineal para la caracterización	32
5.5.4 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS).....	32
Etapa 3 Evaluación del efecto antimicrobiano <i>in vitro</i> de las NPM y el material compuesto de NPM/Qts sobre el crecimiento de <i>S. typhimurium</i>	32
5.6 Evaluación de la actividad antimicrobiana contra <i>S. typhimurium</i>	32
5.6.1 Cinética de crecimiento bacteriano.....	33
5.6.2 Cuenta viable en placa de la bacteria.....	33
5.7 Análisis estadístico.....	34
CAPÍTULO 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	35
6.1 Estudio voltamperométrico para la selección de potenciales de síntesis.....	35
6.2 Estudio cronoamperométrico para la selección de los tiempos de síntesis.....	38
6.3 Aplicación de pulsos de potencial asimétricos en la síntesis de magnetita	40
6.4 Desarrollo del material compuesto.....	44
6.5 Caracterización fisicoquímica de la magnetita y el material compuesto de magnetita-Qts	47
6.5.1 Difracción de Rayos X (DRX).....	47
6.5.2 Microscopía Electrónica de Transmisión con unidad de Barrido (STEM).....	51
6.5.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)	55
6.5.4 Espectroscopía de Infrarrojo de Transformada de Fourier (FTIR).....	56
6.5.5 Potencial Zeta (pot. Z)	58
6.5.6 Análisis Termogravimétrico (TGA)	59

6.6 Caracterización electroquímica de las NPM y las NPM/Qts por voltamperometría lineal y EIS.....	61
6.6.1 Caracterización por voltamperometría lineal en sentido anódico.....	61
6.6.2 Caracterización por voltamperometría lineal en sentido catódico.....	64
6.6.3 Caracterización por espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS).....	67
6.7 Evaluación de la actividad antimicrobiana contra <i>S. typhimurium</i>	72
6.7.1 Cinética de crecimiento bacteriano y cuenta viable en placa.....	72
CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES.....	78
CAPÍTULO 8. REFERENCIAS.....	80
CAPÍTULO 9. ANEXOS.....	97
ANEXO 1. Ajuste de los EIS mediante Zview2®.....	97
ANEXO 2 Análisis estadístico de los resultados de las cinéticas de crecimiento.....	100

LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1. Representación esquemática de los mecanismos antimicrobianos de iones metálicos	8
Figura 2.2. Estructura química del Qts	14
Figura 5.1. Diagrama general de la Metodología.	24
Figura 5.2. Esquema del montaje experimental para la síntesis de NPM.....	25
Figura 6.1. Voltamperograma lineal en sentido catódico en KCl 0.5M.	35
Figura 6.2. Voltamperograma lineal en sentido anódico en KCl 0.5M.....	37
Figura 6.3. Comportamiento de la corriente al aplicar el PC de -0.92 V vs Hg Hg ₂ Cl ₂ en el electrodo de trabajo de hierro en KCl 0.5 M.	38
Figura 6.4. Comportamiento de la corriente al aplicar el PA de 0.30 V vs Hg Hg ₂ Cl ₂ en el electrodo de trabajo de hierro en KCl 0.5 M.	39
Figura 6.5. Comportamiento de la densidad de corriente durante el primer minuto de los experimentos de cronoamperometría.....	41
Figura 6.6. Comportamiento de la densidad de corriente durante las dos horas de experimento mediante cronoamperometría.....	42
Figura 6.7. Celda de vidrio con una configuración de tres electrodos diseñada para la síntesis.....	43
Figura 6.8. Partículas de magnetita A) sintetizadas y B) modificadas por inmersión con Qts al 0.02%.....	45
Figura 6.9. Esquema de NPM recubiertas de Qts	46
Figura 6.10. Difractogramas de las partículas de magnetita sintetizadas y modificadas con Qts al 0.02%.....	48

Figura 6.11. Comparación en el plano (331) de los patrones de difracción de la magnetita y la maghemita, contra el pico de difracción de las partículas de magnetita sintetizadas y modificadas con Qts al 0.02%	49
Figura 6.12. Imágenes de STEM de las A) NPM sintetizadas y las B) NPM/Qts al 0.02%	52
Figura 6.13. Histogramas de los tamaños de las A) NPM sintetizadas y las B) NPM/Qts al 0.02%.	54
Figura 6.14. Micrografías electrónicas de barrido de las A) NPM sintetizadas y las B) NPM/Qts al 0.02%	55
Figura 6.15. Espectro FTIR de las NPM sintetizadas y las NPM/Qts al 0.02%	57
Figura 6.16. Curvas termogravimétricas de las NPM sintetizadas y las NPM/Qts al 0.02%	60
Figura 6.17. Voltamperogramas lineales en sentido anódico de los EPC.	62
Figura 6.18. Voltamperogramas lineales en sentido catódico de los EPC.....	65
Figura 6.19. Espectro de impedancia del EPC con solo los materiales de preparación (blanco) en potencial a circuito abierto. A) Diagrama de Nyquist y B) Diagrama de bode-fase.	68
Figura 6.20. Circuitos equivalentes utilizados para ajustar los datos experimentales.	69
Figura 6.21. Espectro de impedancia de los EPC a un potencial a circuito abierto. A) Diagrama Nyquist y B) Diagrama bode-fase.....	70
Figura 6.22. Cinéticas de crecimiento de la bacteria <i>S. typhimurium</i> con A) NPM sintetizadas y B) NPM/Qts al 0.02%.	73
Figura 6.23. Cuenta viable de <i>S. typhimurium</i> con tratamientos.	75
Figura 9.1. Diagramas Nyquist simulados de los espectros obtenidos de los EPC a un potencial a circuito abierto.....	97
Figura 9.2. Diagramas Bode-fase simulados de los espectros obtenidos de los EPC a un potencial a circuito abierto.....	99

LISTA DE CUADROS

Cuadro 2.1. Resultados reportados por Pascal y cols., (1999) para la síntesis electroquímica de maghemita.	10
Cuadro 6.1 Tamaño de cristal estimado a partir de los difractogramas.	50
Cuadro 6.2. Tamaño estimado a partir de las imágenes de STEM.	53
Cuadro 6.3. Pot. Z de las NPM y las NPM/Qts	58
Cuadro 6.4. Resultados de la simulación con el programa Zview ®, mediante circuitos equivalentes.	71
Cuadro 9.1. Absorbancia del cultivo de <i>S. typhimurium</i> tratada con las NPM y NPM/Qts	100

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN

La nanotecnología es una disciplina que se ocupa del diseño, elaboración y aplicación de materiales a una escala menor a 100 nm (Kadziński y cols., 2018; Suresh, 2014; Chellaram y cols., 2014). En los últimos años esta disciplina ha adquirido gran relevancia alrededor del mundo influyendo en campos como la Biología, Medicina, Medio Ambiente y Ciencias en Alimentos (Shapira y Youtie, 2015; Karn y Wong, 2013; Iavicoli y cols., 2014). En este último, los microorganismos patógenos se han convertido en un serio problema económico a nivel mundial y una de las mayores preocupaciones sanitarias, debido a su proliferación, a las enfermedades que provocan en los humanos y a la resistencia a algunos agentes antimicrobianos como los antibióticos (Ogunsona y cols., 2020; Albuquerque y Gusqui, 2018; Fu y cols., 2016). Así, la nanotecnología ha venido a revolucionar las estrategias de índole química, física y biológica que tienen la finalidad de controlar e inhibir microorganismos patógenos presentes en alimentos, mediante el diseño de nanomateriales con actividad antimicrobiana (Kaewklin y cols., 2018; Zhang y cols., 2017; Li y cols., 2017; Lin y cols., 2015).

En este sentido, las nanopartículas de magnetita (NPM) que han sido aplicadas en campos como el Medio Ambiente y Medicina, han despertado gran interés en el campo de las Ciencias de los Alimentos, debido a su biocompatibilidad, actividad antimicrobiana y baja toxicidad humana (Mashjoory cols., 2018; Zuluaga, 2011). La actividad antimicrobiana de las NPM suele atribuirse principalmente a su capacidad para producir especies reactivas de oxígeno (ROS; por sus siglas en inglés, *Reactive Oxygen Species*) que causan estrés oxidativo en los microorganismos, daño a su pared celular y DNA (Armijo y cols., 2020). Además, se ha reportado que la actividad antimicrobiana de este tipo de nanopartículas es

potenciada cuando se disminuye el tamaño de partícula, debido a que la relación superficie/volumen es superior que sus homólogos en escala micro (Ogunsona y cols., 2018; Panchal y cols., 2018). Por lo que para la obtención de esta clase de nanopartículas se buscan nuevas estrategias, debido a que los diferentes métodos de síntesis propuestos presentan los inconvenientes de poco control en el tamaño y distribución de las nanopartículas, propiciando desventajas para su aplicación efectiva. De esta manera, los métodos electroquímicos, se plantean como una buena alternativa que permite lograr un mejor control en el tamaño y distribución de las NPM (Velásquez y cols., 2018; Robles y Rodríguez, 2017; Strobel y Pratsinis, 2009). Sumado a ello, se ha reportado que al recubrir las NPM con quitosano (Qts) se hace más positiva su carga superficial, lo que propicia el contacto con la membrana celular de los microorganismos, haciendo más efectiva la producción de ROS y por ende su actividad antimicrobiana (Mashjoor y cols., 2018; Kloster y cols., 2015; Morales y cols., 2013).

De acuerdo con esto, el presente proyecto de investigación propuso la síntesis de NPM empleando el método de pulsos de potencial asimétricos y su modificación superficial con Qts para obtener el material nanocompuesto (NPM/Qts) con propiedades antimicrobianas. Asimismo, se propuso evaluar el efecto antimicrobiano de las NPM/Qts sobre *S. typhimurium* mediante cinéticas de crecimiento y cuenta viable en placa. La efectividad de este método de síntesis permitió obtener nanopartículas de tamaño nanométrico menor a los 55 nm, que al ser modificadas superficialmente con Qts no altera la estructura de la magnetita, potencia la estabilidad, la carga superficial y actividad antimicrobiana de las NPM. Además, se observó que las NPM/Qts presentan mejor efecto a partir de una concentración de 0.9 mg/mL.

De esta manera, estos hallazgos revelados mediante la caracterización por técnicas fisicoquímicas y electroquímicas, así como la evaluación del crecimiento y desarrollo de *S. typhimurium*, evidenciaron la potencialidad del material compuesto diseñado para su aplicación en el área agroalimentaria.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

2.1 Nanotecnología en alimentos

La nanotecnología es una disciplina que ha adquirido gran relevancia en los últimos años, enfocada al diseño, elaboración y aplicación de materiales a una escala menor a 100 nm (Kadziński y cols., 2018; Suresh, 2014; Chellaram y cols., 2014). En su inicio, su ámbito de influencia había sido direccionado a áreas como la Física, Química, Ingeniería y Robótica, pero en los últimos años, esta disciplina ha influido en otros campos como la Biología, Medicina, Medio Ambiente y Ciencias en Alimentos (Shapira y Youtie, 2015; Iavicoli y cols., 2014; Karn y Wong, 2013). En este último, ha contribuido al desarrollo de nuevos productos (nanoalimentos funcionales), la mejora de los procesos de los alimentos (gelatinas, espumas y emulsiones), la calidad y seguridad alimentaria mediante el desarrollo de biosensores, así como en el envasado de los mismos mediante materiales activos e inteligentes (Kartick y cols., 2015; Marquez y cols., 2012; Elika, 2012). Los materiales activos e inteligentes son considerados materiales de contacto que se utilizan en las etapas de transporte, procesamiento y almacenamiento de los alimentos mediante su incorporación como partículas activas en el envasado, con la finalidad de conferir a la matriz de soporte, flexibilidad, permeabilidad a gases, así como estabilidad a la temperatura y humedad. De igual forma, este tipo de materiales han sido incorporados como nanosensores, con la finalidad de detectar perturbaciones en la temperatura, humedad, oxígeno, entre otros, mediante el cambio de color del nanomaterial por alteraciones en las condiciones específicas del alimento. Esta propiedad crómica, así como otras propiedades como la eliminación de gases (como O₂) y la actividad antimicrobiana son dependientes del tipo de nanomaterial,

donde los más empleados por su efectividad son las nanopartículas metálicas (Fuertes y cols., 2016; Bowles y Lu, 2014; Llorens y cols., 2012; FAO y OMS, 2011).

2.1.1 Nanopartículas metálicas aplicadas en alimentos

Las nanopartículas metálicas son materiales diseñados a partir de metales y óxidos metálicos en escala nanométrica, los cuales son aprovechados puros o en combinación con otros materiales para diferentes aplicaciones en diversas áreas como la electrónica, automotriz, médica, farmacéutica, cosmética, medio ambiente y recientemente la alimentaria. En esta última, sus aplicaciones han sido dirigidas principalmente al desarrollo de materiales y envases para inhibir microorganismos y prolongar el tiempo de conservación del alimento, así como al desarrollo de nanosensores que mediante un cambio de color permitan detectar alteraciones en los parámetros físicos que afectan al alimento o que pueden favorecer el deterioro del alimento (Bowles y Lu, 2014; FAO y OMS, 2011, De Azedero y cols., 2011).

En este sentido, se ha reportado el desarrollo de películas ultrafinas con base en dióxido de estaño para su empleo en la detección de agentes tóxicos como el dióxido de azufre y ácido sulfhídrico que se producen durante la descomposición de los alimentos. Por otro lado, existen reportes sobre el desarrollo de materiales basados en nanopartículas de cobre y de dióxido de zinc incorporados en matrices de poliacrilamida o silicio poroso, con el fin de llevar a cabo la detección de cambios de humedad y temperatura en los alimentos (Bowles y Lu, 2014; Iliadis y Ali, 2011). Algunos estudios revelan el empleo de nanopartículas de oro y plata para la detección de cambios en la temperatura del alimento (Zhang y cols., 2013; Lee y cols., 2011), así como para la inhibición del crecimiento de microorganismos (Kaewklin y cols., 2018; Aziz y cols., 2015). Estudios recientes se han enfocado en el empleo de nanopartículas de dióxido de titanio para la detección de cambios de temperatura, de oxígeno y principalmente para inhibir etileno y microorganismos en alimentos al ser

sometidas a irradiación UV (Zhang y cols., 2017; Wang y cols., 2016; Bodaghi y cols., 2015; Lin y cols., 2015).

Por otro lado, las nanopartículas basadas en hierro han sido principalmente aprovechadas en la industria alimentaria como aditivo inorgánico para alimentos y suplemento alimenticio dietético debido a su habilidad para brindar mayor sabor y absorción en el organismo (FAO y OMS, 2011). Asimismo, por su biodisponibilidad y actividad antimicrobiana este tipo de nanopartículas han despertado gran interés en la industria alimentaria para su empleo como agentes antimicrobianos (McMahon y cols., 2016; Parveen y cols., 2018).

En este contexto, se ha reportado que su actividad antimicrobiana se ve potenciada si el hierro se encuentra en su forma oxidada, donde óxidos de hierro como la magnetita han despertado gran interés para el área agroalimentaria, al presentar características similares a las del dióxido de titanio, como actividad antimicrobiana y degradación de etileno, razón por la cual este material puede ser considerado objeto de estudio para aplicaciones alimentarias.

2.1.1.1 Nanopartículas de magnetita

La magnetita es uno de los óxidos de hierro más abundantes en la naturaleza y se encuentra distribuida en diversos ambientes, lo que le brinda un interés especial en diferentes disciplinas del conocimiento como la mineralogía, geología, ciencia de suelos, geoquímica, biología, industria química, ambiental y medicina (Rodríguez y cols., 2012; Zuluaga, 2011). En los últimos años, la magnetita en escala nanométrica ha representado un material de gran interés debido a su baja toxicidad en la salud humana, biocompatibilidad, propiedad magnética y actividad antimicrobiana (Mashjoory cols., 2018; Zuluaga, 2011), lo que le ha permitido tener una aplicabilidad tecnológica importante en áreas diversas como medio

ambiente, medicina y recientemente alimentos (Yan y cols., 2018; Mashjoor y cols., 2018; Zuluaga, 2011).

En cuestiones de medio ambiente, se ha destinado principalmente al tratamiento de aguas residuales con fines antimicrobianos y de remediación (Robles y Rodríguez, 2017). Mientras que en el ámbito médico, donde más se han estudiado, se han destinado para diversas aplicaciones tecnológicas en biomedicina, como lo son, resonancia magnética biomolecular de alta sensibilidad (Bulte y cols., 2001), suministro de fármacos dirigidos *in vivo*, agentes hipertérmicos, potenciadores en el tratamiento y diagnóstico del cáncer, así como agentes antimicrobianos (Piosik y cols., 2019; Mashjoor y cols., 2018). En cuanto al área alimentaria se ha reportado su utilización principalmente como aditivos alimentarios y en la detección de algunos componentes indeseables en los alimentos; sin embargo, las propiedades antimicrobianas que caracterizan a la magnetita han sido poco estudiadas, despertado gran interés en esta área del conocimiento. Se ha reportado que la magnetita en escala nanométrica muestra una actividad antimicrobiana potenciada debido a que su relación superficie/volumen es superior que sus homólogos en escala micro (Ogunsona y cols., 2018; Panchal y cols., 2018). En este contexto, los pocos estudios que se han realizado con respecto a la actividad antimicrobiana de las NPM, han sido dirigidos al efecto de estas sobre microorganismos patógenos de humanos. Se han reportado probables mecanismo de acción, con principal atribución a la acción de las ROS para dañar la pared celular de los microorganismos, al inducir la peroxidación de los fosfolípidos poliinsaturados en las células bacterianas provocando daño en el DNA y, posteriormente, la muerte celular (Figura 2.1) (Mashjoor y cols., 2018; Regiel y cols., 2017; Choi y cols., 2008; Ruparelia y cols., 2008).

Lo anterior concuerda con lo estudiado por Armijo y cols., (2020), quienes reportan que el mecanismo de la acción antimicrobiana de las NPM para dañar las proteínas bacterianas y el DNA no se ha determinado; sin embargo, sugieren que podría estar implicado el estrés

oxidativo y el daño al ADN por ROS, como radicales superóxido, oxígeno singlete, hidroxilo o peróxido de hidrógeno (H₂O₂). Asimismo, sugieren que estas ROS son producidas mediante la reacción Fenton o ciclo de Haber-Weiss (Reacción 1 y 2), en la que es necesaria la presencia del H₂O₂ que es producido en todos los cultivos de organismos aeróbicos mediante el degradado del oxígeno singlete por la enzima superoxidodismutasa (Arakha y cols., 2015; Henle y Linn, 1997). Por otro lado, se ha reportado que las bacterias tienen la capacidad de absorber Fe⁺³ y reducirlo a Fe⁺² mediante reacciones redox que permiten generar radicales hidroxilo (ver Reacciones 1 y 2) (Mashjoor y cols., 2018; Regiel y cols., 2017).



Se ha reportado como otro mecanismo importante, el efecto de los iones de Fe⁺³ y Fe⁺² liberados de las NPM, debido a su acción como inhibidores tanto de la producción de ATP como de la replicación del ADN (Gunawan y cols., 2011). Se han reportado otros mecanismos en nanopartículas metálicas que podrían seguir las NPM (Figura 2.1), como daño físico en el que los materiales nanoestructurados al tener bordes afilados pueden dañar la pared celular al interactuar con las membranas bacterianas (Akhavan y Ghaderi, 2010); el daño por unión en el que los materiales al interactuar con la pared celular bacteriana pueden causar la pérdida de la integridad de la membrana celular y el flujo de salida de los materiales citoplásmicos (Parandhaman y cols., 2015).

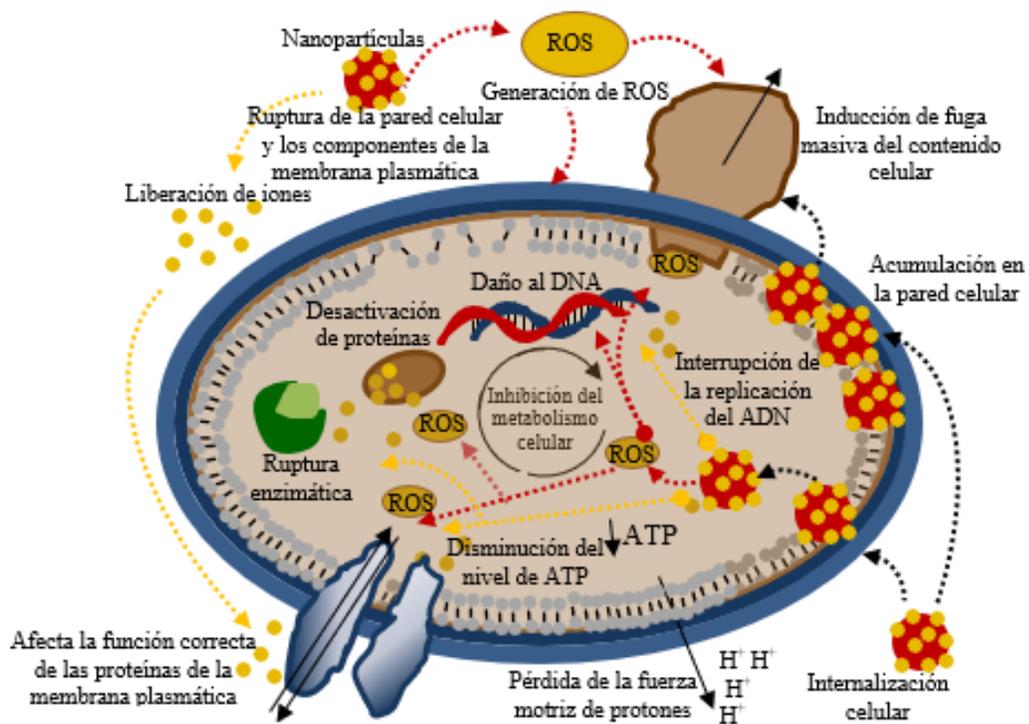


Figura 2.1. Representación esquemática de los mecanismos antimicrobianos de iones metálicos. *Fuente:* Wyszogrodzka y cols., (2016).

Adicionalmente, se ha descubierto que las propiedades de las nanopartículas metálicas dependen en gran medida de su forma, concentración, estructuras superficiales, tamaño y método de síntesis (Rao y cols., 2000). En algunos estudios se sugiere que el tamaño de las nanopartículas metálicas es inversamente proporcional a la actividad antimicrobiana, a menor tamaño mayor será su actividad. Además, se ha reportado que la forma, tamaño, estructura y estabilidad de este tipo de nanopartículas llega a ser dependiente del método de síntesis que se seleccione (Yong y cols., 2018; Regiel y cols., 2017; Guardia y cols., 2011).

2.2 Principales métodos de síntesis de nanopartículas de magnetita

Para la síntesis de NPM se han reportado diferentes métodos, tanto de índole física como química (Setyawan y Widiyastuti, 2019; Zanella, 2012), donde los métodos químicos prometen ser una mejor opción para obtener nanoestructuras con menos defectos y una composición química más homogénea. Así, dentro de este grupo los métodos húmedos resultan una buena alternativa para obtener partículas cristalinas con alta magnetización y bajo costo (Velásquez y cols., 2018). Se han reportado métodos como la microemulsión, hidrotérmico, descomposición térmica, sol-gel y coprecipitación química, siendo este último el más empleado. Sin embargo, presentan los inconvenientes de la obtención de nanopartículas con poco control en el tamaño y distribución, además de la generación de residuos tóxicos (Velásquez y cols., 2018; Robles y Rodríguez, 2017; Strobel y Pratsinis, 2009). Por lo anterior se han buscado otras alternativas de síntesis que no presenten estos inconvenientes, donde los métodos electroquímicos han demostrado ser una alternativa efectiva para la síntesis de las NPM.

2.2.1 Métodos electroquímicos

En 1999, Pascal y cols., realizaron un estudio sobre la síntesis electroquímica de nanopartículas de maghemita, en el que demostraron que el tamaño de las nanopartículas puede ser controlado de acuerdo a la densidad de corriente impuesta, como se muestra en el Cuadro 2.1, donde al incrementar la densidad de la corriente impuesta, se logra disminuir el tamaño promedio y las partículas obtenidas presentan superparamagnetismo.

Cuadro 2.1. Resultados reportados por Pascal y cols., (1999) para la síntesis electroquímica de maghemita.

Densidad de corriente aplicada (mA.cm⁻²)	Tamaño promedio de partícula (nm)
1.5	7.4
12	4.8
25	3.2

Este estudio sirvió de base en la investigación sobre diferentes métodos electroquímicos para la síntesis de partículas metálicas, como la magnetita, en los que se demostró que mediante síntesis electroquímica era posible obtener partículas puras y homogéneas con momentos magnéticos parecidos o superiores a sus homólogos en escala micro (Cabrera y cols., 2008; Franger y cols., 2007; Ying y cols., 2002). En este contexto, tanto Ying y cols., (2002) como Cabrera y cols., (2008) realizaron investigaciones en las que reportaron mecanismos de interés para la síntesis de NPM; no obstante, se presentaba el inconveniente de que el hidróxido férrico al ser sólido, se precipitaba provocando la no difusión a la superficie del cátodo para llevar a cabo la formación de magnetita mediante su reducción.

En este sentido, Rodríguez y cols., (2012) hicieron énfasis en la distancia entre los electrodos para la formación de magnetita mediante reducción electroquímica del hidróxido férrico, debido a que observaron que en distancias superiores a 5 cm no era posible la formación de la magnetita, debido a que la interfase anódica no alcanzaba el valor de pH de 9.4 necesario para favorecer la reacción. De esta manera, se propuso un nuevo método para la síntesis electroquímica de magnetita en tamaño nanométrico, el cual consistió en la aplicación de pulsos de potencial a electrodos de hierro de alta pureza; donde se les cambió

la polaridad consecutivamente, por lo que estos electrodos se desempeñaron como ánodo y cátodo en un proceso cíclico durante un tiempo controlado, logrando la no difusión de las especies en una larga distancia para llevar a cabo las reacciones electroquímicas. Este proceso de formación fue dividido en pulso 1 y pulso 2, mismos que se detallan a continuación.

Durante el pulso 1 se aplica un sobrepotencial anódico al electrodo de trabajo, que conlleva a la formación consecutiva de los iones ferroso y férrico (Reacción 3 y 4). De manera simultánea, el electrodo auxiliar funge como cátodo donde se genera gas hidrógeno e iones hidroxilo mediante la hidrólisis del agua (Reacción 5). De forma que durante este proceso los iones generados en las respectivas reacciones son abundantes en las interfases correspondientes, los cuales difunden hacia el seno de la disolución debido al gradiente de concentración.



Posteriormente en el pulso 2 se invierte la polaridad de los electrodos, de forma que en el electrodo de trabajo se aplica un sobrepotencial catódico, mientras que el electrodo auxiliar trabaja como ánodo, favoreciendo la formación de gas hidrógeno e iones hidroxilo (Reacción 5). Después de este proceso, estos iones hidroxilo reaccionan para formar una especie férrica (Reacción 6) o un hidróxido férrico, que reaccionan con los iones de hierro generados durante el pulso 1 (Reacción 7).



De esta manera, esta especie férrica es reducida químicamente de manera parcial para formar la magnetita (Reacción 8), lo cual es posible ya que existe la presencia de gas hidrógeno en esa interfase, o bien, se puede formar electroquímicamente durante el mismo pulso 2, con la posibilidad de que el intermediario sea el propio oxihidróxido (Reacción 9) o el hidróxido férrico (Reacción 10).



En este estudio se sugirió que los procesos de transporte de materia podían facilitarse, mejorando el aprovechamiento de energía, generando así la magnetita en ambos electrodos. De esta manera, se demostró la funcionalidad del método para la obtención de maghemita y principalmente magnetita cuando el pulso anódico presenta mayor sobrepotencial, logrando obtener nanopartículas con geometrías casi esféricas y tamaños promedio de partícula de $20\text{-}30 \pm 9$ nm (Rodríguez y cols., 2012). Por lo tanto, se sugirió que el proceso de síntesis al emplear esta estrategia, se ve más afectada por el método de síntesis y el medio electrolítico, que por la distancia entre electrodos. Adicionalmente, con este estudio se

concluyó que al adicionar surfactantes en el sistema electrolítico como polietilenglicol, polivinilpirrolidona (PVP) y ácido oleico, se logra modificar la distribución del tamaño de partícula, dando como resultado nanopartículas con una distribución simétrica del tamaño, más estrecha a concentraciones mayores del tensoactivo.

En el 2016, Pérez y col., corroboraron el efecto de estos surfactantes, al demostrar que el empleo de PVP y Qts en la síntesis de NPM, logra una distribución de tamaño de partícula en un intervalo más reducido, obteniendo mejores resultados al emplear el Qts. Asimismo, evidenciaron que su empleo mejora la estabilidad de las NPM, reflejado en una mejor respuesta de potencial Z (pot. Z) y UV-vis; razón que se atribuye a la envoltura catiónica que se forma sobre la superficie de las nanopartículas por los grupos amino protonados del Qts, logrando de esta manera un ferrofluido de mejor estabilidad electrostática.

2.2.1.1 Quitosano (Qts)

El Qts es un biopolímero derivado de la desacetilación de la quitina que se extrae de fuentes naturales como hongos, insectos, moluscos e invertebrados, y principalmente de crustáceos como cangrejos, langostas, langostinos y camarones (Knidri y cols., 2018; Polo, 2016). Razón por la cual es considerado el segundo biopolímero natural más abundante en el planeta, con una composición estructural de unidades de D-glucosamina y N-acetil-D-glucosamina unidas al azar por el enlace β -(1-4) glucosídico, que forman un aminopolisacárido catiónico lineal (Figura 2.2) (Morgado y Assis, 2016; Elizondo y Gallo, 2011).

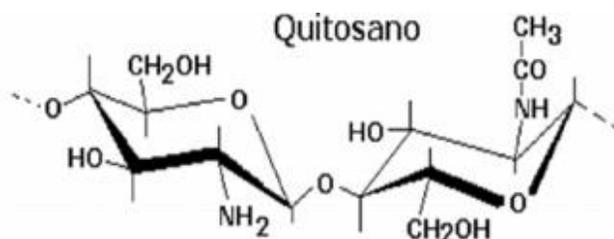


Figura 2.2. Estructura química del Qts. *Fuente:* Lárez, 2003.

Este material es ampliamente utilizado en la industria, principalmente en las áreas biomédica y alimentaria, debido a sus características no tóxicas, biofuncionalidad, biocompatibilidad, biodegradabilidad, buena capacidad de formación de película y propiedades antibacterianas y antifúngicas inherentes que son atribuidas a la presencia de sus grupos amino activos y grupos funcionales hidroxilo (Siripatrawan y Kaewklin, 2018; Morales y cols., 2013). Sin embargo, se ha reportado que en algunas ocasiones las propiedades fisicoquímicas y mecánicas de este biopolímero no llegan a ser satisfactorias para su aplicación en el área alimentaria (Zhang y cols., 2017). En este sentido, se han empleado algunas estrategias tecnológicas, como por ejemplo, el desarrollo de materiales nanocompuestos mediante la incorporación de nanopartículas metálicas en la matriz del Qts, que permite lograr una mejora viable en sus propiedades, dando pauta a su posible aplicación en el área de alimentos (Zhang y cols., 2017; Morgado y Assis, 2016).

2.3 Materiales nanocompuestos en envases activos

Los nanocompuestos o nanocompuestos son estructuras con dos o más materiales, de los cuales al menos uno tiene una escala nanométrica. En el desarrollo de este tipo de estructuras, comúnmente son utilizados materiales metálicos, cerámicos y polímeros, donde al material predominante se le denomina matriz (Hernández y García, 2012). Estos materiales tienen propiedades y naturaleza diferentes o complementarias, que al combinarse logran propiedades mecánicas y físicas específicas para la utilidad deseada del nanocompuesto (Su y cols., 2014). En este sentido, su aplicación en el área alimentaria se ha dirigido a la seguridad alimentaria, mediante el empleo de nanocompuestos para el diseño de sensores, biosensores y envases activos (Lin y cols., 2020; Ogunsona y cols., 2020). En estos últimos se han empleado nanocompuestos antimicrobianos para mejorar la vida útil de los alimentos envasados y la seguridad alimentaria (Hoseinnejad y cols., 2018; Llorens y cols., 2012). En este contexto, para el desarrollo de envases de alimentos los polímeros juegan un papel importante sobre otros materiales tradicionales como el vidrio, papel y textiles, debido a su flexibilidad, fácil procesamiento y bajo costo (Popović y cols., 2018; Idumah y cols., 2017; Hosseini y cols., 2017). De igual forma, las nanopartículas metálicas han demostrado un gran potencial para diversas actividades y aplicaciones, especialmente antimicrobianas, debido a su tamaño y gran área superficial que propicia un mayor contacto con los microbios (Ogunsona y cols., 2020).

2.3.1 Materiales compósitos de polímeros y nanopartículas metálicas

Al diseñar materiales nanocompuestos con base en nanopartículas metálicas y polímeros se pueden obtener materiales flexibles, que tengan propiedades magnéticas, eléctricas y/o antimicrobianas (Arakha y cols., 2015; Kloster y cols., 2015), lo que brinda oportunidades

de aplicación en áreas como la biotecnología, ciencia de los materiales y ciencia de los alimentos. En el área alimentaria, este tipo de materiales nanocompuestos se han estudiado prioritariamente para aplicaciones en envases activos con el fin de brindarles propiedades de resistencia a la abrasión y a la degradación ocasionada por radiación UV, así como actividad antimicrobiana para inhibir el crecimiento microbiano transmitido por alimentos, extender la vida útil y reducir el uso de conservantes químicos en los productos envasados (Ogunsona y cols., 2020; Solano y cols., 2014; Chaudhry y cols., 2008). Por lo tanto, se han estudiado materiales que contribuyan a mejorar las propiedades de los envases activos, principalmente su propiedad antimicrobiana.

Algunos polímeros sintéticos comúnmente empleados en el desarrollo de envases antimicrobianos son el polietileno de alta densidad, polietileno de baja densidad, tereftalato de polietileno, polipropileno, poliestireno y cloruro de polivinilo (Muthuraj y cols., 2018 a,b; Mekonnen y cols., 2013a); sin embargo, debido a que este tipo de polímeros presentan graves problemas medioambientales por su largo periodo de degradación se han empleado polímeros renovables como proteínas (Mekonnen y cols., 2016; Mekonnen y cols., 2013b), ácido poliláctico (Valerio y cols., 2018), tereftalato de adipato de polibutileno (Valerio y cols., 2018; Mekonnen y cols., 2016), almidón modificado, celulosa y Qts (Ojogbo y cols., 2018; Panchal y cols., 2018). En cuanto a las funciones antimicrobianas se han estudiado ampliamente las partículas metálicas en escala nanométrica, destacando las nanopartículas de plata, cobre, oro, zinc, paladio, platino y selenio (Dizaj y cols., 2014). Asimismo, nanopartículas de óxidos metálicos como el óxido de zinc, óxido de magnesio, óxido de calcio, óxido de aluminio, óxido de cerio, dióxido de titanio y magnetita, han recibido gran atención como agentes antimicrobianos debido a su capacidad para absorber radiación UV y su carácter como desinfectante fotocatalítico (Jiang y cols., 2015). Por lo tanto, al llevarse a cabo la interacción mediante sus grupos funcionales entre los agentes antimicrobianos y los polímeros (Appendini y Hotchkiss, 2002), el material nanocompuesto formado es una opción atractiva para su aplicación en el área alimentaria, debido a la mejora de las

propiedades, como la durabilidad, la resistencia al calor, las propiedades mecánicas y las barrera tanto de gas como de vapor de agua, de este tipo de materiales y a su capacidad antimicrobiana y sensora (Kaewklin y cols., 2018; Hosseini y cols., 2017; Aziz y cols., 2015; Pérez y cols., 2012). En este sentido, estudios sobre el Qts en los que es empleado como matriz de este tipo de materiales, han demostrado una mayor biocompatibilidad y biodegradabilidad disminuyendo el impacto sobre el medio ambiente al ser un recurso renovable (Kloster y cols., 2015; Zhang y cols., 2011; Sondjaja y cols., 2009). Recientemente, han despertado interés los materiales nanocompuestos en los que las NPM se han incorporado, sintetizado o recubierto con Qts, debido a que, en estudios de biomedicina, han mostrado mejoría en su estabilidad, en sus propiedades magnéticas y antimicrobianas, en comparación con aquellas observadas en otras matrices poliméricas como la PVP y el polietilenglicol (Piosik y cols., 2019; Nehra y cols., 2018; Pérez y cols., 2016; Kloster y cols., 2015).

2.3.2 Materiales compósitos con base en NPM y Qts

En investigaciones recientes se ha demostrado la viabilidad de NPM en polímeros tales como polialcohol vinílico, poliácido acrílico, polietilenglicol, óxido de polietileno (Bandhu y cols., 2015), DNA, proteínas y matrices de polisacáridos con la finalidad de mejorar la biocompatibilidad o bioactividad en fines biomédicos. Esta estrategia ha sido también aplicada en esta área para la separación magnética de células, en sistemas de administración de fármacos diana y en diagnóstico clínico de resonancia magnética, evidenciando resultados atractivos (Kloster y cols., 2015; Bhatt y cols., 2010). Además, se han realizado estudios sobre su efecto para inhibir microorganismos patógenos para seres vivos y células cancerígenas, en los que han obtenido resultados prometedores; sin embargo, es de interés potenciar sus efectos antimicrobianos. En este sentido, se ha demostrado que el uso de

biopolímeros como el Qts al ser empleados como revestimiento o matriz de NPM, pueden potenciar su efecto antimicrobiano; fenómeno que ha sido explicado debido a una mejora en el contacto del material con los microorganismos, por la diferencia entre la carga superficial de las nanopartículas y la pared celular del microorganismo, favoreciendo la producción de ROS y por ende su efecto antimicrobiano (Mashjoor y cols., 2018; Kloster y cols., 2015; Morales y cols., 2013).

De esta manera, el Qts se presenta como un material viable para ser utilizado como matriz polimérica en el desarrollo de materiales nanocompuestos, con propiedades antimicrobianas, para su potencial aplicación en la industria agroalimentaria.

2.4 Microorganismos presentes en alimentos

En los alimentos suelen encontrarse diversos microorganismos que se pueden clasificar como benéficos, de deterioro y patógenos. Los microorganismos benéficos son aquellos que durante su crecimiento contribuyen a mantener el sabor, la textura y apariencia de los alimentos. Mientras que los de deterioro son aquellos que se encuentran principalmente en la superficie de los alimentos y que pueden propiciar una descomposición en los mismos por consecuencia de metabolitos indeseables que se producen durante su crecimiento, incitando a cambios indeseables en sus propiedades sensoriales como el color, olor, textura y apariencia. Por otro lado, se consideran como microorganismos patógenos aquellos que provocan enfermedades en alimentos o seres vivos (Húngaro y cols., 2014; Gram y cols., 2002). Además, estos microorganismos patógenos tienden a propagarse con mucha facilidad y volverse resistentes a los agentes antimicrobianos debido al uso indebido de estos. Razón por la cual los microorganismos patógenos se han convertido en un serio problema económico a nivel mundial y una de las mayores preocupaciones de las autoridades sanitarias, al ser considerados la causa de diferentes toxiinfecciones que

provocan enfermedades o en casos severos hasta la muerte (Ogunsona y cols., 2020; Alburqueque y Gusqui, 2018; Fu y cols., 2016). En este sentido, una de las cuatro principales causas de enfermedades transmitidas por alimentos en todo el mundo es atribuida a la bacteria *Salmonella*, de la cual los serotipos más significativos son la *Enteritidis* y *Typhimurium* (WHO, 2018).

2.4.1 *Salmonella* y sus repercusiones económicas

La bacteria *Salmonella* es un bacilo Gram negativo que se comporta como patógeno intracelular facultativo, el cual vive en el aparato gastrointestinal de los animales y el hombre (Figueroa y Verdugo, 2005). Esta bacteria presenta casos infecciosos que se han notificado tanto en los países en desarrollo como en los desarrollados (EFSA y ECDC, 2018; WHO, 2018). En los Estados Unidos (EE. UU.), las especies de *Salmonella*, como la *Enteritidis*, *Typhimurium*, *Newport*, *Heidelberg* y *Paratyphi*, representan aproximadamente el 34% de los brotes que imponen una carga económica estimada de 3.7 mil millones de dólares en un año típico (CDC, 2017; Hoffmann y cols., 2015). Este tipo de bacterias se transmiten principalmente mediante personas y animales domésticos infectados, así como por alimentos contaminados infectados con aguas negras, contacto con utensilios u otros alimentos contaminados (Barkai, 2018; Droby y cols., 2011). En este sentido, más del 75% de los brotes de *Salmonella* se atribuyen a cultivos en hileras de hortalizas, huevos, cerdo, ternera o vegetales sembrados (IFSAC, 2017). En cuanto a los alimentos industrializados, carnes crudas, productos lácteos y principalmente productos avícolas al ser de fácil contaminación, son portadores de *Salmonella* (Newell y cols., 2010). La *Salmonella* provoca enfermedades como la gastroenteritis y enfermedades diarreicas, que representan aproximadamente 94 millones de casos, de los cuales 80.3 millones son transmitidos por los alimentos en todo el mundo cada año (Majowicz y cols., 2010). Además, esta bacteria

también provoca la salmonelosis, que es la segunda infección transmitida por alimentos, más comúnmente reportada en la Unión Europea (EU) y en los EE. UU. La Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria (EFSA) ha reportado más de 90,000 casos de salmonelosis cada año en EU, lo que resulta en una carga económica general de hasta 3 mil millones de euros al año (ECDC, 2018; EFSA y ECDC, 2017).

Por otro lado, en México la información sobre los casos de *Salmonella* relacionados con el consumo de alimentos es escasa, sin embargo, en el último informe anual del 2018 se reportaron 79,825 casos de salmonelosis, 34,906 casos de fiebre paratifoidea y 10,191 casos de fiebre tifoidea, correspondientes a enfermedades causadas por la bacteria *Salmonella Enterica*, *Paratyphi* y *Typhimurium*, respectivamente (Godínez y cols., 2019; DGE,2019). Con base en lo descrito anteriormente, la bacteria *Salmonella* es considerada una de las mayores preocupaciones en el sector salud y una carga económica importante en todo el mundo, particularmente para las industrias alimentarias por sus especies *Enteritidis* y *Typhimurium* (Aaydha y cols., 2018). Razón por la cual, se plantean y buscan estrategias con la finalidad de controlar e inhibir microorganismos que afectan la comercialización de alimentos y la salud a nivel mundial.

2.4.2 Control e inhibición de la *Salmonella* en los alimentos

En el control e inhibición de este tipo de patógenos se emplean varias estrategias, iniciando en el campo mediante un adecuado suministro de agua y un buen manejo durante la cosecha. Se han aplicado métodos de índole química, física y biológica, basados en la inhibición y prevención de la propagación de microorganismos en el tejido hospedero. Además, para mejorar la seguridad y vida útil de los alimentos, en la industria se emplean ampliamente varias estrategias de conservación de alimentos, como la pasteurización, esterilización térmica, conservación química, congelación, entre otros. En este contexto, la efectividad de

estos métodos depende de su capacidad para interactuar con el patógeno y la sensibilidad de la infección y del hospedero (Barkai, 2018; Droby y cols., 2011; Rivera, 2008). De esta manera, para reducir la incidencia de enfermedades transmitidas por alimentos, es necesario desarrollar nuevos agentes antimicrobianos para la producción y el envasado de alimentos seguros (Ünivar, 2018). En este sentido, las nanopartículas metálicas se han utilizado ampliamente en el envasado de alimentos debido a su gran superficie específica y su pequeño tamaño. En la industria alimentaria se están empleando agentes naturales como el Qts para inhibir el crecimiento de los microorganismos (Ayala y cols., 2015). Así, desde un punto de vista nanotecnológico, la investigación de estos materiales ha sido orientada a la actividad antimicrobiana como inhibidores del crecimiento (Mashjoor y cols., 2018; Morales y cols., 2013; Cioffi y cols., 2005) y agentes erradicadores de microorganismos patógenos (Lin y cols., 2015; Huang y cols., 2005; Kumar y Münstedt, 2005; Qi y cols., 2004; Stoimenov y cols., 2002).

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

CAPÍTULO 3. JUSTIFICACIÓN

En los alimentos se encuentran diversos microorganismos patógenos que se han convertido en una de las mayores preocupaciones sanitarias y un serio problema económico a nivel mundial, debido a las enfermedades que provocan en los humanos y su resistencia a algunos agentes antimicrobianos como los antibióticos. Por esta razón, la nanotecnología ha venido a revolucionar las estrategias tecnológicas de índole física, química y biológica, con la finalidad de controlar e inhibir la proliferación de este tipo de microorganismos. En particular, las NPM han despertado interés en la industria de los alimentos debido a su baja toxicidad y actividad antimicrobiana, causa de su aplicación exitosa en las áreas de biomédica y ambiental. En este sentido, se ha demostrado que las NPM al ser sintetizadas por técnicas electroquímicas como la de pulsos de potencial asimétricos tienen un mejor control y distribución de su tamaño. De igual forma, se ha evidenciado que el Qts como revestimiento, modifica la carga superficial de este tipo de nanopartículas mejorando la interacción con los microorganismos patógenos. Sin embargo, este nanomaterial comúnmente sintetizado por métodos convencionales, con poco control sobre su tamaño y distribución, no ha sido aplicado en el área agroalimentaria. Por lo antes descrito, la presente investigación propone como alternativa de síntesis el método electroquímico de pulsos de potencial asimétricos empleando electrodos de hierro, para la obtención de NPM de tamaño y dispersión controlados. Asimismo, se propone la modificación superficial con Qts, en la mejora de la estabilidad y carga superficial de las NPM, favoreciendo su actividad antimicrobiana. De tal manera que puedan ser utilizadas en estrategias destinadas al control de microorganismos patógenos, que provocan enfermedades en los seres humanos y afectaciones en el área agroalimentaria.

CAPÍTULO 4. OBJETIVOS

CAPÍTULO 4. OBJETIVOS

4.1. Objetivo general

Sintetizar, caracterizar y evaluar el efecto antimicrobiano de un material compósito basado en NPM/Qts para su potencial aplicación en la industria agroalimentaria.

4.2. Objetivos específicos

- Sintetizar electroquímicamente NPM aplicando pulsos de potencial asimétricos.
- Obtener mediante modificación superficial, el material compósito de NPM/Qts.
- Caracterizar por diferentes técnicas fisicoquímicas (DRX, STEM, SEM, FTIR, pot. Z y TGA) las NPM sintetizadas y el material compósito (NPM/Qts).
- Caracterizar electroquímicamente las NPM y el material compósito (NPM/Qts) empleando voltamperometría lineal y EIS.
- Evaluar el efecto antimicrobiano *in vitro* de las NPM y el material compósito (NPM/Qts) sobre el crecimiento de *S. typhimurium*.

CAPÍTULO 5. MATERIALES Y MÉTODOS

CAPÍTULO 5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 Esquema general de la Metodología

La metodología general para la presente investigación se llevó a cabo en 3 etapas (Figura 5.1). Como primera etapa se sintetizaron las NPM por el método electroquímico de pulsos de potencial asimétricos y se revistieron con Qts empleando el método de modificación superficial. En la segunda etapa, se caracterizaron las NPM y el material compuesto de NPM y Qts (NPM/Qts). En la tercera etapa se llevó a cabo la evaluación del efecto antimicrobiano *in vitro* de las NPM y el material compuesto de NPM/Qts, sobre el crecimiento *S. typhimurium*.

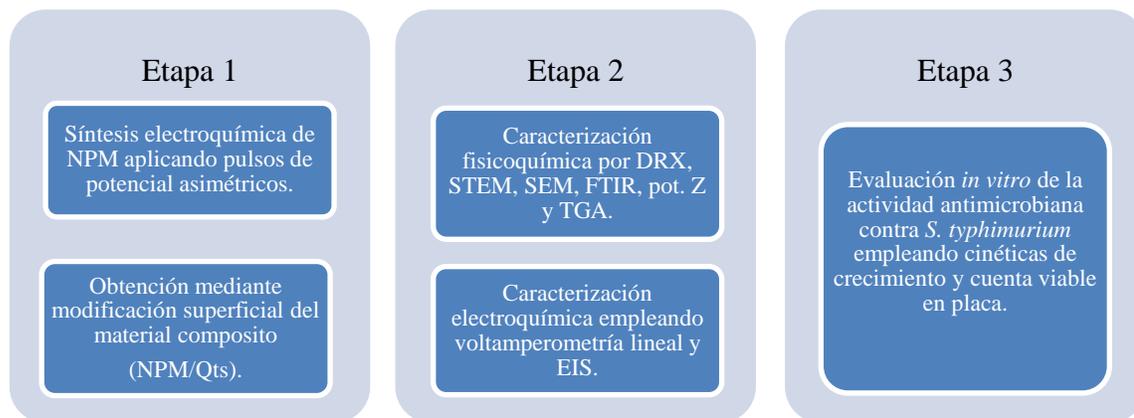


Figura 5.1. Diagrama general de la Metodología.

Etapa 1. Síntesis electroquímica de NPM y obtención del material compuesto de NPM/Qts.

5.2 Síntesis electroquímica de NPM mediante pulsos de potencial asimétricos.

5.2.1 Montaje experimental

Para la síntesis electroquímica mediante pulsos de potencial asimétricos, se aplicó el método propuesto por Pérez y cols., (2016). En ese sentido, para la producción de las NPM, se empleó una celda de vidrio con una configuración de tres electrodos con una capacidad de 50 mL, como se observa en la Figura 5.2.

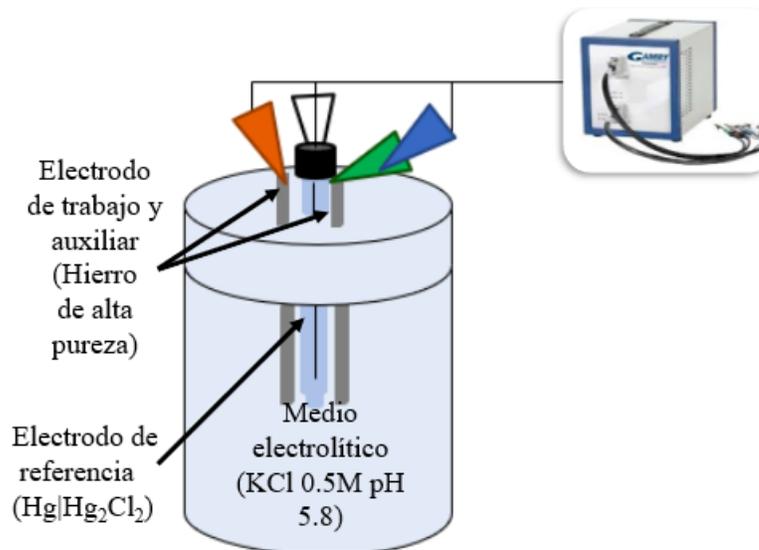


Figura 5.2. Esquema del montaje experimental para la síntesis de NPM.

Se utilizaron como electrodo de trabajo y auxiliar barras de hierro de alta pureza con un área geométrica de 2 cm². Como electrodo de referencia se utilizó un electrodo de calomel (Hg|Hg₂Cl₂) con un capilar de Luggin. El medio electrolítico empleado fue cloruro de potasio (KCl) 0.5 M con un pH aproximado a 5.8. Las soluciones se prepararon con reactivos de grado analítico y agua desionizada.

Dentro de la celda electroquímica se sumergieron 1.8 cm² de cada uno de los electrodos de hierro de alta pureza en la disolución de KCl 0.5 M y se colocaron aproximadamente a 1.8 cm de distancia entre ellos. Antes de cada experimento se dejó estabilizar el potencial del sistema hasta llegar a un cambio menor a 10 mV por minuto, transcurriendo un tiempo aproximado de 5 min.

5.2.2 Selección de potenciales y tiempo para la síntesis

Para identificar y seleccionar los potenciales (pulso 1 y 2) de reducción y oxidación de los iones de hierro y sus tiempos de duración, se empleó el método propuesto por Pérez y cols., (2016). Se realizaron estudios por voltamperometría lineal tanto en sentido catódico (desde potencial a circuito abierto hasta -1.20 V) como en sentido anódico (desde potencial a circuito abierto hasta 0.6 V), aplicando una velocidad de barrido de 2 mV/s. Posteriormente, se realizaron estudios por cronoamperometría a los potenciales seleccionados tanto en sentido anódico como en sentido catódico durante un tiempo de 20 s, para seleccionar el tiempo de duración de los pulsos.

5.2.3 Síntesis electroquímica de pulsos de potencial asimétricos

Para la síntesis, se empleó el método propuesto por Pérez y cols., (2016). Por lo tanto, mediante el potenciostato marca Gamry modelo Reference 3000 se aplicó inicialmente el pulso 1 y finalizado este se invirtió la polaridad de los electrodos, aplicando el pulso 2 durante unos segundos; este proceso se continuo por un lapso de 7,200 s. Los experimentos se realizaron a temperatura ambiente y presión atmosférica. Para obtener los polvos de NPM, el medio acuoso obtenido fue sometido a centrifugación a 5,000 rpm durante 15 min, para posteriormente realizar dos lavados con agua desionizada y finalmente uno con etanol. Las muestras se congelaron a -80 °C por 24 h, a continuación, se liofilizaron por 48 h a una temperatura de -52.5 °C y una presión de 0.25 mbar empleando una liofilizadora Benchtop (LABCONCO). Por último, se almacenaron en tubos Falcón de 15 mL y se sellaron con parafilm.

5.3 Desarrollo del material compósito (NPM/Qts)

Se empleó el método de modificación superficial de nanopartículas propuesto por Samani y cols., (2013). Siguiendo esta metodología se disolvieron 20 mg de Qts en 100 mL de agua desionizada que contenía ácido acético 1 M y se agitó en parrilla de agitación a 1,500 rpm durante 5 min. Posteriormente, se disolvieron 70 mg de las NPM en la solución de Qts previamente preparada. Se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 18 h hasta el cambio de color de la solución de negro a marrón, como indicativo de la adsorción de las moléculas de Qts sobre la superficie de las NPM. La suspensión se centrifugó a 6,000 rpm durante 45 min y el sedimento se lavó dos veces con agua desionizada para eliminar el exceso de Qts y trazas de ácido acético. Por último, se secó en estufa durante 16 h a 70 °C para obtener las NPM/Qts.

Etapa 2 Caracterización fisicoquímica y electroquímica de las NPM y del material compósito (NPM/Qts).**5.4 Caracterización por técnicas fisicoquímicas****5.4.1 Difracción de Rayos X (DRX)**

Para identificar las fases cristalinas de los polvos de óxidos de hierro presentes en las NPM y las NPM/Qts se realizaron difractogramas de 20° a 90° en 2θ , empleando un difractómetro Bruker D8 Advance, con lámpara de $\text{CuK}_{\alpha 1}$ operado a 30 kV y 30 mA.

Con la finalidad de estimar el tamaño de cristal se tomaron datos de los difractogramas de las partículas y se utilizó la ecuación de Scherrer (Ecuación 1):

$$d = \frac{0.90.\lambda}{\beta.\text{Cos}\theta} \quad (1)$$

Donde d es la longitud promedio del cristal, λ es la longitud de onda de la radiación (0.1548 nm), β es el ancho a media altura del pico y θ es la posición del máximo del pico de difracción.

5.4.2 Microscopía Electrónica de Transmisión con unidad de Barrido (STEM)

Para analizar la forma de las NPM y NPM/Qts, se caracterizaron empleando la técnica de Microscopía Electrónica de Transmisión con unidad de Barrido (STEM; por sus siglas en inglés, *Scanning Transmission Electron Microscopy*) mediante detector STEM 3+ MEB, modelo Micro Helios G4CX DualBeam. La preparación de las muestras consistió en realizar una suspensión de los polvos mediante sonicación de 5 mg de las muestras en 1 mL de agua destilada estéril durante 5 min, de esta suspensión se realizó una dilución 1:100 y se tomó una gota, la cual se colocó en una rejilla de cobre recubierta con carbón, con el lado de carbón hacia arriba. Posteriormente se dejó secar completamente antes de montar en el microscopio. Se empleó una resolución de 30 kV y el modo BF.

5.4.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Para analizar la morfología de las NPM y NPM/QTS, se empleó la técnica de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM; por sus siglas en inglés, *Scanning Electron Microscopy*) mediante un microscopio electrónico de barrido, modelo JEOL JSM-6010LA. La preparación de las muestras consistió en realizar una suspensión de los polvos mediante sonicación de 5 mg de las muestras en 1 mL de agua destilada estéril durante 5 min, de esta suspensión se realizó una dilución 1:100 y se tomó una gota, la cual se colocó en una rejilla de cobre recubierta con carbón, con el lado de carbón hacia arriba. Posteriormente se dejó secar completamente antes de montar en el microscopio. Se empleó una resolución de 20 kV.

5.4.4 Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR)

Los experimentos de Espectroscopía de Infrarrojo con Transformada de Fourier (FTIR; por sus siglas en inglés, *Fourier Transform Infrared Spectroscopy*) en las NPM y NPM/Qts, se llevaron a cabo en un espectrofotómetro marca Shimadzu FTIR a un intervalo de 450 a 4,500 cm^{-1} , en modo de transmisión, con pastillas de bromuro de potasio (KBr) grado espectroscópico previamente secado en estufa a 110 °C durante 2 h.

5.4.5 Potencial Zeta (pot. Z)

Esta técnica se empleó con el fin de determinar tanto la carga superficial como la estabilidad coloidal de las NPM y las NPM/Qts en el sistema. Las muestras se prepararon diluyendo 1 mg de las muestras en 2 mL de agua destilada y posteriormente se realizó una sonicación por 5 min. Se realizaron tres réplicas de cada muestra y los resultados se analizaron en términos de intensidad. Las medidas fueron realizadas en un equipo marca Malvern, modelo Zetasizer Nano Zsp.

5.4.6 Análisis Termogravimétrico (TGA)

El análisis termogravimétrico (TGA; por sus siglas en inglés, *Thermogravimetric Analysis*) de las NPM y las NPM/Qts se realizaron en un modelo TA instruments TGA Q500 aplicando una velocidad de 10 °C/min en un rango de temperatura de 27 a 1,000 °C con un flujo de aire de 100 cm^3/min .

5.5 Caracterización por técnicas electroquímicas

5.5.1 Preparación del Electrodo de Pasta de Carbón (EPC)

Para la preparación de los Electrodo de Pasta de Carbón (EPC) se empleó la metodología propuesta por Rodríguez y cols., (2011). Para ello se mezclaron 0.35 g de grafito (Alfa Aesar 99.999 5%) con 0.075 g de aceite de silicón (Sigma-Aldrich DC 200) y 0.15 g de las NPM o el material compósito (NPM/Qts), hasta obtener una pasta maleable que se colocó dentro de un cilindro de plástico de 0.46 cm de diámetro. El contacto eléctrico del EPC se realizó mediante un alambre de cobre. Un electrodo de grafito en ausencia de las NPM y las NPM/Qts sirvió como blanco. Además, para fines de comparación se realizaron electrodos de Qts y de NPM-PVP (Comercial). Antes de cada experimento, la superficie del electrodo se renovó mediante pulido ligero.

5.5.2 Sistema electroquímico

Para estos experimentos, se empleó una celda de vidrio con configuración de 3 electrodos con una capacidad de 100 mL. El electrodo de trabajo y auxiliar empleados, fue un EPC (área geométrica=0.17 cm²) y un alambre en espiral de platino, respectivamente; mientras que como electrodo de referencia se empleó un electrodo de Hg|Hg₂Cl₂. El medio electrolítico del sistema fue HCl (grado reactivo) 1 M. Antes de cada experimento, el sistema se burbujeó con gas N₂ durante 8 min para mantener una atmósfera inerte.

5.5.3 Voltamperometría lineal para la caracterización

Se realizaron experimentos a los EPC por voltamperometría lineal en sentido anódico y catódico empleando una velocidad de barrido de 2 mV/s, para hacerla comparable con los experimentos de Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS; por sus siglas en inglés, *Electrochemical Impedance Spectroscopy*), que se realizan en estado estacionario. Asimismo, estos experimentos sirvieron para identificar los procesos redox asociados a la oxidación y reducción de la magnetita y del Qts.

Estos experimentos se llevaron a cabo empleando un potenciostato/galvanostato marca Gamry modelo Reference 3000.

5.5.4 Espectroscopía de Impedancia Electroquímica (EIS)

Para los experimentos de EIS a los EPC, se empleó un potenciostato/galvanostato marca Gamry modelo Reference 3000, mediante el cual se aplicó un potencial en corriente directa (potencial a circuito abierto), una perturbación sinusoidal de corriente alterna de 10 mV en un intervalo de frecuencias de 10,000Hz – 0.01Hz, tomando 7 puntos por década. Los espectros experimentales fueron ajustados y analizados empleando el programa ZView2®.

Etapa 3 Evaluación del efecto antimicrobiano *in vitro* de las NPM y el material compósito de NPM/Qts sobre el crecimiento de *S. typhimurium*

5.6 Evaluación de la actividad antimicrobiana contra *S. typhimurium*

5.6.1 Cinética de crecimiento bacteriano

Para evaluar el efecto antimicrobiano de las NPM y las NPM/Qts, se preparó un preinóculo bacteriano de *S. typhimurium* en medio tróptico de soya líquido (TSL), el cual se incubó a 37 °C por 24 h. Además, en medio de agar tróptico de soya (ATS) se disolvieron NPM y NPM/Qts a diferentes concentraciones (0.3, 0.6, 0.9, 1.2 y 1.5 mg/mL) como tratamientos y un control de agar sin nanopartículas, los cuales fueron sonicados por 15 min y esterilizados en autoclave a 121 °C durante 15 min. Posteriormente, se midió la absorbancia del medio con cada uno de los tratamientos, a continuación, se inocularon con la bacteria y se estandarizó a una absorbancia aproximada a 0.02 como valor de inicial de las cinéticas de crecimiento. A continuación, se incubaron a 37 °C durante 12 h, en las que se tomaron de cada recipiente bacteriano con los tratamientos alícuotas de 1 mL a intervalos de 1 h. Las mediciones se realizaron a través de un espectrofotómetro UV-vis marca Mecasys Optizen Pop, a una longitud de onda de 600 nm. Todos los experimentos se realizaron por triplicado.

5.6.2 Cuenta viable en placa de la bacteria

Se preparó agar McConkey en el que se disolvieron las NPM y las NPM/Qts a diferentes concentraciones (0.3, 0.6, 0.9, 1.2 y 1.5 mg/mL) como tratamientos y un control de agar sin nanopartículas, los cuales fueron sonicados por 15 min y esterilizados en autoclave a 121 °C durante 15 min. Posteriormente, se usaron para preparar cajas Petri en las que se inocularon alícuotas de 1 mL de una solución con la bacteria *S. typhimurium* a una dilución de 1:1'000,000. Por último, se incubaron las diferentes placas a 37 °C durante 48 h y se procedió al conteo de las colonias.

5.7 Análisis estadístico

Los datos obtenidos de los experimentos TEM, pot. Z, EIS, cinéticas de crecimiento y cuenta viable en placa, fueron expresados como la media \pm desviación estándar ($n=3$) y se analizaron mediante el programa STATISTICA versión 12 (StatSoft. Inc. 1984-2010, Tulsa, OK, USA). Se aplicó un diseño unifactorial en el que la variable dependiente fueron el tipo de nanopartículas, así como la concentración en el caso de los métodos para la evaluación antimicrobiana, mientras que la variable independiente fue el parámetro de los resultados obtenidos de cada método, para comparar y determinar la efectividad de las NPM y NPM/Qts utilizando un nivel de significancia de $\alpha=0.05$.

CAPÍTULO 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

CAPÍTULO 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1 Estudio voltamperométrico para la selección de potenciales de síntesis

El estudio voltamperométrico se llevó a cabo para establecer los potenciales (pulso 1 y pulso 2) en los cuales se favorece la formación de la magnetita, obteniendo como resultados lo que se muestran a continuación (Figura 6.1 y 6.2).

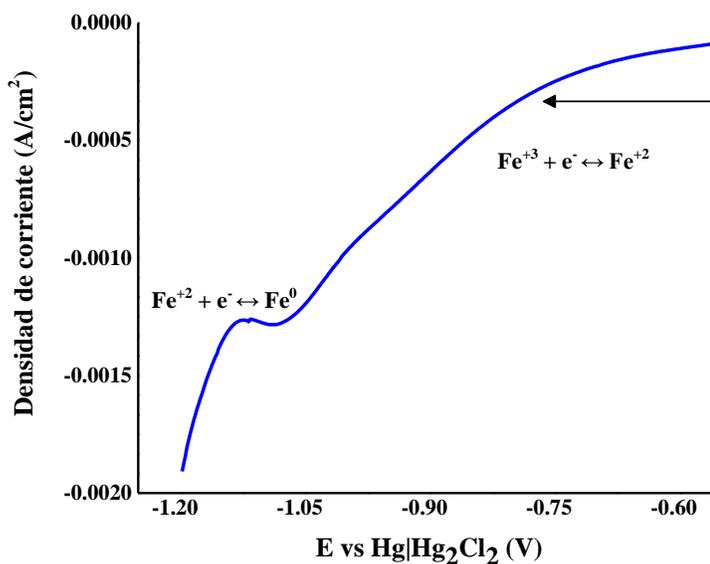


Figura 6.1. Voltamperograma lineal en sentido catódico en KCl 0.5M. Empleando un electrodo de trabajo de hierro de alta pureza y una velocidad de barrido de 2 mV/s.

En la Figura 6.1 es posible observar un cambio de pendiente y un pico en la curva, como señales del proceso de reducción, las cuales de acuerdo a lo reportado (Pérez y cols., 2016; Rodríguez y cols., 2015; Rodríguez y cols., 2012) se atribuyen a la reducción del ion férrico y ferroso. En este sentido, la primera señal observada a $-0.80\text{ V vs Hg|Hg}_2\text{Cl}_2$, indica el comienzo de un pico que suele atribuirse a la reducción del ion férrico a ion ferroso, mientras que la segunda señal observada a $-1.12\text{ V vs Hg|Hg}_2\text{Cl}_2$, se atribuye a la reducción del ion ferroso a hierro metálico.

En el 2012, Rodríguez y cols., sugirieron que la presencia de ambas señales en el voltamperograma en sentido catódico se debe al medio electrolítico (KCl), debido a que por sí mismo oxida ligeramente el hierro metálico de los electrodos hasta especies férricas. Razón por la cual, resulta importante señalar que el medio electrolítico influye en la obtención de estos resultados, así como el pH, el cual en valores cercanos o mayores a 4.0 no produce reacciones complejas. Por lo tanto, el valor de pH de aproximadamente 5.8 del KCl (medio electrolítico) empleando en estos experimentos, fue conveniente para la obtención de los resultados mostrados en la Figura 6.1, así como los que se observan en la Figura 6.2.

Con base en lo anterior, de los resultados obtenidos en el voltamperograma en sentido catódico (Figura 6.1), se seleccionó un potencial catódico (PC) de $-0.92\text{ V vs Hg|Hg}_2\text{Cl}_2$, valor intermedio entre las dos señales observadas, suficiente para obtener iones férricos y ferrosos sin presencia de hierro metálico, para favorecer la formación de magnetita.

Por otro lado, en el voltamperograma obtenido en sentido anódico no fue posible observar ningún pico de oxidación, como lo evidencia la Figura 6.2. Sin embargo, pudo observarse un ligero cambio de pendiente en la densidad de corriente a un valor de potencial de aproximadamente $-0.20\text{ V vs Hg|Hg}_2\text{Cl}_2$, que puede asociarse a un proceso de oxidación.

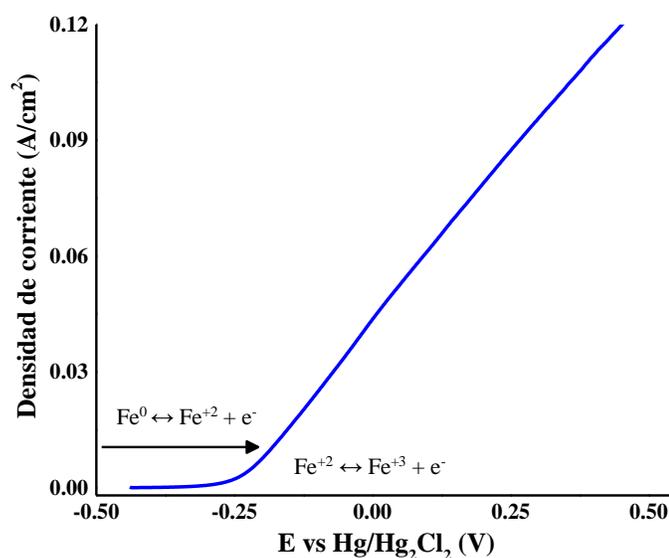


Figura 6.2. Voltamperograma lineal en sentido anódico en KCl 0.5M. Empleando un electrodo de trabajo de hierro de alta pureza y una velocidad de barrido de 2 mV/s.

En el 2012, Rodríguez y cols., sugirieron que este comportamiento puede atribuirse a un probable cambio en el proceso de oxidación, en el que posiblemente antes de este cambio se favorece la formación de iones de Fe^{+2} , mientras que después del cambio de pendiente se favorece la formación de iones Fe^{+3} . Además, estudios recientes como el de Pérez y cols., (2016), han demostrado que en la síntesis electroquímica de magnetita, también se forma maghemita; sin embargo, se ve favorecida la obtención de magnetita al utilizar potenciales anódicos posicionados después del cambio de pendiente. Así, basándose en estos hallazgos se seleccionó el potencial anódico (PA) de 0.30 V vs $\text{Hg}|\text{Hg}_2\text{Cl}_2$, el cual resulta favorable para la síntesis de NPM, al ser un valor que se posiciona después del cambio de pendiente.

6.2 Estudio cronoamperométrico para la selección de los tiempos de síntesis

Los experimentos cronoamperométricos se realizaron para seleccionar los tiempos en los que se llevan a cabo las reacciones redox para la formación de la magnetita. En este sentido, en los experimentos cronoamperométricos se aplicaron al electrodo de trabajo de hierro el PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ y el PA de 0.30 V vs Hg|Hg₂Cl₂, potenciales seleccionados de forma descrita en el apartado anterior. En la Figura 6.3 se muestra el cronoamperograma obtenido al aplicar el PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂, en el que la corriente presenta inicialmente un incremento abrupto para posteriormente disminuir en el primer segundo. Después del primer segundo, comienza a manifestarse un aumento continuo en la corriente hasta el segundo 11 para posteriormente mantenerse estable hasta el segundo 20.

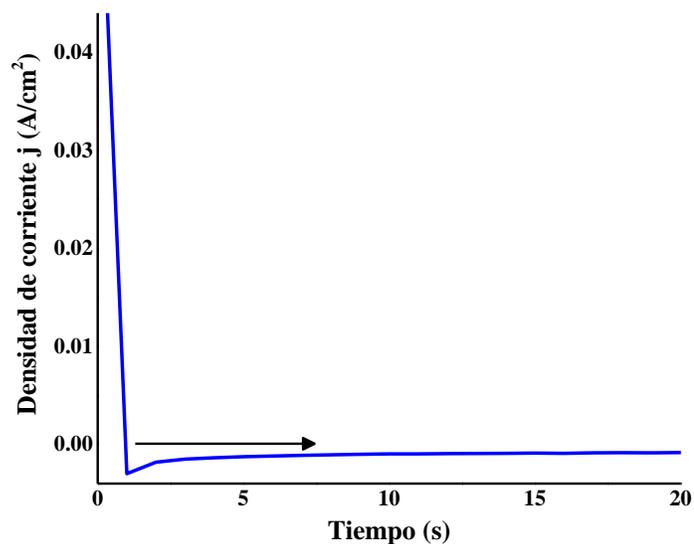


Figura 6.3. Comportamiento de la corriente al aplicar el PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en el electrodo de trabajo de hierro en KCl 0.5 M.

En el 2012, Rodríguez y cols., atribuyeron el incremento de la corriente a la formación de la doble capa, en la cual se acomodan los iones presentes en el sistema, mientras que la disminución de la corriente observada en los primeros segundos, fue atribuida al proceso de difusión de las especies presentes en el sistema.

Así, tomando como base este resultado, se seleccionó el tiempo de 7 s para llevar a cabo la síntesis de la magnetita en KCl 0.5 M. Esto en virtud de que en ese tiempo todavía no se estabiliza la corriente, por lo que se considera suficientemente pequeño para mantener el sistema en control por transferencia de carga y no por difusión.

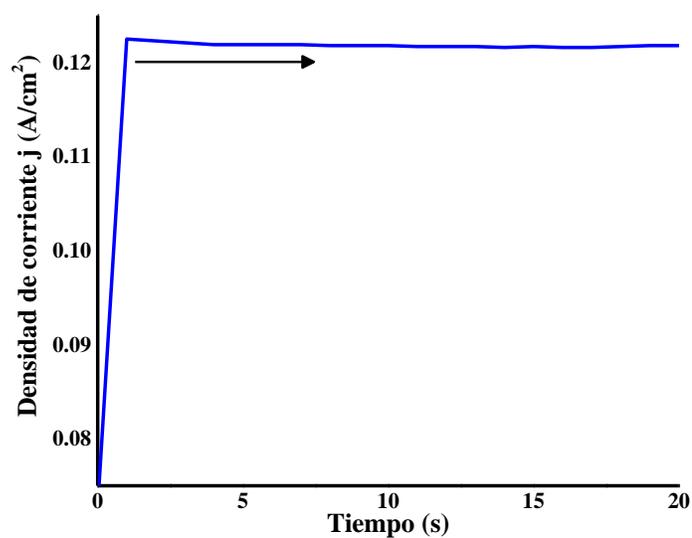


Figura 6.4. Comportamiento de la corriente al aplicar el PA de 0.30 V vs $\text{Hg}|\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ en el electrodo de trabajo de hierro en KCl 0.5 M.

En la Figura 6.4 se observa que en el primer segundo la corriente incrementa, para posteriormente disminuir hasta el segundo 8 en que la corriente comienza a estabilizarse. Así, en virtud de este hallazgo se seleccionó un tiempo pequeño de 5 s. Este fenómeno coincide con lo reportado por Rodríguez y cols., (2012), quienes sugirieron que este comportamiento puede ser diferente al observado en el estudio cronoamperométrico a un PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ para este caso, ya que probablemente al aplicar un PA, de 0.30 V vs Hg|Hg₂Cl₂ para este caso, el proceso es más complicado y pueden estarse presentando simultáneamente más procesos como la formación de hidróxido férrico u oxyhidróxido.

6.3 Aplicación de pulsos de potencial asimétricos en la síntesis de magnetita

En la síntesis electroquímica de magnetita por pulsos de potencial asimétricos, es importante aplicar potenciales y tiempos que favorezcan la producción de las especies férricas, necesarias para la formación de magnetita. En este sentido, en el experimento concerniente se aplicaron al electrodo de trabajo los potenciales y tiempos seleccionados en los apartados anteriores, iniciando con el PA de 0.30 V vs Hg|Hg₂Cl₂ durante 5 s y posteriormente el PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ durante 7 s, repitiendo el proceso en un ciclo de 2 h.

Por otro lado, el pH de la solución de trabajo (electrolito) al ser un parámetro que afecta la formación de la magnetita durante la síntesis, fue medido antes y después de los experimentos, encontrando que en promedio sufría un incremento de 5.8 a 12.3 unidades de pH. Estos valores al ser mayores a 4 unidades de pH, son de interés debido a que contribuyen a la formación de la magnetita, asimismo, el cambio observado en el pH es atribuido a la formación de los iones Fe⁺² y Fe⁺³ en el electrodo, que funciona como ánodo y a los iones hidroxilo generados mediante la hidrólisis del agua en el electrodo que funciona como cátodo (Bashir y cols., 2015; Rodríguez y cols., 2012).

En este contexto, en la Figura 6.5 se evidencia el comportamiento de la corriente de salida respecto al tiempo como respuesta al potencial aplicado durante el primer minuto; donde puede observarse que en el primer pulso (anódico) la corriente es alta, para posteriormente disminuir en el segundo pulso (catódico) a una corriente baja y volver a aumentar en el pulso anódico.

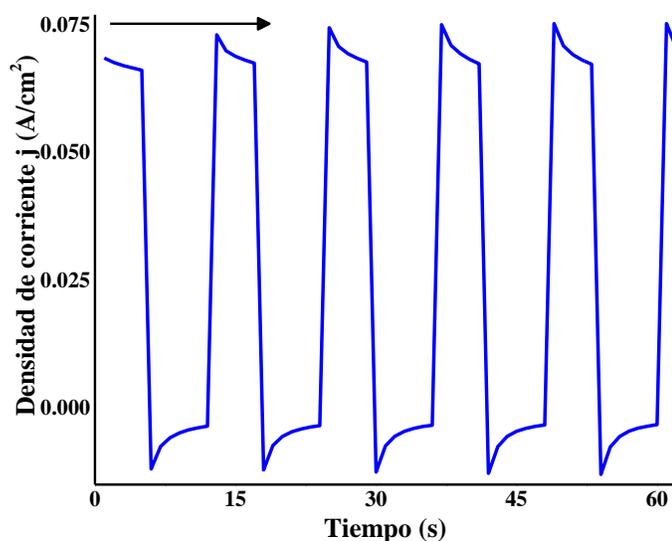


Figura 6.5. Comportamiento de la densidad de corriente durante el primer minuto de los experimentos de cronoamperometría. Aplicando el PA de 0.30 y PC de -0.92 V vs $\text{Hg}|\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ al electrodo de trabajo de hierro en KCl 0.5M.

En la Figura 6.5 puede observarse que los valores de la corriente del pulso catódico se mantienen constantes. Esto es coherente con lo reportado por Rodríguez y cols., (2012),

quienes atribuyeron que el desprendimiento de partículas del electrodo, es la causa de que el pulso anódico se mantenga en los mismos valores de corriente.

Por otro lado, se observó el comportamiento de la corriente de salida respecto al tiempo como respuesta al potencial aplicado, durante la síntesis de magnetita un tiempo de 2 h (Figura 6.6), donde pudo evidenciarse que después del minuto 5 hay un incremento en la corriente del pulso anódico. Este hallazgo es diferente al comportamiento observado en la corriente durante el primer minuto (Figura 6.5). Rodríguez y cols., (2012) atribuyeron el incremento de la corriente del pulso anódico respecto al tiempo, a la formación de hidróxido férrico o oxyhidróxido, los cuales son susceptibles a una reducción electroquímica induciendo una mayor corriente.

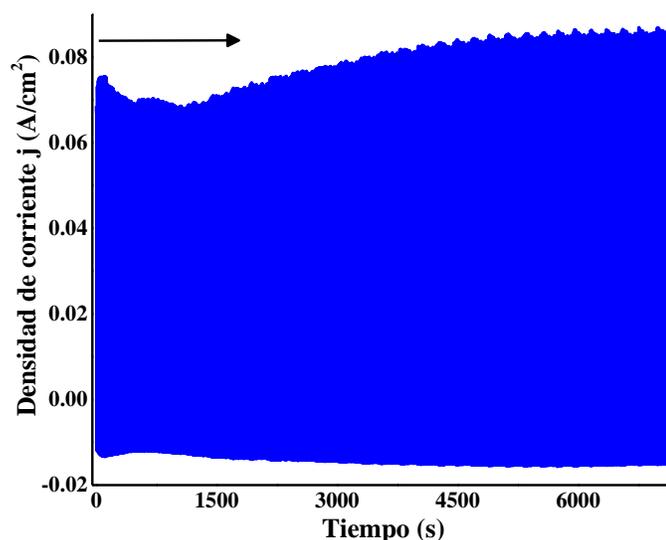


Figura 6.6. Comportamiento de la densidad de corriente durante las dos horas de experimento mediante cronoamperometría. Aplicando el PA de 0.30 y PC de -0.92 V vs $\text{Hg|Hg}_2\text{Cl}_2$ al electrodo de trabajo de hierro en KCl 0.5M.

Los experimentos anteriores se realizaron mediante el montaje mostrado en la Figura 6.7, en la que puede visualizarse un sistema de tres electrodos que muestra una solución incolora característica del electrolito (Figura 6.7A), mientras que en la Figura 6.7B se muestran los primeros 5 min de síntesis en los que se observa un cambio de coloración en la solución de trabajo, de incoloro a amarillo, principalmente en la región cercana a la interfase electrodo-electrolito. Además, puede observarse que después de transcurrir los 5 min de síntesis, la solución pasa de un color amarillo a un color verde, para posteriormente dar lugar a la formación de partículas de magnetita que pueden observarse en el fondo de la celda (Figura 6.7C).

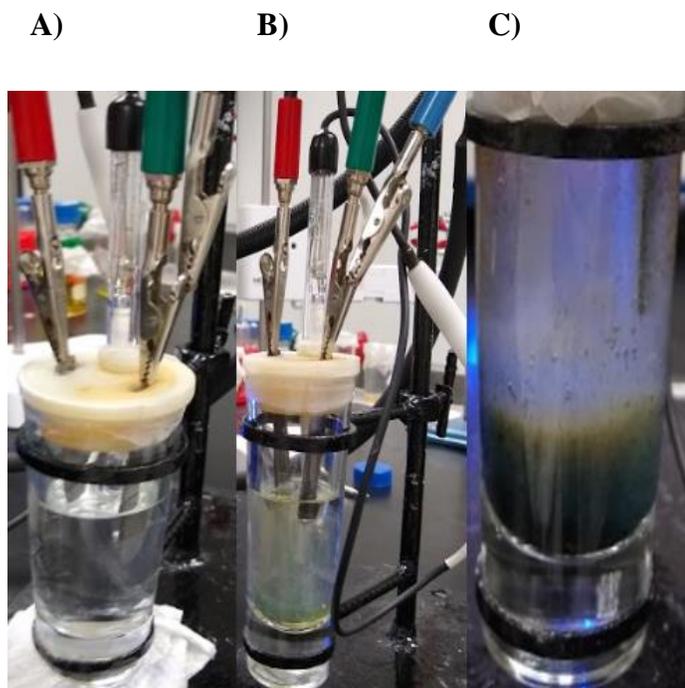


Figura 6.7. Celda de vidrio con una configuración de tres electrodos diseñada para la síntesis. A) Montaje antes de iniciar la síntesis, B) montaje después de los primeros 5 min de síntesis y C) montaje al término de la síntesis (2 h).

Así, al término del experimento las partículas fueron precipitadas con ayuda de un imán, tomando un tono más oscuro en la solución, el cual fue incrementando con cada lavado al que fueron sometidas. Cabe mencionar que en todos los ensayos realizados se obtuvieron partículas de color negro intenso, que de acuerdo con lo reportado es un color característico de la magnetita (Rodríguez y cols., 2012; Cornell y Schwertmann, 2003).

6.4 Desarrollo del material compósito

El método de modificación superficial propuesto por Samani y cols., (2013) fue empleado para obtener el material compósito de magnetita con Qts, en el que el cambio de coloración es un indicativo visual. Así, durante el desarrollo del material compósito, pudo observarse que las partículas sintetizadas cambiaron de color negro a marrón después de la modificación superficial, donde este cambio de coloración es indicativo de la modificación de las partículas de magnetita con el Qts (Arakha y cols., 2015) (ver Figura 6.8B); el cual es muy evidente cuando se compara con las partículas de magnetita sin modificación (ver Figura 6.8A).



Figura 6.8. Partículas de magnetita A) sintetizadas y B) modificadas por inmersión con Qts al 0.02%. Se sintetizo al PA de 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M

En el 2019, Shahid y Choi realizaron una investigación en la que reportaron que los iones ferrosos y férricos se unen para producir tipos particulares de fases, como la magnetita, goethita y óxido verde, las cuales tienen colores característicos que dependen de la relación molar, la concentración de iones hidroxilo y el pH (Iwasaki y cols., 2010; Refait y cols., 2003). Además, reportaron que los iones ferrosos en exceso a un pH de alrededor de 12 forman hidróxidos ferrosos que se convierten en parte de las partículas de magnetita causando el cambio de color de negro a marrón por la oxidación. (Shahid y Choi, 2019). En este sentido, el cambio de coloración de la magnetita se puede atribuir al pH de la solución de Qts por influencia del ácido acético empleado para la modificación superficial, así como a la oxidación de la magnetita durante la formación del material compuesto, mediante la

unión covalente del grupo amino del Qts con el grupo hidroxilo del óxido de hierro (Figura 6.9) (Unsoy y cols., 2012; Li y cols., 2008a).

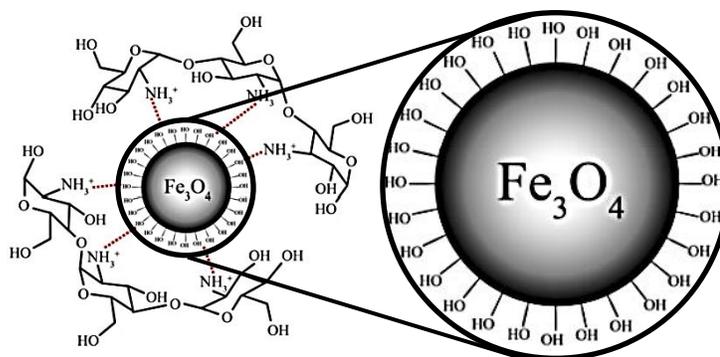


Figura 6.9. Esquema de NPM recubiertas de Qts. *Fuente:* Unsoy y cols., 2012.

Por otro lado, varios autores han reportado que el Qts le brinda a la magnetita mayor estabilidad, además de incrementar su actividad antimicrobiana al modificarse su potencial superficial a valores más positivos (Arakha y cols., 2015; Garza y Gonz, 2011; Li y cols., 2008b; Nehra y cols., 2018). Así, para comprobar lo antes mencionado, primeramente, se planteó la caracterización por técnicas fisicoquímicas, cuyos hallazgos se presentan a continuación en el siguiente apartado.

6.5 Caracterización fisicoquímica de la magnetita y el material compuesto de magnetita-Qts

6.5.1 Difracción de Rayos X (DRX)

El método de DRX se empleó para identificar las fases cristalográficas de la magnetita, así como para estimar el tamaño de cristal de las partículas. En este sentido, en la Figura 6.10 se muestran los difractogramas obtenidos de los polvos de magnetita y del material compuesto de magnetita-Qts, los cuales fueron analizados mediante el programa originPro 8. De esta manera, fueron comparados contra los patrones de difracción de la magnetita, maghemita, hematita y geothita.

En este sentido, mediante los difractogramas se realizó la comparación de los patrones de difracción característicos de las fases de óxidos de hierro en los picos de difracción a 30° (220), 35° (331), 43° (400), 57° (511) y 62° (440), los cuales se asemejan a los patrones de difracción de las fases cristalográficas de la magnetita y maghemita (Arakha y cols., 2015). Rodríguez y cols., (2012) evidenciaron la presencia de ambas fases, comprobando que los polvos sintetizados no contienen hierro metálico y ninguna otra forma de óxido de hierro.

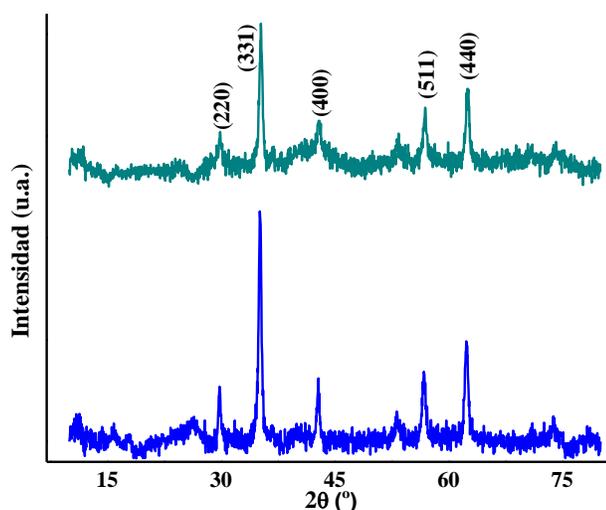


Figura 6.10. Difractogramas de las partículas de magnetita (—) sintetizadas y (—) modificadas con Qts al 0.02%. Se sintetizó al PA de 0.30 V y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M y se operó a 30 kV y 30 mA.

Además, se realizó un análisis más detallado de los picos de difracción, en el que se puede apreciar claramente que tanto las partículas de magnetita sintetizadas como las modificadas con Qts, concuerdan con el valor de 2θ del pico de difracción característico de la magnetita, como se evidencia en la Figura 6.11. De esta manera, se corroboró que el color negro presente en los polvos sirve de indicativo de que la fase mayoritaria es magnetita (Ver Figura 6.8A). Asimismo, se comprobó que la modificación superficial con Qts no afecta la estructura cristalina de la magnetita y que el cambio de color de negro a marrón no se debe a la formación de maghemita por oxidación.

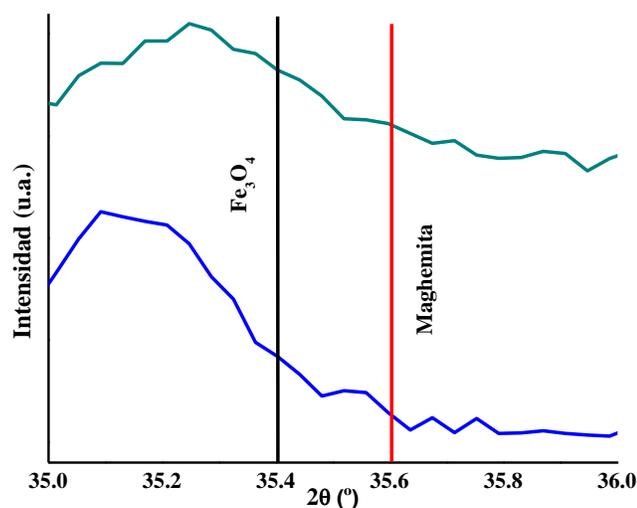


Figura 6.11. Comparación en el plano (331) de los patrones de difracción de la magnetita (línea negra a la izquierda) y la maghemita (línea roja a la derecha), contra el pico de difracción de las partículas de magnetita (—) sintetizadas y (—) modificadas con Qts al 0.02%. Se sintetizó al PA de 0.30 V y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M.

Adicionalmente, los difractogramas obtenidos fueron también empleados para estimar el tamaño del cristal, utilizando la ecuación de Scherrer. Los resultados obtenidos y organizados en el Cuadro 6.1, permitieron evidenciar un tamaño en escala nanométrica de las partículas de magnetita y el material compuesto de magnetita-Qts.

Cuadro 6.1. Tamaño de cristal estimado a partir de los difractogramas.

Muestras de Magnetita	Tamaño estimado (nm)		
	Promedio	Desviación estándar	
NPM, PA 0.3 y PC -0.92 V vs Hg Hg ₂ Cl ₂	21.23 ^a	±	3.57
NPM/Qts, PA 0.3 y PC -0.92 V vs Hg Hg ₂ Cl ₂	18.53 ^a	±	6.30

Nota: Letras diferentes expresan diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

En el 2012, Rodríguez y cols., al sintetizar NPM obtuvieron resultados similares al emplear un PA de 0.7 V vs Hg|Hg₂HCl₂ durante 5 s y un PC de -0.8 V vs Hg|Hg₂Cl₂ durante 3 s, las cuales presentaron un tamaño de 20 nm, pero una menor fase de magnetita. Asimismo, sintetizaron NPM en presencia de polietilenglicol a una concentración de 1×10^{-3} M, en el PA de 1.0 V vs Hg|Hg₂HCl₂ durante 5 s y PC de -1.1 V vs Hg|Hg₂Cl₂ durante 10 s, las cuales presentaron un tamaño de 19.3 nm, similar a lo obtenido en el presente estudio para las NPM/Qts (Cuadro 6.1). Esta equivalencia entre los tamaños de partícula, podría atribuirse a la similitud que presentan ambos biopolímeros al tener grupos hidroxilo y no afectar la estructura de la magnetita. Por otro lado, Aghazadeh y Karimzadeh (2017) observaron que el dextrano, biopolímero con grupos hidroxilos presenta estas mismas similitudes al obtener valores similares en el tamaño de partícula de 7.2 y 8.4 nm de las NPM y las NPM modificadas con dextrano respectivamente, en las cuales no se modificó la estructura cristalina de la magnetita.

Los resultados obtenidos en el presente estudio, fueron inducidos por parámetros como pH, potenciales aplicados y tiempos, que fueron ideales para propiciar la formación de NPM (Rodríguez y cols., 2012). Además, con base en reportes previos se esperaba que la

funcionalización con Qts no afectara la estructura cristalina y tamaño de la magnetita (Arakha y cols., 2015; Rodríguez y cols., 2012).

De esta manera para corroborar lo antes mencionado, se planteó observar la forma de las NPM mediante imágenes obtenidas por STEM, para posteriormente corroborar los tamaños de partícula obtenidas por DRX mediante un análisis por imagen. Los hallazgos encontrados se presentan a continuación en el siguiente apartado.

6.5.2 Microscopía Electrónica de Transmisión con unidad de Barrido (STEM)

Las imágenes obtenidas por STEM para las NPM y las NPM/Qts mostraron una distorsión óptica, lo cual puede observarse como lo evidencia la Figura 6.12, posiblemente atribuido a la resolución en la que fueron tomadas dichas imágenes. Sin embargo, fue posible observar la morfología de las nanopartículas, donde las NPM sintetizadas al PA de 0.3 y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ presentaron una morfología cuasi esférica (Figura 6.12A). De la misma manera, pudo observarse que las NPM/Qts logran mantener una morfología cuasi esférica, en la que se presenta una ligera distorsión posiblemente atribuida a la presencia del Qts (Figura 6.12B).

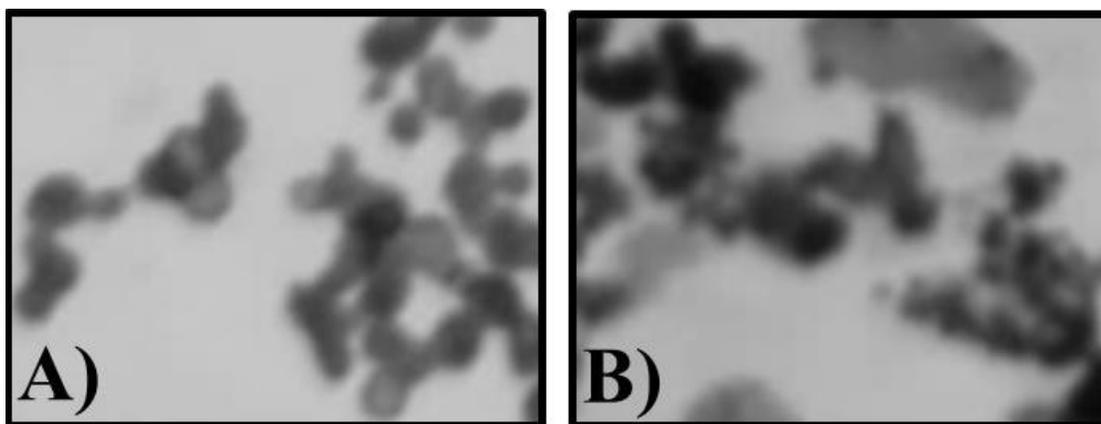


Figura 6.12. Imágenes de STEM de las A) NPM sintetizadas y las B) NPM/Qts al 0.02%. Se sintetizó al PA de 0.30 V y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M y se empleó una resolución de 30 kV.

En el 2012, Rodríguez y cols., reportaron NPM obtenidas electroquímicamente (por pulsos de potencial asimétrico en diferentes potenciales y tiempos de síntesis) con morfología cuasi esféricas, empleando imágenes obtenidas por TEM. En este sentido, se ha reportado que la forma que se obtiene de las nanopartículas, suele ser dependiente del método de síntesis que sea empleado (Yong y cols., 2018; Regiel y cols., 2017). Asimismo, la dificultad que se presenta en la apreciación de la morfología de las NPM/Qts, también ha sido observado por otros autores, donde El-kharrag y cols., (2018) reportaron imágenes de TEM con cierto grado de distorsión en la forma de nanopartículas funcionalizadas con Qts, atribuyéndolo a la presencia de este biopolímero en la superficie de las nanopartículas.

Por otro lado, en las imágenes mostradas en la Figura 6.12 se apreció agregación de partículas, que complicaron la estimación tanto del tamaño de partícula promedio como de la desviación estándar del tamaño. Sin embargo, se midieron los diámetros de 130

nanopartículas de cada muestra mediante el software imageJ, los cuales se muestran a continuación en el Cuadro 6.2.

Cuadro 6.2. Tamaño estimado a partir de las imágenes de STEM.

Muestras de Magnetita	Tamaño estimado (nm)		
	Promedio	Desviación estándar	
NPM, PA 0.3 y PC -0.92 V vs Hg Hg ₂ Cl ₂	46.18 ^a	±	7.91
NPM/Qts, PA 0.3 y PC -0.92 V vs Hg Hg ₂ Cl ₂	31.26 ^b	±	5.90

Nota: Letras diferentes expresan diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

En el Cuadro 6.2 puede observarse que los resultados obtenidos por STEM son superiores a los obtenidos por DRX (Cuadro 6.1), lo cual no concuerda con lo reportado por otros autores (Rodríguez y cols., 2012, Martínez y cols., 2007; Franger y cols., 2004) los cuales observaron que las NPM desnudas y modificadas con biopolímeros presentan tamaños similares cuando son medidas tanto por DRX como por TEM. Esta diferencia se puede atribuir en primera instancia a que las imágenes presentadas fueron obtenidas por STEM, además de que estas presentan una distorsión óptica más severa que complica la medición correcta del tamaño partículas. De igual forma, se observó que a diferencia de lo reportado por DRX el tamaño de partícula es menor en las NPM/Qts. Por otro lado, mediante la desviación estándar (Cuadro 6.2) fue posible comprobar que la distribución del tamaño de partícula está controlada al ser menor a 8 nm. Asimismo, pudo comprobarse que el Qts

contribuye al control del tamaño y por lo tanto a disminuir la distribución de tamaño de las nanopartículas, aspecto que pudo corroborarse con los histogramas de frecuencia que se muestran en la Figura 6.13.

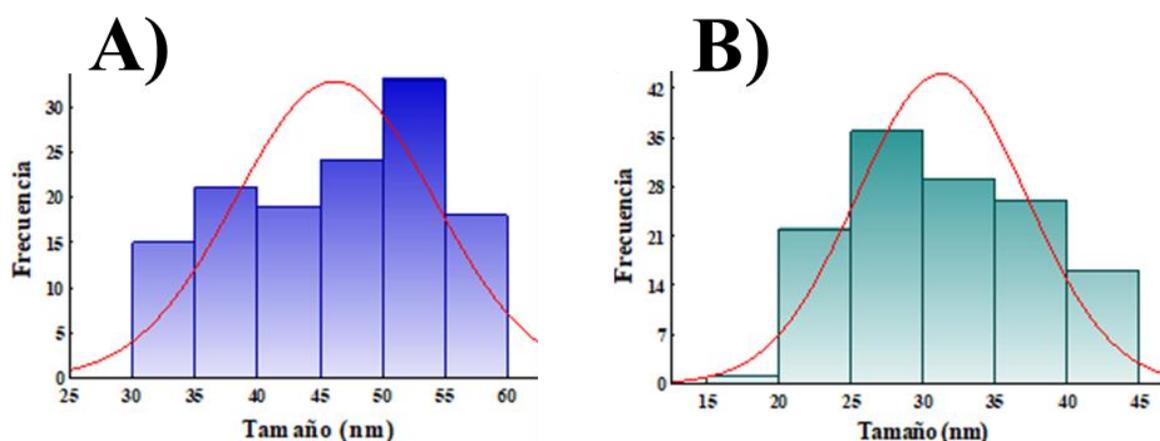


Figura 6.13. Histogramas de los tamaños de las A) NPM sintetizadas y las B) NPM/Qts al 0.02%. Se sintetizó al PA de 0.30 V y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M.

En la Figura 6.13A se presenta la distribución de tamaño de partícula, de las NPM sintetizadas al PA de 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M, en la que se aprecia un comportamiento de curva aparentemente de simetría negativa, lo que indica que la distribución del tamaño es alargada a valores inferiores a la media. Mientras que en las NPM/Qts se observó en el histograma una curva con una distribución aparentemente simétrica, como se muestra en la Figura 6.13B, lo que indica que la distribución del tamaño es más homogénea.

Por otro lado, para corroborar la morfología de las NPM y NPM/Qts, se realizó el análisis mediante imágenes obtenidas por SEM.

6.5.3 Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Las imágenes obtenidas por SEM revelaron una morfología de aglomerados de las NPM sintetizadas a un PA de 0.3 y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M (Figura 6.14A), así, como de las NPM/Qts al 0.02% (Figura 6.14B). Además, en la imagen de las NPM/Qts pudo observarse una apariencia esponjosa que posiblemente pueda ser atribuido a la presencia de Qts en la superficie.

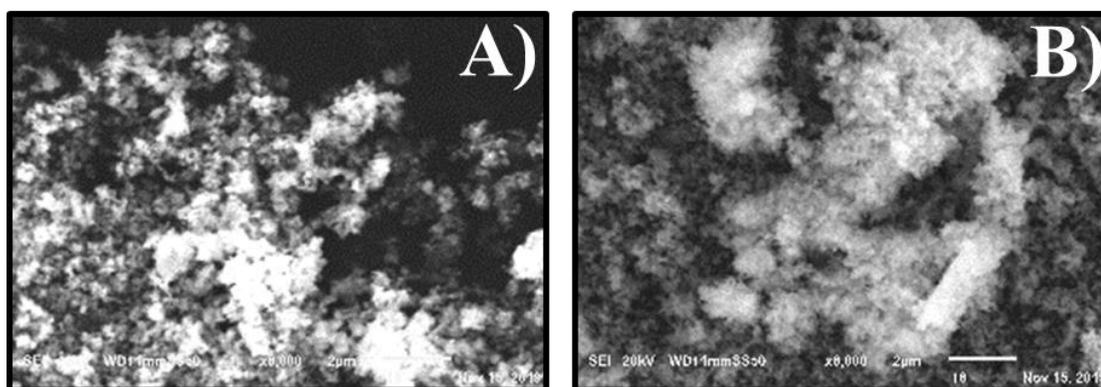


Figura 6.14. Micrografías electrónicas de barrido de las A) NPM sintetizadas y las B) NPM/Qts al 0.02%. Se sintetizó al PA de 0.30 V y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M y se empleó una resolución de 20 kV.

En el 2018, El-kharrag y cols., atribuyeron la morfología aglomerada de las NPM al pequeño tamaño de partícula, así como a la interacción magnética entre las nanopartículas. Además, realizaron estudios en NPM/Qts las cuales también presentaron morfología aglomerada, atribuida a los factores antes mencionados y a la fuerza intermolecular entre los recubrimientos orgánicos en las nanopartículas. Por otro lado, mediante SEM Patake y cols., (2019) realizaron análisis en el Qts, en el que observaron morfología aglomerada de apariencia esponjosa con una gran cantidad de poros.

Con base en lo anterior, es posible argumentar que la apariencia esponjosa evidenciada en la imagen de SEM de las NPM/Qts es debida a la presencia del Qts en la superficie de las nanopartículas. Así, para comprobar lo antes mencionado, se planteó la caracterización por FTIR, cuyos hallazgos se presentan en el siguiente apartado.

6.5.4 Espectroscopía de Infrarrojo de Transformada de Fourier (FTIR)

Se realizó FTIR para identificar los enlaces y vibraciones presentes en las NPM y las NPM/Qts, con el fin de confirmar la presencia tanto de la magnetita como del Qts. Los resultados obtenidos por FTIR se muestran a continuación en la Figura 6.15.

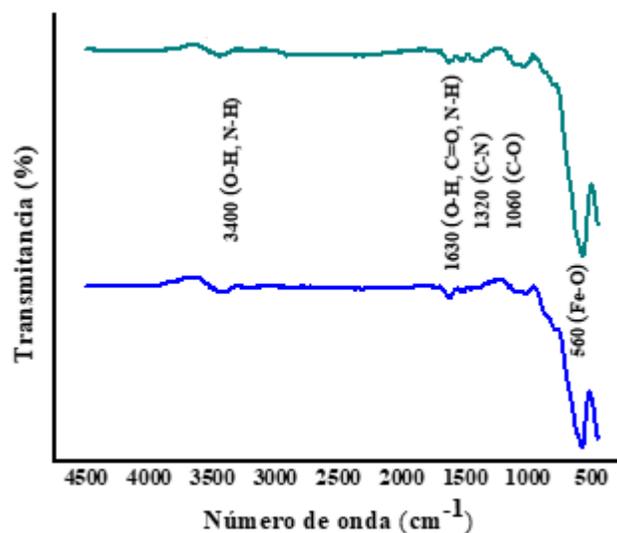


Figura 6.15. Espectro FTIR de las (—) NPM sintetizadas y las (—) NPM/Qts al 0.02%. Se sintetizó al PA de 0.30 V y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M

En el espectro de las NPM (Figura 6.15, línea azul) se observan dos bandas correspondientes al enlace O-H, la primera cercana a 3,400 cm⁻¹ y una segunda a aproximadamente 1,630 cm⁻¹, atribuidas a vibraciones de estiramiento y flexión, respectivamente. Asimismo, se observó una banda a 560 cm⁻¹ asociada a las vibraciones de los enlaces oxígeno metálico, en este caso al enlace Fe-O, lo que confirma que las nanopartículas analizadas son base magnetita (Peralta y cols., 2019; Shahid y Choi. 2019; El-kharrag y cols., 2018). Por otro lado, en el espectro de infrarrojo de las NPM/Qts (Figura 6.15, línea verde), se observaron las bandas antes mencionadas, de las cuales la correspondiente al enlace Fe-O, confirma la presencia de la magnetita en el material compósito. De igual forma, se observaron bandas a 3,400 y 1,630 cm⁻¹, correspondientes tanto al enlace O-H como al enlace N-H, atribuidos a la presencia del Qts al ser enlaces que forman parte de su estructura. Además, se lograron

observar otras tres bandas, cercanas a 1,630, 1,320 y 1,060 cm^{-1} , asociadas a las vibraciones de estiramiento de los enlaces de C=O, C-N y C-O respectivamente, que corroboran la presencia del Qts en el material compuesto (Piosik y cols., 2019; Peralta y cols., en 2019; El-kharrag y cols., 2019).

Estos resultados apoyan lo observado en los apartados anteriores, confirmando que por el método de síntesis de pulsos de potencial asimétricos y de modificación superficial, se logran obtener NPM/Qts. De esta manera, para confirmar que la carga superficial es positiva y conocer la estabilidad de estos materiales, se planteó la caracterización por pot. Z, cuyos resultados se muestran en el siguiente apartado.

6.5.5 Potencial Zeta (pot. Z)

Por pot. Z se analizó la estabilidad de la dispersión coloidal de los polvos tanto de las NPM como de las NPM/Qts. En el Cuadro 6.3 se muestran los valores promedio y desviación estándar tanto de las NPM sintetizadas al PA de 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ como de las NPM/Qts al 0.02%.

Cuadro 6.3. Pot. Z de las NPM y las NPM/Qts.

Nanopartículas	Pot. Z (mV)		
	Promedio	Desviación estándar	
NPM, PA de 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg Hg ₂ Cl ₂	20.37 ^a	±	1.38
NPM/QTS, PA 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg Hg ₂ Cl ₂	32.83 ^b	±	0.35

Nota: Letras diferentes expresan diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

Los resultados de pot. Z observados en las NPM demostraron que mediante la síntesis electroquímica de pulsos de potencial asimétricos se obtienen nanopartículas con carga superficial positiva (20.37 ± 1.38 mV) a diferencia de aquellas NPM sintetizadas por otro método de síntesis como co-precipitación química, las cuales tienen una carga superficial con tendencia negativa (Jalili y cols., 2019; Peralta y cols., 2019; Arakha y cols., 2015). Este valor de pot. Z es similar al obtenido por Pérez y cols., (2016) para NPM sintetizadas en presencia de Qts al PA de 0.2 y PC de -1.0 V vs Hg|Hg₂Cl₂, durante 5 y 7 s respectivamente (20.6 ± 3.75 mV), lo que indica que por este estudio se obtuvieron NPM más estables, posiblemente debido a los potenciales empleados en la síntesis. Por otro lado, las NPM/Qts al 0.02% demostraron ser más estables al presentar valores de pot, Z mayores a 30 mV (ver Cuadro 6.3), lo cual puede atribuirse a las interacciones del Qts presente en la superficie de las nanopartículas (Peralta y cols., 2019; Pérez y cols., 2016; Arakha y cols., 2015). Estos resultados coinciden con lo reportado por otros autores, quienes han evidenciado que la estabilidad de las nanopartículas depende del método de síntesis (Yong y cols., 2018), mientras que la estabilidad de este tipo de nanopartículas es mejorada por el empleo de surfactantes como el Qts, quien induce un cambio en la carga superficial, haciéndola más positiva (Peralta y cols., 2018; Arakha y cols., 2015).

Aunado a lo anterior, se propuso la caracterización por TGA para determinar la estabilidad térmica de las NPM y las NPM/Qts, cuyos resultados se muestran en el siguiente apartado.

6.5.6 Análisis Termogravimétrico (TGA)

Las curvas TGA de las NPM sintetizadas al PA de 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M y de aquellas modificadas con Qts al 0.02% (NPM/Qts), se muestran en la Figura 6.16. En la curva TGA de las NPM (Figura 6.16, línea azul) se observaron tres intervalos de pérdida de peso, la primera del 4.8% observada en el intervalo de 50-250 °C atribuida a

la evaporación del agua absorbida en las nanopartículas, la segunda del 6.2% observada en el intervalo de 250-500 °C asociada al agua cristalina presente en la estructura de las nanopartículas y finalmente la tercera del 7.0% observada en el intervalo de 550-900 °C designada a la presencia del óxido de hierro (Peralta y cols., 2019; Nurdin y cols., 2016; Karimzadeh y cols.,2016).

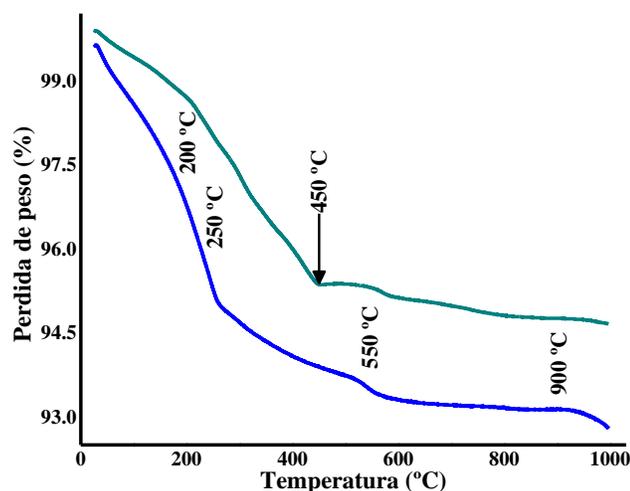


Figura 6.16. Curvas termogravimétricas de las (—) NPM sintetizadas y las (—) NPM/Qts al 0.02%. Se sintetizó al PA de 0.30 V y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M y se empleó una velocidad de 10 °C/min y un flujo de aire de 100 cm³/min.

Asimismo, la curva TGA de las NPM/Qts (Figura 6.16, línea verde) mostró tres intervalos de temperatura en donde se observa pérdida de peso, la primera del 1.7% observada en el intervalo de 50-200 °C asociada a la humedad en la superficie de las nanopartículas, la

segunda del 4.5% observada en el intervalo de 200-450 °C atribuida a la descomposición térmica y oxidativa del Qts y finalmente la tercera del 5.1% observada en el intervalo de 450-900 °C asociada a la reducción de la magnetita a maghemita (El-kharrag y cols., 2019; Peralta y cols., 2019).

Con base en lo anterior, se pueden corroborar los resultados obtenidos por FTIR, por lo que se puede concluir que las nanopartículas sintetizadas son de magnetita y el material compósito es magnetita recubierta con Qts. Además, se puede asegurar que tanto las NPM como las NPM/Qts no serán afectadas al ser esterilizadas a una temperatura de 121 °C, necesaria para llevar a cabo la evaluación antimicrobiana sobre *S. typhimurium*. Por otro lado, se propuso la caracterización electroquímica para comprobar la capacidad reactiva y procesos redox de las NPM y las NPM/Qts, los hallazgos se muestran en el siguiente apartado.

6.6 Caracterización electroquímica de las NPM y las NPM/Qts por voltamperometría lineal y EIS

6.6.1 Caracterización por voltamperometría lineal en sentido anódico

La voltamperometría lineal en sentido anódico se llevó a cabo con la finalidad de identificar los procesos de oxidación de las NPM y las NPM/Qts presentes en los EPC, así, como de las NPM-PVP (comercial) y Qts, empleando EPC en usencia de nanopartículas para fines comparativos. Sus voltamperogramas lineales se muestran a continuación en la Figura 6.17.

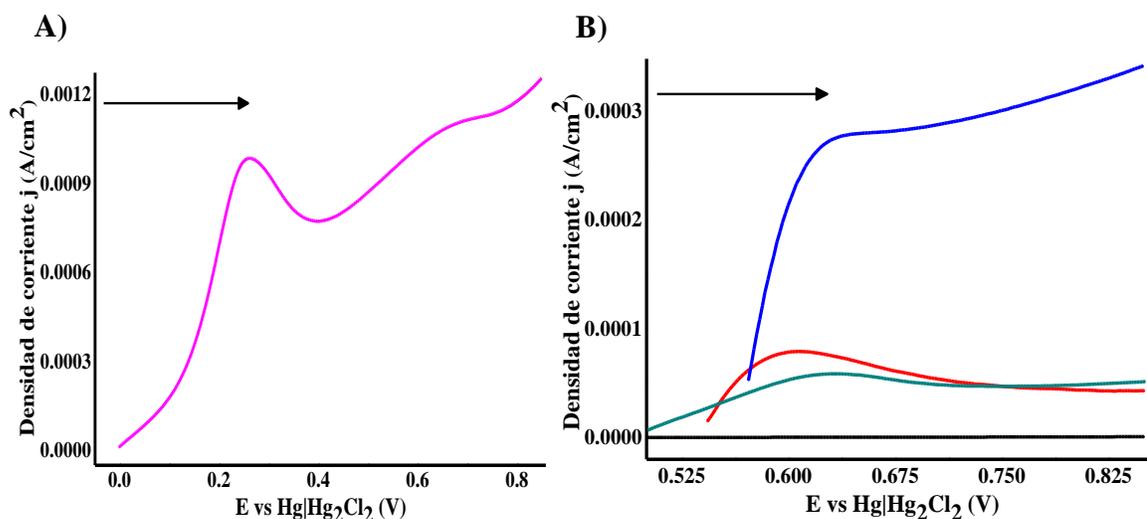


Figura 6.17. Voltamperogramas lineales en sentido anódico de los EPC. A) (—) Qts, B) (—) Blanco, (—) NPM sintetizadas al PA de 0.30 y PC al -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M, (—) NPM/Qts al 0.02% y (—) NPM-PVP (comercial). En todos los experimentos se empleó como electrolito HCl 1 M y una velocidad de barrido de 2 mV/s.

En la Figura 6.17A se muestra el voltamperograma lineal en sentido anódico del EPC con Qts, en el que se observaron dos picos de oxidación, el primero ancho y muy pronunciado localizado a un valor de potencial de 0.26 ± 0.01 V vs Hg|Hg₂Cl₂, mientras que el segundo también ancho, pero poco pronunciado, es localizado a un valor de potencial de 0.74 ± 0.01 V vs Hg|Hg₂Cl₂.

Estos picos son atribuidos solo a los procesos de oxidación del Qts, debido a que como era de esperarse no se observó ningún pico asociado a algún proceso de oxidación en el voltamperograma en sentido anódico del EPC que solo contiene los materiales de preparación (Figura 6.17B, línea negra). Al realizar una búsqueda bibliográfica sobre estos procesos, no se encontraron estudios que permitan atribuir estos picos del Qts a reacciones

asociadas a procesos de oxidación concretos, por lo que es necesario realizar más experimentación para poder determinar las reacciones redox asociadas a estas respuestas voltamperométricas.

Por otro lado, en los voltamperogramas de los EPC en presencia de NPM sintetizadas al PA de 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂, así como aquellos en presencia de NPM/Qts al 0.02% y las NPM-PVP (comercial), se observó un solo pico de oxidación, mismos que presentaron una apariencia ancha con valores de potencial muy cercanos entre sí. Los picos de oxidación fueron localizados a valores de potencial de 0.65 ± 0.01 , 0.63 ± 0.02 y 0.62 ± 0.01 V vs Hg|Hg₂Cl₂ para las NPM (Figura 6.17B, línea azul), las NPM/Qts (Figura 6.17B, línea verde) y las NPM-PVP (Figura 6.17B, línea roja), respectivamente. En los que se pudo observar que el pico de las NPM es mayor en comparación con los picos que presentan las NPM/Qts y las NPM-PVP, posiblemente por efecto de los surfactantes con los que fueron revestidos, quienes pueden bloquear la reacción redox y dificultar la transferencia de electrones (Wu y cols., 2020).

Con estos resultados se demuestra que los materiales con los que se prepararon los EPC, no intervienen en las reacciones de oxidación de las muestras. Del mismo modo, se evidenció que el Qts presente en la superficie de la nanopartícula no sufre degradación alguna y no interviene en la respuesta de oxidación de la magnetita, sin embargo, este surfactante limita la reacción de oxidación de la magnetita atenuando el pico voltamperométrico asociado, afecto que también es observado en la respuesta de NPM-PVP.

Estos hallazgos coinciden con lo reportado por Rodríguez y cols., (2015), quienes propusieron que este pico de oxidación encontrado en el sistema de NPM era asociado al proceso electroquímico (reacción de oxidación de la magnetita) que se muestra en la reacción 11, al considerar el medio ácido en el que se desarrollaron los experimentos (Allen y cols., 1979; Das y cols., 2003). Asimismo, asociaron esta reacción a los picos de oxidación que observaron en los sistemas de NPM con surfactantes como el PVP y el polietilenglicol.

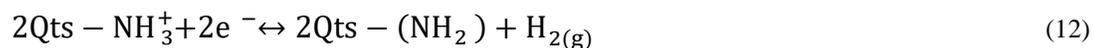


6.6.2 Caracterización por voltamperometría lineal en sentido catódico

La voltamperometría lineal en sentido catódico se llevó a cabo con la finalidad de identificar los procesos de reducción de las NPM sintetizadas a un PA 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ y las NPM/Qts al 0.02% presentes en los EPC, así, como de las NPM-PVP (comercial) y Qts, empleando para fines comparativos los EPC en ausencia de nanopartículas. Los voltamperogramas correspondientes se muestran en la Figura 6.18.

Como era de esperarse, en el voltamperograma en sentido catódico del EPC con solo los materiales de preparación (Figura 6.18, línea negra) no se observó ningún pico asociado a algún proceso de reducción, mientras que en el voltamperograma del EPC con Qts (Figura 6.18, línea magenta), se evidenció un pico de reducción ancho y poco pronunciado a un potencial de -0.38 ± 0.11 V vs Hg|Hg₂Cl₂.

Este resultado coincide con lo reportado por Patake y cols., (2019), quienes, al emplear un medio electrolítico de KCl a un pH neutro, observaron un pico de reducción del Qts entre los potenciales de -0.54 a -0.34 V vs Hg|Hg₂Cl₂, atribuido al proceso electroquímico que se muestra en la Reacción 12.



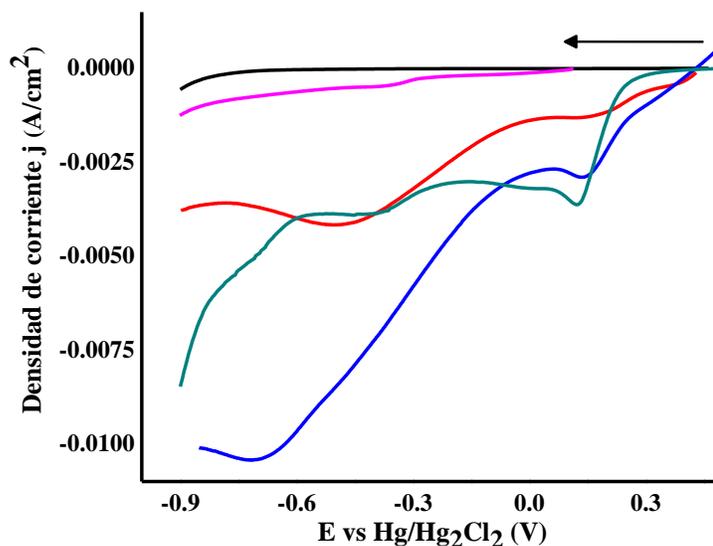


Figura 6.18. Voltamperogramas lineales en sentido catódico de los EPC. (—) Qts, (—) Blanco, (—) NPM sintetizadas al PA de 0.30 y PC al -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M, (—) NPM/Qts al 0.02% y (—) NPM-PVP (comercial). En todos los experimentos se empleó como electrolito HCl 1 M y una velocidad de barrido de 2 mV/s.

Por otro lado, en el voltamperograma del EPC con las NPM-PVP (Figura 6.18, línea roja) se observaron dos picos de reducción anchos con un máximo a valores de potencial de 0.13 ± 0.02 V vs Hg|Hg₂Cl₂ y -0.51 ± 0.01 V vs Hg|Hg₂Cl₂, asimismo, en el voltamperograma del EPC con las NPM sintetizadas (Figura 6.18, línea azul) se observaron dos picos de reducción anchos con un máximo a 0.13 ± 0.01 V vs Hg|Hg₂Cl₂ y a -0.76 ± 0.03 V vs Hg|Hg₂Cl₂.

En el 2003, Fetisov y cols., reportaron dos picos catódicos en la magnetita ($E_{pc1} = 0.2$ V vs Hg|Hg₂Cl₂ y $E_{pc2} = -0.8$ V vs Hg|Hg₂Cl₂) al emplear un medio electrolítico ácido (HCl 1M), atribuidos los procesos electroquímicos que se muestran en las reacciones 13 y 14 respectivamente. Lo que concuerda con lo reportado por Rodríguez y cols., (2015) quienes

sugirieron que el primer pico de reducción de la magnetita podría asociarse a la reacción 13, además que la anchura del pico podría deberse a un mecanismo complejo de reacción, o bien, a que varias reacciones ocurren en potenciales muy cercanos entre sí.



En lo que respecta a la respuesta voltamperométrica del EPC en presencia de NPM/Qts (Figura 6.18, línea verde), se observaron tres picos de reducción. Los primeros dos picos fueron localizados a un potencial de 0.13 ± 0.00 V vs Hg|Hg₂Cl₂ (Reacción 13) y -0.42 ± 0.03 V vs Hg|Hg₂Cl₂ atribuidos a las reacciones 13 y 12 respectivamente. Adicionalmente pudo observarse un tercer pico poco notable a un valor de potencial de -0.74 ± 0.01 V vs Hg|Hg₂Cl₂ que puede ser atribuido a la Reacción 14.

Con estos hallazgos pudo corroborarse que los materiales con los que se prepararon los EPC no intervienen en las reacciones de reducción de las NPM. De igual forma, pudo evidenciarse, que el Qts presente en las NPM limita la reacción de reducción de la magnetita, al observarse una atenuación en los picos de reducción de la NPM/Qts.

Para continuar con la caracterización electroquímica se propuso la caracterización por EIS, cuyos hallazgos se muestran en el siguiente apartado.

6.6.3 Caracterización por espectroscopía de impedancia electroquímica (EIS).

Los experimentos por EIS se llevaron a cabo para identificar la reactividad de los materiales presentes en los EPC. En estos experimentos se empleó como electrolito HCl 1 M, a potencial a circuito abierto, un potencial de perturbación de 10 mV y una frecuencia de 10,000 Hz a 0.01 Hz.

En el espectro del EPC con solo los materiales de preparación, las impedancias son altas, de aproximadamente $1 \times 10^6 \Omega \cdot \text{cm}^2$ en bajas frecuencias, como se muestra en la Figura 6.19A en el diagrama de Nyquist, evidenciando un comportamiento predominantemente capacitivo. Asimismo, en la Figura 6.19B se muestra el diagrama de Bode en fase, donde se observa que la contribución capacitiva (a aproximadamente -80°) predomina en un amplio intervalo de frecuencia.

Puede observarse que la resistencia de la disolución se aprecia a las frecuencias más altas, mientras que en las frecuencias más bajas se alcanza a observar una contribución de la resistencia a la transferencia de carga (denotado por R_{tc}). Esta R_{tc} observada, se asocia a la velocidad de las reacciones que ocurren en la pequeña cantidad de grupos oxidados presentes en la superficie del grafito.

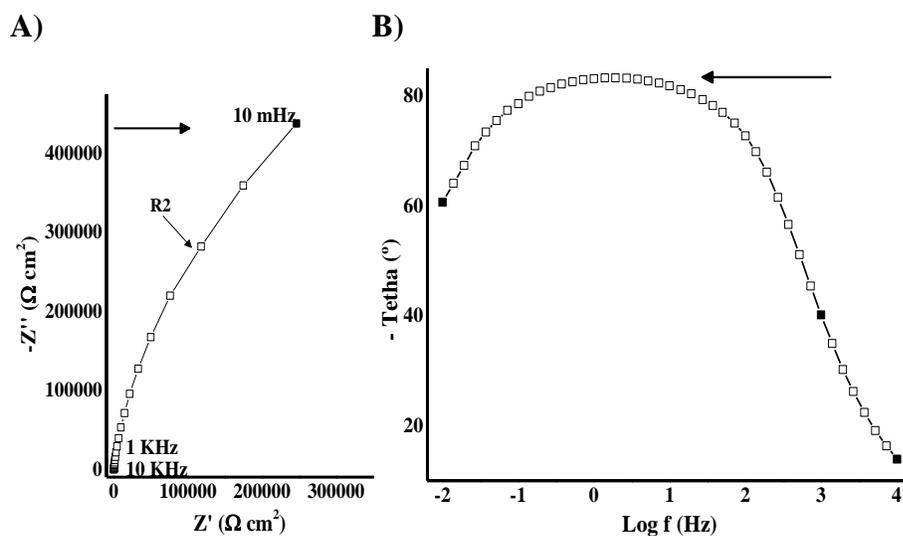


Figura 6.19. Espectro de impedancia del EPC con solo los materiales de preparación (blanco) en potencial a circuito abierto. A) Diagrama de Nyquist y B) Diagrama de Bode-Fase. Este experimento se aplicó un potencial de perturbación de 10 mV y una frecuencia de 10,000 Hz a 0.01 Hz.

En este sentido, estos resultados pueden sugerir hasta qué punto el soporte de pasta de carbón no interferirá en la respuesta de las NPM sintetizadas a un PA 0.30 y PC de -0.92 V vs $\text{Hg}|\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ y las NPM/Qts al 0.02% presentes en los EPC, así como de las NPM-PVP (comercial) y el Qts durante la polarización catódica, es decir, hasta que valores de potencial y frecuencia podemos explotar los resultados para poder atribuírselos directamente a estos materiales (Rodríguez y cols., 2012).

Para ajustar estos datos se emplearon circuitos eléctricos conocidos como “circuitos equivalentes”, los cuales se muestran a continuación en la Figura 6.20.

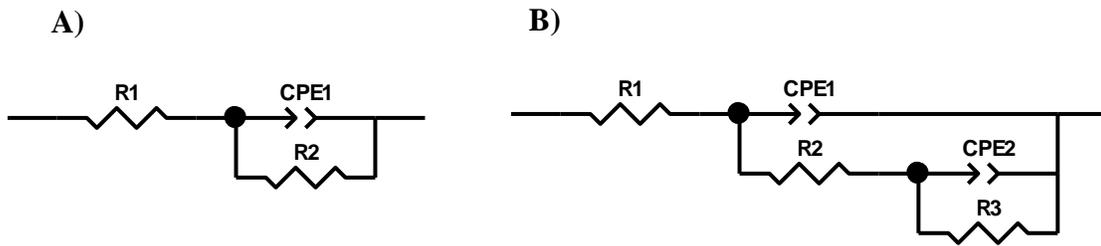


Figura 6.20. Circuitos equivalentes utilizados para ajustar los datos experimentales.

En estos circuitos, la resistencia del electrolito (R_1) está en serie con la resistencia a la transferencia de carga (R_2) y en paralelo con un elemento de fase constante (CPE_1), que representa la no idealidad de la capacitancia de la doble capa (C_{dc}). Además, los valores correspondientes a estos elementos se obtuvieron mediante el ajuste con el programa Zview2® (Anexo 1).

En este sentido, en respuesta al ajuste de los espectros del EPC que funge como blanco, pudo determinarse que la resistencia a la transferencia de carga (R_2) tiene un valor de $1.07 \times 10^6 \pm 2.05 \times 10^5 \Omega \cdot \text{cm}^2$ (Cuadro 6.4), el cual es un valor esperado por lo observado en el electrodo que funge como blanco (Figura 6.19A).

De la misma forma, se esperaba a bajas frecuencias valores inferiores de $4 (1 \times 10^3 \Omega \cdot \text{cm}^2)$ y $5 (1 \times 10^2 \Omega \cdot \text{cm}^2)$ órdenes de magnitud en los espectros de los EPC que contienen Qts, NPM sintetizadas, NPM/Qts y NPM-PVP. Además, en los espectros de estos EPC se puede observar la formación de dos semicírculos, los cuales se muestran en la Figura 6.21A.

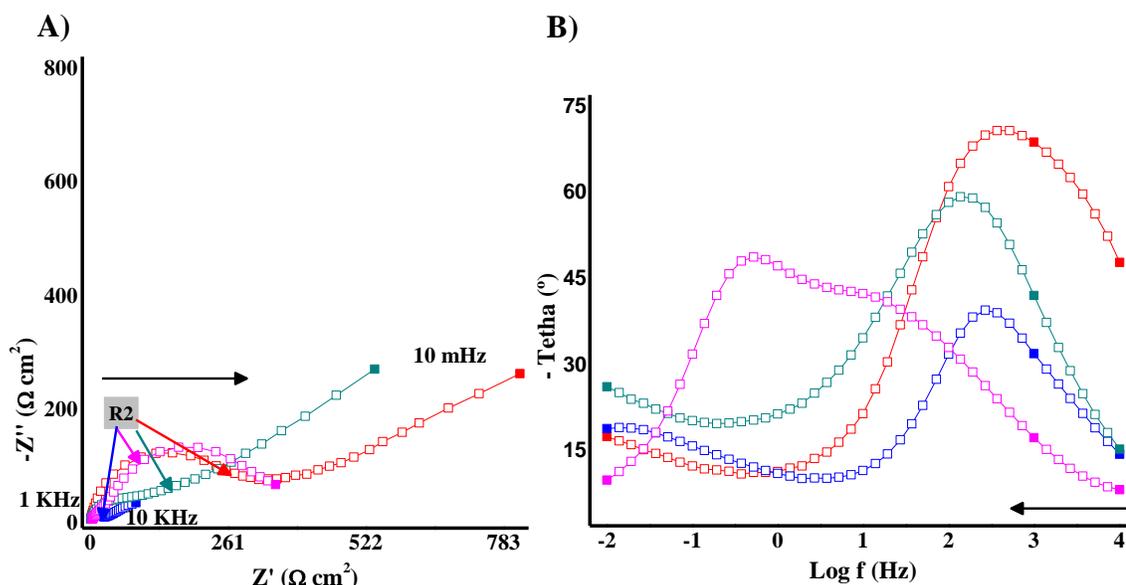


Figura 6.21. Espectro de impedancia de los EPC a un potencial a circuito abierto. A) Diagrama Nyquist y B) Diagrama Bode-Fase. (—) Qts, (—) NPM sintetizadas al PA de 0.30 y PC al -0.92 V vs $\text{Hg}|\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ en KCl 0.5 M , (—) NPM/Qts al 0.02% y (—) NPM-PVP (comercial). En todos los experimentos se aplicó un potencial de perturbación de 10 mV y una frecuencia de $10,000 \text{ Hz}$ a 0.01 Hz .

Estos semicírculos observados en los diagramas de Nyquist (Figura 6.21A) corresponden a dos constantes de tiempo (τ) diferentes (Rodríguez y cols., 2011; Wu y cols., 2014), que logran ser más evidentes cuando se representan gráficamente en los diagramas de Bode-Fase que se muestran en la Figura 6.21B, en los cuales se observa la existencia de 2 procesos en los EPC que contienen NPM. El ajuste de estos espectros se llevó a cabo mediante el circuito equivalente conformado por arreglos de RC acoplados en paralelo, como muestra la Figura 6.20B. Mediante este ajuste se observó que solo el primer semicírculo es similar al simulado, por lo que se puede atribuir a una reacción de transferencia de carga de la magnetita como se observa en la Figura 6.17B, mientras que el segundo semicírculo se

puede atribuir a procesos de absorción o difusión, por lo cual es necesario realizar más experimentación (Anexo 1).

En cuanto al espectro del EPC con Qts (Figura 6.21A, línea magenta) se observó la formación de un primer semicírculo poco apreciable en el diagrama Nyquist y posteriormente un segundo semicírculo mejor definido, mismos que fueron más evidentes en el diagrama Bode-Fase (Figura 6.21B). Mediante el circuito equivalente que se muestra en la Figura 6.20, los espectros fueron ajustados observando similitud con los espectros simulados (Figura 9.1B y Figura 9.2B), por lo tanto, los semicírculos son atribuidos a reacciones de transferencia de carga del Qts, lo que concuerda con lo observado en el voltamperograma que se muestra en la Figura 6.17A. Los valores obtenidos de las simulaciones se muestran en el Cuadro 6.4.

Cuadro 6.4. Resultados de la simulación con el programa Zview®, mediante circuitos equivalentes.

EPC	R2 ($\Omega \cdot \text{cm}^2$)		X ²	
	Promedio	Desviación estándar	Promedio	Desviación estándar
Blanco	1.07x10 ⁶	± 2.05x10 ⁵	1.65x10 ⁻⁰²	± 1.19x10 ⁻⁰³
Qts	83.59 ^b	± 0.095	2.58x10 ⁻⁰³	± 9.63x10 ⁻⁰⁵
NPM, PA de 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg Hg ₂ Cl ₂	23.51 ^a	± 4.53	2.79x10 ⁻⁰³	± 1.84x10 ⁻⁰⁴
NPM/Qts, PA 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg Hg ₂ Cl ₂	86.5 ^b	± 12.65	8.37x10 ⁻⁰³	± 2.15x10 ⁻⁰³
NPM-PVP (comercial)	261.13 ^c	± 23.46	3.42x10 ⁻⁰³	± 1.30x10 ⁻⁰³

Nota: Letras diferentes expresan diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

Estos resultados eran esperados debido a que los surfactantes, como el Qts, al ser utilizados para recubrir las NPM aumentan ligeramente su resistencia, lo que concuerda con lo reportado por Rodríguez y cols., (2012) en NPM-PVP. Con base en lo anterior, se demostró que las NPM sintetizadas tienen mayor facilidad para transferir electrones que las NPM/Qts; también se observó que las NPM/Qts tiene valores de resistencia a la transferencia de carga (R_2) cercana al Qts y menor a la obtenida para las NPM-PVP. Con estos resultados se espera que las NPM y NPM/Qts, tengan efecto antimicrobiano debido a que su capacidad reactiva podría facilitar la reacción Fenton. En este sentido, se propuso la evaluación de la actividad antibacteriana para comprobar el efecto antimicrobiano de las NPM sintetizadas y las NPM/Qts, cuyos hallazgos se muestran en el siguiente apartado.

6.7 Evaluación de la actividad antimicrobiana contra *S. typhimurium*

6.7.1 Cinética de crecimiento bacteriano y cuenta viable en placa

La cinética de crecimiento se realizó con la finalidad de evaluar el efecto antimicrobiano de las NPM sintetizadas al PA de 0.30 y PC -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M y las NPM/Qts al 0.02% sobre la bacteria Gram negativa *S. typhimurium* (Figura 6.22A y 6.22B respectivamente). Las cinéticas se realizaron en un tiempo de 12 h en el que la bacteria se encuentra en las fases de crecimiento lag y exponencial, en virtud de que en estas se da la mayor producción de H₂O₂ en los organismos aeróbicos (Varela y Grotiuz, 2012). Razón por la cual, estas fases son ideales para evaluar el efecto antimicrobiano de este tipo de nanopartículas, en virtud de que el H₂O₂ es necesario para que lleve a cabo la reacción Fenton (Armijo y cols.,2020), mediante la cual se producen ROS, que son consideradas

teóricamente el principal mecanismo de acción de estas nanopartículas (Mashjoor y cols., 2018; Regiel y cols., 2017; Choi y cols., 2008; Ruparelia y cols., 2008).

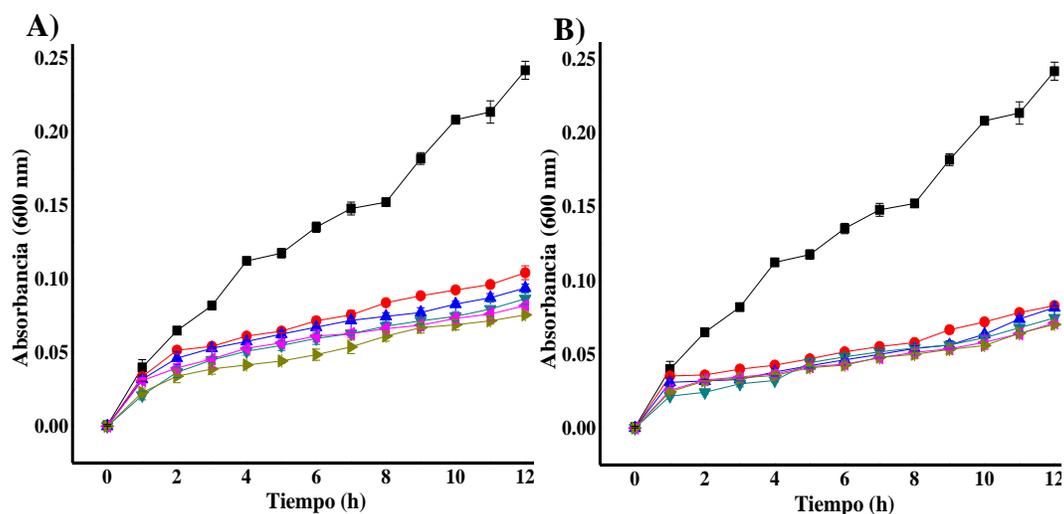


Figura 6.22. Cinéticas de crecimiento de la bacteria *S. typhimurium* con A) NPM sintetizadas y B) NPM/Qts al 0.02%. Se sintetizó al PA de 0.30 V y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5 M y en las cinéticas se utilizaron como tratamientos un (■) control (Agar) y diferentes concentraciones de las nanopartículas (●) 0.30 mg/mL, (▲) 0.60 mg/mL, (▼) 0.90 mg/mL, (◻) 1.20 mg/mL y (◇) 1.50 mg/mL.

En la Figura 6.22 se observan las cinéticas de crecimiento en presencia de NPM y NPM/Qts a las concentraciones de 0.30, 0.60, 0.90, 1.20 y 1.50 mg/mL, donde se observó una inhibición en comparación con el control (línea negra), asimismo, se observó que esta incrementa con la concentración.

Por otro lado, mediante el análisis estadístico que se muestra en el Anexo 2, se comprobó que las NPM presentan mayor efecto a la concentración de 1.50 mg/mL, mientras que en las NPM/Qts se observó mayor inhibición a partir de la concentración de 0.90 mg/mL sin diferencias significativas con las concentraciones de 1.20 y 1.50 mg/mL. Este comportamiento podría ser atribuido a un límite en la producción de ROS al ser dependiente de la reacción del H₂O₂ con las especies férricas presentes en la magnetita. Además, en cada concentración se demostró que las NPM/Qts presentaron mayor inhibición que las NPM.

Este hallazgo es apoyado por los resultados obtenidos en la caracterización fisicoquímica y electroquímica, donde se demostró que el método de síntesis permite obtener partículas con un tamaño nanométrico entre 25-40 nm (Ogunsona y cols., 2018; Panchal y cols., 2018) y que la presencia del Qts no afecta la resistencia a la transferencia de carga (R₂) e induce una carga superficial positiva y mejor estabilidad; factores que podrían estar contribuyendo a la efectividad antimicrobiana de las NPM/Qts. Del mismo modo, podemos mencionar que esta actividad antimicrobiana es debida a las propiedades intrínsecas del material compósito y no por la actividad antimicrobiana del Qts; ya que este compuesto no presenta actividad antimicrobiana a la concentración (0.02% p/v) empleada para la modificación de las NPM en el presente estudio (Arakha y cols., 2015). Así, la mejora en la estabilidad y la carga superficial positiva inducida por la presencia del Qts en la superficie de las NPM favorece la atracción electrostática entre las nanopartículas y la membrana del microorganismo incrementando la producción de ROS (Mashjoor y cols., 2018; Kloster y cols., 2015; Morales y cols., 2013).

Adicionalmente, se realizó la cuenta viable en placa con la finalidad de evaluar el efecto de las NPM y las NPM/Qts sobre la viabilidad de *S. typhimurium*, cuyos resultados se muestra a continuación en la Figura 6.23.

Cabe mencionar que en estos experimentos se emplearon los mismos tratamientos que se utilizaron en las cinéticas de crecimiento.

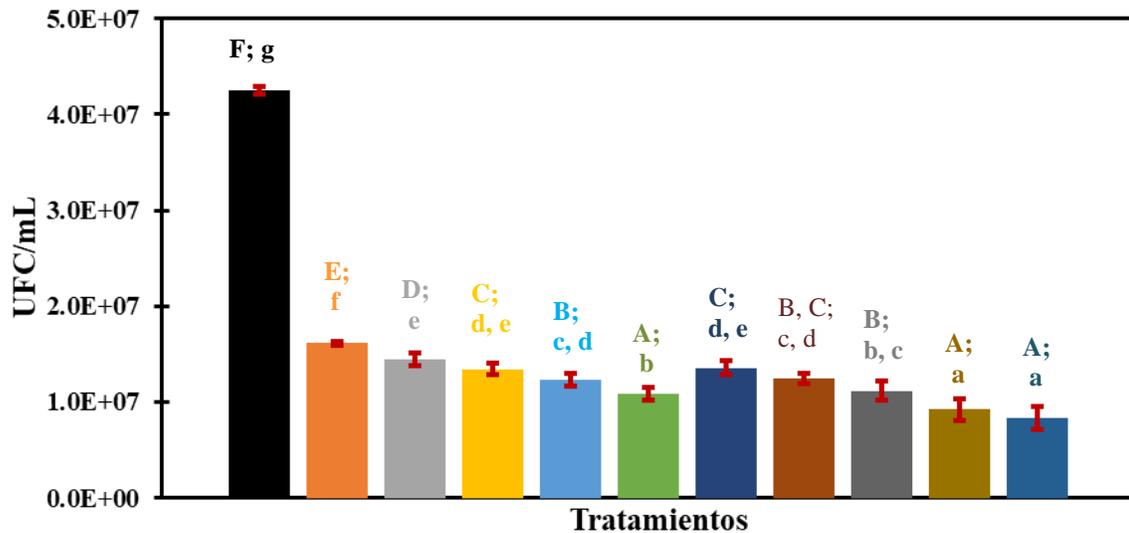


Figura 6.23. Cuenta viable de *S. typhimurium* con tratamientos. (■) Control (Agar), NPM sintetizadas al PA de 0.30 y PC de -0.92 V vs Hg|Hg₂Cl₂ en KCl 0.5M a las concentraciones de (■) 0.30 mg/mL, (■) 0.60 mg/mL, (■) 0.90 mg/mL, (■) 1.20 mg/mL y (■) 1.50 mg/mL, y las NPM/QTS al 0.02%, a las concentraciones de (■) 0.30 mg/mL, (■) 0.60 mg/mL, (■) 0.90 mg/mL, (■) 1.20 mg/mL y (■) 1.50 mg/mL.

Nota: Letras minúsculas diferentes expresan diferencias significativas entre todos los tratamientos y nanopartículas; letras mayúsculas diferentes expresan diferencias significativas entre concentraciones por nanopartículas ($\alpha=0.05$).

En la Figura 6.23 se observa que a todas las concentraciones empleadas, tanto para las NPM como para las NPM/Qts mostraron un efecto inhibitorio en comparación con el control; aunado a ello hubo un incremento en la inhibición en función con la concentración. Por otro lado, al realizar el análisis estadístico de los tratamientos con las NPM, se observó que el mayor efecto se alcanza a la concentración de 1.50 mg/mL, mientras que en las NPM/Qts se presenta mayor efecto a partir de la concentración de 1.20 mg/mL sin diferencias significativas con la concentración de 1.50 mg/mL. Asimismo, se observó que la concentración de 1.20 mg/mL de las NPM no presenta diferencias significativas con las

concentraciones de 0.60 y 0.90 mg/mL de las NPM/Qts. Con los resultados obtenidos podemos evidenciar que las NPM/Qts presentan mayor inhibición que las NPM.

Estos hallazgos son congruentes con lo reportado por Hemmati y cols., (2019), quienes observaron en *S. typhimurium*, un incremento en la inhibición en relación con la concentración de NPM sintetizadas por métodos químicos, con diferencias significativas a las concentraciones de 8 y 16 mg/mL, utilizando ensayos de difusión de discos y pozos en agar respectivamente. Sin embargo, a diferencia de lo reportado en dicha investigación, en este trabajo se observó inhibición desde la concentración de 0.90 mg/mL. Esta diferencia se puede atribuir al método electroquímico empleado para la síntesis de las NPM, lo que coincide con lo reportado por Obisesan y cols., (2020), quienes observaron mediante ensayos de difusión de discos en agar en *S. typhimurium* mayor inhibición en nanopartículas de óxido de hierro sintetizadas por métodos químicos que aquellas sintetizadas por microondas. Asimismo, el incremento en el efecto antimicrobiano por modificación con Qts es similar con lo reportado por Arakha y cols., (2015) en las bacterias *Bacillus subtilis* y *Escherichia coli* al comparar las cinéticas de crecimiento de las NPM sintetizadas por coprecipitación y modificadas con Qts.

Por otro lado, Park y cols., (2019) mediante cinéticas de crecimiento y cuenta viable en placa en *S. typhimurium* al emplear un material nanocompósito de plata recubierta con magnetita como tratamiento a la concentración de 0.20 mg/mL, reportaron inhibición cercana a la observada en este apartado, tanto en NPM/Qts como en NPM en ausencia de Qts, a la concentración de 0.30 mg/mL. Esta diferencia puede ser atribuida a que las nanopartículas de plata son un material con un potente efecto antimicrobiano en diferentes microorganismos, sin embargo, tiene poca aplicación debido a su toxicidad.

Por lo anterior, las NPM y NPM/Qts podrían tener gran aplicación en la industria agroalimentaria, debido a que tanto la magnetita como el Qts presentan biocompatibilidad, baja toxicidad y actividad antimicrobiana. Sin embargo, el mecanismo de acción mediante

el cual las NPM llevan a cabo la inhibición antimicrobiana no está dilucidado y aunque existen teorías sobre posibles mecanismos (Figura 2.1), como el atribuido a la producción de ROS, a los iones (Fe^{+2} y Fe^{+3}), así como a el ingreso de las nanopartículas al interior de la bacteria (Ogunsona y cols., 2020; Elsharkawy y cols., 2018; Wyszogrodzka y cols., 2016), es necesaria más investigación que permita identificar el o los mecanismos de acción por los que se induce su actividad antimicrobiana.

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES

CAPÍTULO 7. CONCLUSIONES

- Mediante el método electroquímico de pulsos de potencial asimétricos fue posible obtener partículas con magnetita como fase predominante, de tamaño nanométrico y mejor estabilidad que aquellas obtenidas por otros métodos de síntesis.
- Con la caracterización fisicoquímica se demostró la obtención exitosa del material compuesto de NPM/Qts. Por DRX y STEM se evidenció un tamaño de 25-40 nm y una morfología cuasi esférica aglomerada con apariencia esponjosa mediante STEM y SEM, mientras que por pot. Z pudo comprobarse que el Qts mejora la estabilidad de las NPM.
- Mediante la caracterización electroquímica se evidenció la capacidad reactiva del material compuesto mediante la resistencia a la transferencia de carga. Asimismo, con estos resultados se demostró la susceptibilidad del material para formar ROS.
- Las NPM obtenidas por vía electroquímica demostraron actividad antimicrobiana sobre *S. typhimurium* misma que se ve potenciada al ser modificadas con Qts; observándose que las NPM/Qts tienen mejor efecto a partir de una concentración de 0.9 mg/mL.
- De esta manera, con los resultados obtenidos se evidenció el potencial de las NPM/Qts para ser utilizadas como un material antimicrobiano en el sector agroalimentario.

PERSPECTIVAS

Durante la elaboración de esta tesis se lograron identificar trabajos que podrán dar seguimiento a esta investigación.

- Síntesis de nanopartículas de otros tipos de óxidos de hierro, como óxido ferroso y hematita, así como el empleo de diferentes surfactantes como recubrimiento para obtener materiales nanocompuestos.
- Evaluar el efecto antimicrobiano tanto *in vitro* como *in vivo* de las NPM y NPM/Qts sobre otros microorganismos patógenos de alimentos y de seres humanos.
- Estudiar los mecanismos mediante los cuales las NPM llevan a cabo la inhibición antimicrobiana.
- Estudiar las reacciones redox del Qts mediante métodos electroquímicos y evaluar el efecto antimicrobiano de este surfactante en tamaño nanométrico.

CAPÍTULO 8. REFERENCIAS

CAPÍTULO 8. REFERENCIAS

- Aaydha, C.V., Tien; A.N., Krishna, K., Pia, E., Vivek, P. D., Mohammad-Ali, S., Anders, W. y Dang, D.B. 2018. Rapid detection of *Salmonella enterica* in food samples by a novel approach with combination of sample concentration and direct PCR. *Biosensors and Bioelectronic*. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2018.09.078>
- Aghazadeh, M. y Karimzadeh, I. 2017. One-step Cathodic Electrochemical Synthesis and Characterization of Dextran Coated Magnetite Nanoparticles. *Journal of Nanoanalysis*. 4(3): 228-238.
- Akhavan, O. y Ghaderi, E. 2010. Toxicity of graphene and graphene oxide nanowalls against bacteria. *American Chemical Society Nano*. 4:5731–5736.
- Alburqueque, D.A., y Gusqui, R.M. 2018. Eficacia de fungicidas químicos para el control in vitro de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. *Arnaldoa*. 25(2):489–498.
- Allen, P.D., Hampson, N.A., y Bignold, G.J. 1979. The electrodisolution of magnetite. *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*. 99(3):299–309.
- Appendini, P. y Hotchkiss, J.H. 2002. Review of antimicrobial food packaging. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 3:113–126.
- Arakha, M., Pal, S., Samantarrai, D., Panigrahi, T.K., Mallick, B.C., Pramanik, K., y Jha, S. 2015. Antimicrobial activity of iron oxide nanoparticle upon modulation of nanoparticle-bacteria interface. *Scientific Reports*. 5:1–12.
- Armijo, L.M., Wawrzyniec, S.J., Kopciuch, M., Brandt, Y.I., Rivera, A.C., Withers, N.J., Cook, N.C., Huber, D.L., Monson, T.C., Smyth, H.D.C., y Osińsk, M. 2020.

- Antibacterial activity of iron oxide, iron nitride, and tobramycin conjugated nanoparticles against *Pseudomonas aureginosa* biofilms. *Nanobiotechnol.* 18-35. <https://doi.org/10.1186/s12951-020-0588-6>.
- Ayala, V. y German. 2015. Efecto antimicrobiano del quitosano: una revisión de la literatura. *Scientia Agroalimentaria.* 2:32-38.
- Aziz, N., Faraz, M., Pandey, R., Shakir, M., Fatma, T., Varma, A., y Prasad, R. 2015. Facile Algae-Derived Route to Biogenic Silver Nanoparticles: Synthesis, Antibacterial, and Photocatalytic Properties. *Langmuir.* 31(42): 11605–11612.
- Bandhu, A., Sutradhar, S., Mukherjee, S., Greneche, J.M., y Chakrabarti, P.K. 2015. Synthesis, characterization and magnetic property of maghemite ($\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$) nanoparticles and their protective coating with pepsin for bio-functionalization. *Materials Research Bulletin.* 70:145–154.
- Barkai, R. 2018. Postharvest Diseases of Fruits and Vegetables. *Elsevier Inc.* <https://doi.org/10.1016/B978-044450584-2/50009-5>
- Bashir, M., Riaz, S., y Naseem, S. 2015. Effect of pH on Ferromagnetic Iron Oxide Nanoparticles. *Materials Today: Proceedings.* 2(10):5664–5668.
- Bhatt, A.S., Krishna, B.D., y Santosh, M.S. 2010. Electrical and magnetic properties of chitosan-magnetite nanocomposites. *Physica B.* 405:2078–2082.
- Bodaghi, H., Mostofi, Y., Oromiehie, A., Ghanbarzadeh, B., y Hagh, Z.G. 2015. Synthesis of clay–TiO₂ nanocomposite thin films with barrier and photocatalytic properties for food packaging application. *Journal of Applied Polymer Science.* 132(14):1-8. 41764.
- Bowles, M., y Lu, J. 2014. Removing the blinders: A literature review on the potential of nanoscale technologies for the management of supply chains. *Technological Forecasting and Social Change.* 82(1):90–198.
- Bulte, J.W., Douglas, T., Witwer, B., Zhang, S.C., Strable, E., Lewis, B.K., Zywicke, H., Miller, B., van Gelderen, P., Moskowitz, B.M., Duncan, I.D., y Frank, J.A., 2001.

- Magnetodendrimers allow endosomal magnetic labeling and in vivo tracking of stem cells. *Nature Biotechnology*. 19:1141-1147.
- Cabrera, L., Gutierrez, S., Menendez, N., Morales, M. P., y Herrasti, P. 2008. Magnetite nanoparticles: Electrochemical synthesis and characterization. *Electrochimica Acta*. 53(8):3436–3441.
- CDC (Centers for Disease Control and Prevention). 2017. Surveillance for Foodborne Disease Outbreaks, United States. Annual Report. Atlanta, Georgia: US Department of Health and Human Services.
- Chaudhry, Q., Scotter, M., Blackburn, J., Ross, B., Boxall, A., Castle, L. y Watkins, R. 2008. Applications and implications of nanotechnologies for the food sector. Food Additives and Contaminants - Part A Chemistry, Analysis, Control, Exposure and Risk Assessment. 25(3):241–258.
- Chellaram, C., Murugaboopathi, G., John, A.A., Sivakumar, R., Ganesan, S., Krithika, S., y Priya, G. 2014. Significance of Nanotechnology in Food Industry. *APCBEE Procedia*, 8:109–113.
- Choi, O., y Hu, Z. 2008. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environmental Science & Technology*. 42:4583–4588.
- Cornell, R.M. y Schwertmann, U. 2003. The Iron Oxides, Structure, Properties, Reactions, Occurrence an Uses, 2 ed. WILEY-UCH, Weinheim.
- Cioffi, N., Torsi, L., Ditaranto, N., Tantillo, G., Ghibelli, L., Sabbatini, L., y Traversa, E. 2005. Copper Nanoparticle/Polymer Composites with Antifungal and Bacteriostatic Properties. *Chemistry of Materials*. 17(21):5255–5262.
- Das, C.M. 2003. *Journal of Applied Electrochemistry*. 33(3/4):333–338.
- De Azeredo, H.M.C., Capparelli, L.H.M., y Habig, T.M. 2011. Nanocomposites in Food Packaging – A Review. Chapter 4. In: *Advances in Diverse Industrial Applications of Nanocomposites*. (Ed.) InTech. <https://doi.org/10.5772/14437>

- DGE. 2020. Yearbook 1984–2018. Available at: <http://187.191.75.115/anuario/html/anuarios.html>, accessed May 20, 2020.
- Dizaj, S.M., Lotfipour, F., Barzegar-Jalali, M., Zarrintan, M.H. y Adibkia, K. 2014. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials Science and Engineering C*. 44: 278–284
- Droby, S., Wisniewski, M., y Benkeblia, N. 2011. Postharvest pathology of tropical and subtropical fruit and strategies for decay control. Chapter 6. *In: Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits*. Woodhead Publishing Limited. 1:194-224e.
- EFSA and ECDC. 2017. The European Union summary report on trends and sources of zoonoses, zoonotic agents and food-borne outbreaks in 2016. *EFSA J.* 15, 1–228. doi: 10.2903/j.efsa.2017.5077
- EFSA and ECDC. 2018. Multi-country outbreak of *Salmonella Agona* infections linked to infant formula. *EFSA Support. Publ.* 15, 1–9. doi: 10.2903/sp.efsa.2018.EN-1365
- Elika. 2012. La Aplicación De Las Nuevas Tecnologías. *Industria Alimentaria*, Noviembre, 1–6. Retrieved from http://www.elika.eus/datos/articulos/Archivo993/Art%EDculo_nanotecnolog%EDa_alimentaria.pdf
- Elizondo, M.C., y Gallo, A.C. 2011. Use of Nanomaterials in Biopolymers for Food. *SciELO*. 77(4):292–306.
- El-kharrag, R., Sulafa, S.A.H., Amr, A. y Yaser, E.G. 2018: Synthesis and characterization of chitosan-coated magnetite nanoparticles using a modified wet method for drug delivery applications. *International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials*. DOI: 10.1080/00914037.2018.1525725
- Elsharkawy, M., Derbalah, A., Hamza, A., y El-Shaer, A. 2018.” Zinc oxide nanostructures as a control strategy of bacterial speck of tomato caused by *Pseudomonas syringae* in Egypt”. *Environmental Science and Pollution Research*.

- FAO y OMS. 2011. Reunión conjunta FAO/OMS de expertos acerca de la aplicación de la nanotecnología en los sectores alimentario y agropecuario: posibles consecuencias para la inocuidad de los alimentos. <https://doi.org/http://www.fao.org/ag/agn/agns> o
- Fetisov, V.B., Ermakov, A.N., Belysheva, G.M., Pastukhov, E.A., Kamyshov, V.M., y Korchemkina, N.V. 2003. *Doklady Physical Chemistry*. 388(4/6), 57–59.
- Figuroa, I.M.O. y Verdugo, A.R. 2005. Mecanismos moleculares de patogenicidad de *Salmonella sp.* *Revista Latinoamericana de microbiología*. 47(1-2):25-42.
- Franger, S., Berthet, P., y Berthon, J. 2004. Electrochemical synthesis of magnetite nanoparticles in alkaline aqueous solutions containing complexing agents. *Journal of Solid State Electrochemistry*. 8(4):218–223.
- Franger, S., Berthet, P., Dragos, O., Bonville, P., y Berthon, J. 2007. Large influence of the synthesis conditions on the physico-chemical properties of nanostructured magnetite. *Journal of Nanoparticle Research*. 9:389–390.
- Fu, Y., Sarkar, P., Bhunia, A. y Yao, Y. 2016. Delivery Systems of Antimicrobial Compounds to Food. *Trends in Food Science & Technology*. 57:165-177.
- Fuertes, G., Soto, I., Carrasco, R., Vargas, M., Sabattin, J., y Lagos, C. 2016. Intelligent Packaging Systems: Sensors and Nanosensors to Monitor Food Quality and Safety. *Journal of Sensors*. 1-8.
- Garza, M.A.N., y Gonz, V. 2011. Preparation of chitosan / magnetite polymeric-magnetic films. 57(2):51–56.
- Godínez, A.O., Tamplin, M.L., Bowman, J.L. y Hernández, M.I. 2019. *Salmonella enterica* in Mexico 2000–2017: Epidemiology, Antimicrobial Resistance, and Prevalence in Food. *Foodborne Pathogens and Disease*. doi:10.1089/fpd.2019.2627
- Gram, L., Ravn, L., Rasch, M., Bruhn, J.B., Christensen, A.B., y Givskov, M. 2002. Food spoilage--interactions between food spoilage bacteria. *International Journal of Food Microbiology*. 78(1–2):79–97.

- Guardia, P., Labarta, A. y Batlle X. 2011. Tuning the size, the shape, and the magnetic properties of iron oxide nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry C* .115:390–396
- Gunawan, C., Teoh, W.Y., Marquis, C.P., y Amal R. 2011. Cytotoxic origin of copper (II) oxide nanoparticles: comparative studies with micron-sized particles, leachate, and metal salts”. *American Chemical Society Nano*. 5:7214–7225.
- Hemmati, S., Zangeneh, M.M. y Zangeneh, A. 2019. CuCl₂ anchored on polydopamine coated-magnetic nanoparticles (Fe₃O₄@PDA/Cu (II)): preparation, characterization and evaluation of its cytotoxicity, antioxidant, antibacterial, and antifungal properties. *Polyhedron*, 114327. doi:10.1016/j.poly.2019.114327.
- Henle, E.S. y Linn, S. 1997. Formation, prevention, and repair of DNA damage by iron/hydrogen peroxide. *The Journal of Biological Chemistry*. 272(31):19095–8
- Hernández, J.L.R., y García, J.O. 2012. Materiales compuestos. Retrieved November 3, 2018, from <http://www.cyd.conacyt.gob.mx/240/Articulos/MaterialesCompuestos/MaterialesCompuestos6.html>
- Hoffmann, S., Macculloch, B., Batz, M. 2015. EIB-140, United States Department of Agriculture: Economic Research Service. 1–59. doi:10.1001/jamadermatol.2014.3593
- Hoseinejad, M., Jafari, S.M. y Katouzian, I. 2018. Inorganic and metal nanoparticles and their antimicrobial activity in food packaging applications. *Critical Reviews in Microbiology*. 44:161–181.
- Hosseini, H., Shojaee, S.A., Hosseini, S.M., y Mirmoghtadaie, L. 2017. Nanoantimicrobials in Food Industry. *Nanotechnology Applications in Food: Flavor, Stability, Nutrition and Safety*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811942-6.00011-X>
- Huang, L., Li, D.Q., Lin, Y.J., Wei, M., Evans, D.G., y Duan, X. 2005. Controllable preparation of Nano-MgO and investigation of its bactericidal properties. *Journal of Inorganic Biochemistry*. 99(5):986–993.

- Húngaro, H.M., Peña, W.E.L., Silva, N.B.M., Carvalho, R.V., Alvarenga, V.O., y Sant'Ana, A.S. 2014. Food Microbiology. *Encyclopedia of Agriculture and Food Systems*. 3:213–231.
- Iavicoli, I., Leso, V., Ricciardi, W., Hodson, L., y Hoover, M. 2014. Opportunities and challenges of nanotechnology in the green economy. *Environmental Health*. 13, 78.
- Idumah, C., Hassan, A. y Bourbigot, S. 2017. Influence of exfoliated graphene nanoplatelets on flame retardancy of kenaf flour polypropylene hybrid nanocomposites. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. 123:65–72
- IFSAC, 2017. Interagency Food Safety Analytics Collaboration. Foodborne illness source attribution estimates for 2013 for *Salmonella*, *Escherichia coli O157*, *Listeria monocytogenes*, and *Campylobacter* using multi-year outbreak surveillance data, United States. GA and D., IFSAC project.
- Iliadis, A.A., y Ali, H.A. 2011. Properties of Fast Response Room Temperature ZnO-Si Heterojunction Gas Nanosensors. *IEEE Transactions on Nanotechnology*. 10(3):652-656.
- Iwasaki, T., Mizutani, N., Watano, S. Yanagida, T. y Kawai, T. 2010. Size control of magnetite nanoparticles by organic solvent-free chemical coprecipitation at room temperature. , *Journal of Experimental Nanoscience*. 5:251–262
- Jalili, M.A., Allafchian, A., Karimzadeh, F. y Nasiri, F. 2019. Synthesis and characterization of magnetite/Alyssum homolocarpum seed gum/Ag nanocomposite and determination of its antibacterial activity. *International Journal of Biological Macromolecules*. doi:10.1016/j.ijbiomac.2019.08.123
- Jiang, Y., O'Neill, A.J. y Ding, Y. 2015. Zinc oxide nanoparticle-coated films: fabrication, characterization, and antibacterial properties. *Journal of Nanoparticle Research*. 17(4):2993-2996.
- Kadziński, M., Cinelli, M., Ciomek, K., Coles, S.R., Nadagouda, M.N., Varma, R.S., y Kirwan, K. 2018. Co-constructive development of a green chemistry-based model for

- the assessment of nanoparticles synthesis. *European Journal of Operational Research*. 264(2):472–490.
- Kaewklin, P., Siripatrawan, U., Suwanagul, A., y Lee, Y.S. 2018. Active packaging from chitosan-titanium dioxide nanocomposite film for prolonging storage life of tomato fruit. *International Journal of Biological Macromolecules*. 112:523–529.
- Karimzadeh, I., Dizaji, H.R., y Aghazadeh, M. 2016. Development of a facile and effective electrochemical strategy for preparation of iron oxides (Magnetite and γ -Fe₂O₃) nanoparticles from aqueous and ethanol mediums and in situ PVC coating of Magnetite superparamagnetic nanoparticles for biomedical applications. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 416, 81–88.
- Karn, B., y Wong, S. 2013. Ten years of green nanotechnology. Shamim, N., Sharma, V. K. (Eds.). Chapter: 3. Sustainable Nanotechnology and the Environment: Advances and Achievements. American Chemical Society. Washington, DC, 1–10.
- Kartick, K., Samanta, S. y Basak, S.K. 2015. Potentials of fibrous and non fibrous materials in biodegradable packaging. Environmental Footprints and Eco-design of Products and Processes. *Springer Science + Business*. India, pp. 75–113.
- Kloster, G.A., Marcovich, N.E., y Mosiewicki, M.A. 2015. Composite films based on chitosan and nanomagnetite. *European Polymer Journal*. 66(February):386–396.
- Knidri, H., Belaabed, R., Addaou, A., Laajeb, A., y Lahsini, A. 2018. Extraction, chemical modification and characterization of chitin and chitosan: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 120:1181–1189.
- Kumar, R., y Münstedt, H. 2005. Silver ion release from antimicrobial polyamide/silver composites. *Biomaterials*. 26(14):2081–2088.
- Lárez Cristóbal. 2003. Algunos usos del quitosano en sistemas acuosos. Revista Iberoamericana de Polímeros Volumen 4(2):91-109

- Lee, J., Mubeen, S., Hangarter, C. M., Mulchandani, A., Chen, W., y Myung, N. V. 2011. Selective and Rapid Room Temperature Detection of H₂S Using Gold Nanoparticle Chain Arrays. *Electroanalysis*. 23(11):2623–2628.
- Li, G. yin, Jiang, Y. ren, Huang, K. long, Ding, P., y Chen, J. 2008. Preparation and properties of magnetic Magnetite-chitosan nanoparticles. *Journal of Alloys and Compounds*. 466(1–2):451–456.
- Li, Y., Yang, D., y Cui, J. 2017. Graphene oxide loaded with copper oxide nanoparticles as an antibacterial agent against *Pseudomonas syringae* pv. tomato. Royal Society of Chemistry Advances. 7(62):38853–38860.
- Lin, B., Luo, Y., Teng, Z., Zhang, B., Zhou, B., y Wang, Q. 2015. Development of silver/titanium dioxide/chitosan adipate nanocomposite as an antibacterial coating for fruit storage. *LWT - Food Science and Technology*. 63(2):1206–1213.
- Lin, L., Xianqiao, H., Zhiwei, Z., Dan, L., Shiyi, T. y Zhongxiu, C. 2020. Review: Electrochemical Sensor and Biosensor Modified with Binary Nanocomposite for Food Safety. *Electrochemical Society*. 167. DOI:10.1149/2.0122003JES
- Llorens, A., Lloret, E., Picouet, P.A., Trbojevich, R. y Fernandez, A. 2012. Metallic-based micro and nanocomposites in food contact materials and active food packaging. *Trends Food Science Technology*. 24:19–29
- Majowicz, S.E., Musto, J., Scallan, E., Angulo, F.J., Kirk, M., O'Brien, S.J., Jones, T.F., Fazil, A. y Hoekstra, R.M. 2010. The Global Burden of Nontyphoidal *Salmonella gastroenteritis*. *Clinical Infectious Diseases*. 50(6):882–889.
- Márquez, A.L., Rosa, Z.L., y Prentice, H.C. 2012. Características de nanopartículas y potenciales aplicaciones em alimentos. *Brazilian Journal of Food Technology*. 15(9):99–109.
- Martínez, M.I., Espinosa, P.M.E., Pérez, H.R., y Arenas, A.J. 2007. Synthesis of magnetite nanoparticles without surfactants at room temperature. *Materials Letters*. 61(23–24):4447–4451.

- Mashjoor, S., Yousefzadi, M., Zolgharnain, H., Kamrani, E., y Alishahi, M. 2018. Organic and inorganic nano-magnetite: Alga *Ulva flexuosa*-based synthesis, antimicrobial effects and acute toxicity to briny water rotifer *Brachionus rotundiformis*. *Environmental Pollution*. 237:50–64.
- McMahon, S., Anderson, R.P., Saupe, E.E., y Briggs, D.E.G. 2016. Experimental evidence that clay inhibits bacterial decomposers: Implications for preservation of organic fossils. *Geology*. 44:867–870.
- Mekonnen, T., Misra, M. y Mohanty, A.K. 2016. Fermented soymeals and their reactive blends with poly (butylene adipate-co-terephthalate) in engineering biodegradable cast films for sustainable packaging. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*. 4:782–793.
- Mekonnen, T., Mussone, P., Khalil, H. y Bressler, D. 2013. Progress in bio-based plastics and plasticizing modifications. *Journal of Materials Chemistry A*. 1:13379-13398.
- Mekonnen, T., Mussone, P., El-Thaher, N., Choi, P.Y.K. y Bressler, D.C. 2013. Thermosetting proteinaceous plastics from hydrolyzed specified risk material. *Macromolecular Materials and Engineering*. 298:1294–1303.
- Morales, M.A., De Souza, E.C.R., De Amorim, A.S.C.M., Soares, J.M., y Galembeck, F. 2013. Size selected synthesis of magnetite nanoparticles in chitosan matrix. *Applied Surface Science*. 275:71–74.
- Morgado, D.L., y Assis, O.B.G. 2016. Processing and characterization of electrospun nanofibers from poly (lactic acid)/trimethylchitosan blends. *Macromolecular Research*. 24(11):1003–1013.
- Muthuraj, R. y Mekonnen, T. 2018. Carbon dioxide-derived poly(propylene carbonate) as a matrix for composites and nanocomposites: performances and applications. *Macromolecular Materials and Engineering*. 303(1800366):1-19.

- Muthuraj, R. y Mekonnen, T. 2018. Recent progress in carbon dioxide (CO₂) as feedstock for sustainable materials development: co-polymers and polymer blends. *Polymer (Guildf)* 145:348–373.
- Nehra, P., Chauhan, R.P., Garg, N. y Verma, K. 2018. Antibacterial and antifungal activity of chitosan coated iron oxide nanoparticles. *British Journal of Biomedical Science*. 75(1):13–18.
- Newell, D.G., Koopmans, M., Verhoef, L., Duizer, E., Aidara, A.K., Sprong, H., Opsteegh, M., Langelaar, M., Threfall, J., Scheutz, F., y cols., 2010. Food-borne diseases the challenges of 20 years ago still persist while new ones continue to emerge. *International Journal Food Microbiology*. 139:3–15.
- Nurdin, I., Ridwan, Y. y Satriananda, Y. 2016. The Effect of Temperature on Synthesis and Stability of Superparamagnetic Maghemite Nanoparticles Suspension. *Journal of Materials Science and Chemical Engineering*. 4:35-41.
- Obisesan, O.R., Adekunle, A.S., Oyekunle, J.A.O., Ogunfowokan, A.O., Olaniran, O., Thomas, S., Nkambule, T.T.I. y Mamba, B.B. 2020. Catalytic degradation of β -hematin (malaria biomarker) using some selected metal oxide nanoparticles. *Materials Research Express*. 7(1). <https://doi.org/10.1088/2053-1591/ab6645>
- Ogunsona, E., Ojogbo, E. y Mekonnen, T. 2018. Advanced material applications of starch and its derivatives. *European Polymer Journal*. 108:570–581.
- Ogunsona, E.O., Muthuraj, R., Ojogbo, E., y Mekonnen, T.H. 2019. Engineered nanomaterials for antimicrobial applications: A review. *Applied Materials*. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2019.100473>
- Ojogbo, E., Blanchard, R. y Mekonnen, T. 2018. Hydrophobic and melt processable starch-laurate esters: synthesis, structure-property correlations. *Journal of Polymer Science. Part A: Polymer Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1002/pola.29237>.
- Panchal, P., Ogunsona, E. y Mekonnen, T. 2018. Trends in Advanced Functional Material Applications of Nanocellulose. *Processes*. <http://dx.doi.org/10.3390/pr7010010>.

- Parandhaman, T., Das, A., Ramalingam, B., Samanta, D., Sastry, T.P., Mandal, A.B. y Das, S.K. 2015. Antimicrobial behavior of biosynthesized silica–silver nanocomposite for water disinfection: a mechanistic perspective. *Journal of Hazardous Materials*. 290:117–126.
- Park, S.B., White, S.B., Steadman, C.S., Pechan, T., Pechanova, O., Clemente, H.J., y Feugang, J.M. 2019. Silver-coated magnetic nanocomposites induce growth inhibition and protein changes in foodborne bacteria. *Scientific Reports*. 9(1). doi:10.1038/s41598-019-53080-x
- Parveen, S., Wani, A.H., Shah, M.A., Devi, H.S., Bhat, M.Y., y Koka, J.A. 2018. Preparation, characterization and antifungal activity of iron oxide nanoparticles. *Microbial Pathogenesis*. 115:287–292.
- Pascal, C., Pascal, J.L., Favier, F., Elidrissi, M.M. L., y Payen, C. 1999. Electrochemical Synthesis for the Control of γ -Fe₂O₃ Nanoparticle Size. Morphology, Microstructure, and Magnetic Behavior. *Chemistry of Materials*. 11(1):141–147.
- Patake, V.D., Ghogare, T.T., Gulbake, A.D., y Lokhande, C.D. 2019. The electrochemical performance of electrodeposited chitosan bio-nanopolymer in non-aqueous electrolyte: a new anodic material for supercapacitor. *SN Applied Sciences*, 1(9). doi:10.1007/s42452-019-1054-7
- Peralta, M.E., Nisticò, R., Franzoso, F., Magnacca, G., Fernandez, L., Parolo, M.E., y Carlos, L. 2019. Highly efficient removal of heavy metals from waters by magnetic chitosan-based composite. *Adsorption*. doi:10.1007/s10450-019-00096-4
- Pérez, R.I.T., López, U.M.G., y Rodríguez, A.L. 2016. *Síntesis y caracterización de nanopartículas magnéticas para su uso en aplicaciones biomédicas*. Instituto Tecnológico de Tepic.
- Piosik, E., Klimczak, P., Ziegler, M.B., Chelminiak, D.D. y Martyński, T. 2019. A detailed investigation on interactions between magnetite nanoparticles functionalized with

- aminated chitosan and a cell model membrane. *Materials Science & Engineering C*. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2019.110616>.
- Polo, I.M.G. 2016. Sostenibilidad: obtención de quitina a partir de sustancias de desecho. Retrieved from <https://idus.us.es/xmlui/handle/11441/50471>
- Popović, S., Lazić, V., Hromiš, N., y cols., 2018. Biopolymer packaging materials for food shelf-life prolongation. Biopolymers for food design. In: Grumezescu AM, Holban AM, editors. A volume in handbook of food bioengineering. Novi Sad, Serbia: Academic Press, University of Novi Sad. 223–277.
- Qi, L., Xu, Z., Jiang, X., Hu, C., y Zou, X. 2004. Preparation and antibacterial activity of chitosan nanoparticles. *Carbohydrate Research*. 339(16):2693–2700.
- Rao, C.N.R., Kulkarni, G.U., Thomas, P.J. y Edwards, P.P. 2000. Metal nanoparticles and their assemblies. *Chemical Society Reviews*. 29:27–35.
- Refait, P., Memet, J.B., Bon, C., Sabot, R. y Génin, J.M.R. 2003. Formation of the Fe (II)–Fe (III) hydroxysulphate green rust during marine corrosion of steel. *Corrosion Science*. 45:833–845
- Regiel, A., Dąbrowski, J. M., Mazuryk, O., Śpiewak, K., Kyzioł, A., Pucelik, B., y Stochel, G. 2017. Bioinorganic antimicrobial strategies in the resistance era. *Coordination Chemistry Reviews*. 351:76–117.
- Rivera, J.M.C. 2008. Deterioro postcosecha de las frutas y hortalizas frescas por hongos y bacterias. *FHIA Fundación Hondureña de Investigación Agrícola*. 2(1):1–4.
- Robles, D.P.A., y Rodríguez, A.N.R. 2017. *Síntesis de nanopartículas de magnetita usando extracto de cáscara de papaya*. Reponame: Expeditio Repositorio Institucional UJTL. Retrieved from <http://expeditiorepositorio.utadeo.edu.co/handle/20.500.12010/2681>
- Rodríguez, A., Cruz, J.J.R., Elías, C.G.A., Betancourt, I., Ruiz, H.S., y Antaño, R. 2015. Fine tuning of magnetite nanoparticle size distribution using dissymmetric potential pulses in the presence of biocompatible surfactants and the electrochemical

- characterization of the nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*. 46:538–547.
- Rodríguez, A.L., Paredes, A.A., Mojica, J.G., Estrada, C.A., Cruz, J.J.R., Elías Alfaro, C. G.E. y Antaño, R.L. 2012. Electrochemical synthesis of magnetite and maghemite nanoparticles using dissymmetric potential pulses. *Journal of Nanoparticle Research*. 14(8). <https://doi.org/10.1007/s11051-012-0993-3>
- Rodríguez, A.L., Torres, D.T., Mojica, J.G., Estrada, C.A., y Antaño, R.L. 2011. Characterization by electrochemical impedance spectroscopy of magnetite nanoparticles supported on carbon paste electrode. *Electrochemical Acta*. 56(23):8078–8084.
- Ruparelia, J.P., Chatterjee, A.K., Duttagupta, S.P., y Mukherji, S. 2008. Strain specificity in antimicrobial activity of silver and copper nanoparticles. *Acta Biomater*. 4:707–716.
- Samani, S.M., Miri, R., Salmanpour, M., Khalighian, N., Sotoudeh, S., y Erfani, N. 2013. Preparation and assessment of chitosan-coated superparamagnetic Magnetite nanoparticles for controlled delivery of methotrexate. *Research in Pharmaceutical Sciences*. 8(1):25–33.
- Setyawan, H., y Widiyastuti, W. 2019. Progress in the Preparation of Magnetite Nanoparticles through the Electrochemical Method. *KONA Powder and Particle Journal*. doi:10.14356/kona.2019011
- Shahid, M.K., y Choi, Y. 2019. Characterization and Application of Magnetite Particles, Synthesized by Reverse Coprecipitation Method in Open Air from Mill Scale. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*, 165823. doi: 10.1016/j.jmmm.2019.165823
- Shapira, P., y Youtie, J. 2015. The economic contributions of nanotechnology to green and sustainable growth. In: Basiuk, V.A., Basiuk, E.V. (Eds.). *Green Processes for Nanotechnology*. Springer International Publishing, pp. 409–434.

- Siripatrawan, U., y Kaewklin, P. 2018. Fabrication and characterization of chitosan-titanium dioxide nanocomposite film as ethylene scavenging and antimicrobial active food packaging. *Food Hydrocolloids*. 84:125–134.
- Solano, R., Stepanova, A.N., Chao, Q., Ecker, J.R., Konishi, M., Yanagisawa, S., y Zhu, Z. 2014. Ethylene in Plants Nature. *The Plant cell*. 246(5430):234-234.
- Sondjaja, R., Hatton, T.A., y Tam, M.K.C. 2009. Clustering of magnetic nanoparticles using a double hydrophilic block copolymer, poly (ethylene oxide)-b-poly (-acrylic acid). *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 321:2393–2397.
- Stoimenov, P.K., Klinger, R.L., Marchin, G.L., y Klabunde, K.J. 2002. Metal Oxide Nanoparticles as Bactericidal Agents. *Langmuir*. 18(17):6679–6686.
- Strobel, R., y Pratsinis, S.E. 2009. Direct synthesis of maghemite, magnetite and wustite nanoparticles by flame spray pyrolysis. *Advanced Powder Technology*. 20(2):190–194.
- Su, B., Guo, W. y Jiang, L. 2014. Learning from Nature: Binary Cooperative Complementary Nanomaterials. *Small*. 11(9-10):1072–1096.
- Suresh, S. 2014. Investigations on synthesis, structural and electrical properties of MgO nanoparticles by sol–gel method. *Journal of Ovonic Research*. 10 (6):201–210.
- Unsoy, G., Yalcin, S., Khodadust, R., Gunduz, G., y Gunduz, U. 2012. Synthesis optimization and characterization of chitosan-coated iron oxide nanoparticles produced for biomedical applications. *Journal of Nanoparticle Research*. 14(11):964.
- Ünivar, S. 2018. Chapter 1 - Microbial Foodborne Diseases. *Foodborne Diseases*. Academic Press 2018. 1-31.
- Valerio, O., Misra, M. y Mohanty, A.K. 2018. Improvement of impact toughness of biodegradable poly (butylene succinate) by melt blending with sustainable biobased glycerol elastomers. *Journal of Polymers and Environment*. 26:1078–1087.

- Velásquez, A.A., Marín, C.C., y Urquijo, J.P. 2018. Synthesis and characterization of magnetite-maghemite nanoparticles obtained by the high-energy ball milling method. *Journal of Nanoparticle Research*. 20(3). <https://doi.org/10.1007/s11051-018-4166-x>.
- Wang, Y., Wu, Y., Yang, H., Xue, X., y Liu, Z. 2016. Doping TiO₂ with boron or/and cerium elements: Effects on photocatalytic antimicrobial activity. *Vacuum*. 131:58-64.
- WHO. "Salmonella (no tifoidea)", [en línea]. 2018 Dirección URL: <[https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-\(non-typhoidal\)](https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/salmonella-(non-typhoidal))>. [Consulta: 12 de mayo. 2020]
- Wu, Y., Liu, J., Wu, C., Zhuang, Q., Chen, H., Zhang, H., y Zhang, X. 2014. Magnetite/carbon nanotubes nanocomposite: facile hydrothermal synthesis and enhanced cycling performance and high-rate capability as anode material for lithium-ion batteries. *Ionics*. 21(3):635–643.
- Wu, S., Li, K., Dai, X., Zhang, Z., Ding, F., y Li, S. 2020. An ultrasensitive electrochemical platform based on imprinted chitosan/gold nanoparticles/graphene nanocomposite for sensing cadmium (II) ions. *Microchemical Journal*. 104710. doi: 10.1016/j.microc.2020.104710
- Wyszogrodzka, G., Marszałek, B., Gil, B., y Dorozynski, P. 2016. Metal-organic frameworks: mechanisms of antibacterial action and potential applications. *Drug Discov*. 21:1009–1018.
- Yan, L., Dou, L., Bu, T., Huang, Q., Wang, R., Yang, Q., Huang, L., Wang, J. y Zhang, D. 2018. Highly sensitive furazolidone monitoring in milk by a signal amplified lateral flow assay based on magnetite nanoparticles labeled dual-probe. *Food Chemistry*. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.04.016>
- Ying, T.Y., Yiacomis, S., y Tsouris, C. 2002. An Electrochemical Method for the Formation of Magnetite Particles. *Journal of Dispersion Science and Technology*. 23(4):569–576.

- Yong, C., Chen, X., Xiang, Q., Li, Q., y Xing, X. 2018. Recyclable magnetite-silver heterodimer nanocomposites with durable antibacterial performance. *Bioactive Materials*. 3(1):80–86.
- Zanella, R. 2012. Metodologías para la síntesis de nanopartículas: controlando forma y tamaño. 5(1):69–81
- Zhang, C., Yin, A.X., Jiang, R., Rong, J., Dong, L., Zhao, T., y Yan, C.H. 2013. Time-temperature indicator for perishable products based on kinetically programmable Ag overgrowth on Au nanorods. *American Chemical Society Nano*. 7(5):4561–4568.
- Zhang, L.D., Liu, W.L., Xiao, C.L., Yao, J.S., Fan, Z.P., Sun, X.L., y Wang, X.Q. 2011. Preparation of poly(styrene)-B-polyacrylicacid)/r-Fe₂O₃ composites. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 323:3087–3091.
- Zhang, X., Xiao, G., Wang, Y., Zhao, Y., Su, H., y Tan, T. 2017. Preparation of chitosan-TiO₂ composite film with efficient antimicrobial activities under visible light for food packaging applications. *Carbohydrate Polymers*. 169:101–107.
- Zuluaga, J.M. 2011. Una Mirada Al Estudio Y Las Aplicaciones Tecnológicas Y Biomédicas De La Magnetita a Look At the Study and the Technological and Biomedical. *Revista EIA*. 16:207–223.

CAPÍTULO 9. ANEXOS

CAPÍTULO 9. ANEXOS

ANEXO 1. Ajuste de los EIS mediante Zview2®

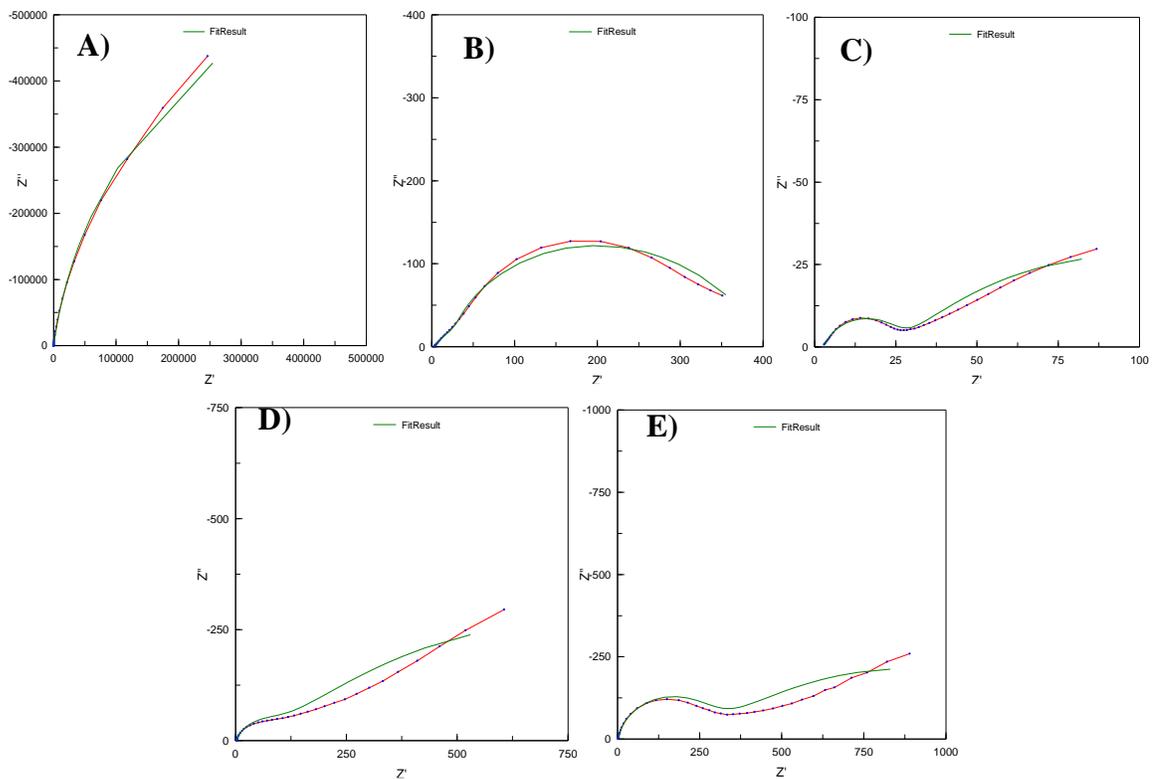


Figura 9.1. Diagramas Nyquist simulados de los espectros obtenidos de los EPC a un potencial a circuito abierto. A) blanco, B) Qts, C) NPM sintetizadas al PA de 0.30 y PC al -0.92 V vs $\text{Hg}|\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ en KCl 0.5 M, D) NPM/QTS al 0.02% y E) NPM-PVP (comercial).

En la Figura 9.1 se muestran las simulaciones de los diagramas Nyquist realizadas a los EIS de los diferentes EPC, asimismo, en la Figura 9.2 se muestran las simulaciones de los diagramas Bode-Fase de estos electrodos. En las simulaciones se observa que el ajuste del primer semicírculo correspondiente a las altas frecuencias es muy similar a los resultados obtenidos, mientras que el del segundo semicírculo correspondiente a bajas frecuencias la simulación tiende a diferir, lo que indica que no corresponde a una reacción de transferencia de carga.

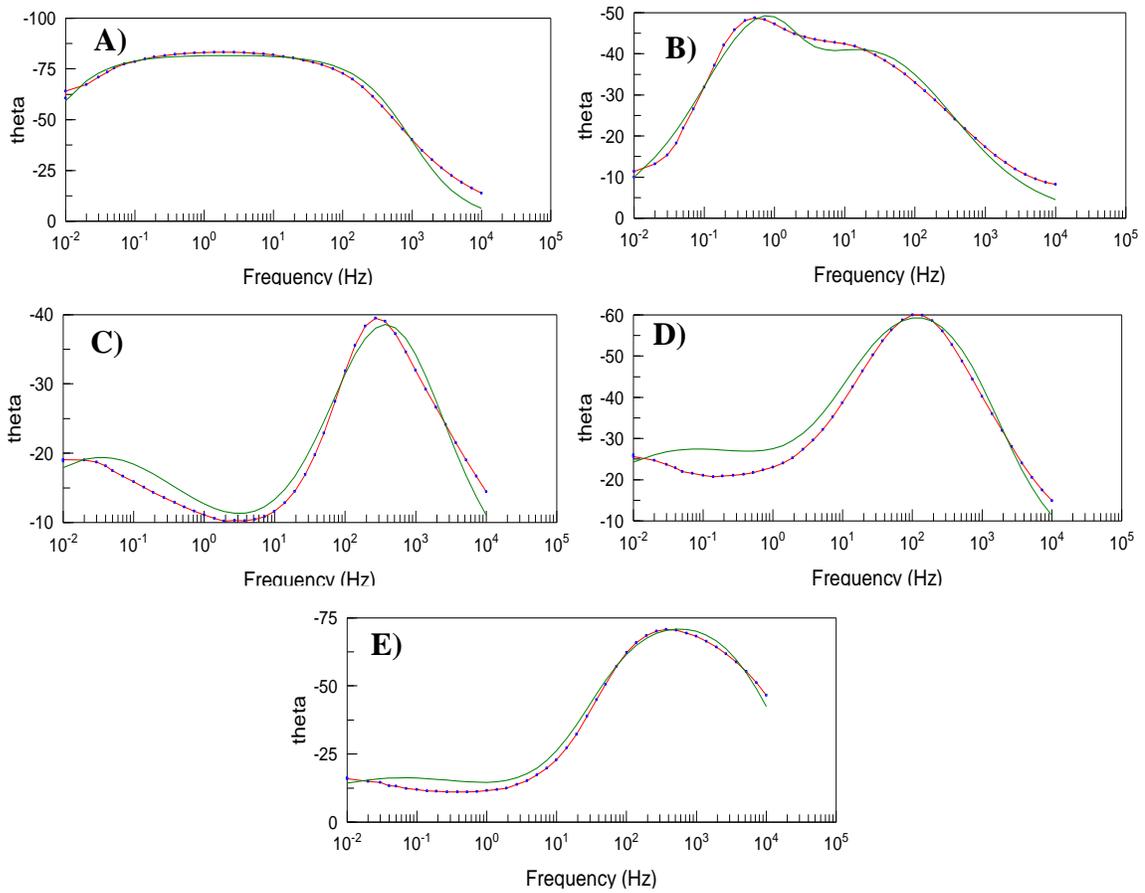


Figura 9.2. Diagramas Bode-Fase simulados de los espectros obtenidos de los EPC a un potencial a circuito abierto. A) blanco, B) Qts, C) NPM al PA de 0.30 y PC al -0.92 V vs $\text{Hg}|\text{Hg}_2\text{Cl}_2$ en KCl 0.5 M, D) NPM/QTS al 0.02% y E) NPM-PVP (comercial).

ANEXO 2 Análisis estadístico de los resultados de las cinéticas de crecimiento

Cuadro 9.1.6 Absorbancia del cultivo de *S. typhimurium* tratada con las NPM y NPM/Qts

Tratamiento	[] mg/ml	Tiempo (h)				
		0	1	2	3	4
Control		0.001 ^{B b} ± 0.001	0.040 ^{B c} ± 0.005	0.065 ^{C c} ± 0.003	0.082 ^{C d} ± 0.002	0.112 ^{C e} ± 0.002
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.3	0.000 ^{A a} ± 0.000	0.034 ^{A b} ± 0.003	0.052 ^{B b} ± 0.002	0.054 ^{B c} ± 0.001	0.061 ^{B d} ± 0.002
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.6	0.000 ^{A a} ± 0.000	0.032 ^{A b} ± 0.002	0.046 ^{B b} ± 0.004	0.053 ^{B c} ± 0.001	0.058 ^{B c} ± 0.001
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.9	0.000 ^{A a} ± 0.000	0.021 ^{A a} ± 0.003	0.037 ^{B a} ± 0.004	0.045 ^{B b} ± 0.002	0.051 ^{B b} ± 0.003
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.2	0.000 ^{A a} ± 0.000	0.031 ^{B b} ± 0.002	0.040 ^{B a} ± 0.003	0.046 ^{B b} ± 0.006	0.053 ^{B b} ± 0.001
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.5	0.000 ^{A a} ± 0.000	0.023 ^{A a} ± 0.003	0.034 ^{A a} ± 0.004	0.039 ^{A a} ± 0.004	0.042 ^{B a} ± 0.001
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.3	0.000 ^{A a} ± 0.000	0.035 ^{A b} ± 0.001	0.036 ^{A c} ± 0.002	0.040 ^{A c} ± 0.002	0.043 ^{A c} ± 0.002
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.6	0.000 ^{A a} ± 0.000	0.031 ^{A b} ± 0.003	0.032 ^{A b} ± 0.001	0.033 ^{A a,b} ± 0.001	0.038 ^{A b} ± 0.003
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.9	0.000 ^{A a} ± 0.000	0.022 ^{A a} ± 0.001	0.024 ^{A a} ± 0.001	0.030 ^{A a} ± 0.002	0.032 ^{A a} ± 0.001
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.2	0.000 ^{A a} ± 0.000	0.026 ^{A a} ± 0.002	0.033 ^{A b,c} ± 0.002	0.035 ^{A b} ± 0.001	0.037 ^{A b} ± 0.002
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.5	0.000 ^{A a} ± 0.000	0.025 ^{A a} ± 0.001	0.032 ^{A b} ± 0.003	0.034 ^{A b} ± 0.003	0.036 ^{A a,b} ± 0.002

Nota: Letras minúsculas diferentes expresan diferencias significativas entre tratamientos por nanopartículas; letras mayúsculas diferentes expresan diferencias significativas entre nanopartículas por concentraciones ($\alpha=0.05$).

Continuación del cuadro en la siguiente pagina

Tratamiento	[] mg/ml	Tiempo (h)				
		5	6	7	8	9
Control		0.118 ^{C d} ± 0.003	0.135 ^{C d} ± 0.004	0.148 ^{C d} ± 0.004	0.152 ^{C e} ± 0.002	0.182 ^{C d} ± 0.004
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.3	0.065 ^{B c} ± 0.001	0.072 ^{B c} ± 0.003	0.076 ^{B c} ± 0.003	0.084 ^{B d} ± 0.001	0.089 ^{B c} ± 0.001
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.6	0.063 ^{B c} ± 0.003	0.067 ^{B c} ± 0.001	0.072 ^{B c} ± 0.001	0.075 ^{B d} ± 0.003	0.077 ^{B b} ± 0.003
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.9	0.055 ^{B b} ± 0.003	0.060 ^{B b} ± 0.004	0.063 ^{B b} ± 0.001	0.068 ^{B c} ± 0.003	0.072 ^{B a} ± 0.002
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.2	0.057 ^{B b} ± 0.003	0.061 ^{B b} ± 0.004	0.063 ^{B b} ± 0.003	0.066 ^{B b} ± 0.002	0.069 ^{B a} ± 0.003
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.5	0.044 ^{A a} ± 0.002	0.049 ^{B a} ± 0.004	0.054 ^{B a} ± 0.005	0.061 ^{B a} ± 0.004	0.067 ^{B a} ± 0.004
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.3	0.047 ^{A b} ± 0.002	0.052 ^{A d} ± 0.001	0.055 ^{A b} ± 0.002	0.058 ^{A c} ± 0.002	0.067 ^{A b} ± 0.002
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.6	0.042 ^{A a} ± 0.002	0.046 ^{A b,c} ± 0.001	0.050 ^{A a} ± 0.003	0.054 ^{A b} ± 0.002	0.056 ^{A a} ± 0.003
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.9	0.044 ^{A a,l} ± 0.003	0.048 ^{A c,d} ± 0.003	0.052 ^{A a,b} ± 0.001	0.054 ^{A b} ± 0.001	0.056 ^{A a} ± 0.001
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.2	0.042 ^{A a} ± 0.002	0.043 ^{A a,b} ± 0.001	0.048 ^{A a} ± 0.001	0.051 ^{A a,b} ± 0.002	0.054 ^{A a} ± 0.001
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.5	0.041 ^{A a} ± 0.003	0.043 ^{A a} ± 0.001	0.048 ^{A a} ± 0.002	0.050 ^{A a,b} ± 0.003	0.053 ^{A a} ± 0.003

Tratamiento	[] mg/ml	Tiempo (h)		
		10	11	12
Control		0.208 ^{C e} ± 0.002	0.214 ^{C e} ± 0.008	0.242 ^{C e} ± 0.006
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.3	0.093 ^{B d} ± 0.002	0.096 ^{B d} ± 0.002	0.104 ^{B d} ± 0.005
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.6	0.083 ^{B c} ± 0.002	0.087 ^{B c} ± 0.003	0.094 ^{B c} ± 0.003
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.9	0.075 ^{B b} ± 0.003	0.080 ^{B b,c} ± 0.005	0.087 ^{B b} ± 0.004
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.2	0.073 ^{B a,l} ± 0.003	0.076 ^{B a,b} ± 0.004	0.082 ^{B a,b} ± 0.002
NPM, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.5	0.069 ^{B a} ± 0.003	0.072 ^{B a} ± 0.002	0.076 ^{A a} ± 0.001
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.3	0.072 ^{A d} ± 0.001	0.078 ^{A b} ± 0.001	0.083 ^{A b} ± 0.001
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.6	0.064 ^{A c} ± 0.001	0.074 ^{A b} ± 0.002	0.082 ^{A b} ± 0.001
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	0.9	0.061 ^{A a,l} ± 0.001	0.068 ^{A a} ± 0.002	0.075 ^{A a} ± 0.001
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.2	0.058 ^{A a,l} ± 0.005	0.064 ^{A a} ± 0.001	0.071 ^{A a} ± 0.001
NPM/Qts, PA 0.30 y PC -0.92 V vs Hg Hg2Cl2	1.5	0.056 ^{A a} ± 0.002	0.064 ^{A a} ± 0.001	0.070 ^{A a} ± 0.001

En el Cuadro 9.1 se muestran los resultados obtenidos de las cinéticas de crecimientos empleando un diseño unifactorial analizado mediante LDS de Fisher, mediante el cual se observaron las diferencias significativas tanto entre concentraciones como entre nanopartículas. Demostrando que las NPM/Qts son las que presentan mayor inhibición de la bacteria *S. typhimurium*.