



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

NANOESTRUCTURAS DE CuO, ZnO Y CuZnO OBTENIDAS POR  
MECANOSÍNTESIS EN PRESENCIA DE DISOLVENTES.  
ESTUDIO ESPECTROSCÓPICO Y ESTRUCTURAL

**TESIS**

PARA OPTAR POR EL GRADO DE

**MAESTRO EN CIENCIAS**

PRESENTA

QFB BLANCA PAZ DÍAZ

DRA. AMÉRICA ROSALBA VÁZQUEZ OLMOS  
CENTRO DE CIENCIAS APLICADAS Y DESARROLLO TECNOLÓGICO, CCADET.

CIUDAD UNIVERSITARIA, CD. MX. NOVIEMBRE 2016



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS QUÍMICAS**

**NANOESTRUCTURAS DE CuO, ZnO Y CuZnO OBTENIDAS POR  
MECANOSÍNTESIS EN PRESENCIA DE DISOLVENTES. ESTUDIO  
ESPECTROSCÓPICO Y ESTRUCTURAL**

**TESIS  
PARA OPTAR POR EL GRADO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**PRESENTA**

**QFB BLANCA PAZ DÍAZ**



Ciudad de México. Noviembre 2016

## **Agradecimientos**

Al Proyecto PAPIIT IN108616 por parte del financiamiento aportado para la realización de esta tesis

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, CONACyT, por el apoyo económico brindado en el transcurso de mis estudios de maestría, CVU 621060.

A la Dra. América Vázquez, por todo el tiempo que ha dedicado a la realización de este trabajo, más que nada por todo aquello que me ha brindado para que yo crezca tanto profesional como personalmente. Por brindarme esta oportunidad de trabajar con ella explorando nuevos horizontes.

A la Dra. Ana Leticia Fernández Osorio de la FES Cuautitlán por las facilidades y la ayuda para la obtención de los espectros de Difracción de Rayos X.

Al Dr. Luis Felipe Jiménez García por el apoyo y la facilidad para el uso del Microscopio Electrónico de Transmisión y a la Dra. Lourdes Teresa Agredano Moreno por su tiempo y dedicación para la obtención de las imágenes del MET en la Facultad de Ciencias, UNAM.

Al Dr. Alejandro Solano por su tiempo para llevar a cabo el análisis de RPE en la Facultad de Química.

A toda mi familia, por estar siempre al pendiente y apoyarme en lo que ha sido necesario. Gracias a mis padres y hermano, quienes a pesar de todas sus ocupaciones siempre me han apoyado, consolado y animado. Gracias a mi abuelita, que siempre ha tenido tiempo para mí, siempre formar parte de mi éxito profesional y formar parte de mi vida en todo momento. A mis tíos y mi prima pues siempre han estado aquí. A todos gracias, pues no hubiera podido llegar hasta aquí sin ustedes.

A mi novio, porque en buenos y malos momentos ha estado ahí conmigo. Me ha ayudado, aconsejado, y apoyado a pesar de mis locuras y de lo estresada que de vez en cuando soy.

## **Dedicatoria**

Este trabajo está dedicado a mi familia:

A mi mamá que siempre se ha tomado el tiempo para escucharme y apoyarme. Porque me ha acompañado a cada paso que he tomado para la realización y culminación de este trabajo.

A mi papá que en todo momento me ha sabido orientar y apoyar para que todo salga adelante; porque gracias a él estoy aquí ahorita terminando un trabajo y éxito más.

A mi hermano por supuesto que siempre ha sido mi cómplice para todas las locuras que se nos ocurren, por escucharme siempre, por acompañarme y estar a mi lado en todo momento.

A Andonery, pues sin él no hubiera podido yo estar aquí hoy, porque siempre ha sido mi más exigente crítico y acompañante. No sólo ha estado a nivel personal, pero también a nivel profesional apoyándome y haciendo que siempre crezca más.

## Contenido

Introducción.....	1
Objetivos.....	3
Hipótesis.....	4
1. Generalidades.....	5
1.1 Óxido de Zinc.....	5
1.1.1 Propiedades bactericidas.....	8
1.2 Óxido de cobre.....	9
1.2.1 Propiedades bactericidas.....	12
2. Desarrollo Experimental.....	14
2.1 Síntesis.....	14
2.2 Equipos utilizados para la caracterización.....	14
2.3 Método de obtención las NPs de CuO, ZnO y CuZnO.....	15
2.3.1 Óxido de zinc.....	15
2.3.2 Óxido de cobre.....	15
2.3.3 Óxido mixto.....	16
2.4 Pruebas de toxicidad.....	17
3. Resultados y Discusión.....	20
3.1 Óxido de Zinc.....	20
3.1.1 Caracterización por Difracción de Rayos X de polvos.....	20
3.1.2 Caracterización por Espectroscopía de Absorción UV-Vis.....	26
3.1.3 Caracterización por Espectroscopía Raman.....	28
3.1.4 Caracterización por Espectroscopía de Infrarrojo.....	29
3.1.5 Caracterización por Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE).....	30
3.2 Óxido de Cobre.....	33
3.2.1 Caracterización por Difracción de Rayos X de polvos.....	33
3.2.2 Caracterización por Espectroscopía de Absorción UV-Vis.....	38
3.2.3 Caracterización por Espectroscopía Raman.....	39
3.2.4 Caracterización por Espectroscopía de Infrarrojo.....	41
3.2.5 Caracterización por Resonancia Paramagnética Electrónica.....	41
3.3 Óxido mixto CuZnO.....	43
3.3.1 Caracterización por Difracción de Rayos X.....	43

3.4 Pruebas de toxicidad .....	46
4. Conclusiones .....	54
5. Bibliografía .....	55
APÉNDICE A .....	61
APÉNDICE B .....	66
APÉNDICE C .....	68

## Introducción

En los últimos tiempos se ha desarrollado una gran cantidad de investigación alrededor de los nanomateriales, es decir aquéllos en los que al menos una de sus tres dimensiones presenta un tamaño entre 1 y 100 nm. Las propiedades que exhiben estos materiales en relación a los materiales en bulto con la misma composición son únicas debido al confinamiento electrónico que se presenta al reducir el tamaño de partícula. El cambio en sus propiedades físicas y químicas hace que las nanopartículas tengan aplicaciones en áreas como la catálisis, el almacenamiento y conversión de energía, en sensores, y más recientemente en el ámbito de la medicina. Se ha podido comprobar la actividad bactericida de algunas nanopartículas contra diversas cepas causantes de infecciones y también su uso como terapia contra el cáncer.

Debido al uso indiscriminado de los antibióticos, las bacterias han desarrollado una multiresistencia a éstos, ocasionando que las terapias contra las infecciones bacterianas sean inútiles, resultando en millones de muertes al año. Se calcula que aproximadamente 70% de los patógenos bacterianos son resistentes a más de un antibiótico. Los nanomateriales han probado tener una actividad bactericida importante desde concentraciones muy pequeñas, lo que puede llegar a complementar las terapias actuales. Su toxicidad está determinada por la morfología y el tamaño de partícula principalmente; características que dependen del método de síntesis utilizado. Debido a esto es que tanto las condiciones de síntesis, así como los precursores utilizados, son de suma importancia para la obtención de nanopartículas con posible aplicación bactericida.

La síntesis de nanopartículas puede llevarse a cabo por diversos métodos actualmente ya probados. Sin embargo, siempre se busca que una síntesis se lleve a cabo en condiciones de reacción suaves, que sea rápida, sencilla y de bajo costo. En este sentido la mecano-síntesis es un proceso sencillo que se lleva a cabo a partir de la molienda de los precursores, sin la necesidad de usar equipamiento muy costoso. Además, este procedimiento de síntesis es amigable con el ambiente debido a que no requiere necesariamente del uso de disolventes. Sin embargo, la presencia de disolventes durante el proceso mecanoquímico puede afectar la forma y tamaño del producto final, que repercutirá en su futura aplicación. Este método se ha

empleado para la obtención de óxidos metálicos, entre ellos el CuO y el ZnO. Los óxidos de estos metales a nivel nanométrico han sido ampliamente investigados con aplicaciones en distintas áreas. Además, ambos compuestos han presentado actividad bactericida elevada contra bacterias Gram (+) y Gram (-).

Este trabajo de tesis está enfocada a la síntesis de nanopartículas de CuO y ZnO, así como del óxido mixto CuZnO, a partir de la molienda de sus respectivas sales de acetato, con hidróxido de potasio (KOH), en presencia de diferentes disolventes próticos y apróticos. Las nanopartículas fueron caracterizadas por difracción de rayos X de polvos, microscopía electrónica de transmisión, espectroscopía de absorción UV-Visible, FT-IR, Raman y por espectroscopía de resonancia paramagnética electrónica. Finalmente se presenta un estudio preliminar de las propiedades bactericidas de las nanopartículas de CuO y de ZnO, frente a dos cepas de bacterias Gram (+) *Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*, y dos cepas de bacterias Gram (-) *Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*.

## **Objetivos**

### **Objetivo General**

- ❖ Obtener nanopartículas de CuO, ZnO y CuZnO por mecano-síntesis en presencia de diferentes disolventes.

### **Objetivos Específicos**

- ❖ Obtener nanopartículas de CuO, ZnO y CuZnO en presencia de DMF, DMSO, agua y etanol
- ❖ Caracterizar las nanopartículas obtenidas a partir de diferentes técnicas espectroscópicas.
- ❖ Llevar a cabo un estudio preliminar de las propiedades bactericidas de las nanopartículas de CuO y ZnO.

## Hipótesis

- ❖ El uso de disolventes en la síntesis mecanoquímica de nanopartículas de ZnO, CuO, así como CuZnO, influirá en la forma y en la generación de defectos presentes en la red cristalina de los óxidos, lo que determinará sus propiedades bactericidas.

# 1. Generalidades

## 1.1 Óxido de Zinc

El óxido de zinc es un semiconductor II-VI de brecha de energía amplia (3.37eV) y una energía de enlace de excitón de 60 meV. Es un compuesto que puede presentar tres estructuras cristalinas: una hexagonal (tipo wurtzita) y dos cúbicas, blenda y sal de Rochelle. La blenda de zinc sólo es estable cuando crece sobre sustratos cúbicos; mientras que la sal de Rochelle sólo se logra obtener a altas presiones. La fase termodinámicamente más estable en condiciones normales es la wurtzita.

La estructura hexagonal tipo wurtzita tiene una celda unitaria con dos parámetros de red  $a$  y  $c$  con  $c/a$  igual a 1.633 en un cristal ideal. Esta estructura pertenece al grupo  $C_{6v}^4$  en la notación Schoenflies y  $P6_3mc$  en la notación Hermann-Mauguin. La Figura 1 muestra la estructura hexagonal de la wurtzita en donde se observa que un anión está rodeado de 4 cationes en las esquinas de un tetraedro, y viceversa. En un cristal real hay una desviación de los parámetros ideales, ya que la razón  $c/a$  suele ser más pequeña.

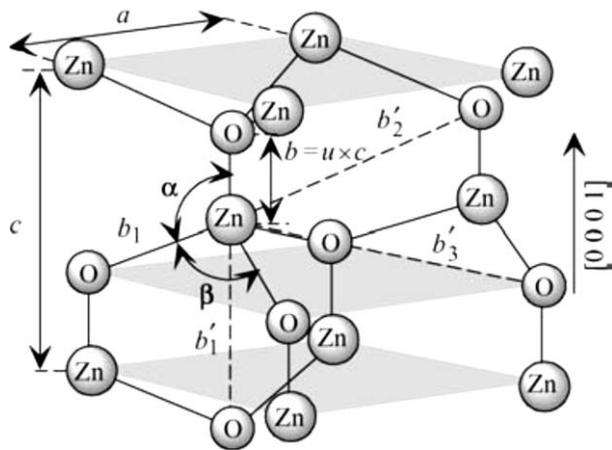


Figura 1. Representación de la estructura tipo wurtzita del ZnO con constantes de red  $A$  en el plano basal y  $c$  en la dirección basal.

El ZnO es un compuesto de color blanco sobre el cual se ha desarrollado mucha investigación debido a sus propiedades eléctricas, químicas y ópticas. Hoy en día se le ha dado importancia en cuanto a sus síntesis a nivel nanométrico, ya que su aplicación va desde celdas solares, electrodos, sensores de gas y como catalizador, entre otros. Los parámetros más importantes a controlar son la morfología y el

tamaño; a partir de estas dos características las nanopartículas podrán tener diferentes propiedades de acuerdo a la aplicación deseada<sup>(2, 3)</sup>.

Existen diversos métodos de síntesis informados en la literatura. Sin embargo, la tendencia es buscar siempre métodos que sean de bajo costo, sencillos, y que se lleven a cabo en condiciones de reacción suaves. Debido a que la morfología y el tamaño definirá la aplicación de las nanopartículas obtenidas, los parámetros a modificar, además del método de síntesis, son los precursores y con ello las condiciones de trabajo. En la Tabla 1 se presentan algunos métodos que se han utilizado para sintetizar nanopartículas de óxido de zinc, incluyendo los precursores y condiciones de síntesis, la morfología obtenida, así como el tamaño final.

Tabla 1. Métodos de síntesis de nanopartículas de ZnO informados en la literatura

Método	Precursores	Condiciones de síntesis	Tamaño en nm	Morfología
Proceso mecanoquímico (empleando molino de bolas)	ZnCl <sub>2</sub> , Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , NaCl	Tratamiento 2h a 600°C	21	Esferoide <sup>(4)</sup>
		Tratamiento 0.5h de 300-450°C	25-60	Esférica <sup>(5)</sup>
		Tratamiento 0.5h a 400°C	20-30	Esférica <sup>(6)</sup>
		Tratamiento 0.5h a 250-400°C	27	Esférica <sup>(7)</sup>
	ZnCl <sub>2</sub> , ácido oxálico	Secado 1h a 100°C Tratamiento 1h a 450°C	20-50	Esferoide <sup>(8)</sup>
Precipitación	Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , KOH en solución acuosa	Secado a 120°C	190-531	Esferoide <sup>(9)</sup>
	Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> (NH <sub>4</sub> )CO <sub>3</sub> , PEG en solución acuosa	Secado 12h a 100°C. Tratamiento 3h a 450°C	30-40	Esferoide <sup>(10)</sup>

Tabla 1. Continuación

Método	Precursores	Condiciones de síntesis	Tamaño en nm	Morfología
Precipitación	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub>	Secado 24h a 80°C. Tratamiento 2h a 600°C	50	Polimorfo <sup>(11)</sup>
	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , NaOH	Secado 2h a 100°C	40	Esférica <sup>(12)</sup>
	ZnSO <sub>4</sub> , NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	Secado a 100°C. Tratamiento 2h de 300-500°C	9.4	Esferoide <sup>(13)</sup>
	Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , NH <sub>3</sub> en solución acuosa	Secado 10h a 60°C	Diámetro 200 Largo 150	Bastón <sup>(14)</sup>
	ZnSO <sub>4</sub> , NH <sub>4</sub> OH, NH <sub>4</sub> HCO <sub>3</sub>	Secado 12h a 100°C. Tratamiento 2h a 400°C	100-1000	Hojuela <sup>(15)</sup>
Sol- gel	Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , ácido oxálico, etanol	Secado 24h a 80°C. Tratamiento 500°C	Diámetro menor a 100	Bastón <sup>(16)</sup>
	Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , ácido oxálico, etanol	Secado 20h a 80°C- Tratamiento 4h a 650°C	20	Esférica <sup>(17)</sup>
	2-etilhexanoato de zinc, 2-propanol, tetrametilamonio	Secado a 60°C	20-50	Prisma <sup>(18)</sup>
	Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , dietanolamina, etanol	Tratamiento 2h a 500°C	Diámetro 70	Nanotubo <sup>(19)</sup>

Tabla 1. Continuación

Método	Precursores	Condiciones de síntesis	Tamaño en nm	Morfología
Emulsión	Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , KOH, NaOH, ciclohexano, NP3, NP6	Secado a 120°C	164-955	Elipsoide, hojuela y bastón <sup>(20)</sup>
Microemulsión	Heptano, hexanol, Triton X-100, Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , NaOH, PEG400	Secado a 60°C. Calcinación 3h a 300°C	27-40	Esférica, aguja <sup>(2)</sup>
	Zn(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , ácido oxálico, isooctano, benceno, etanol, cloroformo, acetona, metanol	Tratamiento 3h a 300°C	11-13	Esférica <sup>(21)</sup>
	C <sub>20</sub> H <sub>37</sub> NaO <sub>7</sub> S, aerosol OT, n- heptano, Zn(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub> , NaOH	Secado 1h a 100°C. Tratamiento 3h de 300-500°C	15-72	Esférica, bastón <sup>(22)</sup>

### 1.1.1 Propiedades bactericidas

El óxido de zinc ha sido utilizado desde hace tiempo en productos dermatológicos a nivel industrial por sus propiedades bactericidas, siendo un compuesto altamente compatible con la piel humana<sup>(23)</sup>. También se ha reportado su uso en pintura en hospitales para reducir las infecciones nosocomiales. A pesar de ser un compuesto conocido y estudiado en el área de medicina, los mecanismos por los cuales las nanopartículas de ZnO interactúan con las bacterias no están del todo entendidos.

El efecto bactericida del ZnO es principalmente debido a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS por sus siglas en inglés) por la presencia de moléculas de agua en la superficie de las nanopartículas que llevan a la generación de radicales

libres de OH y de oxígeno<sup>(3)</sup>. Las nanopartículas también pueden liberar iones al interior de la célula, lo que genera una interferencia con las funciones celulares. Estos mecanismos se presentan cuando las nanopartículas son lo suficientemente pequeñas como para introducirse en las bacterias. Pero cuando esto no es posible, también pueden suceder interacciones electrostáticas por las cuales las nanopartículas se pueden unir a la membrana bacteriana interfiriendo con sus funciones normales. La interacción puede ser hidrofóbica, electrostática y/o van der Waals.

Debido a sus propiedades fotocatalíticas, también se ha descubierto que cuando el compuesto se expone a la luz ultravioleta, sus propiedades bactericidas aumentan<sup>(3)</sup>. Se ha probado su efecto en bacterias Gram (+) y Gram (-) así como en esporas, las cuales son muy difíciles de erradicar por los medios actualmente conocidos. Se ha probado un efecto positivo contra *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* e incluso contra cepas altamente resistentes causantes de enfermedades graves como *Campylobacter jejuni* (enteritis, síndrome de Guillian-Barré), *Shigella dysenteriae* (gastroenteritis aguda)<sup>(24, 25)</sup>. Se ha logrado probar, con resultados favorables, contra bacterias que se encuentran en el agua y que generan cerca de 12 millones de muertes al año (OMS 2012) como *Shigella dysenteriae*, *Salmonella tiphy*, *Vibrio cholerae* y *Escherichia coli*<sup>(26)</sup>.

## 1.2 Óxido de cobre

El óxido de cobre, también conocido como tenorita, es un semiconductor tipo p con una brecha de energía de 1.7-2.2eV. Pertenece al grupo espacial C2/c ( $C_{2h}^6$ ), teniendo una simetría monoclinica. En la Figura 2 se muestra la celda unitaria del CuO, donde se puede observar que cada átomo de cobre está localizado en el centro de un paralelogramo en donde cada esquina está ocupada por un átomo de oxígeno. Por otro lado, cada átomo de oxígeno está coordinado por 4 átomos de cobre en una estructura tetraédrica distorsionada.

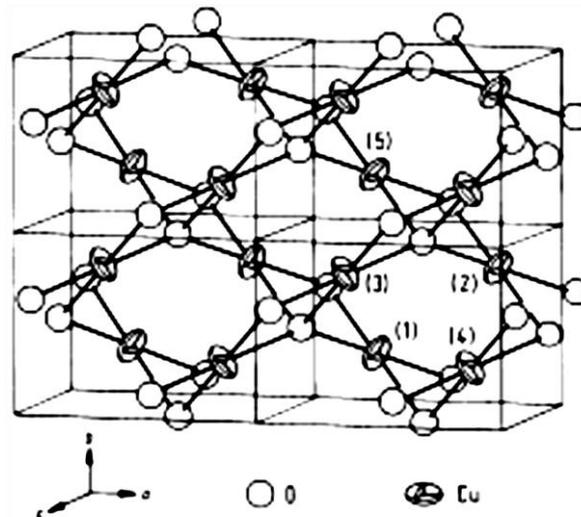


Figura 2. Representación de la estructura monoclinica del CuO

Este compuesto ha sido ampliamente estudiado por mucho tiempo debido a su amplia gama de aplicaciones. Se ha utilizado como sensor de gases, para conversión de energía solar, en baterías, y su uso más conocido es como material catalítico debido a su gran actividad y selectividad en procesos de oxidación y reducción. La investigación alrededor de este óxido se ha enfocado en los últimos tiempos en mejorar sus propiedades superconductoras y de magnetoresistencia. Los métodos de síntesis más desarrollados buscan siempre ser de bajo costo, con una alta eficiencia para obtener productos de gran calidad.

En la Tabla 2 se presentan algunos métodos de síntesis informados en la literatura para obtener CuO, mencionando los precursores y las condiciones de síntesis; parámetros que son de suma importancia para poder controlar el tamaño y la morfología de las nanopartículas resultantes.

Tabla 2. Métodos de síntesis de nanopartículas de CuO informados en la literatura.

Método	Precursores	Condiciones de síntesis	Tamaño en nm	Morfología
Solución	n-heptano, alcohol, CuCl <sub>2</sub> , NaBH <sub>4</sub>	25°C por 12h	60	Esférica <sup>(27)</sup>
	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , urea, trietilendiamina	Secado a 100°C por 24h	20	Bastón <sup>(28)</sup>
	CuCl <sub>2</sub> , NaOH, HCl	Secado por congelación	4.8-7.8	Irregular <sup>(29)</sup>
	CuCl <sub>2</sub> , KOH, agua	Agitación por 8h, Secado a 150°C, calcinación a 450°C por 4h	32	Esferoide <sup>(30)</sup>
	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , NaOH, urea	1h, secado en horno	largo 450nm ancho 200nm	Ovoide <sup>(31)</sup>
	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , NaOH	80°C por 30 min	-	Alargada <sup>(32)</sup>
	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O, etanol, NaOH	77-82°C, envejecido	5-15	Bastón <sup>(33)</sup>
	Cu(CH <sub>3</sub> COOH) <sub>2</sub> , etanol	100-900°C por 1-5h	20	Película <sup>(34)</sup>
Tratamiento térmico	Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , CuSO <sub>4</sub> , metanol	70°C 6-7h	15-30	Esférica <sup>(35)</sup>
	CuC <sub>8</sub> H <sub>14</sub> N <sub>4</sub> O <sub>4</sub>		28.9	Esferoide
	Acetilacetonato de cobre	431.5°C-705°C	3.7-7.6	Esférica <sup>(36)</sup>
Mecanoquímico	CuCl <sub>2</sub> , NaOH	20 min, secado al aire	20	Esférica

Tabla 2. Continuación

Método	Precusores	Condiciones de síntesis	Tamaño en nm	Morfología
Síntesis con productos naturales	H <sub>2</sub> O, CuSO <sub>4</sub> , extracto de alga ( <i>Bifurcaria bifurcata</i> )	100-120°C, 24h	5-45	Esferoide <sup>(37)</sup>
	CuCl <sub>2</sub> , extracto de hojas ( <i>Euphoria ésula</i> )	20 min	2-110	Esferoide <sup>(38)</sup>
	CuSO <sub>4</sub> , extracto de hojas ( <i>Lawsonia inermis</i> )	Calcinación	43-83	Esferoide <sup>(39)</sup>
	Cu(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> , <i>Sterum hirsutum</i> (hongo)	Incubación a temperatura ambiente por 7 días	5-20	Esférica <sup>(40)</sup>

### 1.2.1 Propiedades bactericidas

El mecanismo que explica la actividad antibacteriana del cobre no está totalmente dilucidado. Un elemento crucial en la actividad antibacteriana es la capacidad del cobre para ceder y aceptar electrones en un proceso continuo<sup>(29)</sup>. Algunos estudios sugieren que el cobre, en concentraciones elevadas, tiene un efecto tóxico sobre las bacterias debido a la liberación de radicales de hidroperóxido. Los iones de cobre potencialmente podrían sustituir iones esenciales para el metabolismo bacteriano como el hierro, interfiriendo inicialmente con la función de la membrana celular y luego a nivel del citoplasma alterando la síntesis proteica, ya sea inhibiendo la formación de proteínas o provocando la síntesis de proteínas disfuncionales, alterando la actividad de enzimas esenciales para el metabolismo bacteriano<sup>(41)</sup>.

Por otro lado, el cobre también ha demostrado capacidad para destruir virus de gran importancia médica, entre ellos virus influenza A y virus de inmunodeficiencia humana, VIH, en concentraciones tan bajas como 0.16 a 1.6 mM. La elaboración de filtros con óxido de cobre ha permitido eliminar en forma eficiente el riesgo de

transmisión de VIH a través de fluidos. Los mecanismos involucrados en la actividad antiviral son la inactivación de una enzima proteasa importante para la replicación viral y daño a nivel de la envoltura fosfolipídica<sup>(41)</sup>.

De la misma manera, diferentes especies de hongos, entre ellas *Candida albicans*, patógeno importante en pacientes inmunodeprimidos, son inhibidas en su crecimiento y luego destruidas en contacto con superficies de cobre. Estudios recientes indican que la actividad antifúngica ocurre mediante un proceso complejo denominado “muerte por contacto”, en el cual se produce fundamentalmente un daño a la membrana citoplasmática la cual se despolariza; no está claro si el daño afecta a las proteínas o los lípidos de la membrana. Esto facilita la entrada de iones de cobre a la célula, amplificando el daño y produce subsecuentemente un aumento en el estrés oxidativo sin apreciar daño aparente del ADN de estas células<sup>(41)</sup>.

## 2. Desarrollo Experimental

En esta sección se describe la metodología empleada para la obtención de las nanopartículas de CuO, ZnO y el óxido mixto CuZnO; así como las técnicas analíticas utilizadas para la caracterización de las mismas.

### 2.1 Síntesis

Los reactivos empleados en las síntesis de las nanopartículas objeto de estudio de este trabajo de tesis fueron los siguientes:

- Acetato de cobre  $\text{Cu}(\text{CO}_2\text{CH}_3)_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$  98%+ Sigma-Aldrich
- Acetato de zinc  $\text{Zn}(\text{CO}_2\text{CH}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  98% Sigma-Aldrich
- KOH J.T. Baker 90%
- Dimetil Sulfóxido J.T. Baker 100% (DMSO)
- N, N-dimetilformamida Sigma-Aldrich 99.8% (DMF)
- Agua desionizada
- Etanol Sigma-Aldrich  $\geq 99.5\%$
- Acetona Sigma-Aldrich  $\geq 99.5\%$

### 2.2 Equipos utilizados para la caracterización

- Espectrofotómetro UV-Vis Ocean Optics USB2000 del laboratorio de Materiales y Nanotecnología del Centro de Ciencias Aplicadas y Desarrollo Tecnológico (CCADET), UNAM. Los espectros se obtuvieron a temperatura ambiente con un barrido de 178nm a 880nm
- Espectrofotómetro de dispersión Raman WITec. Láser Nd: YVO<sub>4</sub> de 532nm con un aumento de 100x del Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica (LUCE) del CCADET, UNAM. La potencia del láser se varió de acuerdo a la muestra.
- Difractómetro de Rayos X Siemens D5000. Los difractogramas se obtuvieron con una radiación Cu K $\alpha$  ( $\lambda=1.5406 \text{ \AA}$ ) en el laboratorio de Estado Sólido de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, UNAM
- Espectrómetro de Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE) Elexsys E500 Bruker en banda X de la Unidad de Servicios de Apoyo a la Investigación y la

Industria de la Facultad de Química, UNAM. Los espectros de RPE se obtuvieron a temperatura ambiente.

- Espectrómetro de Absorción Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR por sus siglas en inglés) Thermo Nexus del Laboratorio Universitario de Caracterización Espectroscópica (LUCE) del CCADET, UNAM.
- Microscopio Electrónico de Transmisión Jeol JM 1010 del Laboratorio de Microscopía Electrónica del Edificio Tlahuizcalpan de la Facultad de Ciencias, UNAM. El MET se operó a 80kV

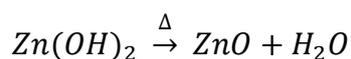
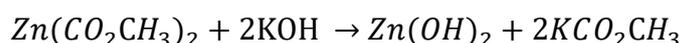
### 2.3 Método de obtención las NPs de CuO, ZnO y CuZnO

Se obtuvieron las nanopartículas de los óxidos a partir de reacciones sólido-sólido, partiendo de las sales correspondientes de acetatos en presencia de KOH, y uno de los disolventes siguientes: DMSO, DMF, agua desionizada y etanol. Se eligieron estos disolventes debido a su polaridad.

#### 2.3.1 Óxido de zinc

Se pesaron 2.6793 g de la sal de acetato de zinc (II), lo que equivale a  $10^{-2}$  mol, y 1.1222 g de KOH los cuales fueron molidos con 5 mL del disolvente en cuestión, en un mortero de ágata, durante aproximadamente 30 minutos. El producto obtenido se lavó 4 veces con agua destilada y 2 veces con acetona, separando el precipitado por centrifugación a 3500 rpm por 10 minutos en cada caso. Finalmente, el producto obtenido se dejó secar al aire y se trató térmicamente en una mufla a 400 °C por dos horas.

La reacción que se lleva a cabo es la siguiente

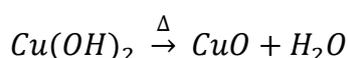
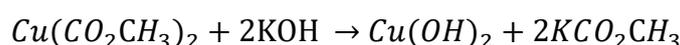


#### 2.3.2 Óxido de cobre

Se pesaron 2.2392 g de la sal de acetato de cobre (II), equivalente a  $10^{-2}$  mol, y se molieron con 1.1222 g de KOH en presencia de 5 mL de disolvente (DMSO, DMF,

agua desionizada o etanol) en un mortero de ágata. La molienda se llevó a cabo alrededor de 30 minutos, tiempo después del cual no se observó ningún cambio. El producto obtenido se lavó 4 veces con agua destilada y 2 veces con acetona, separando el precipitado por centrifugación a 3500 rpm por 10 minutos en cada caso. Finalmente, el producto obtenido se dejó secar al aire y se trató térmicamente en una mufla a 600 °C por dos horas.

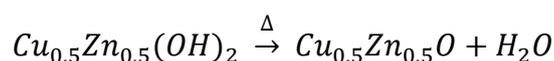
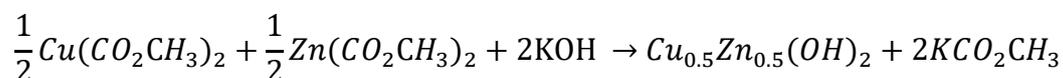
La reacción que se lleva a cabo es la siguiente



### 2.3.3 Óxido mixto

Se pesaron 1.3397 g de la sal de acetato de zinc (0.005 mol) y 1.1196 g de la sal de acetato de cobre (0.005 mol), las cuales se molieron con 1.1222 g de KOH en presencia de 5 mL de disolvente (DMSO, DMF, agua desionizada o etanol) en un mortero de ágata. La molienda se llevó a cabo alrededor de 30 minutos, tiempo después del cual no se observó ningún cambio. El producto obtenido se lavó 4 veces con agua destilada y 2 veces con acetona, separando el precipitado por centrifugación a 3500 rpm por 10 minutos en cada caso. Finalmente, el producto obtenido se dejó secar al aire y se trató térmicamente en una mufla a 600 °C por dos horas.

La reacción que se lleva a cabo es la siguiente



## 2.4 Pruebas de toxicidad

Los reactivos y equipo utilizados fueron:

- Cajas Petri
- Asas de vidrio en L estériles
- Discos de papel filtro
- Tubos de 1.5 y 2 mL
- Incubadora Cleaver
- Esterilizador UV
- Placas de 96 pozos
- Agar Tripticasa-Soya (TSA)
- Cepas de bacterias: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis* (APÉNDICE A)

Se llevó a cabo la prueba de toxicidad con las nanopartículas de ZnO y CuO sintetizadas en presencia de DMSO, para determinar la concentración mínima inhibitoria. El experimento se llevó a cabo en placas con 96 pozos por triplicado. Se utilizaron 2 cepas de bacterias Gram (-) (*Escherichia coli* y *Pseudomonas aeruginosa*) y 2 cepas Gram (+) (*Staphylococcus epidermidis* y *Staphylococcus aureus*). Se utilizaron 3 filas de 12 pozos cada una para cada cepa; de los cuales 3 pozos se utilizaron como controles. El pozo 10 fue el control doble negativo (=) que sólo contiene medio de cultivo líquido, el pozo 11 fue el control negativo (-) que contiene medio de cultivo y bacterias, y el pozo 12 el control positivo que contiene clorhexidina (2%), medio de cultivo y bacterias.

Se pesaron 0.3 g de las NPs de ZnO o de CuO y se dispersaron en 1 mL de medio de cultivo. Se dispersaron con ayuda de un vortex. Se agregaron 200 µL de la dispersión de nanopartículas al pozo 1, mientras que al resto de los pozos (1-9) se agregaron 100 µL de medio de cultivo. Posteriormente se tomaron 100 µL del pozo 1 y se agregan al pozo 2, se homogeniza y se vuelven a tomar 100 µL para agregarlos al pozo 3; el proceso se repite hasta el pozo 9 al cual se le quitan 100 µL; esto con el objetivo de tener diferentes diluciones de las NPs. Se agregaron finalmente 80 µL de medio de cultivo y 20 µL de suspensión de bacterias ( $10^3$  UFC) a todos los pozos. Las

placas se introdujeron a una incubadora con agitación a una temperatura de 37 °C por 24 horas. Finalmente se tomaron 100 µL de la suspensión y se sembraron en placas de agar (*Trypticase-Soya*) y se incubaron por 24 horas a 37 °C. El diagrama de



la placa se muestra a continuación con la concentración final de la dispersión de NPs de ZnO en mg/mL.

Se realizaron antibiogramas en donde se sembraron cada una de las cepas evaluadas en una caja de Petri en donde se colocaron 4 discos los cuales fueron sumergidos:

- 1: dispersión de nanopartículas de CuO sintetizadas en presencia de DMSO
- 2: dispersión de nanopartículas de ZnO sintetizadas en presencia de DMSO
- 3: medio de cultivo (control negativo)
- 4: solución de clorhexidina al 2% (control positivo)

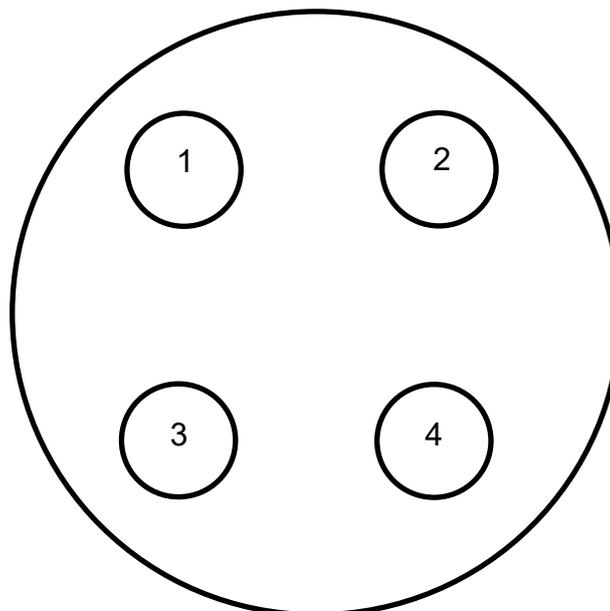


Figura 3. Esquema del antibiograma para las 4 cepas de bacterias

También se realizaron los antibiogramas con todas las cepas utilizando dispersiones de los productos de ZnO sintetizados en este trabajo y el producto comercial, con el mismo procedimiento antes mencionado.

### **3. Resultados y Discusión**

En esta sección se presentan y discuten los resultados obtenidos a partir de las diferentes técnicas analíticas empleadas en la caracterización de los sistemas obtenidos.

#### **3.1 Óxido de Zinc**

##### **3.1.1 Caracterización por Difracción de Rayos X de polvos**

El producto obtenido de la reacción descrita en la Sección 2.3.1 se caracterizó en primer lugar por la técnica de difracción de rayos X de polvo (DRX). En la Figura 4 se muestra el difractograma del ZnO obtenido en presencia de DMSO posterior al tratamiento térmico de 400 °C por 2 horas, como ejemplo. Se puede observar que todos los picos corresponden al ZnO en fase hexagonal (tarjeta JCPDS 89-7102) y que no se observan picos correspondientes a impurezas. En la Figura 5 se presentan los difractogramas de todos los productos obtenidos en presencia de los distintos disolventes. En todos los casos se observan los mismos picos correspondientes a la estructura hexagonal.

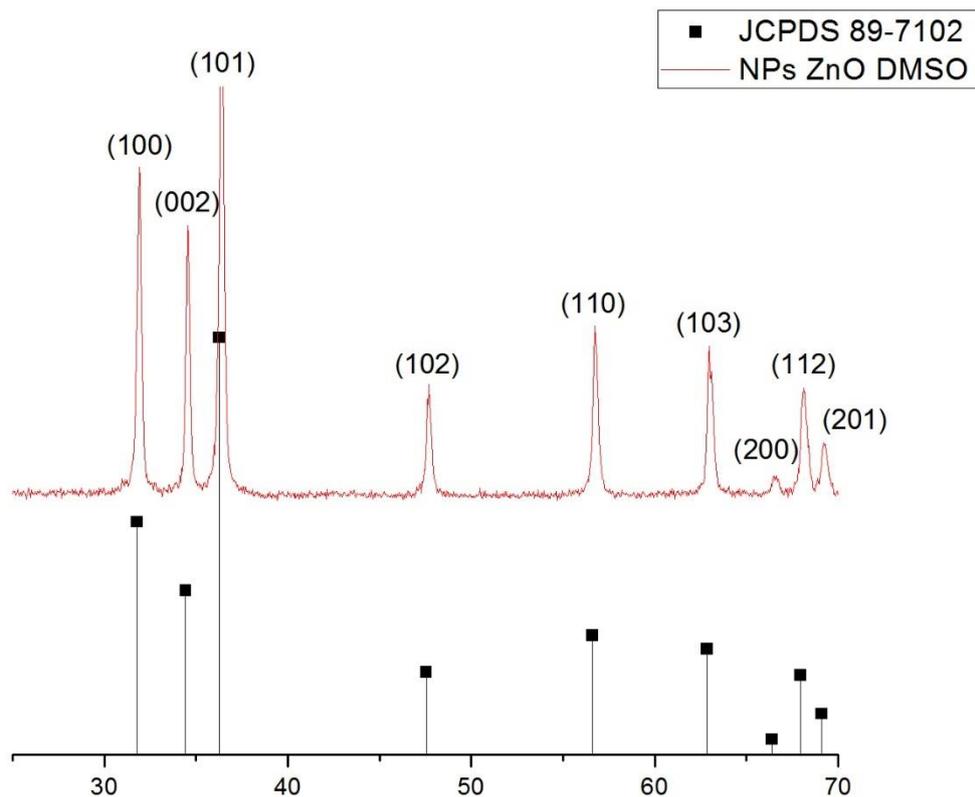


Figura 4. Difractograma de las nanopartículas de ZnO sintetizadas en presencia de DMSO.

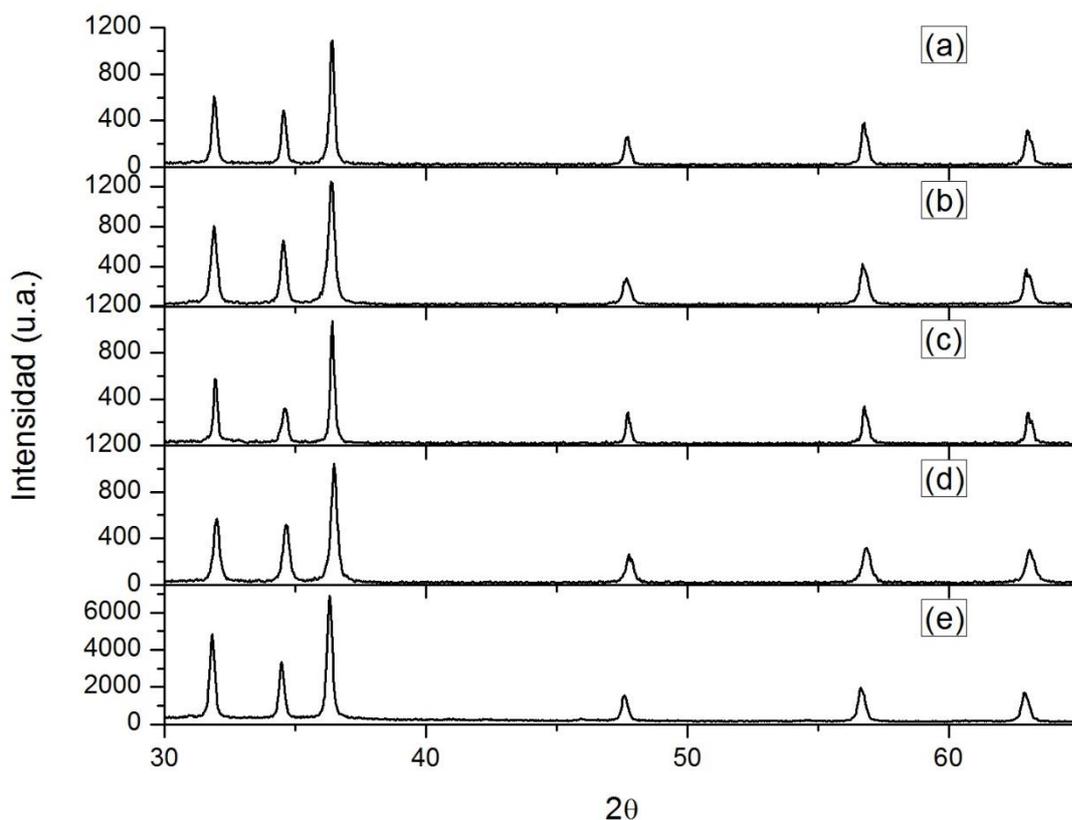


Figura 5. Difractogramas de nanopartículas de ZnO sintetizadas en presencia de (a) DMF, (b) DMSO, (c) etanol, (d) agua y (e) sin disolvente

En la Figura 6 se presenta el pico correspondiente a la reflexión del plano (101) en donde se observa que, dependiendo del disolvente empleado en la síntesis, hay un desplazamiento sobre  $2\theta$ .

Se llevó a cabo el análisis de dicho desplazamiento tomando los picos del producto sintetizado en presencia de DMF como referencia. Lo que se observa es que el producto de ZnO/Agua es el que se encuentra más desplazado hacia valores mayores de  $2\theta$ ; seguido por ZnO/Etanol, el cual también se encuentra a valores más grandes de  $2\theta$  en comparación con el ZnO/DMF. En el caso del ZnO/DMSO se observa lo contrario, siempre posicionado hacia valores menores de  $2\theta$ . Esto se explica a partir de las propiedades de los disolventes, ya que el agua y el etanol son disolventes polares próticos, y por tanto sus productos serían similares entre sí. Mientras que el DMSO y DMF, al ser disolventes polares apróticos, generan productos parecidos. Para poder llevar a cabo un análisis similar para las intensidades de los picos, lo que se hizo fue generar una línea base para cada difractograma y de ahí calcular las

intensidades de cada reflexión. De esta manera los difractogramas quedan normalizados y pueden compararse entre sí. Al analizar las intensidades obtenidas, se observa que el más intenso en la mayoría de las reflexiones es el de ZnO/DMSO, seguido por el ZnO/DMF y el ZnO/Agua, siendo el de menor intensidad el ZnO/Etanol. Con el fin de examinar mejor el efecto del disolvente sobre la síntesis del óxido de zinc, se llevó a cabo la síntesis de la misma manera antes mencionada sin utilizar disolvente. Se observa que el producto sin disolvente se encuentra siempre hasta el extremo izquierdo en el difractograma.

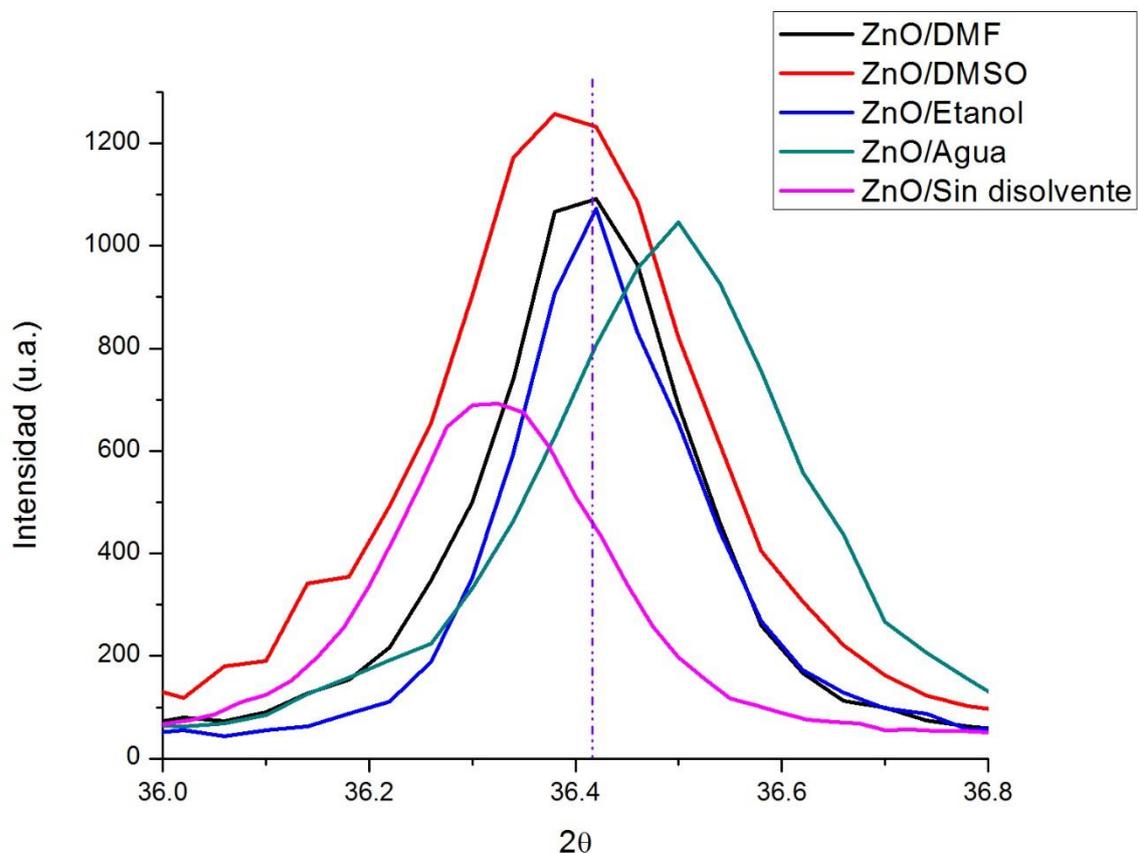


Figura 6. Reflexión (101) de las nanopartículas de ZnO sintetizadas en esta tesis

A partir de la ecuación de Scherrer-Warren se calculó el diámetro promedio de partícula para cada uno de los productos obtenidos:

$$D = \frac{k\lambda}{\beta_D \theta}$$

Donde  $D$  es el tamaño de partícula (en nm),  $\lambda$  es la longitud de onda incidente ( $\text{CuK}\alpha=1.54056 \text{ \AA}$ ),  $k$  es una constante con valor de 0.94,  $\beta_D$  es el ancho del pico a la mitad de la máxima intensidad y  $\theta$  es la posición del pico. Se calculó el tamaño a partir de cada pico del difractograma y después de eliminar los valores más altos y los más bajos obtenidos, se calculó el promedio y su desviación estándar. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 3, donde se puede observar que el tamaño promedio es de alrededor de 32 nm para todas las NPs de ZnO.

Tabla 3. Tamaño de partícula de ZnO.

Reflexión	Tamaño de partícula (nm)				
	ZnO/DMF	ZnO/DMSO	ZnO/Etanol	ZnO/Agua	ZnO/Sin disolvente
100	37.7	37.7	46.7	37.7	36.2
002	40.2	40.2	31.0	40.2	37.0
101	40.1	40.1	45.5	40.1	35.5
102	35.1	35.1	43.1	35.1	29.7
110	31.3	31.3	35.3	31.4	27.9
103	28.5	28.5	31.8	28.5	26.0
200	17.8	17.8	31.6	17.8	
112	29.5	29.5	31.5	29.6	
201	27.5	27.5	28.4	27.5	
Tamaño promedio	31.6	31.6	32.2	31.6	32.3
Desviación estándar	4.0	4.0	1.73	4.0	4.0

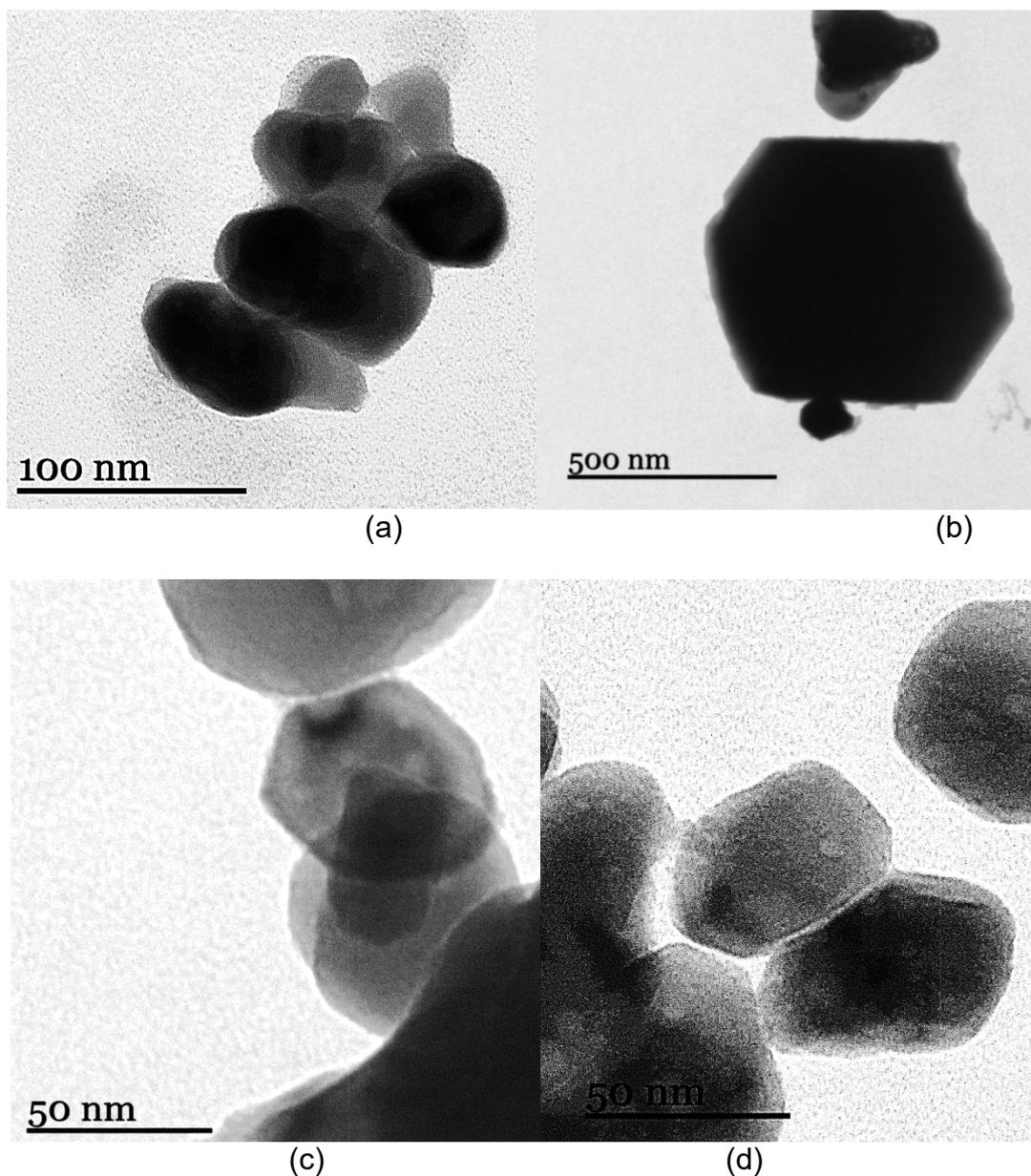


Figura 7. Micrografías obtenidas por MET de las NPs de ZnO sintetizadas en presencia de (a) agua, (b) etanol, (c) DMF y (d) DMSO

En la Figura 7 se observan las micrografías obtenidas por Microscopía Electrónica de Transmisión de las nanopartículas de óxido de zinc sintetizadas en presencia de los diferentes disolventes utilizados. Se puede observar que en el caso de las NPs ZnO obtenidas en presencia de agua y etanol se tiene la formación de cúmulos con formas poligonales y bordes definidos, éstas presentan tamaños que van de 74.2 nm x 50 nm, Figura 7 (a), a 624 nm X 700 nm para el cúmulo más grande, Figura 7 (b). Por otro lado, las NPs sintetizadas en presencia de DMF, Figura 7 (c), y DMSO, Figura 7 (d), presentan cúmulos de menor tamaño e incluso nanopartículas aisladas con tamaños que están alrededor de 46 nm X 28 nm y de 35 nm X 57 nm,

respectivamente. En el caso de las NPs de ZnO/DMF se observan formas hexagonales.

### 3.1.2 Caracterización por Espectroscopía de Absorción UV-Vis

Los espectros de absorción electrónica en el UV-Visible de las NPs de ZnO obtenidas en este trabajo de tesis se presentan a continuación en la Figura 8.

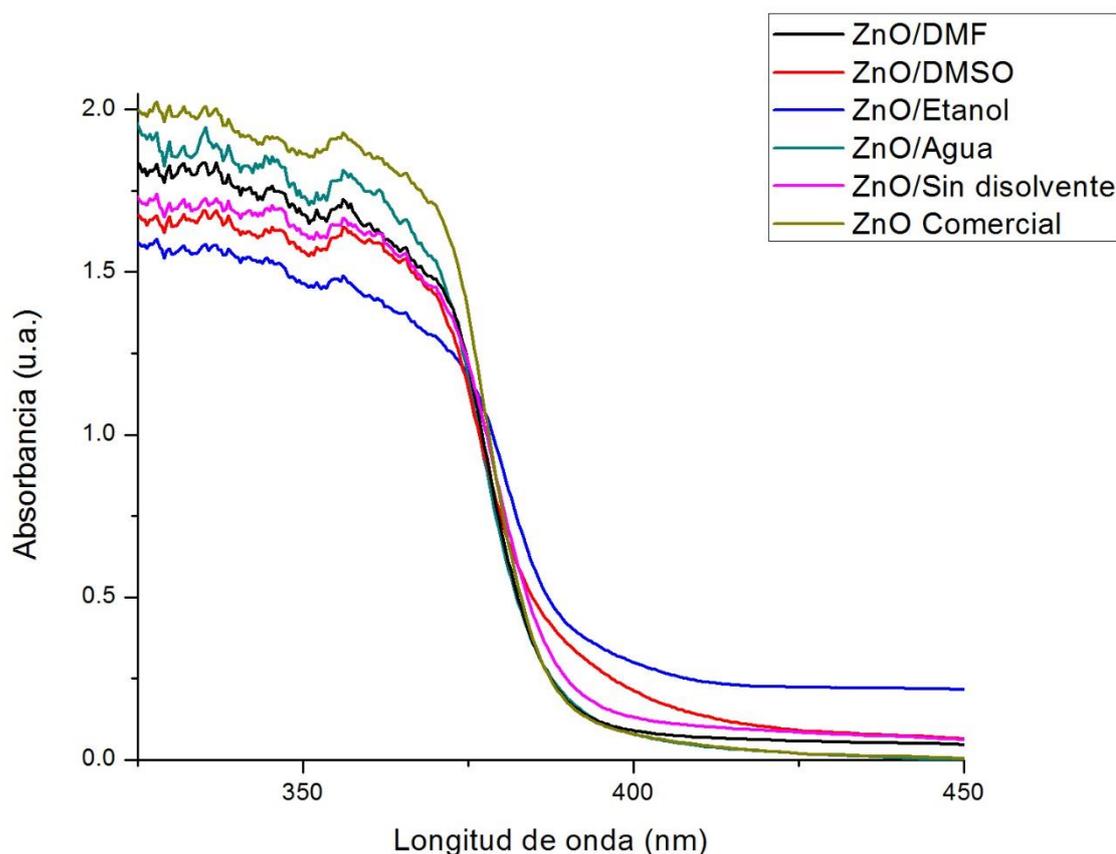


Figura 8. Espectros de Absorción UV-Vis de las NPs de ZnO obtenidos por la técnica de Reflectancia Difusa

A partir de estos espectros se llevó a cabo el cálculo del valor de la brecha de energía óptico para cada producto utilizando el método de Tauc. La fórmula empleada es:

$$(\alpha h\nu)^2 = A(h\nu - E_g)$$

Donde  $E_g$  es el valor de la brecha de energía en eV,  $h$  es la constante de Planck equivalente a  $4.14 \cdot 10^{-15}$  eVs,  $\alpha$  es el coeficiente de absorción y  $\nu$  es la frecuencia del fotón. Se grafica  $(\alpha h\nu)^2$ , a partir de los valores de absorbancia, contra la energía del

fotón incidente, a partir de la longitud de onda. Se utiliza a la segunda potencia debido a que el ZnO permite transiciones directas. La gráfica resultante presenta una región lineal, que sigue de manera exponencial hasta llegar a cero a bajas energías. El valor de brecha de energía se obtiene de manera directa en donde intersectan las tangentes a las curvas de cada espectro<sup>(42)</sup>. En la Figura 9 se presenta de forma ilustrativa la gráfica de Tauc del espectro del ZnO/DMSO en comparación con su espectro de absorción. Los valores del borde de absorción se presentan en la Tabla 4 para cada compuesto, los cuales presentan un valor de 3.2 eV.

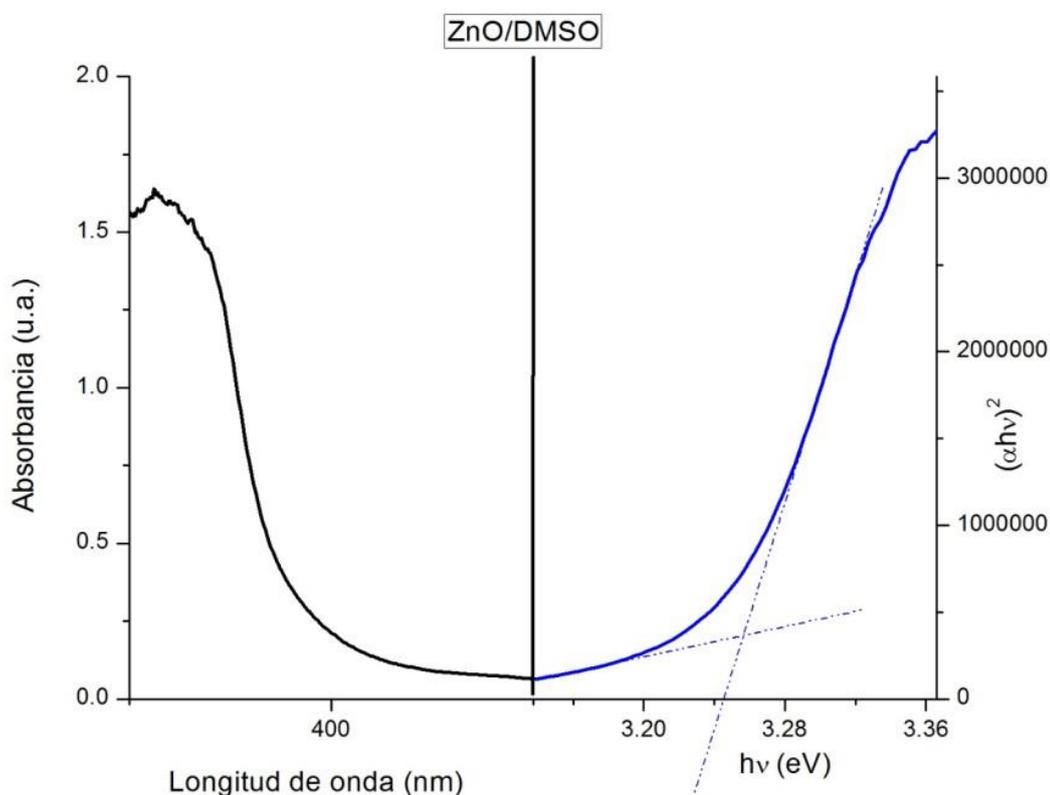


Figura 9. Espectro de absorción UV-Vis (izquierda) y gráfica de Tauc (derecha) para ZnO/DMSO

Tabla 4. Valores aproximados de brecha de energía óptica

Muestra	Brecha de energía (eV)
ZnO/Sin disolvente	3.24
ZnO/Agua	3.25
ZnO/Etanol	3.21
ZnO/DMSO	3.24
ZnO/DMF	3.25

### 3.1.3 Caracterización por Espectroscopía Raman

La dispersión Raman es la luz dispersada de manera inelástica por parte de los fonones ópticos. Para un cristal perfecto de ZnO, sólo los fonones ópticos están involucrados en la dispersión Raman de primer orden. La teoría predice la existencia de los siguientes modos ópticos.

$$\Gamma_{opt} = A_1 + 2B_1 + E_1 + 2E_2$$

Donde tanto  $A_1$  como  $E_1$  son modos polares y se dividen en componentes ópticos transversos (TO) y ópticos longitudinales (LO). El modo  $E_2$  consiste de dos fonones, uno a baja frecuencia ( $E_2$  bajo), que se debe a la vibración de la sub-red de zinc, y uno a alta frecuencia ( $E_2$  alto), que se debe a la vibración de los átomos de oxígeno. Estos modos son activos en Raman, los cuales corresponden a una banda en el espectro Raman. El modo  $B_1$  es no polar y también tiene dos frecuencias, baja y alta; sin embargo, este modo es silencioso en Raman<sup>(43)</sup>.

Se llevó a cabo el estudio por espectroscopía de dispersión Raman a temperatura ambiente de los productos de las reacciones con los distintos disolventes, así como el producto obtenido sin disolvente. Se incluye en los resultados el espectro Raman del ZnO comercial macrocristalino con el fin de compararlo con el de las nanopartículas obtenidas en este trabajo. En la Figura 10 se presentan todos los espectros obtenidos. Se observa en el espectro del ZnO macrocristalino las señales características de dicho óxido en 331, 382, 438 y 580  $\text{cm}^{-1}$ <sup>(44)</sup>. En los espectros de las nanopartículas de ZnO obtenidas en este trabajo se observa la banda característica alrededor de 438  $\text{cm}^{-1}$ , la cual se debe a la estructura hexagonal del óxido. Se observa de manera general que para las nanopartículas obtenidas hay un ensanchamiento de todas las bandas, lo que ocasiona que el pico de 382  $\text{cm}^{-1}$  observado en el ZnO macrocristalino, ya no se aprecie de manera tan clara en las nanopartículas. Al igual que la desaparición del pico a 580  $\text{cm}^{-1}$ , debido a que la disminución de tamaño de partícula genera una disminución en la intensidad de los picos. Ambas vibraciones están asociadas con defectos estructurales que pueden ser vacancias o defectos intersticiales ya sea de zinc o de oxígeno. También se puede observar un desplazamiento hacia la izquierda de la vibración localizada en 331  $\text{cm}^{-1}$ , la cual se debe a los procesos de dispersión de fonón múltiple. Se observa que la intensidad de

los picos es menor en comparación con el resto de los productos para el producto sintetizado sin disolvente.

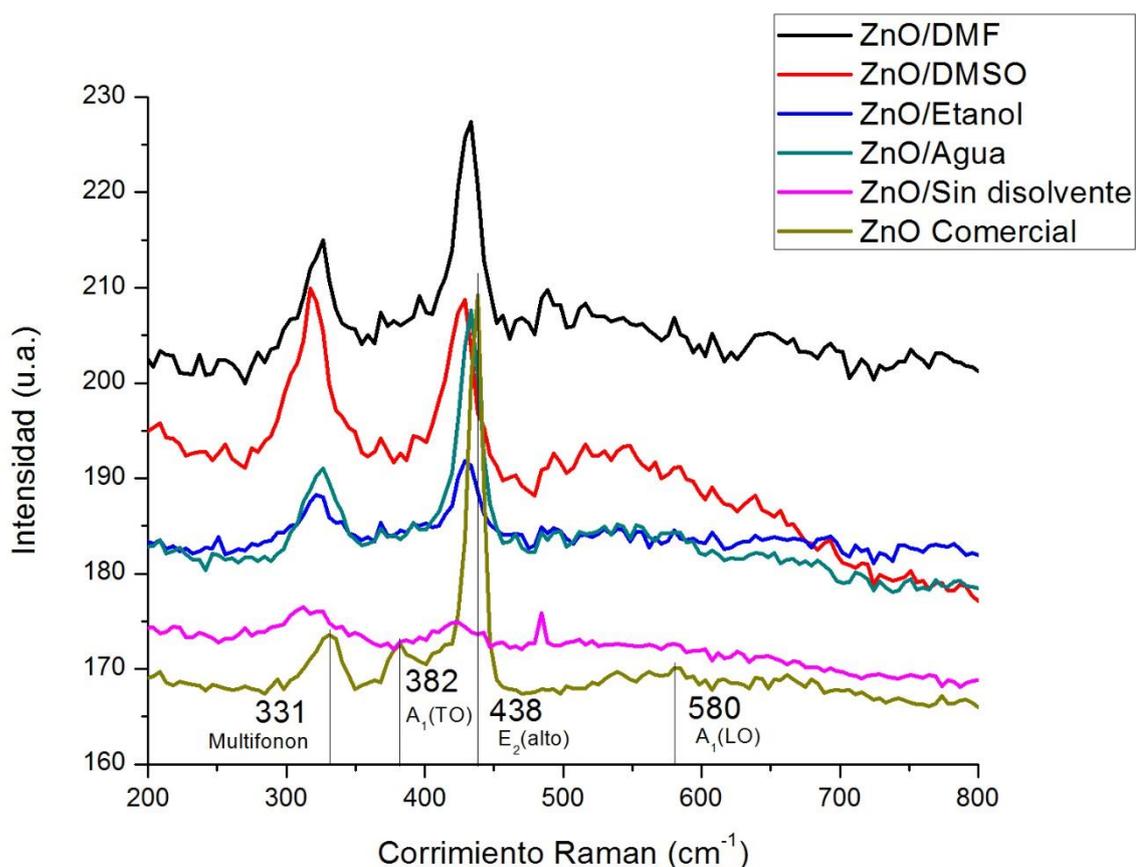


Figura 10. Espectros Raman de las nanopartículas sintetizadas en esta tesis y del ZnO comercial

### 3.1.4 Caracterización por Espectroscopía de Infrarrojo

Las nanopartículas de ZnO obtenidas en este trabajo también fueron caracterizadas por espectroscopía infrarroja. En la Figura 11 se presentan los espectros IR de las NPs de ZnO, y se comparan con el espectro del ZnO comercial macrocristalino. En el espectro del óxido comercial se pueden apreciar dos bandas características a  $476\text{ cm}^{-1}$  y a  $1087\text{ cm}^{-1}$ . En el caso de las nanopartículas de ZnO, se puede observar como la banda localizada alrededor de  $476\text{ cm}^{-1}$  debida a la vibración Zn-O se hace más ancha y aparece desplazada: estando el ZnO/Agua a  $451\text{ cm}^{-1}$ , seguido del ZnO a  $474\text{ cm}^{-1}$ , posteriormente el ZnO/DMSO a  $478\text{ cm}^{-1}$ , el ZnO/DMF  $485\text{ cm}^{-1}$  y el ZnO/Etanol a  $489\text{ cm}^{-1}$ . En este caso si se puede observar el efecto del disolvente dependiendo del momento dipolar; ya que a mayor momento dipolar del disolvente

utilizado en la síntesis se observa un corrimiento a menores valores de números de onda.

Se observa la aparición de una serie de bandas alrededor de los  $1500\text{ cm}^{-1}$ . Estas bandas se presentan desde  $1375$  y hasta  $1575\text{ cm}^{-1}$  aproximadamente, y son asignadas a las vibraciones de estiramiento del grupo OH y la deformación del enlace H-O-H, debido a la presencia de cierta cantidad de agua absorbida en las NPs de ZnO<sup>(45, 46)</sup>.

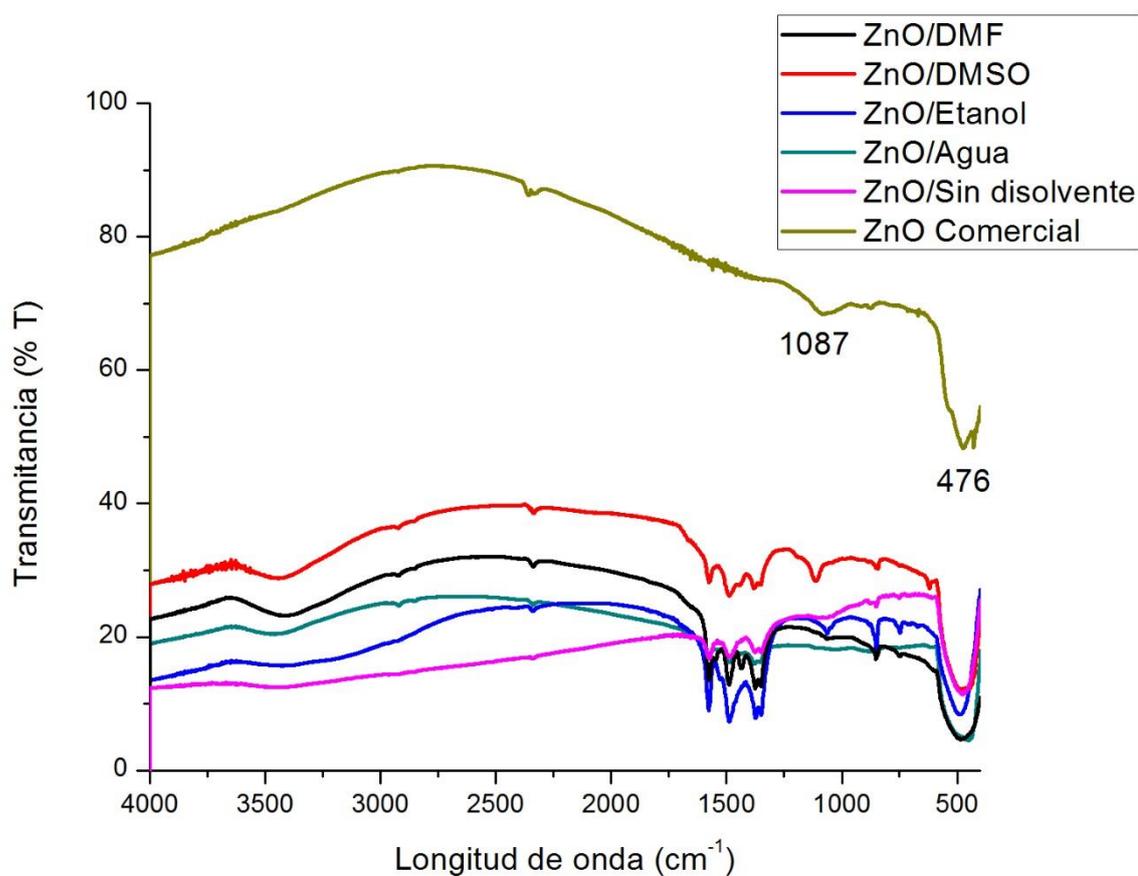


Figura 11. Espectros de Infrarrojo de las NPs sintetizadas y de ZnO comercial

### 3.1.5 Caracterización por Resonancia Paramagnética Electrónica (RPE)

Los polvos formados por las nanopartículas de ZnO fueron estudiados por la técnica de RPE, a temperatura ambiente, en banda X (Figura 12).

Se calcularon los valores de la constante giromagnética ( $g$ ) a partir de la ecuación que rige al RPE:

$$h\nu = g\beta H \quad \therefore \quad g = h\nu/\beta H$$

Dónde

$h$  = constante de Planck ( $6.6260 \times 10^{-27}$  erg seg)

$\nu$  = frecuencia de las microondas (Hertz)

$\beta$  = magnetón nuclear de Bohr ( $9.2740 \times 10^{-21}$  erg/Gauss)

$H$  = intensidad del campo magnético (Gauss)

Los valores de  $g$  obtenidos para cada una de las muestras se presentan en la Tabla 5.

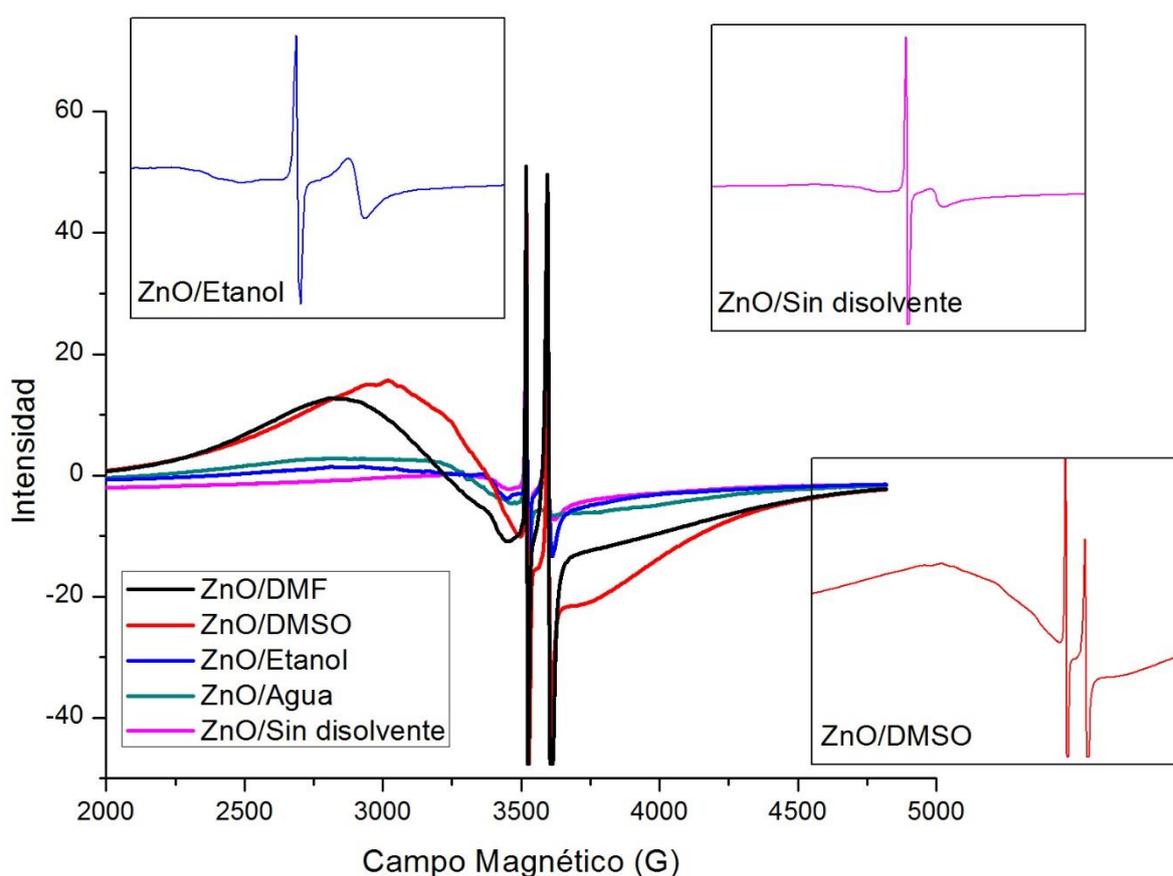


Figura 12. Espectros de RPE de las nanopartículas de ZnO sintetizadas

Se observa una similitud en los espectros de los productos sintetizados en presencia de DMSO y DMF, presentándose dos señales angostas cerca de 3500 G, y una banda

ancha localizada cerca de 3000 G. Señales que también se observan en la muestra ZnO/Etanol; sin embargo, la señal ancha es más pequeña al igual que una de las señales más angostas alrededor de 3600 G. En el caso del producto sintetizado en presencia de agua, el espectro es muy similar al del producto de etanol, pero ya no se observa una de las bandas angostas. En el caso del producto sintetizado sin disolvente sólo se observa una señal definida alrededor de los 3500 G. La similitud de los productos es consecuente con lo observado en las técnicas de caracterización previamente descritas.

Tabla 5. Valores de g calculados.

Muestra	g	Campo magnético (G)
ZnO/Sin disolvente	2.001	3519.94
	1.96	3600.72
ZnO/Agua	2.41	2914.80
	1.99	3530.07
ZnO/Etanol	2.43	2903.63
	2.003	3517.83
	1.96	3602.64
ZnO/DMSO	2.34	3012.15
	2.005	3513.04
	1.95	3604.91
ZnO/DMF	2.47	2842.33
	2.004	3514.41
	1.95	3604.34

Se puede observar que todas las muestras tienen una señal con valor de  $g=1.95$  a  $g=1.99$ . Esta señal se ha atribuido a diferentes defectos como la presencia de vacancias de oxígeno ionizado ( $O^+$ ) o incluso intersticios de oxígeno. La siguiente señal observada en todas las muestras excepto en el ZnO/Agua tiene valores de g desde 2.001-2.005 las cuales están relacionadas con vacancias de zinc o defectos generales de superficie. El origen de la señal ancha, con valores de g entre 2.34 y 2.47, aún no está bien entendido<sup>(46-48)</sup>.

## 3.2 Óxido de Cobre

### 3.2.1 Caracterización por Difracción de Rayos X de polvos

Se utilizó la técnica de Difracción de Rayos X en polvo para caracterizar el producto de las reacciones descritas en Sección 2.3.2. En la Figura 13 se muestra, a manera de ejemplo, el difractograma del CuO obtenido en presencia de DMSO después del tratamiento térmico a 600 °C por dos horas. Se observa que todos los picos corresponden al del CuO en fase monoclinica (tarjeta JCPDS 89-2529). No se observan picos debidos a impurezas, por lo que el producto obtenido es fase única. En la Figura 14 se presentan los difractogramas de todos los productos obtenidos en presencia de los distintos disolventes, confirmando la formación del CuO en todos los casos. En la Figura 15 se muestra ampliado el pico correspondiente a la reflexión del plano ( $\bar{1}11$ ). Se observa que dependiendo del disolvente utilizado hay un corrimiento sobre  $2\theta$ .

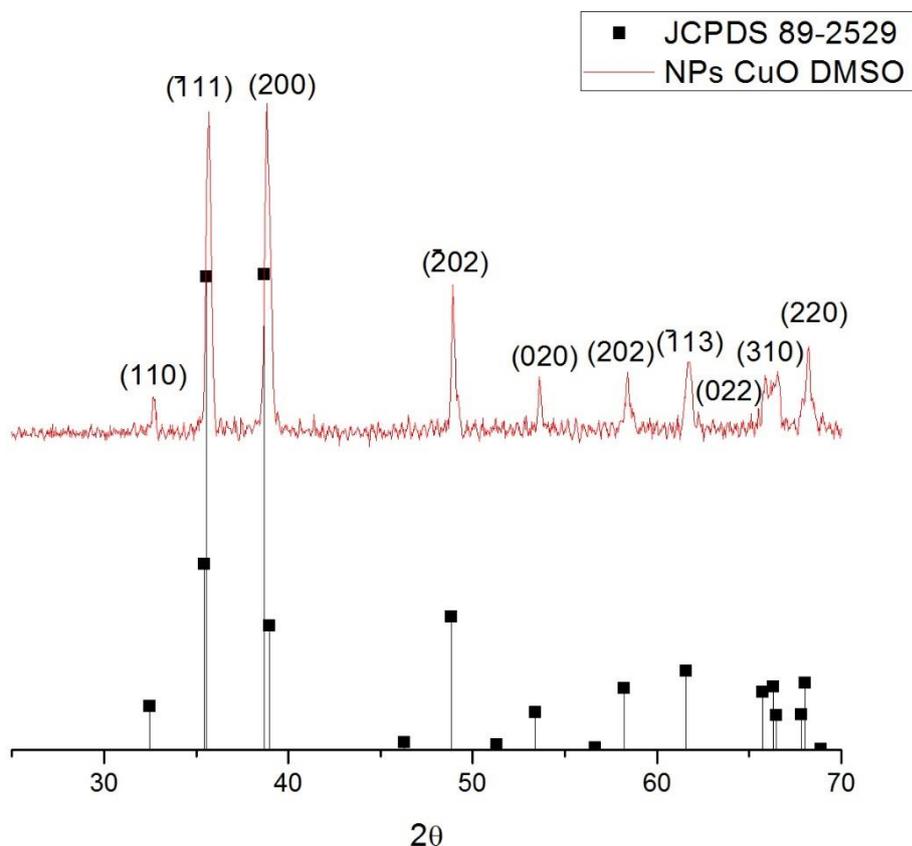


Figura 13. Difractograma de nanopartículas de CuO sintetizadas en presencia de DMSO

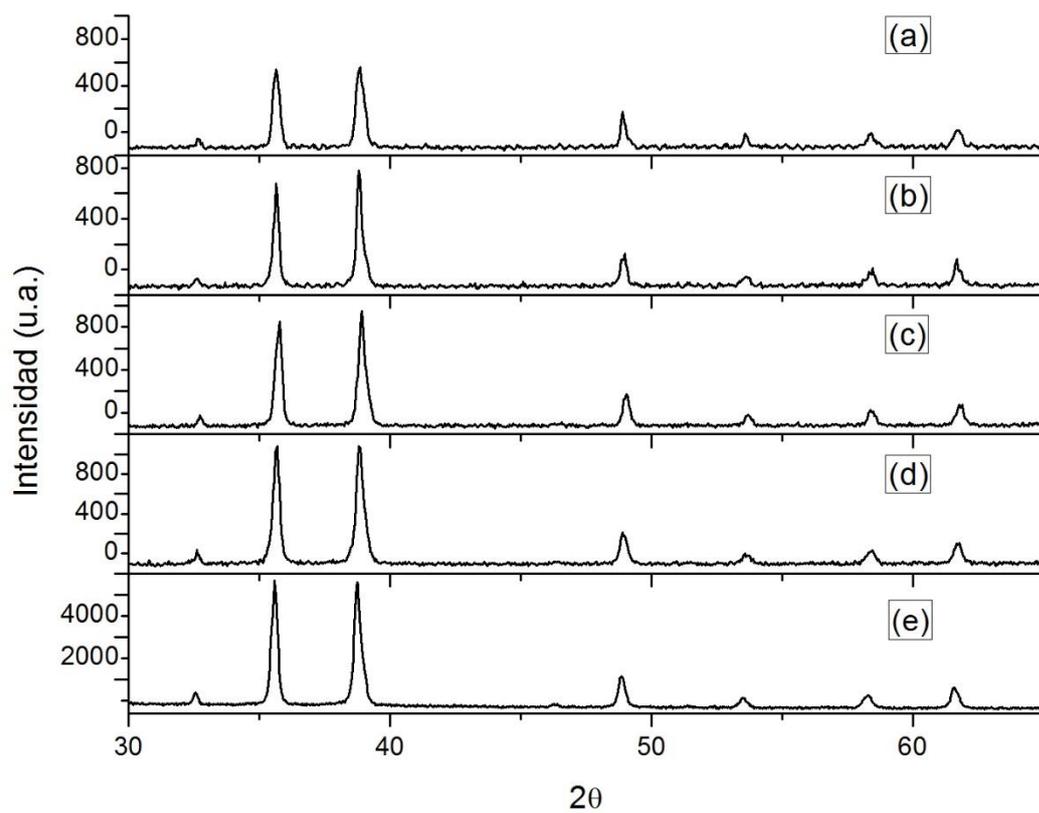


Figura 14. Difractogramas de las nanopartículas de CuO sintetizadas en presencia de (a) DMSO, (b) DMF, (c) etanol, (d) agua y (e) sin disolvente

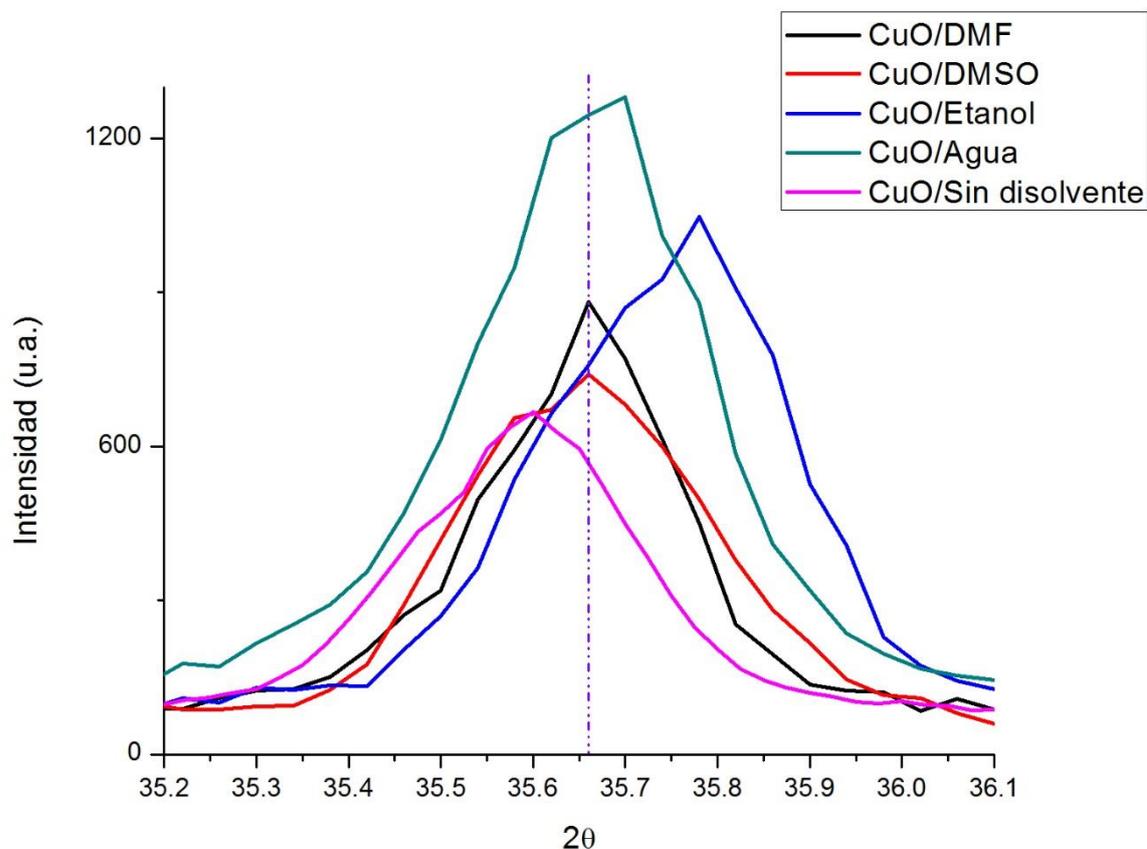


Figura 15. Reflexión ( $\bar{1}11$ ) de nanopartículas de CuO sintetizadas

Se generó una línea base para cada difractograma y se tomó como referencia el espectro del producto sintetizado en presencia del DMF. Se observa en todas las reflexiones que el pico del difractograma correspondiente al CuO/Agua es el de mayor intensidad seguido de la muestra de CuO/Etanol. Las reflexiones de estos productos siempre se encuentran a valores más altos de  $2\theta$ , siendo el producto sintetizado en agua el que se encuentra al valor más alto de  $2\theta$  en cada reflexión. En el caso de los productos sintetizados en presencia de DMSO y DMF no se observa algún patrón que pudiera relacionarse con las propiedades del disolvente en cuestión.

Se utilizó la ecuación de Scherrer-Warren para calcular el diámetro promedio de partícula. Se calculó el tamaño a partir de las reflexiones correspondientes a los planos (110), ( $\bar{2}$ 02), (020), (202), ( $\bar{1}$ 13), se eliminaron los valores mayores y menores, y se determinó el diámetro promedio y la desviación estándar. Los resultados obtenidos se presentan en la Tabla 6.

Tabla 6. Tamaño de partícula de CuO

Reflexión	Tamaño de partícula (nm)				
	CuO/DMF	CuO/DMSO	CuO/Etanol	CuO/Agua	CuO/Sin disolvente
100	47.0	12.9	21.3	16.4	43.2
$\bar{2}$ 02	27.9	35.9	26.3	23.4	20.7
020	25.5	29.9	16.1	11.5	29.5
202	17.6	15.4	19.7	13.0	25.4
$\bar{1}$ 13	26.6	17.7	36.7	17.7	17.1
Tamaño promedio	26.6	21.0	22.4	15.7	25.2
Desviación estándar	1.2	7.7	3.4	2.4	4.4

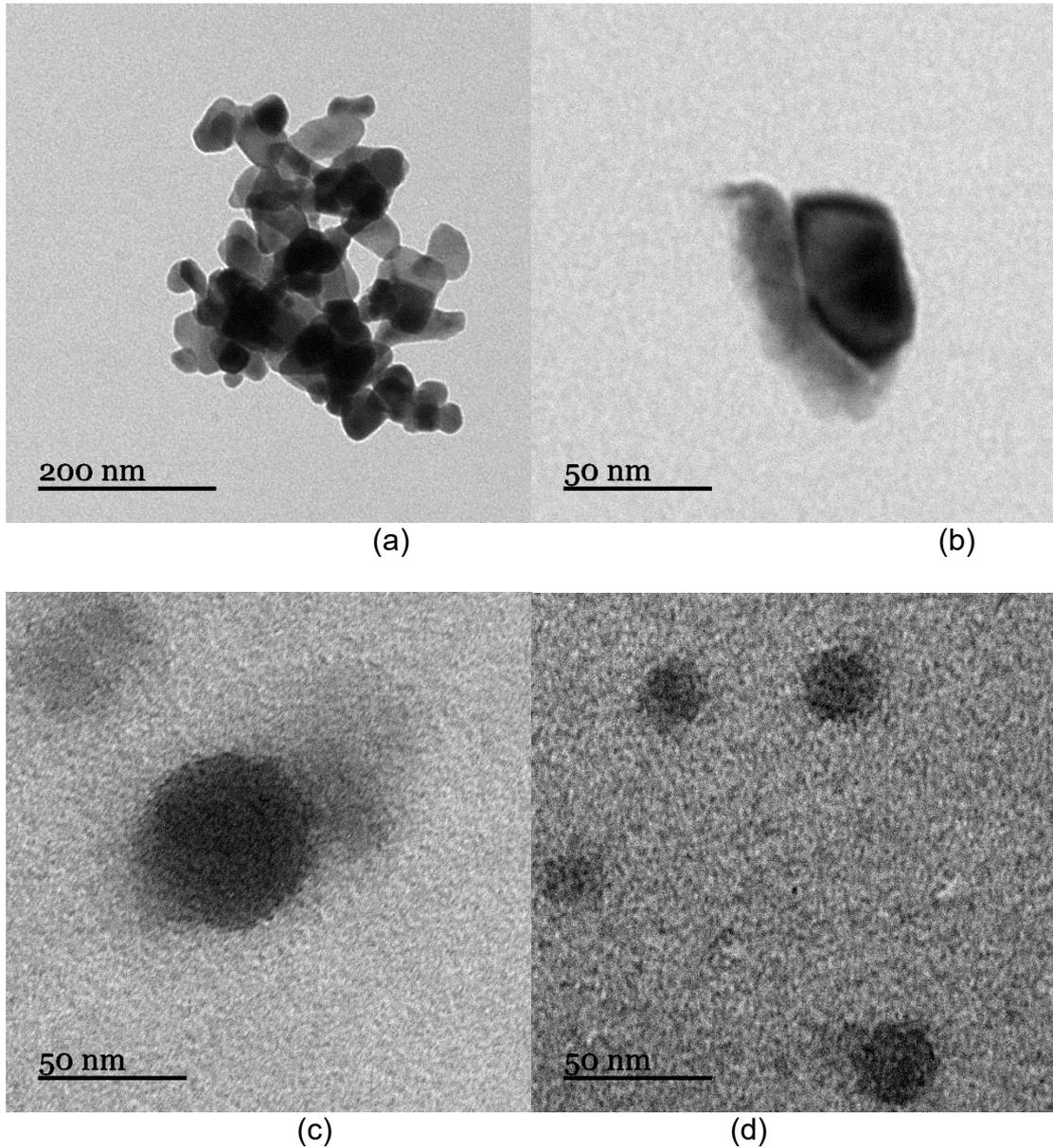


Figura 16. Micrografías obtenidas por MET de las NPs de CuO sintetizadas en presencia de (a) agua, (b) etanol, (c) DMF y (d) DMSO

En la Figura 16 se muestran las micrografías obtenidas por MET de las nanopartículas de CuO. Se observa que las nanopartículas sintetizadas en presencia de agua (Figura 16 (a)) son polimorfas con tamaños que van de 46 X 23 nm a 77 x 46 nm, y en la muestra correspondiente a las NPs de CuO/Etanol (Figura 16 (b)), se observa una nanopartícula alargada con dimensiones de 67 X 35 nm. Las formas que adoptan las NPs de CuO sintetizadas en presencia de DMSO y DMF tienen formas esféricas con tamaños aproximados de 50 nm para DMF (Figura 16 (c)) y de entre 20-25 nm para DMSO (Figura 16 (d)).

### 3.2.2 Caracterización por Espectroscopía de Absorción UV-Vis

La caracterización por espectroscopía de absorción UV-Vis se llevó a cabo en los sólidos obtenidos en este trabajo y del producto comercial, empleando la técnica de reflectancia difusa. En todos los productos se observa absorción en toda la región del UV-Visible, ya que este compuesto es café oscuro.

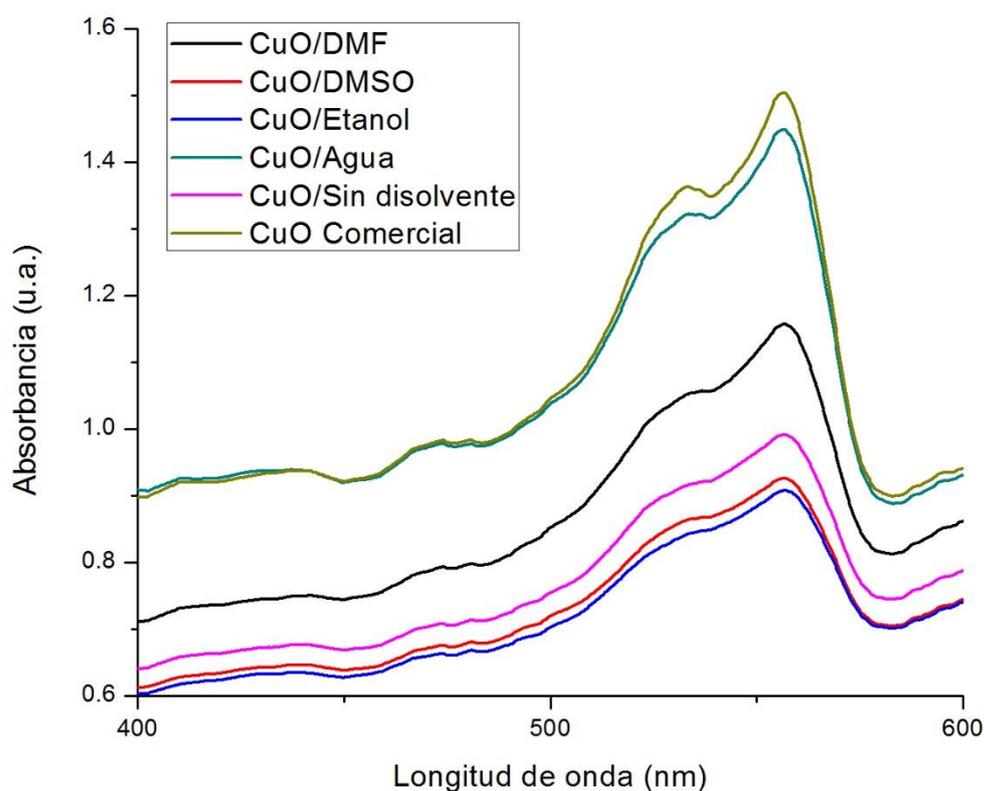


Figura 17. Espectros de Absorción UV-Vis de las NPs de CuO obtenidos por la técnica de Reflectancia Difusa

A partir de los espectros se calculó el valor aproximado de brecha de energía utilizando la ecuación de Tauc<sup>(42)</sup>. En la Figura 18 se muestra el espectro del CuO/DMSO en comparación con su gráfica de Tauc a manera de ejemplo. Los valores de la brecha de energía óptica calculada se presentan en la Tabla 7 para cada compuesto.

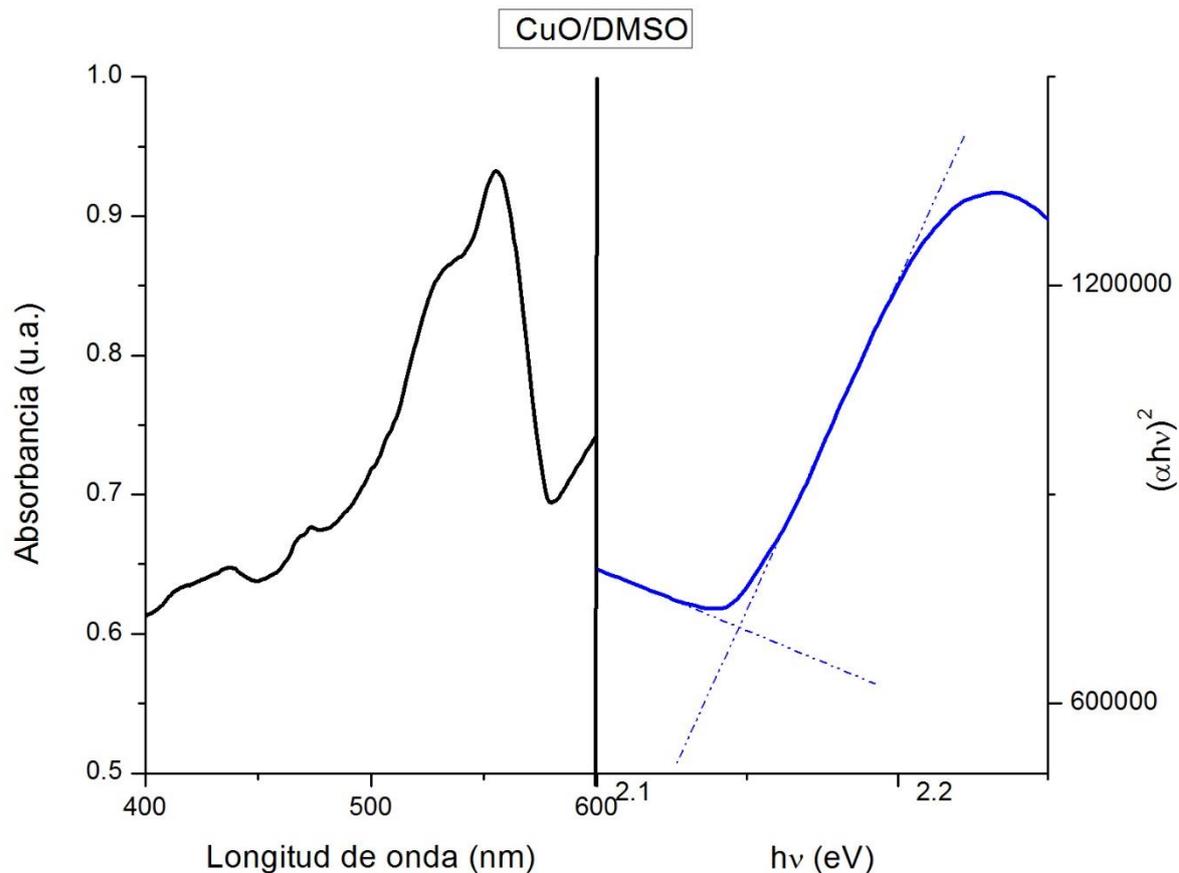


Figura 18. Espectro de absorción UV-Vis (izquierda) y gráfica de Tauc (derecha) para CuO/DMSO

Tabla 7. Valores aproximados de brecha de energía óptica.

Muestra	Brecha de energía (eV)
CuO/Sin disolvente	2.13
CuO/Agua	2.15
CuO/Etanol	2.13
CuO/DMSO	2.15
CuO/DMF	2.14

Se observa que los valores de brecha de energía óptica resultan ser parecidos entre sí, ya que el tamaño de partícula no varía de gran manera entre los productos.

### 3.2.3 Caracterización por Espectroscopía Raman

Para el caso del óxido de cobre, los modos normales son los siguientes

$$\Gamma_{opt} = A_g + 2B_g + 4A_u + 5B_u$$

Los tres modos acústicos son de simetría  $A_u + 2B_u$ . El CuO tiene 9 modos ópticos, de los cuales 3 son activos en Raman de simetría  $A_g$  y  $B_g$ , mientras que 6 son activos en el Infrarrojo ( $3A_u + 3B_u$ ). Los modos Raman  $A_g$  y  $B_g$  sólo involucran el movimiento de los átomos de oxígeno, mientras que los modos activos en Infrarrojo involucran el movimiento de ambos átomos<sup>(49)</sup>.

Se llevó a cabo el estudio por espectroscopía Raman a temperatura ambiente de las nanopartículas de CuO. En la Figura 19 se presentan todos los espectros en donde se observan señales alrededor de 292, 328 y 630  $\text{cm}^{-1}$ <sup>(35)</sup>. En general se observa un ensanchamiento de las señales Raman, así como un desplazamiento hacia la izquierda de todos los productos sintetizados en este trabajo, fenómeno debido a los efectos de confinamiento.

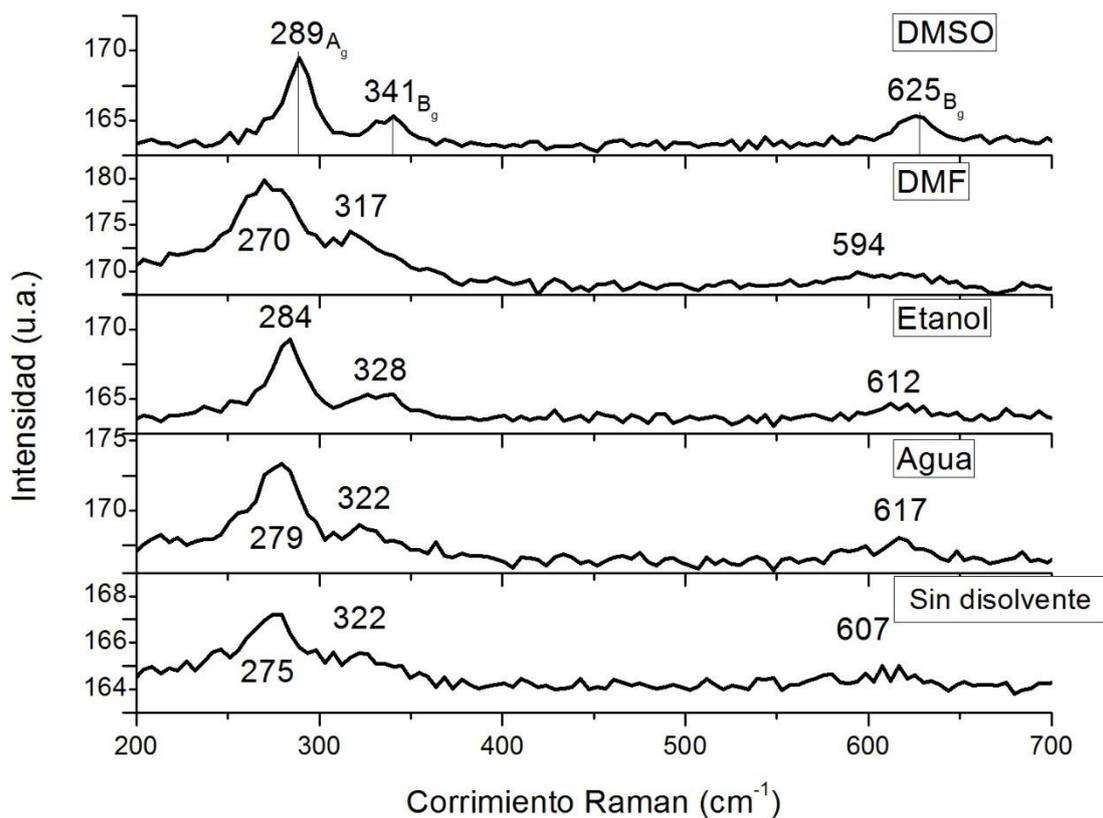


Figura 19. Espectros Raman de los diferentes productos sintetizados.

### 3.2.4 Caracterización por Espectroscopía de Infrarrojo

Se llevó a cabo la caracterización por medio de espectroscopía infrarroja. Los espectros que aquí se presentan son característicos del óxido de cobre en su fase monoclinica, Figura 20. Las bandas alrededor de los  $500\text{ cm}^{-1}$  son asignadas a las vibraciones Cu-O<sup>(49)</sup>.

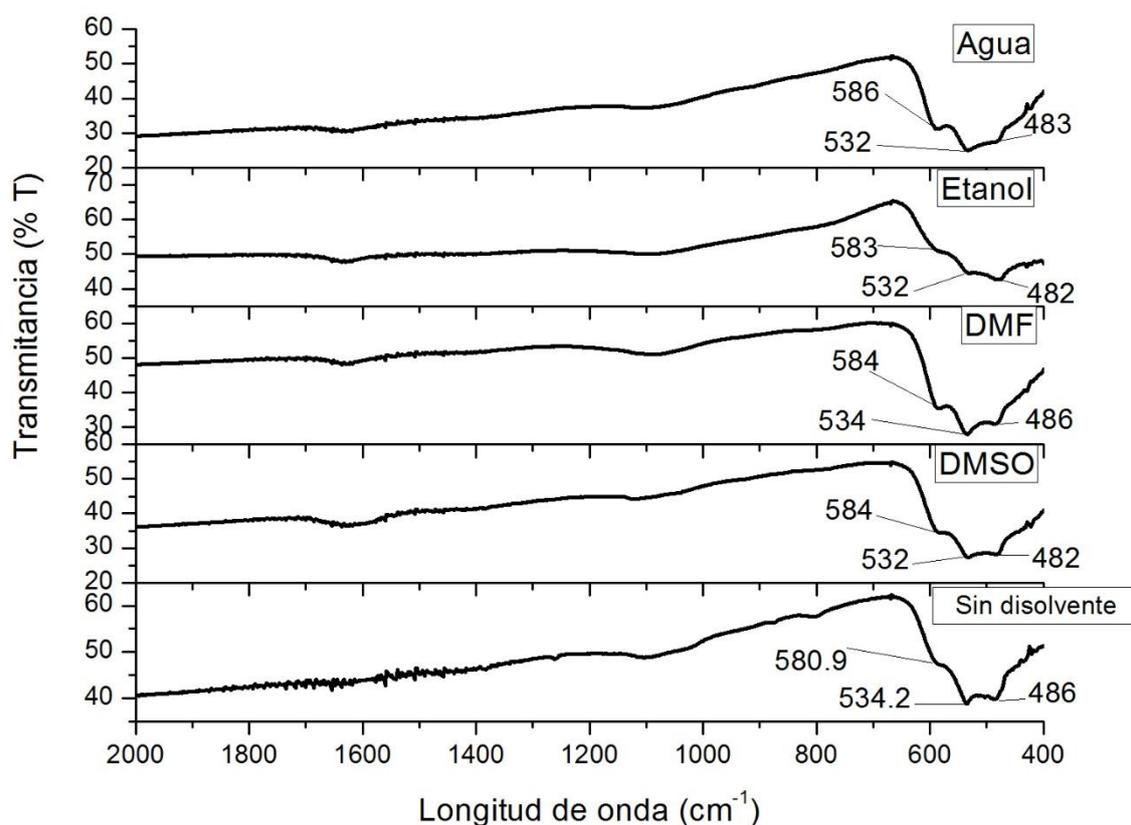


Figura 20. Espectros de Infrarrojo de las NPs sintetizadas de CuO

### 3.2.5 Caracterización por Resonancia Paramagnética Electrónica

Se obtuvieron los espectros de RPE de los polvos de las nanopartículas de CuO, a temperatura ambiente en banda X. En la Figura 21 podemos observar que los espectros muestran una señal ancha alrededor de 3200 G en todos los casos. Se observa de nuevo que los productos CuO/DMSO y CuO/DMF son muy similares entre sí. El producto sintetizado en presencia de agua una señal muy débil. El producto sintetizado sin disolvente también presenta un espectro característico con una señal más definida.

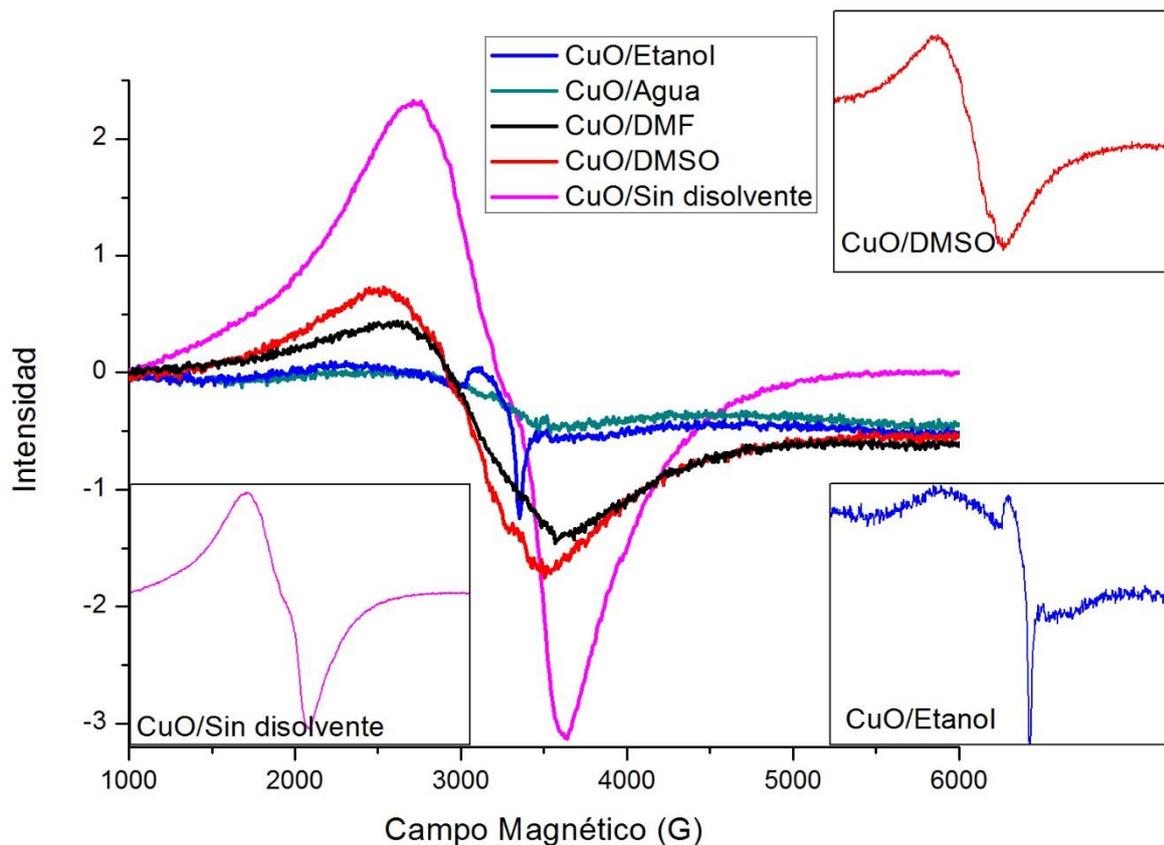


Figura 21. Espectros de RPE de las nanopartículas de CuO sintetizadas

A partir de los espectros se calculó el valor de g para cada caso empleando la ecuación que rige la RPE. Los valores obtenidos se presentan en la Tabla 8.

Tabla 8. Valores de g calculados.

Muestra	g	Campo Magnético (G)
CuO/Sin disolvente	2.12	3319.28
CuO/Agua	2.17	3232.30
	1.51	4639.29
	3.06	2296.78
CuO/Etanol	2.12	3311.7
	1.57	4474.79
CuO/DMSO	2.27	3091.19
CuO/DMF	2.27	3094.44

Se puede observar para el caso de los productos sintetizados en presencia de agua, etanol y sin disolvente presentan una  $g=2.12$ , la cual se ha asignado a la transición debida al acoplamiento de 4 iones  $\text{Cu}^{2+}$ . Para el caso de los productos sintetizados en presencia de DMSO y DMF se observa una señal con valor de  $g=2.27$ . Las bandas con valor de  $g$  cercano a 2, según lo informado en la literatura, pueden deberse a monómeros y dímeros de  $\text{Cu}^{2+}$  presentes de manera aislada en el  $\text{CuO}^{(50)}$ .

### **3.3 Óxido mixto CuZnO**

#### **3.3.1 Caracterización por Difracción de Rayos X**

Se llevó a cabo la caracterización por Difracción de Rayos X de polvos de las reacciones descritas en la Sección 2.3.3. En la Figura 22 se presentan los difractogramas de todas las reacciones que se llevaron a cabo con los 4 disolventes y el producto sin disolvente. Se observan las reflexiones características del  $\text{CuO}$  en fase monoclinica (JCPDS 89-2529), así como las del  $\text{ZnO}$  con fase hexagonal (JCPDS 89-7102), por lo que el producto obtenido resultó una mezcla de los óxidos  $\text{CuO-ZnO}$ . Sin embargo, es importante hacer notar que la relación de intensidades de las señales no se mantiene igual para todas las muestras (Figura 23).

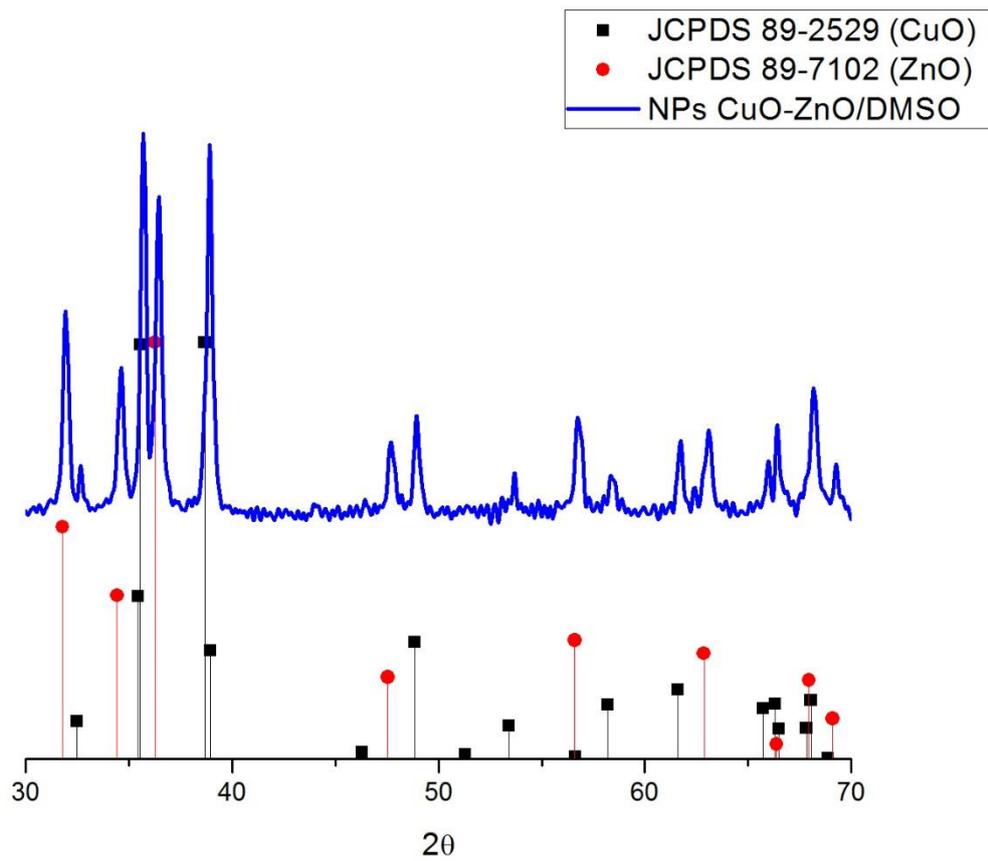


Figura 22. Difractograma de las nanopartículas de CuO-ZnO sintetizadas en presencia de DMSO

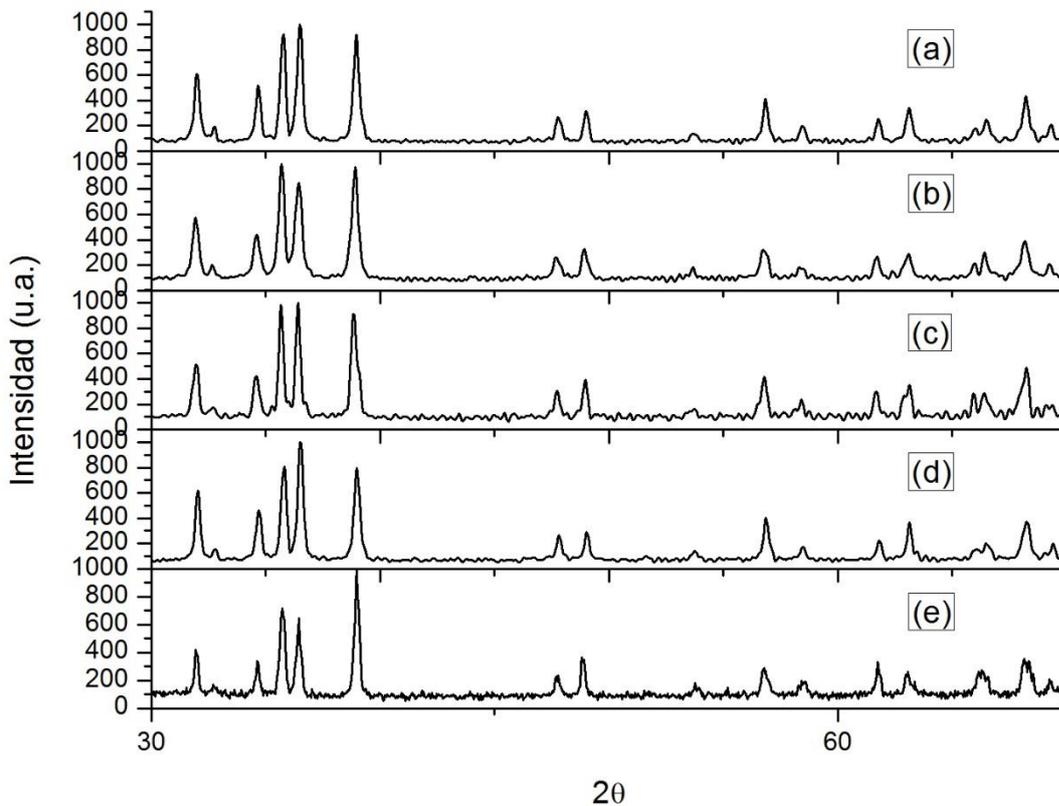


Figura 23. Difractogramas de las nanopartículas de CuO-ZnO sintetizadas en presencia de (a) DMF, (b) DMSO, (c) etanol, (d) agua y (e) sin disolvente

En la Figura 24 se presenta la región de 35 a 37  $2\theta$  en donde aparecen las reflexiones correspondientes al plano  $(\bar{1}11)$  del CuO y al plano  $(101)$  del ZnO. Se puede observar un desplazamiento de dichas reflexiones, similar al observado para las muestras de óxido de cobre y de óxido de zinc de manera individual.

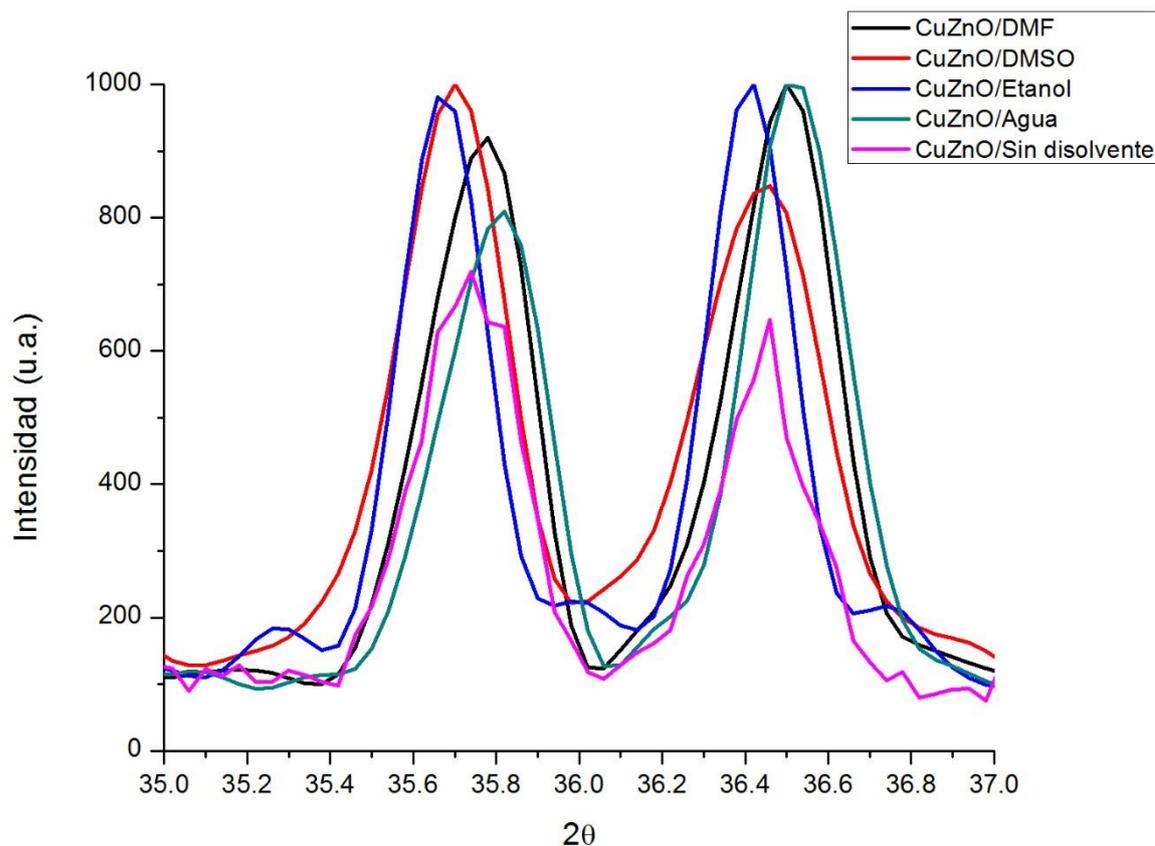


Figura 24. Reflexiones  $(\bar{1}11)$  del CuO y  $(101)$  del ZnO.

Es de notar que al hacer el análisis de la posición e intensidad de los picos no se observa el mismo patrón que en el caso de la síntesis de los óxidos independientes. La diferencia se puede deber a que una porción del producto final si es CuZnO, y no sólo la mezcla; sin embargo, no es posible asegurar la estructura de los productos obtenidos por falta de pruebas.

### 3.4 Pruebas de toxicidad

Se llevó a cabo un estudio preliminar de la actividad bactericida de las NPs de CuO y de ZnO sintetizadas en presencia de DMSO, en cultivos de cuatro bacterias diferentes: bacterias Gram (+), *S. epidermidis* y *S. aureus*, y Gram (-) *P. aeruginosa* y *E. coli*.

A continuación, se muestran las fotografías de los antibiogramas (Figura 26-29). Se puede observar que las nanopartículas, tanto de CuO como de ZnO, tienen una actividad bactericida en el caso de las bacterias Gram (+), *S. epidermidis* y *S. aureus*.

El halo de inhibición es de mayor tamaño en el cultivo de *S. epidermidis* para las nanopartículas de ZnO. Para el caso de las bacterias Gram (-) no se observa un halo de inhibición del crecimiento, sino un efecto bacteriostático. En el cultivo de *P. aeruginosa* se puede observar como alrededor del disco inmerso en la dispersión de NPs de CuO se genera un halo en donde si hay crecimiento bacteriano, pero es menor al resto de la placa. El mismo comportamiento se observa para a dispersión de NPs de ZnO, pero este halo es de menor tamaño.



Figura 26. Antibiograma de *P. aeruginosa*

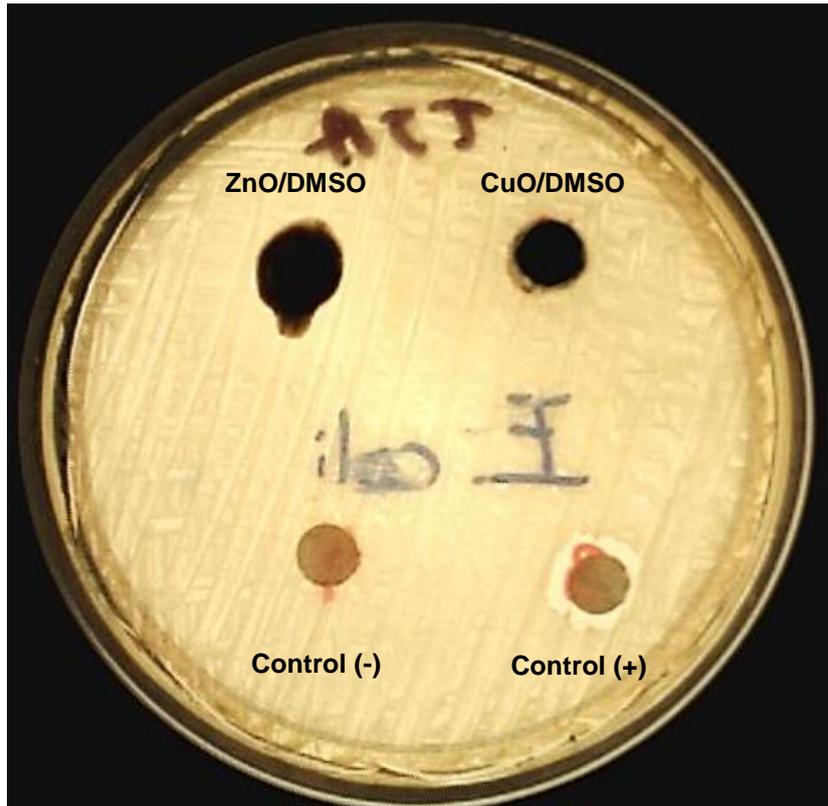


Figura 27. Antibiograma de *E. coli*.

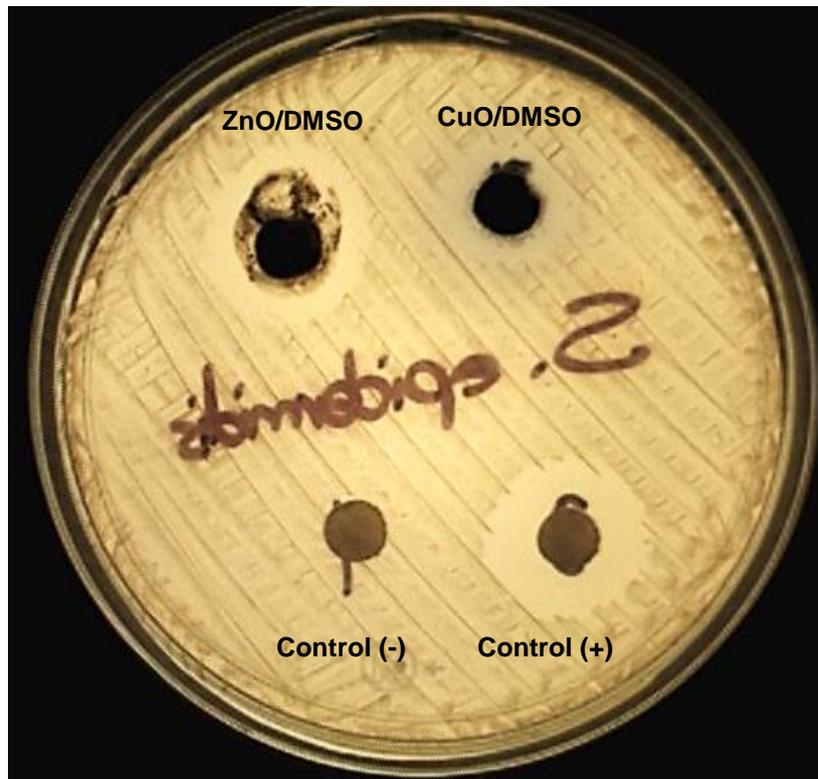


Figura 28. Antibiograma de *S. epidermidis*.



Figura 29. Antibiograma de *S. aureus*

Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria se presenta un gráfico del crecimiento promedio observado para cada cepa de bacterias en el caso de las nanopartículas de ZnO utilizadas, Figura 30.

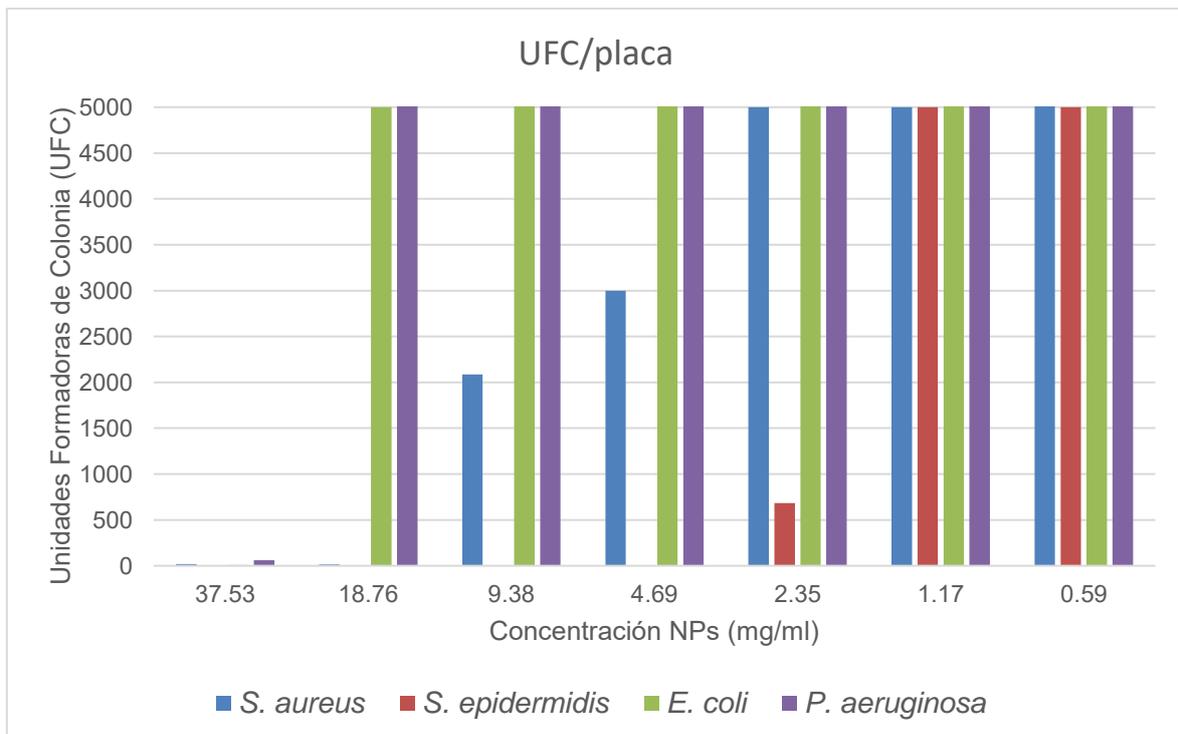


Figura 30. Concentración mínima inhibitoria de NPs de ZnO/DMSO

Se puede observar que en el caso *S. epidermidis* desde la concentración de 2.35 mg/ml se observa una disminución del crecimiento y con 4.69 mg/ml se observa una inhibición completa del crecimiento. En el caso de *S. aureus* la concentración donde se observa una disminución del crecimiento es de 4.69 mg/ml y en 75.05 mg/ml se inhibe por completo el crecimiento. Se observa que en las cepas Gram (-) se presenta una inhibición completa del crecimiento a concentraciones más altas (75.05 mg/ml) pero sin pasar por una disminución gradual del crecimiento y en la mayoría de las diluciones se observa que el crecimiento es muy similar a la placa control.

Los resultados concuerdan con la prueba del antibiograma en donde el halo de inhibición se observa con un mayor diámetro para *S. epidermidis*, seguida de *S. aureus*. Para las otras dos cepas si hay una inhibición del crecimiento, pero se requieren de mayores concentraciones.

Posteriormente, en la Figura 31, se presenta el antibiograma de *S. epidermidis* con las nanopartículas de óxido de zinc sintetizadas en presencia de etanol y agua en donde se observa un halo muy marcado de inhibición. El efecto bactericida es mayor en las NPs de ZnO/Etanol.

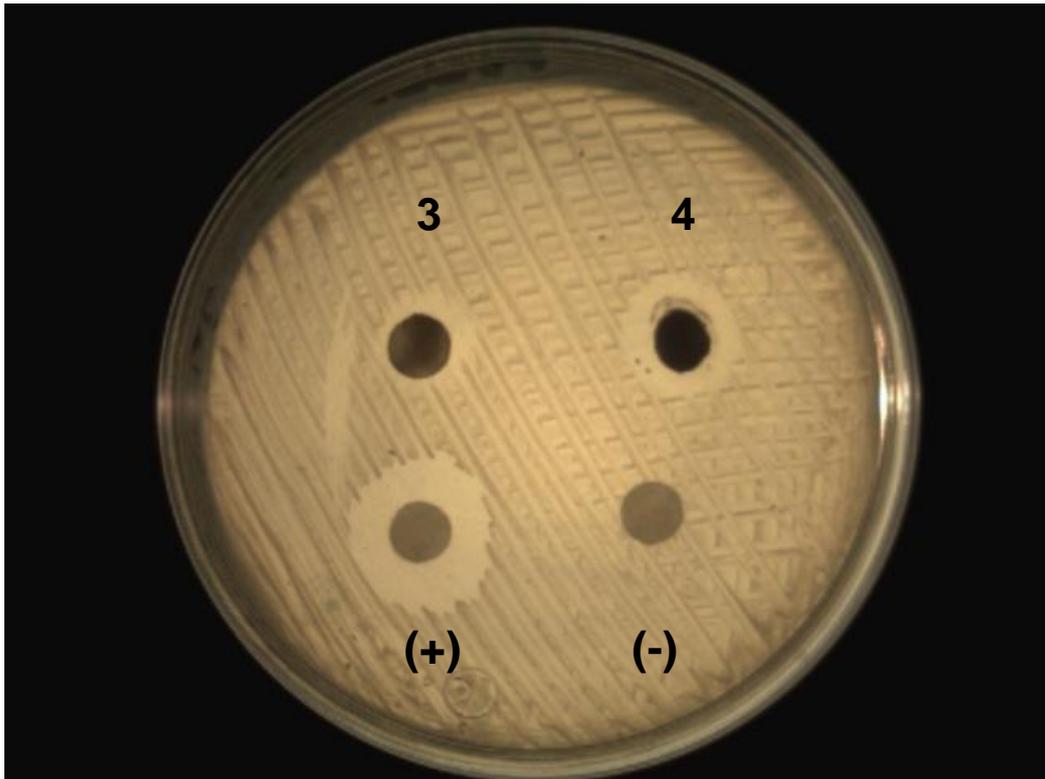


Figura 31. Antibiograma de *S. epidermidis* con (3) ZnO/Agua y (4) ZnO/Etanol

Las propiedades observadas en los compuestos de ZnO se puede explicar a partir de las características estructurales. En los resultados de RPE en la Sección 3.1.5 se menciona que las señales observadas en el ZnO/Etanol se deben a la presencia de vacancias de oxígeno principalmente, las cuales pueden estar influyendo en el efecto bactericida a partir de la generación de especies reactivas de oxígeno. Las vacancias de oxígeno también se observan en las NPs sintetizadas en presencia de DMSO y DMF, lo cual explica el efecto bactericida observado. Sin embargo, también se observa la presencia de las vacancias de zinc que podrían afectar la manera en la que las NPs interactúan con las bacterias, observándose un efecto bactericida menor. En el caso del CuO, se menciona en la Sección 3.2.5 que las señales observadas en RPE se deben a monómeros y dímeros de  $\text{Cu}^{2+}$ , los cuales pueden estar interaccionando con la pared celular de las bacterias disminuyendo su crecimiento resultando en el efecto bacteriostático observado con *P. aeruginosa*.

Las pruebas de los antibiogramas son preliminares, y se requieren de más pruebas para poder determinar de mejor manera el efecto bactericida o bacteriostático de las nanopartículas sintetizadas en este trabajo. El efecto que se observa en los antibiogramas depende de la difusión que puedan tener las nanopartículas en el

medio de agar, para que así tengan contacto con las bacterias y tener un efecto bactericida como tal. Si las NPs no logran difundirse de manera adecuada en el medio, entonces no se puede observar el efecto directo.

En resumen, se obtuvieron nanopartículas de ZnO con estructura cristalina hexagonal tipo wurtzita y diámetro promedio de 32 nm. En dichas NPs no se observa ningún efecto del disolvente en cuanto al tamaño y a la forma, ya que todos los productos obtenidos en este trabajo presentan estructuras de tipo poligonal con bordes bien definidos. Por otro lado, todas las nanopartículas de ZnO sintetizadas presentan espectros de IR y Raman característicos de dicho sistema. No obstante, la actividad bactericida observada en los compuestos de ZnO se puede explicar a partir de defectos paramagnéticos que se forman en dichas NPs. En general, en los espectros de RPE (Sección 3.1.5) se observa la presencia de vacancias de oxígeno ionizado ( $V_{O^+}$ ) así como de oxígeno intersticial ( $O_i^-$ ) con valores de g entre 1.95 a 1.99. También se observa la presencia de zinc intersticial ( $Zn_i^+$ ) con valores de g cercanos a 2. La relación de intensidades entre estas señales se incrementa en las nanopartículas en donde intervinieron en la síntesis disolventes polares apróticos, es decir DMSO y DMF. Por otro lado, las NPs de ZnO obtenidas sin disolventes o bien, en donde intervinieron agua o etanol, se observa que la señal más intensa es la debida a los defectos paramagnéticos de oxígeno. Dichos defectos intervienen directamente en el efecto bactericida de las NPs al generar especies reactivas de oxígeno (ROS). Por lo tanto, podemos esperar que el efecto bactericida disminuya en el siguiente orden:



En el caso del óxido de cobre, se observa que el disolvente afecta tanto al tamaño como a la morfología. Las nanopartículas sintetizadas en presencia de agua presentan un diámetro promedio de alrededor 15 nm, el cual es menor al del resto de las NPs de CuO, con diámetros promedio cercanos a 24 nm. Este comportamiento puede estar relacionado con la solubilidad de la sal de partida,  $\text{Cu}(\text{CO}_2\text{CH}_3)_2$ , la cual es muy soluble en agua, lo que favorece que se disocie rápidamente, de tal manera que los puntos de nucleación están lo suficientemente separados para formar nanopartículas de menor tamaño. La solubilidad del acetato de cobre (II) es similar en el resto de los disolventes, por lo que los tamaños son muy parecidos. Al analizar la

morfología de las nanopartículas obtenidas, predominan estructuras de tipo poligonal con bordes bien definidos cuando los disolventes que intervienen en la síntesis son polares próticos (agua y etanol), mientras que adquieren formas esféricas cuando los disolventes empleados durante la síntesis son DMF y DMSO (polares apróticos). La brecha de energía óptica de todas las NPs de CuO se encuentra alrededor de 2.12 eV.

Por otro lado, los espectros Raman e Infrarrojo de los productos sintetizados confirman la presencia de CuO. En los espectros de RPE, sección 3.2.5, se observa que todos los productos presentan una banda con valor de g cercano a 2, la cual se debe a la presencia de  $\text{Cu}^{2+}$  con carga no compensada en la estructura de las nanopartículas. Se ha informado en la literatura que dichos cobres con cargas no compensadas son el resultado de vacancias de oxígeno ( $V_o$ ) presentes en las NPs de CuO. Sin embargo, se puede observar que la intensidad y forma de dicha banda cambia, lo que está relacionado con la cantidad de iones presentes, así como el acoplamiento que se puede dar entre ellos. Hay una similitud entre las nanopartículas sintetizadas en presencia de DMSO y DMF observándose una banda con  $g=2.27$ ; mientras que los productos sintetizados en presencia de agua y etanol presentan una banda más pequeña con g alrededor de 2.12. Entre los mecanismos propuestos para explicar la actividad bactericida de las nanopartículas del CuO está la liberación de iones de  $\text{Cu}^{2+}$ , los cuales interfieren con las actividades celulares de las bacterias. Todas las nanopartículas de CuO sintetizadas en este trabajo, presentan iones de cobre (II) no compensados, por lo que se esperaría una actividad bactericida de todos los productos. Al relacionar la intensidad de la señal observada con la presencia de los iones en la estructura, se podría esperar un efecto bactericida de la siguiente manera



#### 4. Conclusiones

- Se obtuvieron nanoestructuras de ZnO y de CuO como fases únicas a partir de un método sencillo, reproducible, en presencia de disolventes próticos (agua y etanol) y apróticos (DMF y DMSO), así como la ausencia de disolventes, obteniendo un tamaño promedio de 32nm para las NPs de ZnO y de 22nm para las NPs de CuO.
- A partir de los resultados obtenidos, se puede decir que el disolvente utilizado en la síntesis mecanoquímica de óxido de zinc, así como de óxido de cobre, tiene un efecto muy importante en los defectos paramagnéticos del producto final.
- Los defectos presentes en la red cristalina de los óxidos obtenidos en esta tesis influyen en la aplicación final de las nanopartículas
- Las NPs de ZnO/DMSO, ZnO/Agua y ZnO/Etanol tienen un efecto bactericida con las bacterias Gram (+), preferentemente con *S. epidermidis*. Este efecto se debe probablemente a la generación de especies reactivas de oxígeno por la presencia de moléculas de agua en la superficie de las nanopartículas que llevan a la generación de radicales libres de OH y oxígeno.
- Las NPs de CuO/DMSO presentaron un efecto bacteriostático hacia las bacterias Gram (-), de manera más marcada con *P. aeruginosa*. Se observa un pequeño efecto bactericida con las bacterias Gram (+). Probablemente debido a la presencia de iones de cobre que podrían sustituir iones esenciales para el metabolismo, interfiriendo inicialmente con el funcionamiento de la membrana celular y luego a nivel de citoplasma, alterando la síntesis proteica.
- A partir del método de síntesis empleado en esta tesis, se obtuvo una mezcla de óxidos de cobre y zinc; sin embargo, la fase del óxido mixto no pudo ser determinada. Se espera optimizar el método para obtener dicha especie como potencial material con propiedades antibacterianas.

## 5. Bibliografía

1. Morkoç H, Özgür Um. Zinc oxide : fundamentals, materials and device technology. Weinheim: Wiley-VCH; 2009. xi, 477 p. p.
2. Zhang YY, Mu J. Controllable synthesis of flower- and rod-like ZnO nanostructures by simply tuning the ratio of sodium hydroxide to zinc acetate. *Nanotechnology*. 2007;18(7).
3. Sirelkhatim A, Mahmud S, Seeni A, Mohamad NH, Ann LC, Mohd SK, et al. Review on Zinc Oxide Nanoparticles:Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Lett*. 2015;7(3):219-42.
4. Ao WQ, Li JQ, Yang HM, Zeng XR, Ma XC. Mechanochemical synthesis of zinc oxide nanocrystalline. *Powder Technol*. 2006;168(3):148-51.
5. Moballeggh A, Shahverdi HR, Aghababazadeh R, Mirhabibi AR. ZnO nanoparticles obtained by mechanochemical technique and the optical properties. *Surf Sci*. 2007;601(13):2850-4.
6. Aghababazadeh R, Mazinani B, Mirhabibi A, Tamizifar M. ZnO nanoparticles synthesised by mechanochemical processing. *EMAG-NANO 2005: Imaging, Analysis and Fabrication on the Nanoscale*. 2006;26:312-4.
7. Tsuzuki T, McCormick PG. ZnO nanoparticles synthesised by mechanochemical processing. *Scripta Mater*. 2001;44(8-9):1731-4.
8. Stankovic A, Veselinovic L, Skapin SD, Markovic S, Uskokovic D. Controlled mechanochemically assisted synthesis of ZnO nanopowders in the presence of oxalic acid. *J Mater Sci*. 2011;46(11):3716-24.
9. Kolodziejczak-Radzimska A, Jesionowski T, Krysztafkiewicz A. Obtaining Zinc Oxide from Aqueous Solutions of Koh and  $Zn(CH_3COO)_2$ . *Physicochem Probl Mi*. 2010;44:93-102.
10. Hong RY, Pan TT, Qian JZ, Li HZ. Synthesis and surface modification of ZnO nanoparticles. *Chem Eng J*. 2006;119(2-3):71-81.

11. Xu JQ, Pan QY, Shun YA, Tian ZZ. Grain size control and gas sensing properties of ZnO gas sensor. *Sensor Actuat B-Chem.* 2000;66(1-3):277-9.
12. Lanje AS, Sharma SJ, Ningthoujam RS, Ahn JS, Pode RB. Low temperature dielectric studies of zinc oxide (ZnO) nanoparticles prepared by precipitation method. *Adv Powder Technol.* 2013;24(1):331-5.
13. Wang YJ, Zhang CL, Bi SW, Luo GS. Preparation of ZnO nanoparticles using the direct precipitation method in a membrane dispersion micro-structured reactor. *Powder Technol.* 2010;202(1-3):130-6.
14. Jia W, Dang SH, Liu HR, Zhang ZX, Yu CY, Liu XG, et al. Evidence of the formation mechanism of ZnO in aqueous solution. *Mater Lett.* 2012;82:99-101.
15. Cao Z, Zhang ZJ, Wang FX, Wang GZ. Synthesis and UV shielding properties of zinc oxide ultrafine particles modified with silica and trimethyl siloxane. *Colloid Surface A.* 2009;340(1-3):161-7.
16. Mahato TH, Prasad GK, Singh B, Acharya J, Srivastava AR, Vijayaraghavan R. Nanocrystalline zinc oxide for the decontamination of sarin. *Journal of hazardous materials.* 2009;165(1-3):928-32.
17. Benhebal H, Chaib M, Salmon T, Jérémy G, Leonard A, Lambert SD, et al. Photocatalytic degradation of phenol and benzoic acid using zinc oxide powders prepared by the sol-gel process. *Alexandria Engineering Journal.* 2013;52:517-23.
18. Ristic M, Music S, Ivanda M, Popovic S. Sol-gel synthesis and characterization of nanocrystalline ZnO powders. *J Alloy Compd.* 2005;397(1-2):L1-L4.
19. Yue S, Yan ZS, Shi YF, Ran GX. Synthesis of zinc oxide nanotubes within ultrathin anodic aluminum oxide membrane by sol-gel method. *Mater Lett.* 2013;98:246-9.
20. Zhang JD, Wang JX, Zhou SB, Duan K, Feng B, Weng J, et al. Ionic liquid-controlled synthesis of ZnO microspheres. *Journal of materials chemistry.* 2010;20(43):9798-804.

21. Weintraub B, Zhou ZZ, Li YH, Deng YL. Solution synthesis of one-dimensional ZnO nanomaterials and their applications. *Nanoscale*. 2010;2(9):1573-87.
22. Vorobyova SA, Lesnikovich AI, Mushinskii VV. Interphase synthesis and characterization of zinc oxide. *Mater Lett*. 2004;58(6):863-6.
23. Das D, Nath BC, Phukon P, Kalita A, Dolui SK. Synthesis of ZnO nanoparticles and evaluation of antioxidant and cytotoxic activity. *Colloids and surfaces B, Biointerfaces*. 2013;111:556-60.
24. Talebian N, Amininezhad SM, Doudi M. Controllable synthesis of ZnO nanoparticles and their morphology-dependent antibacterial and optical properties. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 2013;120:66-73.
25. Sharma N, Kumar J, Thakur S, Sharma S, Shrivastava V. Antibacterial study of silver doped zinc oxide nanoparticles against *Staphylococcus aureus* and *Bacillus subtilis*. *Drug Invention Today* 2013;5.
26. Hajjipour MJ, Fromm KM, Ashkarran AA, Jimenez de Aberasturi D, de Larramendi IR, Rojo T, et al. Antibacterial properties of nanoparticles. *Trends in biotechnology*. 2012;30(10):499-511.
27. Song X, Sun S, Zhang W, Yin Z. A method for the synthesis of spherical copper nanoparticles in the organic phase. *Journal of colloid and interface science*. 2004;273(2):463-9.
28. Kalyani RL, Venkatraju J, Kollu P, Rao NH, Pammi SVN. Low temperature synthesis of various transition metal oxides and their antibacterial activity against multidrug resistance bacterial pathogens. *Korean J ChemEng*. 2015;32(5):911-6.
29. Das D, Nath BC, Phukon P, Dolui SK. Synthesis and evaluation of antioxidant and antibacterial behavior of CuO nanoparticles. *Colloids and surfaces B, Biointerfaces*. 2013;101:430-3.

30. Thekkae Padil VV, Cernik M. Green synthesis of copper oxide nanoparticles using gum karaya as a biotemplate and their antibacterial application. *International journal of nanomedicine*. 2013;8:889-98.
31. Topnani N, Kushwaha S, Athar T. Wet synthesis of Copper Oxide Nanopowder. *International Journal of Green Nanotechnology: Materials Science & Engineering*. 2010;1(2):M67-M73.
32. Dianzeng J, Jianqun Y, Xi X. Synthesis of CuO nanometer powder by one step solid state reaction at room temperature. *Chinese Science Bulletin*. 1998;43(7):571-3.
33. Jung A, Cho S, Cho WJ, Lee KH. Morphology-controlled synthesis of CuO nano- and microparticles using microwave irradiation. *Korean J ChemEng*. 2012;29(2):243-8.
34. Singh D, Kumar A, Srivastava ON. Synthesis of Different Cu(OH)<sub>2</sub> and CuO (Nanowires, Rectangles, Seed-, Belt-, and Sheetlike) Nanostructures by Simple Wet Chemical Route. *Journal Phys Chem C*. 2009;113:3409-18.
35. Purkayastha DD, Das N, Bhattacharjee CR. Synthesis and antioxidant activity of cupric oxide nanoparticles accessed via low-temperature solid state thermal decomposition of bis(dimethylglyoximate)copper(II) complex. *Mater Lett*. 2014;123:206-9.
36. Nasibulin AG, Ahonen PP, Richard O, Kauppinen EI, Altman IS. Copper and copper oxide nanoparticle formation by chemical vapor nucleation from copper (II) acetylacetonate. *Journal of Nanoparticle Research*. 2001;3:385-400.
37. Abboud Y, Saffaj T, Chagraoui A, El Bouari A, Brouzi K, Tanane O, et al. Biosynthesis, characterization and antimicrobial activity of copper oxide nanoparticles (CONPs) produced using brown alga extract (*Bifurcaria bifurcata*). *Appl Nanosci*. 2014;4:571-6.
38. Nasrollahzadeh M, Sajadi SM, Khalaj M. Green synthesis of copper nanoparticles using aqueous extract of the leaves of *Euphorbia esula* L and their

catalytic activity for ligand-free Ullmann coupling reaction and reduction of 4-nitrophenol. RSC Adv. 2014;4:47313-8.

39. Cheirmadurai K, Biswas S, Murali R, Thanikaivelan P. Green synthesis of copper nanoparticles and conducting nanobiocomposites using plant and animal sources. RSC Adv. 2014;4:19507-11.

40. Cuevas R, Durán N, Diez MC, Tortella GR, Rubilar O. Extracellular Biosynthesis of Copper and Copper Oxide Nanoparticles by *Stereum hirsutum*, a Native White-Rot Fungus from Chilean Forests. J Nanomater. 2015;7.

41. Prado JV, Vidal AR, Duran TC. [Application of copper bactericidal properties in medical practice]. Revista medica de Chile. 2012;140(10):1325-32.

42. Hassanien R, Al-Said SA, Siller L, Little R, Wright NG, Houlton A, et al. Smooth and conductive DNA-templated Cu(2)O nanowires: growth morphology, spectroscopic and electrical characterization. Nanotechnology. 2012;23(7):075601.

43. Hadzic B, Romcevic N, Romcevic M, Kuryliszyn-Kudelska I, Dobrowolski W, Trajic J, et al. Surface optical phonons in ZnO(Co) nanoparticles: Raman study. J Alloy Compd. 2012;540:49-56.

44. Ashkenov N, Mbenkum BN, Bundesmann C, Riede V, Lorenz M, Spemann D, et al. Infrared dielectric functions and phonon modes of high-quality ZnO films. Journal of applied physics. 2003;93(1):126-33.

45. Rezende CP, da Silva JB, Mohallem NDS. Influence of Drying on the Characteristics of Zinc Oxide Nanoparticles. Brazilian Journal of Physics. 2009;39(1):248-51.

46. Ischenko V, Polarz S, Grote D, Stavarache V, Fink K, Driess M. Zinc Oxide Nanoparticles with Defects. Advanced Functional Materials. 2003;15(12):1945-54.

47. Kundu K, Karak N, Barik P, Saha S. Optical Properties of ZnO Nanoparticles Prepared by Chemical Method Using Poly (Vinyl Alcohol) (PVA) as Capping Agent. International Journal of Soft Computing and Engineering. 2011;1:19-24.

48. Kaftelen H, Ocakoglu K, Thomann R, Tu S, Weber S, Erdem E. EPR and photoluminescence spectroscopy studies on the defect structure of ZnO nanocrystals. *Physical Review B*. 2012;86:1-9.
49. Debbichi L, Marco de Lucas MC, Pierson JF, Kruger P. Vibrational Properties of CuO and Cu<sub>4</sub>O<sub>3</sub> from First-Principles Calculations, and Raman and Infrared Spectroscopy. *Journal of Physical Chemistry C*. 2012;116:10232-7.
50. Punnose A, Maurya BP, Mathew J, Umar M, Haque MI, Singh RJ. EPR observation of Cu<sup>2+</sup>-Cu<sup>2+</sup> pairs in Cupric Oxide Powders. *Solid State Communications*. 1993;88(3):195-8.
51. Huh AJ, Kwon YJ. "Nanoantibiotics": a new paradigm for treating infectious diseases using nanomaterials in the antibiotics resistant era. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*. 2011;156(2):128-45.
52. Chen CW, Hsu CY, Lai SM, Syu WJ, Wang TY, Lai PS. Metal nanobullets for multidrug resistant bacteria and biofilms. *Advanced drug delivery reviews*. 2014;78:88-104.
53. Dizaj SM, Lotfipour F, Barzegar-Jalali M, Zarrintan MH, Adibkia K. Antimicrobial activity of the metals and metal oxide nanoparticles. *Materials science & engineering C, Materials for biological applications*. 2014;44:278-84.

## APÉNDICE A

### *Pseudomonas aeruginosa*

*P. aeruginosa* es un bacilo aeróbico Gram-negativo perteneciente a la familia *Pseudomonadaceae*. Los bacilos miden aproximadamente de 0.5 a 0.8µm por 1.5µm. La mayoría de las cepas son móviles debido a un flagelo polar. Su temperatura óptima de crecimiento es de 37°C, pero puede crecer incluso hasta 42°C. Es una bacteria que se encuentra ampliamente distribuida en la naturaleza debido a que su requerimiento nutricional es mínimo. El bacilo es capaz de utilizar una gran cantidad de compuestos orgánicos, más de 75, como sustrato para crecer, capacidad que le permite colonizar nichos en el que son escasos los nutrientes. La bacteria no forma esporas y no fermenta azúcares. Debido a su alta capacidad de adaptabilidad, son organismos de vida libre que se encuentran en una gran variedad de ecosistema generalmente formando biopelículas.

Todas las cepas son potencialmente patógenas para el hombre y las plantas. *P. aeruginosa* representa un problema importante de salud pues se presenta como un patógeno oportunista generando infecciones nosocomiales comúnmente y afectando a pacientes inmunodeprimidos. Una vez que se establece la infección, la bacteria produce una serie de compuestos tóxicos que causan daño tisular extenso e interfieren con el funcionamiento del sistema inmune. Es una bacteria que presenta una muy alta resistencia natural a distintos antibióticos y a desinfectantes, resultando en una alta mortalidad en pacientes infectados.

Las enfermedades que puede causar en humanos involucran cualquier tejido y van desde endocarditis, infecciones respiratorias, septicemia, otitis, infecciones oculares, dermatitis y hasta infecciones de tracto urinario.

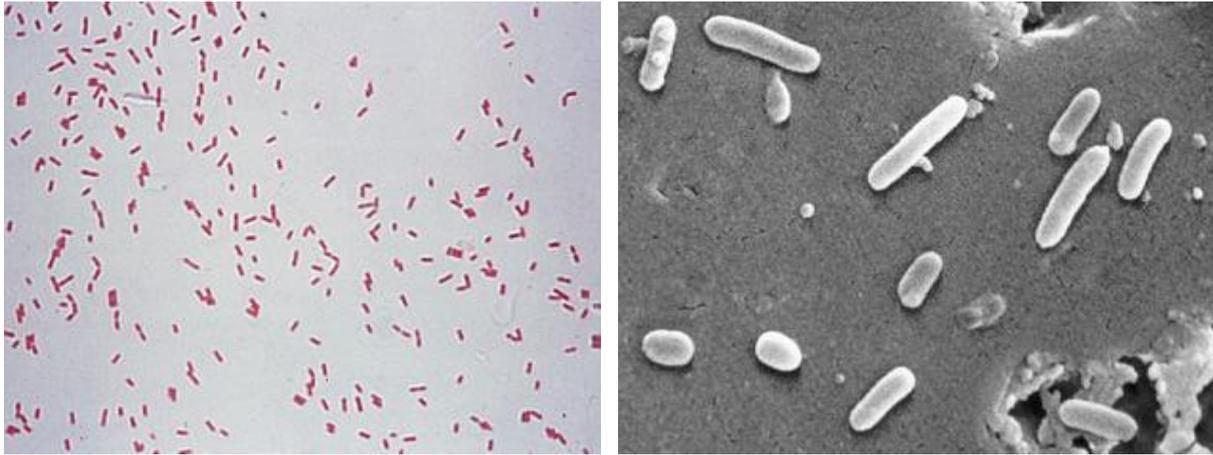


Figura 32. *Pseudomonas aeruginosa*, tinción Gram (izquierda) micrografía de microscopía electrónica de barrido (derecha)

### *Escherichia coli*

*E. coli* es la principal bacteria de una gran familia, *Enterobacteriaceae*, las bacterias entéricas. Es un bacilo anaerobio facultativo Gram-negativo que suele vivir en los tractos intestinales de animales. El tamaño de los bacilos varía de 0.6 a 0.8 de ancho y 2 a 4 de largo y son móviles. Esas bacterias no generan esporas y algunas cepas presentan cápsula. *E. coli* es una bacteria muy versátil que no es exigente en cuanto a sus requerimientos nutricionales; puede crecer solamente con glucosa, ya que es capaz de transformarla en todos los componentes macromoleculares que requiere la célula. En condiciones anaerobias, la bacteria sobrevive por medio de la fermentación produciendo ácidos mixtos y gas.

Es una bacteria increíblemente adaptable que responde a una variedad de señales externas como pH, temperatura, osmolaridad, entre otras. Si la célula censa un químico puede moverse hacia él o alejarse. Ante los cambios de temperatura y osmolaridad, las bacterias pueden modificar las porinas de su membrana externa para aprovechar nutrientes o excluir sustancias nocivas. Tiene la capacidad de crear fimbrias que son capaces de unirse de manera específica a un receptor.

Debido a su frecuencia, es el agente etiológico más común que causa septicemia adquirida tanto dentro como fuera de hospitales; también es causante principal de infecciones urinarias y de meningitis bacteriana. *E. coli* es el agente número 2 causante de enfermedades diarreicas en los países en vías de desarrollo. Las cepas que ocasionan padecimientos entéricos tienen características diferentes y,

dependiendo de su mecanismo de acción, se clasifican en 6 categorías: enterotoxigénica, enteropatógena, enterinvasiva, enteroagregativa, adherente-difusa y enterohemorrágica.

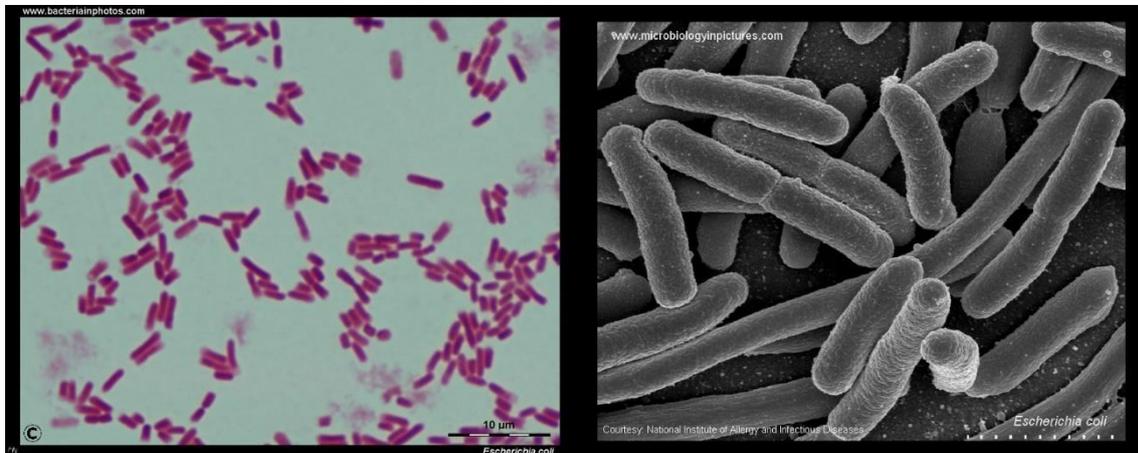


Figura 33. *E. coli*, tinción Gram a 1000x(izquierda) y micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (derecha)

### *Staphylococcus aureus*

*Staphylococcus aureus* son bacterias esféricas con un diámetro aproximado de 0.8-1.0  $\mu\text{m}$ ; no poseen flagelos, ni esporas. Son bacterias Gram positivas y su agrupación característica es en cúmulos parecido a racimos de uvas. La temperatura óptima de incubación es de 30-37°C, aunque son capaces de crecer en un rango amplio de temperatura que va desde los 10°C y hasta los 40°C, y soporta una concentración alta de NaCl (15%). Son bacterias anaerobias facultativas que pueden crecer a partir de respiración aerobia o por medio de la fermentación. *S. aureus* es uno de los estafilococos que son coagulasa positiva, lo que le permite a la bacteria interferir con la fagocitosis cuando infecta a un paciente humano. La coagulasa es una enzima capaz de producir redes de fibrina alrededor de los microorganismos impidiendo que el fagocito entre en contacto con ellos. Esta bacteria se encuentra de manera normal en la nariz y la piel de seres humanos, y en ocasiones se encuentra en la cavidad oral y tracto intestinal; sin embargo, debe considerarse como una bacteria patógena. Su nombre se debe a la pigmentación de las colonias que son de color amarillo cuando crecen en medios ricos en nutrientes.

Puede causar infecciones supurativas, infecciones estomacales y síndrome del choque tóxico. Dentro de las enfermedades más graves que *S. aureus* causa se

encuentran la neumonía, flebitis, meningitis y endocarditis. Una de las cepas de mayor relevancia es el *S. aureus* resistente a la meticilina (MRSA por sus siglas en inglés) observada predominantemente en infecciones nosocomiales, y más recientemente se ha encontrado fuera de hospitales. La resistencia a la meticilina es un indicativo de multiresistencia a antibióticos por parte de las bacterias.

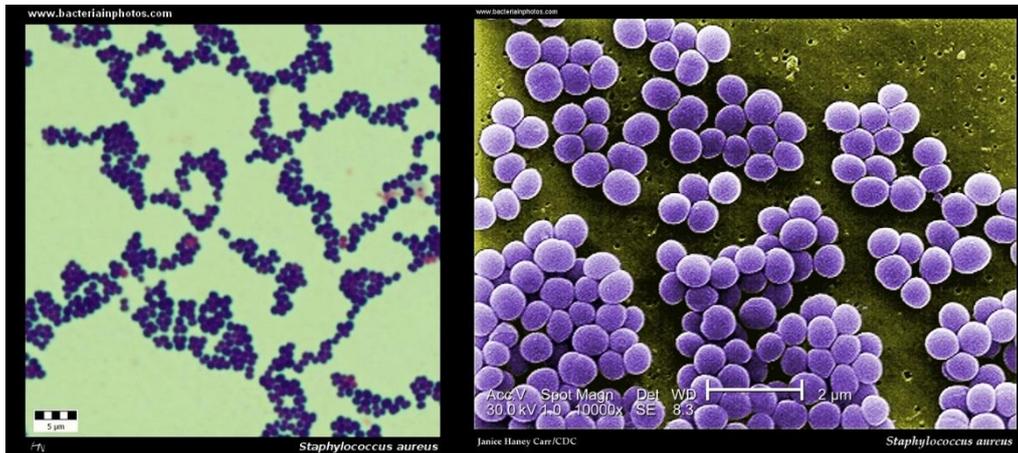


Figura 34. *S aureus*, tinción Gram (izquierda) y micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (derecha)

### *Staphylococcus epidermidis*

La bacteria es de forma esférica Gram-positiva, con diámetros aproximados de 1µm. *S epidermidis* no se considera patógena e incluso puede ser importante como flora normal de los humanos actuando de manera protectora. Es una bacteria que no produce la enzima coagulasa; sin embargo, puede ser considerado como un patógeno oportunista. Las colonias de esta bacteria son de color blanco cuando crecen en medio de cultivo y por esta razón se nombró al principio *Staphylococcus albus*, para después nombrarse *S epidermidis* ya que es un habitante natural de la piel. Son bacterias mesófilas, su temperatura óptima de crecimiento es 37°C, aunque puede crecer a diferentes temperaturas. Es una bacteria no móvil y que no forma esporas.

Se conoce muy poco acerca del mecanismo de patogénesis de las infecciones causadas por *S. epidermidis*. Se encuentra regularmente formando biopelículas lo que genera un problema sobre todo en dispositivos prostéticos. Es uno de los cinco microorganismos más significativos que se encuentran en la piel y mucosas por ser causante de infecciones nosocomiales debido al uso de los implantes médicos. Se ha

aislado a esta bacteria de lentes de contacto, catéteres urinarios, implantes de corazón, entre otros, generando cerca de 22% de infecciones en torrente sanguíneo.

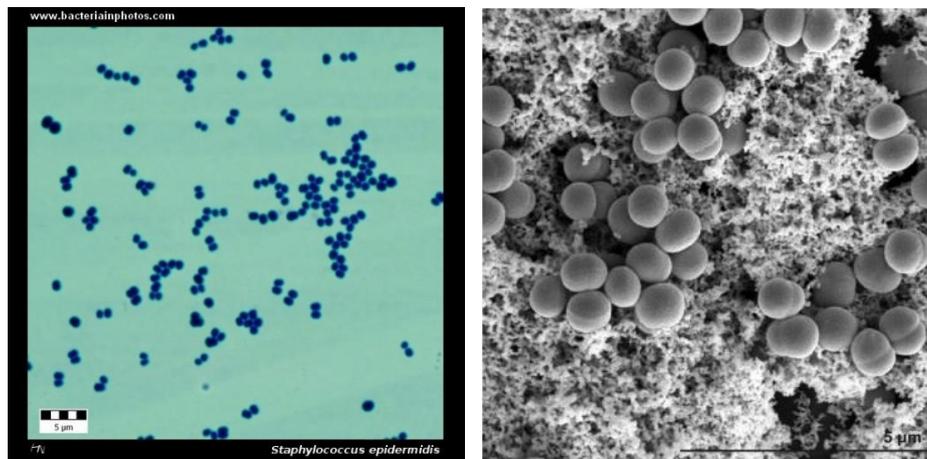


Figura 35. *S epidermidis*, tinción Gram (izquierda) y micrografía obtenida por microscopía electrónica de barrido (derecha)

## APÉNDICE B

### Resonancia Paramagnética Electrónica de Productos Comerciales

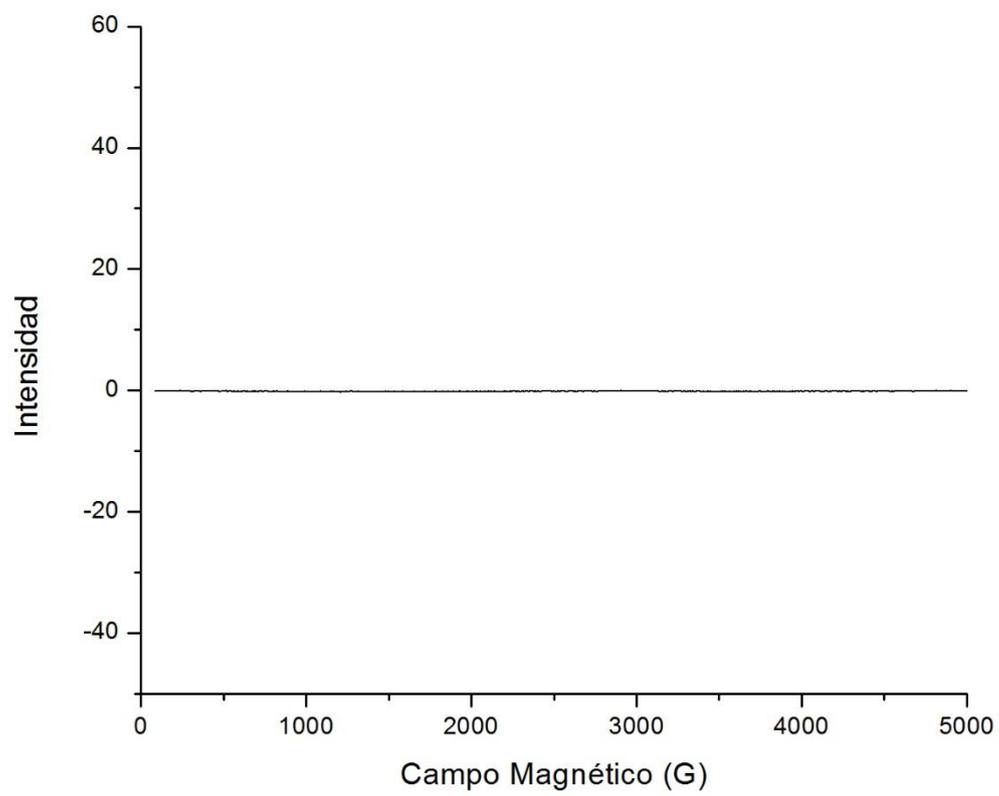


Figura 36. Espectro de RPE de ZnO Comercial

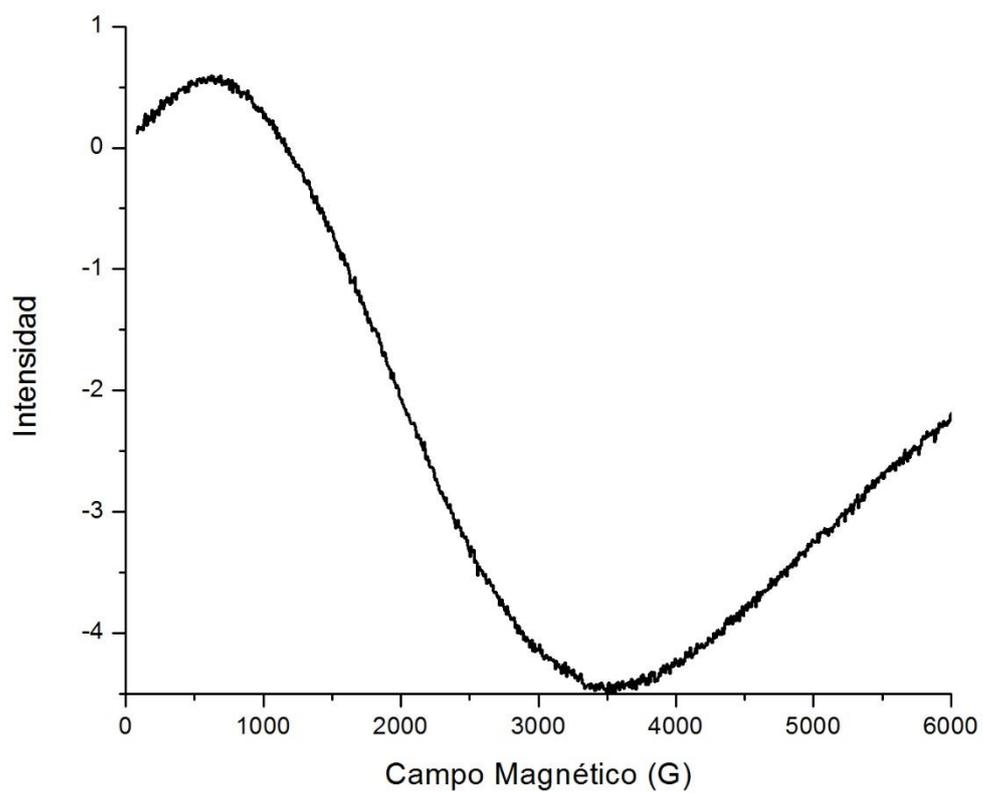


Figura 37. Espectro de RPE de CuO Comercial

## APÉNDICE C

Tarjetas JCPDS utilizadas para la caracterización de las NPs obtenidas durante la realización de esta tesis.

89-7102		Wavelength= 1.54060					C		
ZnO		2 $\theta$	Int	h	k	l			
Zinc Oxide		31.772	557	1	0	0			
		34.420	393	0	0	2			
		36.256	999*	1	0	1			
Zincite, syn		47.541	197	1	0	2			
Rad.: CuK $\alpha$ 1	$\lambda$ : 1.54060	Filter:	d-sp: Calculated	56.602	285	1	1	0	
Cut off: 17.7	Int.: Calculated	I/Icor.: 5.33	62.858	253	1	0	3		
Ref: Calculated from ICSD using POWD-12++			66.384	36	2	0	0		
Ref: Heller, R.B., McGannon, J., Weber, A.H., J. Appl. Phys., 21, 1283 (1950)			67.953	190	1	1	2		
			69.094	97	2	0	1		
			72.563	15	0	0	4		
			76.967	28	2	0	2		
Sys.: Hexagonal	S.G.: P6 $_3$ mc (186)		81.384	14	1	0	4		
a: 3.2495(2)	b:	c: 5.2069(1)	A:	C: 1.6024	89.619	58	2	0	3
$\alpha$ :	$\beta$ :	$\gamma$ :	Z: 2	mp:					
Ref: Ibid.									
Dx: 5.676	Dm:								

Peak height intensity. PSC: hP4. See PDF 79-205. No R value given. At least one TF missing. Mwt: 81.38. Volume[CD]: 47.61.

 © 2003 JCPDS-International Centre for Diffraction Data. All rights reserved  
PCPDFWIN v. 2.4

Figura 38. Tarjeta cristalográfica de óxido de zinc, ZnO

89-2529		Wavelength= 1.54060					C					
CuO		2 $\theta$	Int	h	k	l	2 $\theta$	Int	h	k	l	
Copper Oxide		32.489	92	1	1	0	80.324	21	$\bar{1}$	1	4	
		35.437	391	0	0	2	80.324		$\bar{2}$	0	4	
		35.551	994	$\bar{1}$	1	1	82.536	43	$\bar{3}$	1	3	
Tenorite, syn		38.668	999*	1	1	1	82.929	27	2	2	2	
Rad.: CuK $\alpha$ 1	$\lambda$ : 1.54060	Filter:	d-sp: Calculated	38.945	261	2	0	0	83.379	4	3	1
Cut off: 17.7	Int.: Calculated	I/Icor.: 3.52	46.285	17	$\bar{1}$	1	2	83.627	32	4	0	0
Ref: Calculated from ICSD using POWD-12++			48.841	281	$\bar{2}$	0	2	86.729	16	$\bar{4}$	0	2
Ref: Calos, N.J., Forrester, J.S., Schaffer, G.B., J. Solid State Chem., 122, 273 (1996)			51.286	11	1	1	2	86.729		$\bar{2}$	2	3
			53.399	80	0	2	0	87.886	1	1	1	4
			56.638	6	0	2	1	87.886		1	3	0
Sys.: Monoclinic	S.G.: C2/c (15)		58.206	130	2	0	2	89.652	34	$\bar{1}$	3	1
a: 4.6832	b: 3.4288	c: 5.1297	A: 1.3658	C: 1.4961	61.580	167	$\bar{1}$	1	3			
$\alpha$ :	$\beta$ : 99.309	$\gamma$ :	Z: 4	mp:	65.732	122	0	2	2			
Ref: Ibid.			66.301	133	$\bar{3}$	1	1					
			66.484	73	3	1	0					
			67.823	75	1	1	3					
			68.038	141	2	2	0					
			68.869	2	2	2	1					
			71.807	3	3	1	2					
Dx: 6.500	Dm:		72.335	56	3	1	1					
			72.851	4	2	2	1					
			74.987	41	0	0	4					
Peak height intensity. R-factor: 0.025. C.D. Cell: a=5.130, b=3.429, c=4.683, $\beta$ =99.31, a/b=1.4961, c/b=1.3658, S.G.=A2/a(15). PSC: mC8. Mwt: 79.55. Volume[CD]: 81.29.			75.263	54	$\bar{2}$	2	2					
			79.663	1	0	2	3					

 © 2003 JCPDS-International Centre for Diffraction Data. All rights reserved  
PCPDFWIN v. 2.4

Figura 39. Tarjeta cristalográfica de óxido de cobre, CuO