



Casa abierta al tiempo

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA METROPOLITANA
Unidad Xochimilco

DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD

DEPARTAMENTO DE ATENCIÓN A LA SALUD

LICENCIATURA EN MEDICINA

SÍNTESIS VERDE DE NANOPARTÍCULAS METÁLICAS CON ACTIVIDAD
ANTIMICROBIANA.

M.P.S.S. CASTAÑO MONDRAGÓN SELENE

2163024611

ASESOR

DRA. AIDA HAMDAN PARTIDA

No. Económico 26343

DR. JAIME AMADEO BUSTOS MARTINEZ

No. Económico 8758

AGOSTO 2023

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO I INVESTIGACIÓN | 4 |
| 1.1 Planteamiento del problema | 4 |
| 1.2 Justificación | 4 |
| 1.3 Marco teórico | 5 |
| 1.4 Objetivo general..... | 11 |
| 1.5 Objetivos específicos | 11 |
| 1.6 Hipótesis | 11 |
| 1.7 Metodología | 11 |
| 1.7.3 Material y métodos | 12 |
| 1.7.3.1 Obtención del extracto de laurel..... | 12 |
| 1.7.3.2 Obtención del extracto de epazote..... | 12 |
| 1.7.3.3 Síntesis de nanopartículas de Zn con extracto de laurel y extracto de epazote | 12 |
| 1.7.3.4 Síntesis de nanopartículas de Zn | 13 |
| 1.7.3.5 Síntesis de nanopartículas de Zn dopadas con Cu adicionadas con extracto de laurel y epazote. | 13 |
| 1.7.3.6 Síntesis de nanopartículas de Zn dopadas con Cu..... | 13 |
| 1.7.3.7 Caracterización de las nanopartículas..... | 14 |
| 1.7.3.8 Determinación del efecto antimicrobiano de las nanopartículas | 14 |
| 1.7.3.9 Concentración mínima inhibitoria de las nanopartículas. | 14 |
| 1.8 Resultados y análisis de resultados..... | 16 |
| 1.8.1 Caracterización de las nanopartículas | 16 |
| 1.8.1.1 Espectrografía UV-Vis | 16 |
| 1.8.1.2 Tamaño de partícula..... | 17 |
| 1.8.1.3 pH de las soluciones..... | 19 |
| 1.8.2 Efecto antimicrobiano..... | 20 |
| 1.8.2.1 Halos de inhibición de los nanocompuestos de Zinc y Zinc + Cobre adicionados de extractos naturales. | 20 |
| 1.8.2.1.1 Primera prueba | 20 |
| 1.8.2.1.2 Segunda prueba..... | 25 |
| 1.8.2.2 Halos de inhibición de nanocompuestos de cobre solo | 45 |
| 1.8.2.3 Halos de inhibición de los extractos naturales..... | 46 |
| 1.8.2.4 Concentración mínima inhibitoria | 47 |
| 1.9 Conclusiones de la investigación..... | 48 |
| 1.10 Bibliografía | 49 |

| | |
|---|----|
| CAPÍTULO II DESCRIPCIÓN DE LA COMUNIDAD DONDE SE HIZO LA INVESTIGACIÓN | 52 |
| 2.1 Datos históricos | 52 |
| 2.2 Geografía local | 52 |
| CAPÍTULO III DESCRIPCIÓN DEL CENTRO DE TRABAJO, INFRAESTRUCTURA, RECURSOS FÍSICOS Y HUMANOS. | 53 |
| 3.1 Infraestructura | 53 |
| 3.2 Recursos humanos | 53 |
| CAPÍTULO IV ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL SERVICIO SOCIAL | 53 |
| 4.1 Docencia | 53 |
| 4.2 Investigación | 54 |
| 4.3 Acreditación de la carrera de medicina | 55 |
| 4.4 Organización y desarrollo de congresos | 55 |
| CAPÍTULO V CONCLUSIONES DEL PASANTE SOBRE SU SERVICIO SOCIAL | 56 |
| 5.1 En relación a su formación como personal | 56 |
| 5.2 En relación a su formación profesional | 56 |
| 5.3 En relación a su aportación a la comunidad | 57 |
| 5.4 En relación a su institución educativa | 57 |

CAPÍTULO I INVESTIGACIÓN

Síntesis de nanopartículas metálicas con actividad antimicrobiana

1.1 Planteamiento del problema

¿Cuál es el efecto de las nanopartículas metálicas (de cobre y zinc) sobre agentes bacterianos?

1.2 Justificación

La nanotecnología es un área de las ciencias que ha venido desarrollándose a lo largo de los años, hablándose de ella por primera vez en los años 70. ha sido utilizada en múltiples áreas como la industria cosmética, agricultura, alimentación y la de mayor interés o relevancia para esta investigación, la industria farmacéutica. En los últimos años se ha estudiado y utilizado el uso de la nanotecnología como vehículos farmacéuticos en medicamentos antitumorales, ya que han demostrado aumentar la eficacia de los mismos, así como su implementación en varias fórmulas con efectos antimicrobianos. Es por eso que esta investigación se centra en la formulación y estudio de nanopartículas metálicas, específicamente nanopartículas de Zn (Zinc) y Cu (cobre) haciendo énfasis en el estudio de sus efectos antimicrobianos, ayudándonos también de la utilización de extractos naturales para favorecer y potencializar sus efectos, creando una síntesis verde de nanopartículas metálicas.

La investigación se centra en el estudio de los efectos antimicrobianos sobre bacterias de importancia clínica, enfocándonos principalmente en las bacterias descritas por la OMS (Organización Mundial de la Salud) entre las que se incluyen las siguientes: Acinetobacter, Pseudomonas y varias enterobacteriáceas como Klebsiella, E. coli, Serratia, y Proteus. Son bacterias que pueden provocar infecciones graves y a menudo letales.

El zinc se ha utilizado ampliamente como material antimicrobiano, a menudo en forma de complejos o nanopartículas de óxido de zinc. La eficacia de los complejos de zinc a menudo se debe al efecto sinérgico de los iones de zinc y los ligandos orgánicos adjuntos. Por el contrario, se ha postulado que el efecto de nanopartículas de ZnO y la generación fotocatalítica de especies reactivas de oxígeno (ROS) son el mecanismo efectivo de ZnO como biocida. Recientemente, se han informado nuevas formas de materiales biocidas a base de zinc con distintos mecanismos antimicrobianos (Riduan, & Zhang, 2021).

1.3 Marco teórico

Introducción

La nanotecnología es un área de la ciencia dirigida al estudio de la manipulación de la materia a nivel molecular y atómico. El término 'nano' proviene de la palabra griega νῦνος, que significa 'enano' o 'extremadamente poco'. Según la Fundación Nacional de Ciencias de EE. UU. y la Iniciativa Nacional de Nanotecnología (NNI), el rango de tamaño de los nanomateriales debe estar entre 1 y 100 nm (Hernández-Díaz, J. et al. 2020)

En los últimos años la nanotecnología está tomando fuerza en todas las áreas de la ciencia y la tecnología, debido a que los materiales nanométricos y las nanopartículas poseen propiedades peculiares y únicas que permiten su aplicación en diferentes campos de las ciencias, como la agricultura, la medicina, la aeronáutica, la cosmética, la eléctrica, la bioquímica, la mecánica, la energía, etc. (Pérez-Alvarez, M. et al. 2021).

La nanotecnología se ocupa de controlar, modificar y fabricar materiales, estructuras y dispositivos con precisión nanométrica. Ayuda a comprender la física, la química, la biología y la tecnología fundamentales de los objetos a escala nanométrica, cuyo rango de tamaño va de 1 a 100 nanómetros (nm) (López et al., 2011; Bisht G, Rayamajhi S., 2016). Esta rama de la ciencia tiene diversas aplicaciones como lo son en la nanomedicina, bioseñalización, separación biológica, imagenología molecular y por supuesto terapia de cáncer (Pirozzi et al., 2009; Kaushik et al., 2009; Soleymani et al., 2017; Song et al., 2009; Zhou et al., 2009; Kuo et al., 2009). Durante más de 30 años, los nanomateriales se han utilizado como vehículos farmacéuticos para mejorar la eficacia antitumoral *in vivo de los fármacos*. Los primeros estudios en la década de 1970 utilizaron portadores de fármacos a nanoescala, como los liposomas que atrapan fármacos antitumorales (Vinardell MP, Mitjans M, 2015).

Se han estudiado nanopartículas de múltiples materiales metálicos como Au (oro), Ag (plata), Zn (Zinc), Cu (cobre), Fe (hierro), entre otros metales. Para esta investigación se tendrá un enfoque principalmente en las nanopartículas metálicas sintetizadas a base de Zn y Cu, ya que las nanopartículas de ZnO y CuO se pueden aplicar en la terapia contra el cáncer, cremas cosméticas y catalizadores industriales. Las NP de ZnO se emplean ampliamente debido a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) y su comportamiento electrostático único, que puede prevenir daños en el ADN. A pH fisiológico, las NP de ZnO encuentran una carga positiva que aumenta la actividad fagocítica del organismo y la muerte de las células cancerosas (Cao Y, et al. 2021). Además de que según Colón et al., 2006, y Padmavathy y Vijayaraghavan, 2008, las NP de ZnO no son tóxicas para las células humanas, son dañinas para los microorganismos y poseen una excelente biocompatibilidad con las células humanas. Esto califica su uso biomédico como agentes antimicrobianos, anticancerígenos, antidiabéticos y antiinflamatorios y en la cicatrización de heridas, administración de fármacos/genes, imágenes celulares y biosensores (Klink MJ, et al 2022)

Las nanopartículas metálicas en el organismo

Todos los animales y humanos sanos tienen pequeñas nanopartículas de metal en la sangre que pueden ser componentes dominantes de los mecanismos de defensa del cuerpo contra el cáncer (Vodyanoy V., 2021). Los oligoelementos en el cuerpo como el zinc (Zn), el cobre (Cu), el hierro, el yodo, el fluoruro, el cromo, el selenio, el manganeso y el molibdeno están involucrados en la estructura de las metaloenzimas, las proteínas, la función inmunitaria, la producción de ADN, la función enzimática, las hormonas y función antioxidante (Cao Y et al., 2021). Por ello es importante que estos elementos se encuentren regulados, ya que el exceso, disminución o ausencia de estos puede condicionar algunas enfermedades, por ejemplo, la disminución de cobre puede condicionar a la aparición de anemia o síndrome de menkes, o por el contrario, el exceso de este ion puede condicionar la aparición de enfermedad de Wilson; y en el caso de deficiencias de zinc pueden llevar al inmunocompromiso. (Szabo R et al., 2021)

El cobre es un elemento metálico con alta ductilidad y conductividad térmica y eléctrica, además de ser un mineral esencial para los órganos vivos porque desempeña un papel clave en la producción de la enzima respiratoria de la citocromo oxidasa C. (Zadeh FA et al., 2022).

El zinc juega un papel importante en la respuesta al estrés oxidativo, la replicación del ADN, la reparación del daño del ADN, la progresión del ciclo celular y la apoptosis; por lo tanto, una deficiencia de zinc conduce a interrupción de la homeostasis crucial en las células. Además de ser un cofactor importante en varios mecanismos celulares, por lo tanto, ZnO muestra biocompatibilidad. Se ha observado que el zinc intracelular bajo induce daño oxidativo en el ADN, interrumpe p53 y afecta la reparación del ADN en líneas celulares de glioma de rata (Bisht G, Rayamajhi S., 2016). Otra gran propiedad que confieren las nanopartículas de ZnO y por la cual son de gran importancia para su estudio, es que estas tienen la naturaleza inherente de mostrar citotoxicidad selectiva contra células cancerosas en condiciones in vitro en comparación con otras nanopartículas (Muhamath B., 2020).

Efectos citotóxicos de las nanopartículas sobre células cancerígenas

El uso de la combinación de estas nanopartículas ha cobrado gran importancia en el ámbito químico/médico ya que estas figuran una gran alternativa para el desarrollo de nuevas alternativas para el diagnóstico y tratamiento del cáncer.

Llama la atención el uso de nanopartículas como el Cu, Zn, He y Au ya que, entre los tipos de nanopartículas, la nanoestructura bimetalica de la combinación de dos metales diferentes tiene propiedades únicas en el campo de la luz, el calor, catalítica, administración de fármacos y efectos terapéuticos (Zadeh FA et al., 2022).

Corrientemente, se han diseñado varias NP metálicas para curar o diagnosticar el cáncer; entre estos, la plata (Ag), el oro (Au), el zinc (Zn) y el cobre (Cu) son las principales NP anticancerígenas. El potencial anticancerígeno de estas NP se atribuye a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS) en los compartimentos celulares que eventualmente conducen a la activación de las vías de muerte autofágica, apoptótica y necrótica (Andleeb, A. et al, 2021) Las NP de óxidos metálicos como el óxido de zinc (ZnO) y el óxido de cobre (CuO) demostraron diversas aplicaciones biológicas; ya que

estas NP son altamente compatibles con las células normales del cuerpo y pueden producir citotoxicidad en células cancerígenas (Cao Y et al., 2021). Es por ello que su uso genera gran interés. Se demostró que las nanopartículas de metal endógenas obtenidas de la sangre de humanos, conejos o perros y las nanopartículas de zinc y cobre diseñadas a niveles subnanomolares matan las células cancerosas cultivadas, ya que se observó que desde pequeñas concentraciones de nanopartículas metálicas de 1 a 2 nm de tamaño aisladas de sangre animal son tóxicas para las células cancerosas cultivadas. (Vodyanoy V., 2021)

El óxido de zinc es un agente teranóstico (combinación de terapia y diagnóstico) prometedor para el tratamiento del cáncer. Su propiedad inherente de fotoluminiscencia es útil en aplicaciones de detección, y las propiedades de semiconductores de banda ancha son útiles para promover la generación de especies reactivas de oxígeno. El mecanismo de acción de las nanopartículas de ZnO se desconoce realmente, pero se cree que este actúa por medio de la producción de especies reactivas de oxígeno. Las ROS son inducidas por las NP de ZnO de dos maneras; uno se debe a la respuesta proinflamatoria de la célula frente a las nanopartículas y el otro se debe a la propiedad superficial característica de las NP de ZnO que las convierte en un sistema de reacción redox que produce ROS (Sharma H. et al, 2016) .Además de la producción de ROS, se descubrió que las nanopartículas de ZnO inducen la actividad de la enzima caspasa-3, Fragmentación del ADN, generación de especies reactivas de oxígeno y estrés oxidativo, en varios tipos celulares como lo son las células HepG2, MCF-7 (Nordin N et al., 2017). El mecanismo exacto para inducir la apoptosis no está claro, pero la mutación o el daño en el ADN parecen desempeñar un papel importante en el desencadenamiento de la activación del gen p53, que conduce a la apoptosis. El dominio específico de unión al ADN de p53 contiene una estructura terciaria compleja que se estabiliza con zinc. Por lo tanto, el zinc juega un papel importante en el mantenimiento de la actividad del gen supresor de tumores p53, que regula la actividad de la apoptosis de las células (Bisht G, Rayamajhi S., 2016).

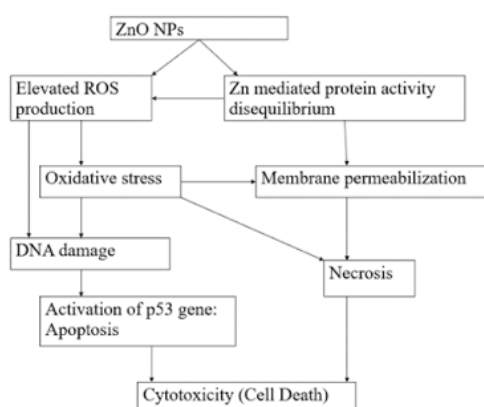


Ilustración 1 Esquema de los mecanismos de acción de citotoxicidad del Zn. (Bisht G, Rayamajhi S., 2016)

Si bien las NP de ZnO por sí solas tienen un gran efecto contra células cancerígenas, se ha visto que las NP de ZnO dopadas con Cu muestran una mayor actividad anticancerígena en comparación con las NP de ZnO no dopadas (Muhamath B., 2020). Según estudios realizados se han mostrado efectos tóxicos del ZnO-CuO contra la línea celular MCF-7, y a una concentración de más de 600 µg/mL, los efectos citotóxicos alcanzaron el 100%. El tamaño de las nanopartículas de ZnO-CuO (28 nm) mostró toxicidad en las células cerebrales, dependiendo del tiempo y la concentración. En la primera etapa, las nanopartículas limitaban la capacidad de

división celular. Luego bloquearon el ciclo celular (en la fase G2-M), lo que eventualmente llevó a la muerte celular. (Zadeh FA et al., 2022)

Los estudios *in vitro* demostraron que las nanopartículas de óxido cuproso (CuONP) inducen selectivamente la apoptosis de las células tumorales *in vitro*. Además, los autores observaron que los CONP se dirigieron a las mitocondrias de las células HeLa *in vitro*, lo que resultó en la liberación de citocromo C de las mitocondrias y la activación de caspasa-3 y caspasa-9 después de que los CONP ingresaran a las células (Vinardell MP, Mitjans M., 2015).

Se podría pensar que la citotoxicidad que estas NP generan podría afectar al resto de las células, pero según un estudio realizado comparando la hemólisis que estas no podrían producir en la sangre de pacientes sanos, mostraron que las nanopartículas de óxido de zinc solo causaron un 4,16 % de hemólisis. Por lo tanto, se puede sugerir que las nanopartículas de óxido de zinc son mínimamente tóxicas para los glóbulos rojos y, por lo tanto, también para otras células normales del cuerpo (Sharma H. et al, 2016).

En otro estudio realizado para examinar la seguridad y toxicidad *in vivo* de los CuONP, se inyectaron a ratones C57BL/6 con una dosis intravenosa de CuONP (administración total de CuONP de 6 mg/kg). La toxicidad fue monitoreada en los siguientes 7 días. Ningún ratón murió, y todos los ratones vivieron normalmente durante los siguientes 7 días (Wang Y et al., 2013).

Efectos antimicrobianos de las nanopartículas de Zinc y de Cobre

Se sabe que las nanopartículas de metal y óxido de metal, que incluyen plata, zinc, cobre, óxido de zinc, dióxido de titanio, óxido de cobre y óxido de hierro, exhiben propiedades antimicrobianas contra diversas cepas bacterianas (Li Y et al, 2020). Durante los últimos años se ha venido estudiando el efecto antimicrobiano de las nanopartículas de zinc, presentando efectos de inhibición en el crecimiento en diferentes bacterias tales como *S. aureus*, *V. cholerae*, *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis* (Ramesh M et al, 2015. Umar H et al 2018). La concentración de Zn es un factor clave que influye en el crecimiento de bacterias. A bajas concentraciones predomina el efecto promotor, pero cuando la concentración es demasiado alto, el exceso de Zn inhibe el crecimiento bacteriano (Ye, Q., et al. 2020).

Las nanopartículas al tener efectos antimicrobianos suelen tener distintos mecanismos de acción debido a sus potentes propiedades fisicoquímicas, los cuales son:

- La interrupción directa de la membrana,
- Daño a lípidos y proteínas sensibles a la oxidación por generación de especies reactivas de oxígeno (ROS)
- Daño al ADN
- Daño a la funcionalidad de las proteínas/enzimas celulares
- El desencadenamiento de la inflamación
- El daño a la función mitocondrial

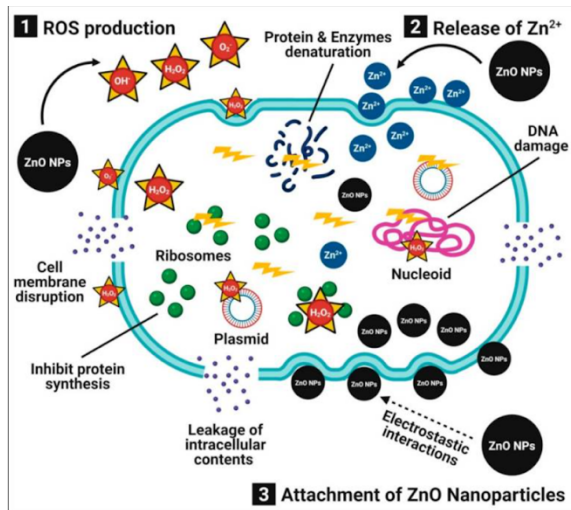


Ilustración 2 Esquema de los mecanismos de acción de las nanopartículas de Zn (Ye, Q., et al. 2020)

Cuando demasiado Zn llegan a las bacterias, se pueden absorber firmemente en la célula superficie por las fuerzas de Coulomb y causar los siguientes efectos; (1) la producción de ROS, que induce estrés oxidativo, alteración de la membrana celular y daño del ADN, lo que provoca la muerte de las células bacterianas; (2) la disolución de nanopartículas de óxido de zinc en la liberación de iones Zn^{2+} , que interactúan con la célula bacteriana, especialmente la membrana celular, el citoplasma y el ácido nucleico, desintegrando así la integridad celular y provocando la muerte celular bacteriana; y (3) interacciones directas entre las nanopartículas de óxido de zinc y las membranas celulares

bacterianas a través de fuerzas electrostáticas que dañan la membrana plasmática y provocan una fuga de componentes intracelulares. Además, en concentraciones sub bactericidas, Zn puede prevenir la formación de biopelículas en muchas bacterias. (Malekxhiat H-S, & Malmsten M, 2017, Murali, M., et al 2021, Ye, Q., et al. 2020).

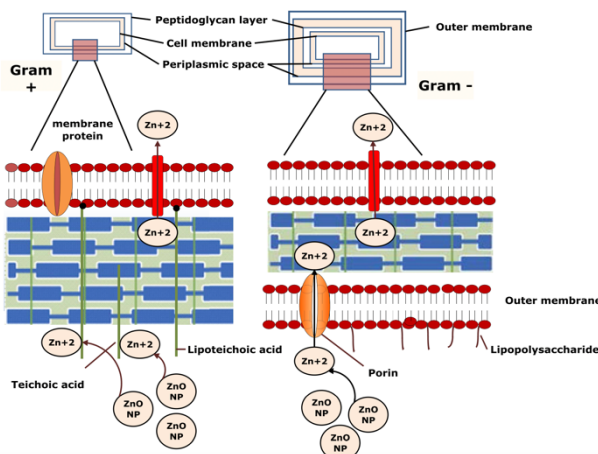


Ilustración 3 Mecanismos de acción del Zn sobre la pared celular de bacterias grampositivas y gramnegativas

Las bacterias Gram - tienen una triple capa de peptidoglicano en su pared celular donde las porinas están presentes en la capa externa y que facilitan la difusión pasiva o fusión de nanopartículas dentro de la célula. La ilustración 3 representa diferentes mecanismos adoptados por grampositiva y gramnegativas bacterias para la fijación de nanopartículas de ZnO y su transporte dentro de la célula. ZnO NP también puede ser internalizado por endocitosis, captación inespecífica o difusión de membrana a través de poros basados en membrana

dependiendo de su forma y tamaño (Happy Agarwal et al 2018).

Además de la actividad antibacteriana, las nanopartículas de óxido de zinc también poseen actividad antifúngica contra muchos hongos y levaduras dañinos, lo que las convierte en aditivos alimentarios antifúngicos prometedores (Murali, M., et al 2021). Esto puede ser mediado por mecanismos muy similares a como actúa sobre las bacterias, pero principalmente se describe que las nanopartículas de óxido de zinc que pueden ingresar a las células fúngicas (conidiales) por difusión y endocitosis; interfieren en la función mitocondrial y promueven la producción de ROS y la liberación de iones Zn dentro del citoplasma (Murali, M., et al 2021).

Las nanopartículas de óxido de zinc representan una mejor acción antimicrobiana como en comparación con los compuestos solubles de Zn como el cloruro de zinc debido a su potencial de

orientación activa, la capacidad para la interrupción de la integridad de la membrana celular y ROS además de que ayuda aún más en la desnaturalización de proteínas, lípidos y ADN. (Happy Agarwal et al 2018).

Los CuNP muestran actividad antimicrobiana contra una amplia gama de patógenos, ya sean bacterianos o fúngicos. Los CuNP se utilizan como agentes antimicrobianos debido a su alta relación superficie/volumen y su fácil interacción con otras partículas para aumentar su eficacia antimicrobiana. El mecanismo de la actividad antimicrobiana de CuNPs aún no está claro. Se ha demostrado que los CuNP actúan como fungicidas al generar radicales hidroxilo altamente reactivos (Vijayakumar, S., et al. 2016).

Además de los iones Zn también se pueden usar en combinación con muchos antibióticos. Por lo general, los iones de zinc se utilizan para promover la acción de antibióticos como la vancomicina, quinolonas, aminoglucósidos, tetraciclina y macrólido (Ye, Q et al. 2020)

Síntesis verde de nanopartículas

La síntesis de nanopartículas (NP) se realiza principalmente de dos maneras, de arriba hacia abajo y de abajo hacia arriba. En el enfoque de arriba hacia abajo implica cortar o triturar materiales a granel en partículas finas a nanoescala. Los enfoques de abajo hacia arriba implican la creación de materiales a nanoescala ensamblándolos átomo a átomo, moléculas por moléculas y clúster por grupo. Se han desarrollado los diferentes métodos para la síntesis de NP, incluidos los físicos, químicos y biológicos (Patil M., et al 2021).

Las plantas que contienen un alto contenido de compuestos polifenólicos ya han demostrado la capacidad de reducir adecuadamente diferentes sales metálicas como la plata en sus nanomateriales metálicos debido al potencial reductor de estos compuestos fenólicos ().

Existen varias formas de sintetizar y crear NP, Hay varias ventajas de usar plantas para la síntesis de NP, ya que son seguras de manejar, están fácilmente disponibles y contienen una gran variedad de biomoléculas o metabolitos que ayudan en la estabilización y reducción de NP (Andleeb, A. et al, 2021). Además de que implican un menor costo, respeto al medio ambiente y la posibilidad de una producción barata y fácil a escala industrial (Zadeh FA et al., 2022).

La síntesis de nanopartículas a base de plantas ha dado buenos resultados, además de que se ha visto que distintas plantas pueden ser útiles para el desarrollo de esta tecnología.

Las síntesis de las nanopartículas se puede realizar a partir de diferentes extractos de plantas, como el de *Ficus religiosa*, o *Acalypha indica*, *Lonicera caprifolium*, *Solanum nigrum*, *Mentha puegium*, entre otras.

Composición Química del Aceite Esencial de la Hoja de Laurel. El análisis GC/MS del aceite esencial de laurel revela que los principales componentes de este aceite son: un éter-óxido de naturaleza terpénica: 1,8 cineol o eucaliptol (35,31%), que es el principal componente del aceite esencial de laurel hoja, en todas las situaciones de origen geográfico, considerado fármaco y estadio fenológico del laure (Espinoza, S. R., 2017).

1.4 Objetivo general

- Crear nanopartículas metálicas de Zn (Zinc) y Cu (Cobre) a base de extractos naturales y estudiar sus efectos antimicrobianos.

1.5 Objetivos específicos

- Sintetizar nanocompuestos de Acetato de zinc dihidratado ($Zn(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$) y nanocompuestos de $Zn(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$ dopados con Sulfato de Cobre ($CuSO_4$).
- Obtener extractos naturales de hojas y plantas con propiedades antioxidantes como el *Dysphania ambrosioides* (epazote) y *Laurus nobilis* (laurel).
- Sintetizar nanocompuestos de Acetato de zinc dihidratado ($Zn(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$) y nanocompuestos de $Zn(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$ dopados con Sulfato de Cobre ($CuSO_4$) adicionadas con extractos naturales de *Dysphania ambrosioides* (epazote) y *Laurus nobilis* (laurel).
- Obtener las características fisicoquímicas de las nanopartículas.
- Probar las nanopartículas sobre bacterias de importancia clínica.
- Evaluar los efectos de las nanopartículas sintetizadas químicamente y las producidas por medio de síntesis verde.
- Determinar si los extractos naturales confieren mayores propiedades antimicrobianas a las nanopartículas.
- Estudiar si los extractos naturales por sí solos tienen actividad antimicrobiana.

1.6 Hipótesis

- Las nanopartículas de Zinc y Zinc dopadas con cobre sinterizadas a base de extractos naturales de *Dysphania ambrosioides* (epazote) y *Laurus nobilis* (Laurel) muestran buena actividad antimicrobiana contra bacterias de importancia en el sector salud.
- Las nanopartículas de Zinc y Zinc dopado con cobre sinterizadas a base de extractos naturales de *Dysphania ambrosioides* (epazote) y *Laurus nobilis* (Laurel) muestran mayor actividad citotóxica contra células cancerígenas en comparación a células sanas

1.7 Metodología

1.7.1 Tipo de estudio

El presente estudio es un estudio cuasi experimental con el fin de sintetizar nanopartículas metálicas de Zn y bimetálicas mediante la combinación de sales de Zn y Cu, además de agregar un medio reductor natural como los extractos de *Dysphania ambrosioides* y *Laurus nobilis*.

1.7.2 Variables

1.7.2.1 Variables dependientes

1.7.2.1.1 Nanopartículas de Zn

1.7.2.1.2 Nanopartículas de Zn + Cu

1.7.2.1.3 Extracto de *Dysphania ambrosioides*

1.7.2.1.3 Extracto de *Laurus nobilis*

1.7.2.2 Variables independientes

1.7.2.2.1 Composición química

1.7.2.2.1 Actividad biológica

1.7.3 Material y métodos

1.7.3.1 Obtención del extracto de laurel

Para la obtención del extracto de laurel (*Laurus nobilis*) se obtuvieron hojas frescas de laurel sin ninguna infestación, y se lavaron con agua del grifo y luego con agua destilada para eliminar las partículas de polvo. Las hojas se centrifugaron para eliminar la mayor cantidad de agua y se dejaron secar a temperatura ambiente (37 °C) en la estufa durante 24 horas. Posteriormente fueron trituradas manualmente y se obtuvieron 30 gramos.

Se calentó 150 ml de agua bidestilada a 60°C en placa caliente con agitador y se vertieron 30 gramos de hojas. Se dejó llegar a la ebullición hasta los 80°C y así se conservó durante 30 minutos. Durante la ebullición, se formó una solución de color amarillo claro y se enfrió a temperatura ambiente. Luego, el extracto de color amarillo se filtró a través de papel de filtro Whatman No. 1. El volumen final del extracto obtenido fue de 50 mL y se almacenó en refrigeración para su uso posterior.

1.7.3.2 Obtención del extracto de epazote

Para la obtención del extracto de epazote (*Dysphania ambrosioides*), se recolectaron hojas de epazote fresco y se lavaron con agua del grifo y luego con agua destilada para eliminar el polvo. Después se dejaron secar en la estufa a temperatura de 40° C durante 24 horas. De esta manera se obtuvieron 25 gramos de hojas, las cuales fueron trituradas y posteriormente añadidas a 125 ml de alcohol etílico al 96%, esta mezcla se dejó reposar a temperatura ambiente durante 72 horas. Luego el extracto fue filtrado a través de papel filtro Whatman No. 1 y se obtuvieron 125 ml que fueron almacenados en refrigeración para su uso posterior.

1.7.3.3 Síntesis de nanopartículas de Zn con extracto de laurel y extracto de epazote

Las nanopartículas fueron sintetizadas siguiendo el método de coprecipitación según Vijayakumar S. et al. realizando algunas modificaciones. Se utilizó acetato de zinc dihidratado $Zn(O_2CCH_3)_2(H_2O)_2$.

Se prepararon 2 soluciones de acetato de zinc al 0.2 M (4.38 gr) en 80 ML de agua desionizada caliente a 60°C en placa caliente y en agitación constante. Se dejó en agitación magnética durante 30 minutos para obtener una dilución completa. Posteriormente se agregaron 20 ml de extracto de laurel y extracto de epazote a cada una de las diluciones. La mezcla se mantuvo bajo agitación durante 2 horas a una temperatura de 80°C. Se obtuvieron dos mezclas homogéneas de color amarillo claro. Posterior a eso fueron retiradas del agitador y placa caliente, se dejaron enfriar a temperatura ambiente y fueron almacenadas en refrigeración para su posterior aplicación.

Para la síntesis de las nanopartículas a concentración de 0.02M y 0.01M de acetato de zinc, fue utilizado el mismo proceso.

1.7.3.4 Síntesis de nanopartículas de Zn

Para la síntesis de nanopartículas de Zn solas se utilizó acetato de zinc dihidratado ($\text{Zn}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2$) a una concentración de 0.02 M (0.4.38 gr), 0.02M (0.4380 gr) y 0.01M (0.2195 gr). Esto fue diluido en 100 ml de agua desionizada calentada a 80°C en placa caliente con agitador. Se mantuvieron en agitación constante durante 20 minutos y se retiraron de la agitación y calor. Se obtuvieron 3 soluciones blanquecinas transparentes que se dejaron enfriar a temperatura ambiente y se almacenaron en refrigeración para su posterior aplicación.

1.7.3.5 Síntesis de nanopartículas de Zn dopadas con Cu adicionadas con extracto de laurel y epazote.

Para la síntesis de nanopartículas de Zinc dopadas con cobre se siguió el método de Adeyemi JO et al. modificado, utilizando acetato de zinc dihidratado ($\text{Zn}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2$) en concentraciones de 0.02 M y Sulfato de Cobre (CuSO_4) en concentraciones de 0.004 M, para tener una relación 5:1.

En la preparación del nanocompuesto primero se hizo una disolución de 0.02 M (4.38 gr) de acetato de zinc en 50 ml de agua desionizada. La mezcla resultante se mezcló vigorosamente y se calentó durante 20 minutos hasta que se observó una solución blanca. Posteriormente, fueron agregados 20 ml de extracto de laurel en la solución y se dejó mezclar hasta alcanzar temperaturas de 80°C. Simultáneamente se realizaba la disolución de CuSO_4 al 0.004 M (0.6384 gr) en 50 ml de agua desionizada a una temperatura de 80°C durante 20 minutos. Una vez pasados los 20 minutos esta mezcla fue agregada gota a gota a la solución de acetato de zinc con extracto de laurel. Esta mezcla se dejó en placa caliente a 80°C con agitación magnética durante 2 horas. Como resultado se obtuvo una mezcla de color marron claro que se dejó enfriar a temperatura ambiente para ser almacenadas en refrigeración para su posterior aplicación.

Para sintetizar las nanopartículas con extracto de epazote se realizó el mismo procedimiento, solamente sustituyendo el extracto de laurel por extracto de epazote. Como resultado se obtuvo una mezcla verdosa que se dejó enfriar para su posterior aplicación.

Para la síntesis de las nanopartículas a concentraciones del 0.02M y 0.01M se siguió el mismo procedimiento, solo cambiando la cantidades de acetato de zinc y sulfato de cobre para su dilución.

1.7.3.6 Síntesis de nanopartículas de Zn dopadas con Cu

Para la preparación de nanopartículas de Zn+Cu se utilizó acetato de zinc dihidratado ($\text{Zn}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2$). en concentraciones de 0.02 M (4.38 gr) y Sulfato de Cobre (CuSO_4) en concentraciones de 0.004 M (0.6384 gr), para tener una relación 5:1. Ambas mezclas fueron diluidas en 50 ml de agua desionizada calentada a 80°C en placa caliente con agitación magnética vigorosa durante 30 minutos. Una vez realizadas estas mezclas se agregó gota a gota la mezcla de CuSO_4 a la mezcla de $\text{Zn}(\text{O}_2\text{CCH}_3)_2(\text{H}_2\text{O})_2$ y se dejó mezclar en placa caliente a 80°C con agitación magnética

durante 2 horas. Como resultado se obtuvo una mezcla de color azul cielo que se dejó enfriar a temperatura ambiente para su almacenamiento en refrigeración para su posterior aplicación.

Para la síntesis de las nanopartículas de Zn+Cu al 0.02M se pesaron 0.4390 gr de acetato de zinc y 0.0998 gr de sulfato de cobre, y en el caso de las sintetizadas a 0.01M se utilizó 0.2195 gr de octeto de zinc y 0.0499 gr de sulfato de cobre.

Siempre se utilizó como base y referencia al acetato de zinc.

1.7.3.7 Caracterización de las nanopartículas.

Análisis de Espectro UV. Se realizará un barrido espectrofotométrico UV-vis de la solución de nanopartículas de Zinc y Zinc + Cobre a una resolución de 1 nm con un rango de longitud de onda de 300 a 800 nm en un espectrofotómetro marca Beckman Coulter. Para el análisis, se colocaron 1 mL de la muestra de reacción en un vaso de precipitado de 50 ml y se diluyó con 9 mL de agua desionizada, para obtener una dilución de 1 en 10.

Además de que las nanopartículas fueron enviadas al laboratorio de para la toma de tamaño de partícula.

También se evaluó el pH de las soluciones por medio de phmetro que previo a la medición fue calibrado con un buffer de 7.0.

1.7.3.8 Determinación del efecto antimicrobiano de las nanopartículas

Los compuestos sintetizados se probaron para la inhibición contra bacterias patógenas humanas de importancia patológica para la OMS. Los ensayos microbianos se llevan a cabo por el método de Ramesh M et al. modificado. Se seleccionaron varias cepas de agentes infecciosos, tanto gram negativos como gram positivos como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Staphylococcus aureus*, *Serratia marcescens*, *Shigella flexneri*, *Escherichia coli*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus epidermidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella spp*, *Streptococcus pyogenes*, y agentes fúngicos como *Candida albicans*. Todas las cepas bacterianas se enriquecieron en caldo soya nutritivo a 37° C durante 18–24 h. Después se ajustó la turbidez a 0.5 McFarland. Posteriormente se extendieron sobre la superficie de Agar Muller Hinton previamente preparados con fosas para el depósito de las nanopartículas, y mediante el uso de hisopos de algodón estériles se realizó una siembra uniforme. Luego se pipetearon 50 mcg en una fosa de aproximadamente 6 mm, y se permitió que el solvente se diseminara. Las placas se incubaron durante 24 h a 37°C. Los crecimientos bacterianos y fúngicos inhibidos fueron observados como halos claros (zonas) alrededor de la fosa. La actividad antimicrobiana se midió como el diámetro de la zona de inhibición excluyendo el diámetro de la fosa. La zona de inhibición se observó después de 24 h y fue registrada en mm.

1.7.3.9 Concentración mínima inhibitoria de las nanopartículas.

Para el cálculo de la concentración mínima inhibitoria se utilizó el método descrito por Kowalska, & Dudek, en el cual se basa en realizar microdiluciones en caldo de Agar Müller Hinton.

La prueba se realizó en algunas bacterias como *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* y *Staphylococcus aureus*. Para obtener cualquiera de las suspensiones bacterianas para realizar

microdiluciones, primero se preparó una suspensión de 0,5 McFarland de cada bacteria. Posteriormente para realizar la microdilución y esta se encontrará con una densidad de 5×10^5 CFU/mL, se diluyó $100 \times 0,5$ de la suspensión de McFarland hasta una densidad de 10^6 CFU /mL (9,9 mL de caldo + 0,1 mL de 0,5 de la suspensión de McFarland).Posteriormente fue colocado 1 ml de la microdilución a cada tubo previamente ajustado con 1 ml de las nanopartículas en dilución seriada (1:2, 1:4, 1:8, 1:16, 1:32, 1:64), dejando un tubo como blanco conteniendo solamente nanopartículas. Estas se dejaron en estufa a 37°C durante 24 horas y fueron evaluadas con equipo densimat para evaluar turbidez de las soluciones y comparar resultados con los blancos bacterianos y de nanopartículas.

1.8 Resultados y análisis de resultados

1.8.1 Caracterización de las nanopartículas

1.8.1.1 Espectrografía UV-Vis

Se realizó espectroscopia a una resolución de 1 nm con una longitud de onda de 300 a 800 nm. Las nanopartículas de Zn ($(\text{CH}_3\text{CO}_2)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) mostraron un pico de absorbancia entre aproximadamente los 338 y 362 nm debido a la resonancia de plasmones superficiales. Los resultados están sustentados por Vijayakumar et al.(2016), quien describió que en la absorbancia UV-vis el espectro de las nanopartículas de Zn puro fue de 338 nm. Otros hallazgos muy similares son los que se obtuvieron por Ramesh et al(2015), quien menciona que se puede observar una absorbancia bien definida menor a 400 nm, lo cual indica la formación de nanopartículas de Zn. Los espectros de absorbancia de las nanopartículas de zinc, tanto las nanopartículas de acetato de zn solo y con extractos añadidos entran dentro del rango esperado, al igual que las dopadas con CuSO_4

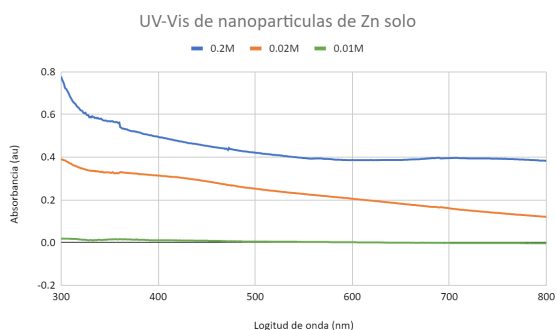


Figura 1 Espectrometría de nanopartículas de Zn solo

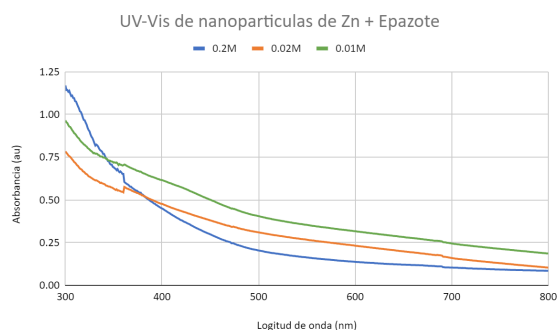


Figura 2 Espectrometría de nanopartículas de Zn + Epazote

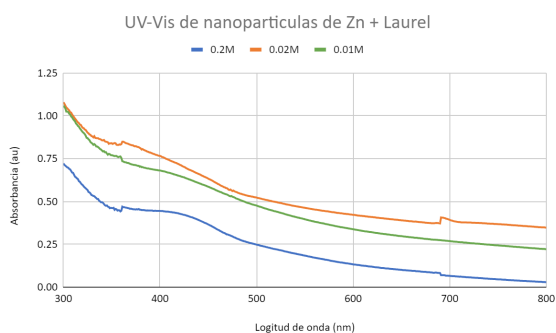


Figura 3 Espectrometría de nanopartículas de Zn + Laurel

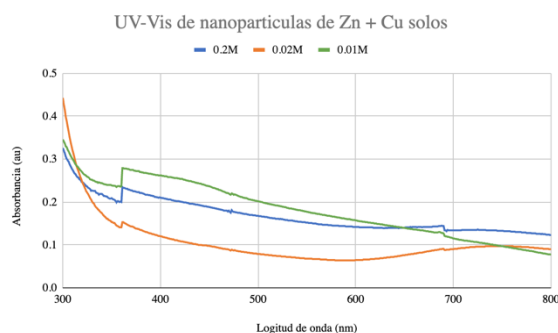


Figura 4 Espectrometría de nanopartículas de Zn +Cu solos

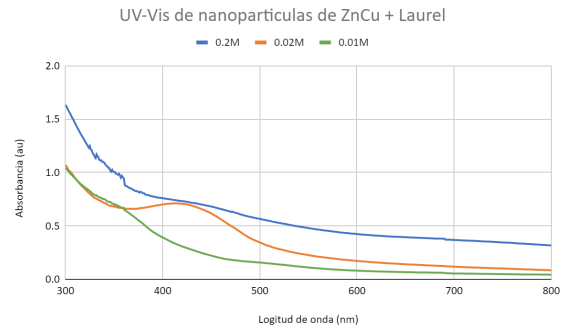
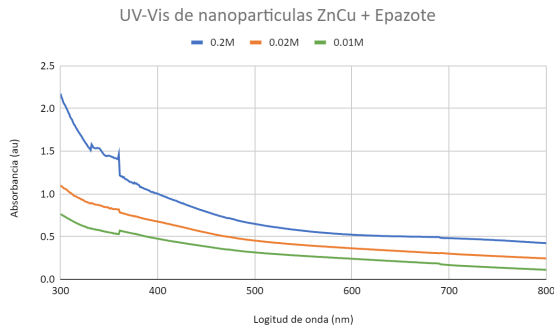


Figura 5 Espectrometría de nanopartículas de Zn + Cu + Epazote | Figura 6 Espectrometría de nanopartículas de Zn + Cu + Laurel

1.8.1.2 Tamaño de partícula

Se tomó tamaño de partícula con equipo HORIBA (Láser Scattering Particle Size Distribution Analyzer LA-950) de las nanopartículas a concentración de 0.2M y 0.02M para evaluar las diferencias de tamaño entre ambas concentraciones.

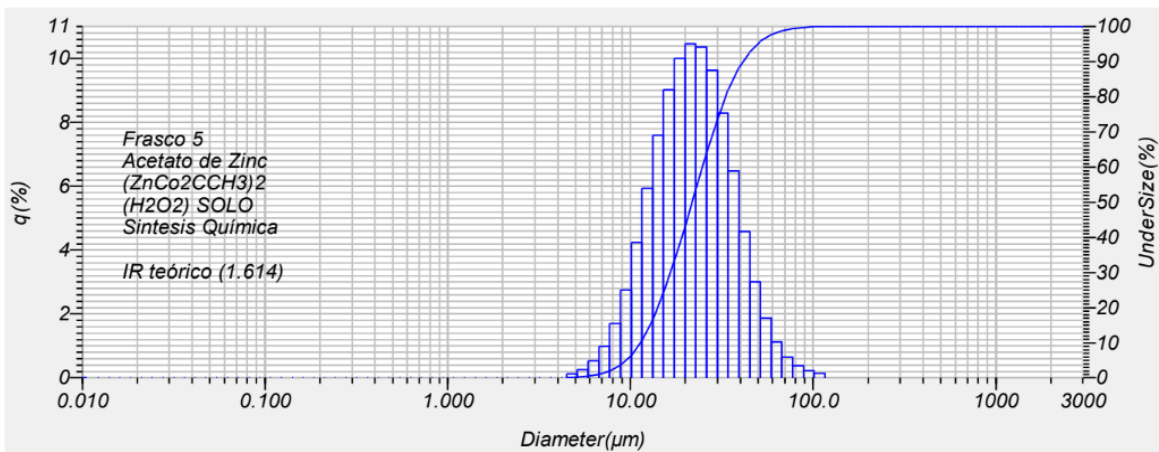


Figura 7 Zn solo al 0.02M. Talla media de partícula: 21.79 µm

Para el caso de las nanopartículas de zinc solo se cuenta con la gráfica de las sintetizadas con 0.02M figura 7, en la cual se obtuvo una talla media de partícula de 21.79 µm, siendo una talla media mayor en comparación de las nanopartículas sintetizadas con extractos naturales, pues las sintetizadas con extractos naturales obtuvieron medidas de 6.8 µm y 18.23 µm en el caso de las sintetizadas a concentración de 0.2M, y medidas de 15.54 µm y 8.84 µm en el caso de las sintetizadas con 0.02M.

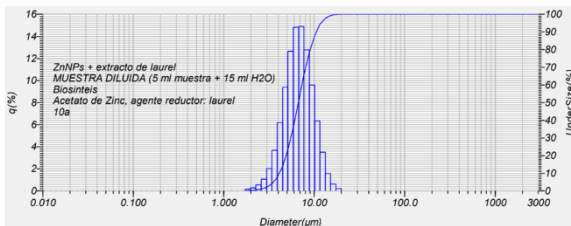


Figura 8 Zn + Laurel al 0.2M. Talla media de partícula: 6.8 µm

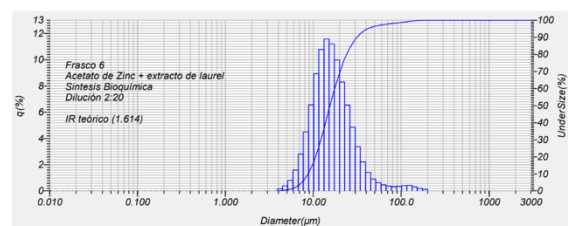


Figura 9 Zn + Laurel al 0.02M. Talla media de partícula: 15.54 µm

En las figuras 8-9 se observa la diferencia de tamaño entre las nanopartículas de Zn + Laurel sintetizadas al 0.2M y 0.02M, evidenciando menor tamaño en las nanopartículas a 0.2M ya que esta

tuvieron una talla media de partícula de 6.8 μm , a diferencia de las sintetizadas a 0.02M con medida de 15.54 μm .

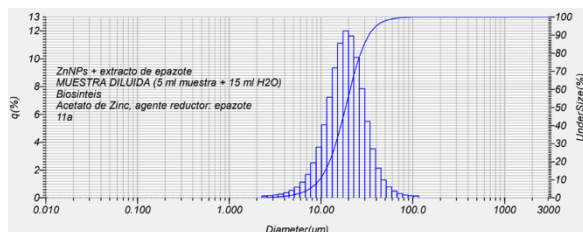


Figura 10 Zn + Epazote 0.2M. Talla media de partícula 18.23 μm

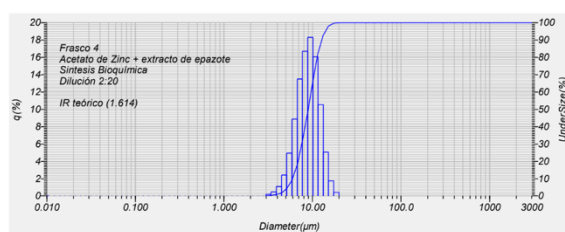


Figura 11 Zn + Epazote 0.02M. Talla media de partícula 8.94 μm

En las Figuras 10-11 se observan la diferencia de tamaños de las nanopartículas sintetizadas utilizando una concentración de Zinc al 0.2M y 0.02M más extracto de epazote, evidenciando la diferencia de tamaño entre ambas concentraciones, ya que para las nanopartículas sintetizadas utilizando 0.2M observamos una talla media de 18.23 μm manómetros, mientras que en las sintetizadas utilizando 0.02M se obtuvo una talla media de 8.94 μm .

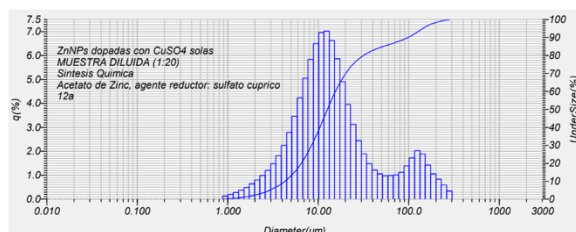


Figura 12 Zn + Cu solos 0.2M. Talla media de partícula 12.67 μm

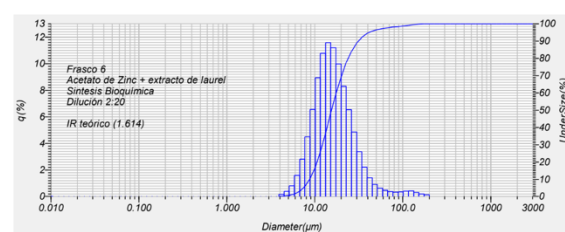


Figura 13 Zn + Cu solos 0.02M. Talla media de partícula 18.54 μm

En el caso de las nanopartículas de Zn dopadas con cobre que se observan en las figuras 12-13 los resultados son a la inversa, ya que las sintetizadas concentraciones de 0.2M presentaron menor tamaño que las sintetizadas con 0.02M, pues las primeras presentaron una talla media de 12.67 μm , mientras que las otras presentaron una talla de 18.54 μm .

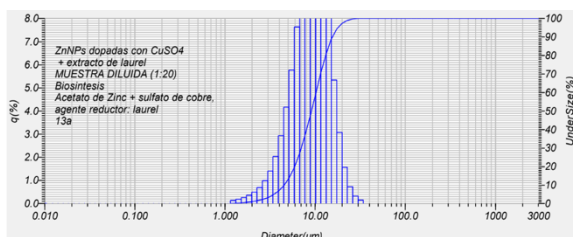


Figura 14 Zn + Cu + Laurel 0.2M. Talla media de partícula 9.0 μm

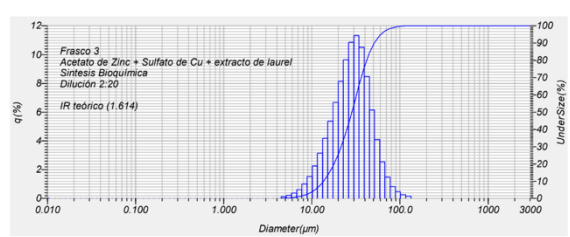


Figura 15 Zn + Cu + Laurel 0.02M. Talla media de partícula 28.48 μm

Para estos nanocompuestos la diferencia entre ambas concentraciones fue mayor, y continúan siendo opuestos a su concentración, ya que la mayor concentración (de 0.2M) obtuvo una talla media de 9 μm , mientras que las sintetizadas a menor concentración (0.02M) obtuvieron una talla media de 28.48 μm .

En las gráficas de tamaño de partícula que se observan en las figuras 16-17 se puede observar la diferencia de tamaños entre ambas concentraciones, ya que las nanopartículas sintetizadas a una concentración de 0.2M revelaron un tamaño de partícula de 18.29 μm mientras que las sintetizadas al 0.02M presentaron un tamaño medio de 10 μm . Para estas nanopartículas coincidió a mayor concentración mayor tamaño.

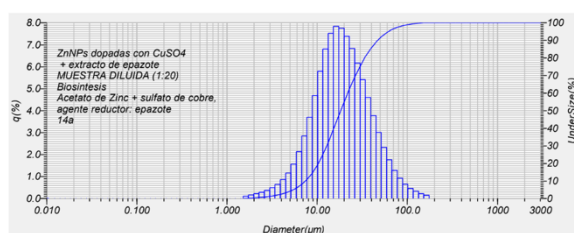


Figura 16 Zn + Cu + Epazote 0.2M. Talla media de partícula 18.29 μm

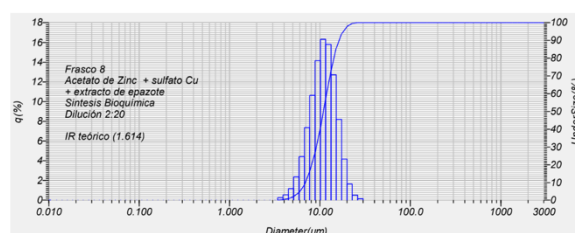


Figura 17 Zn + Epazote 0.02M. Talla media de partícula 10 μm

Por los resultados obtenidos podríamos observar que los extractos naturales utilizados como reductores realmente fueron de ayuda para la síntesis de las nanopartículas, ya que con la ayuda de estos el tamaño era menor, en comparación a los nanocompuestos sintetizados químicamente sin el uso de extractos.

Las diferencias de tamaño de partícula entre ambas varían demasiado, ya que hay nanopartículas de mayor concentración que miden menos que las de menor concentración y viceversa. Estos resultados pueden ser condicionados a los métodos de síntesis ya que, el equipo HORIBA detecta principalmente las partículas de mayor tamaño o las que se encuentren en mayor cantidad o densidad, por lo tanto al existir partículas de gran tamaño, ya sea por sedimentación o apelmazamiento, pueden opacar o tapar al resto de partículas de menor tamaño. Por otra parte, las curvas que indican el tamaño de partícula, pueden ayudarnos a deducir cuál es el estado de nuestras nanopartículas, ya que mientras mayor confluencia tenga en el eje de las x, significa que los nanocompuestos evaluados son más homogéneos, por el contrario, si la curva está más alargada en el eje de las x, significa que los nanocompuestos son más heterogéneos y de formas y tamaños diversos.

Por lo tanto, considerando lo anterior, podría ser indicativo de algunas fallas o errores en la síntesis y medición de las nanopartículas, ya que estas no cuentan con el tamaño adecuado para ser consideradas nanopartículas, pues no miden menos de 100 micras, ya que los tamaños de estas se encuentran entre los 8.94 μm y los 28.48 μm . Si bien los tamaños no hacen que se consideren nanopartículas, tuvieron muy buenos efectos antimicrobianos.

1.8.1.3 pH de las soluciones

Para la medición de pH se utilizó un medidor de pH el cual se calibró primero con un buffer de 7.0 para poder hacer la medición del pH de los nanocompuestos, presentando los siguientes resultados.

| | | |
|---|-------------------|------|
| 1 | Zn Solo | 6.28 |
| 2 | Zn + Laurel | 6.42 |
| 3 | Zn + epazote | 6.31 |
| 4 | Zn + Cu solos | 5.74 |
| 5 | Zn + Cu + Laurel | 6.15 |
| 6 | Zn + Cu + epazote | 5.96 |

| | | |
|----|-------------------|------|
| 13 | Zn Solo | 6.64 |
| 14 | Zn + Laurel | 6.16 |
| 15 | Zn + epazote | 6.33 |
| 16 | Zn + Cu solos | 5.87 |
| 17 | Zn + Cu + Laurel | 5.63 |
| 18 | Zn + Cu + epazote | 5.95 |

| | | |
|----|-------------------|------|
| 7 | Zn Solo | 6.93 |
| 8 | Zn + Laurel | 6 |
| 9 | Zn + epazote | 6.32 |
| 10 | Zn + Cu solos | 5.87 |
| 11 | Zn + Cu + Laurel | 5.48 |
| 12 | Zn + Cu + epazote | 6.24 |

Se puede observar según los resultados obtenidos que el pH de estas es predominantemente ácido, ya que el pH del acetato de zinc es de 6.5 +/- 0.5 y el pH del sulfato de cobre es de entre 3.5 a 4.5, por lo tanto es evidente que las nanopartículas dopadas con sulfato de cobre presenten un pH su más ácido.

1.8.2 Efecto antimicrobiano

1.8.2.1 Halos de inhibición de los nanocompuestos de Zinc y Zinc + Cobre adicionados de extractos naturales.

1.8.2.1.1 Primera prueba

Primero se realizaron las nanopartículas a concentración de 0.2M y se probaron en agar Müller-Hinton obteniendo los siguientes resultados.

Tabla 4. NANOPARTÍCULAS DE ZINC Y ZN + CU ADICIONADOS CON EXTRACTOS DE LAUREL Y EPAZOTE A 0.2M

| Bacteria | Zn | | | Zn + Cu | | |
|-----------------------------------|------------|----------------|-----------------|------------------|----------------------|---------------------|
| | K. Zn Solo | L. Zn + Laurel | M. Zn + Epazote | N. Zn + Cu solos | O. Zn + Cu + Epazote | P. Zn + Cu + Laurel |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 25 | 25 | 26 | 28 | 25 | 27 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 20 | 25 | 24 | 30 | 29 | 23 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 33 | 34 | 34 | 40 | 34 | 20 |
| <i>Serratia marcescens</i> | 31 | 31 | 22 | 40 | 36 | 24 |
| <i>Shigella flexneri</i> | 20 | 29 | 30 | 38 | 31 | 34 |
| <i>Escherichia coli</i> | 26 | 32 | 31 | 31 | 32 | 36 |
| <i>Candida albicans</i> | - | - | - | - | - | - |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 11 | 26 | 28 | 35 | 26 | 40 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 20 | 29 | 26 | 30 | 26 | 40 |
| Promedio de Halo | 23.25 | 28.88 | 27.63 | 34.00 | 29.88 | 30.50 |

En esta prueba se puede destacar los buenos efectos que tuvieron las nanopartículas sobre todas las bacterias, ya que en todas se observaron grandes halos de inhibición, incluso se observó inhibición completa para *Candida albicans* por ello es que no se registraron datos de del tamaño de halo, ya que estos fueron imposibles de medir. Un caso similar ocurrió con *Staphylococcus aureus* ya que fue una de las bacterias que presentó mayor tamaño en los halos de inhibición.

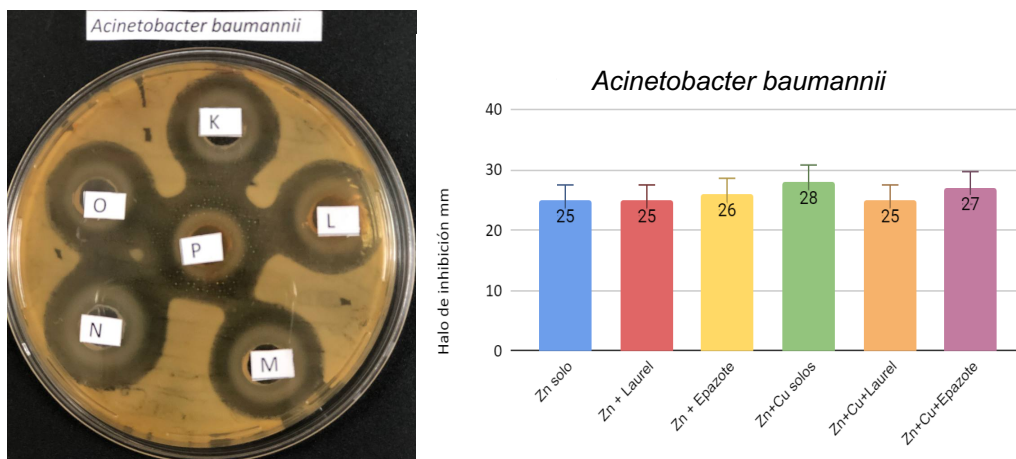


Figura 18 Efecto de las nanopartículas sobre *Acinetobacter baumannii*

Como se puede observar en la figura 18 los resultados obtenidos fueron muy buenos, y casi similares entre todas las soluciones. El halo de mayor tamaño se observa en el producido por las nanopartículas de Zn+Cu solo, con una medida de 28 mm. En segundo lugar vemos a la solución de Zn+Cu+Epazote con un halo de 27 mm, y en tercer lugar al Zn+Epazote con 26 mm. El resto de los compuestos crearon halos de 25 mm.

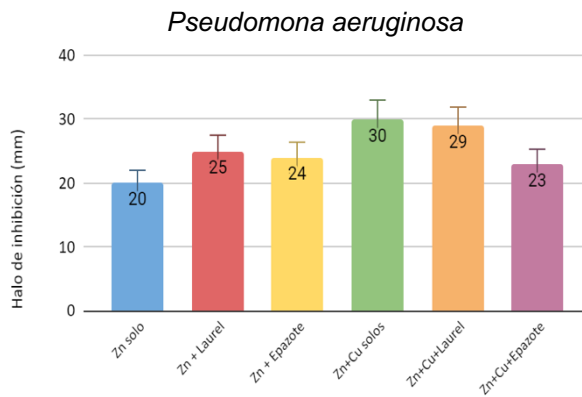
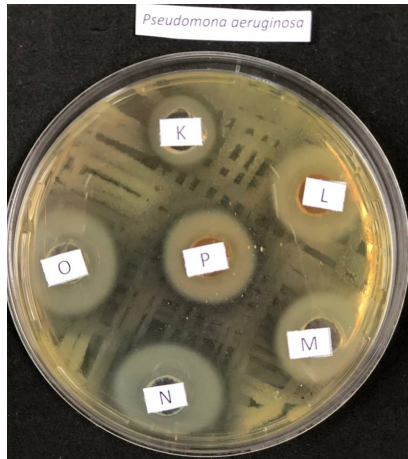


Figura 18 Efecto de las nanopartículas sobre *Pseudomonas aeruginosa*

En la figura 18 se observan los halos obtenidos para *Pseudomonas aeruginosa*, donde al igual que en *Acinetobacter baumannii* el halo de mayor tamaño se observa con nanopartículas de Zn+Cu con un halo de 30 mm, en segundo lugar se encuentra el Zn+Cu+Laurel con 29 mm, y en tercer lugar el Zn+Laurel 25 mm. En este caso se observaron halos de tamaños muy variados. El halo de menor tamaño se observó con el Zn solo.

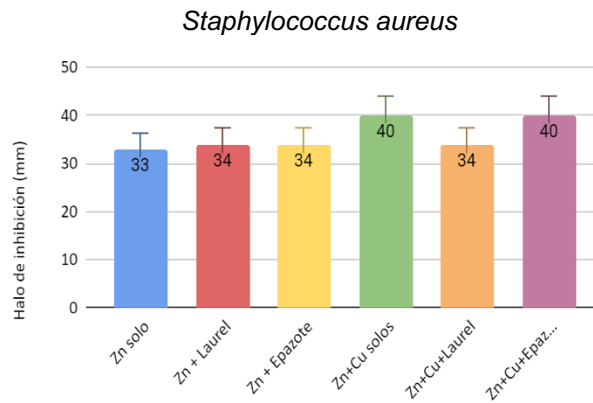
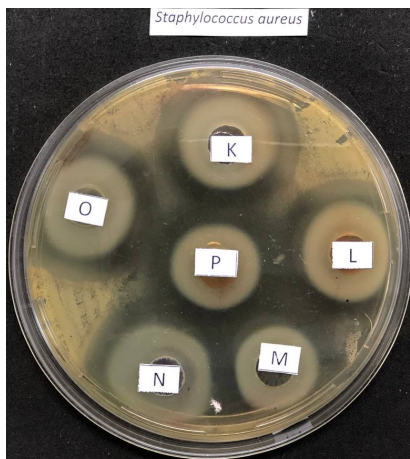


Figura 19 Efecto de las nanopartículas sobre *Staphylococcus aureus*

Para *Staphylococcus aureus* se obtuvieron muy buenos resultados (figura 19), pues se observan halos de 40 mm con Zn+Cu solos y Zn+Cu+Epazote. El resto de los halos también es de buen tamaño y están entre los 33 y 34 mm.

En el caso de *Serratia marcescens* (figura 20) los halos variaron mucho en tamaños, pues el halo de mayor tamaño también se evidencia en la solución de Zn+Cu con una medida de 40 mm, en segundo lugar y con buen halo de inhibición está la solución de Zn+Cu+Laurel con 36 mm de diámetro. El menor efecto fue visto con las nanopartículas de Zn+Epazote.

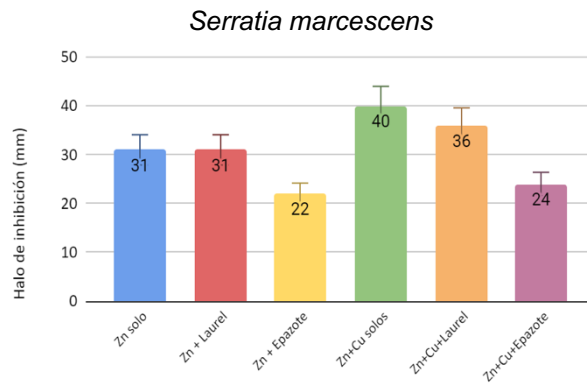
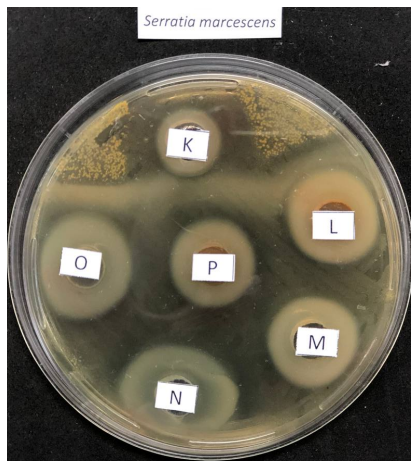


Figura 20 Efecto de las nanopartículas sobre *Serratia marcescens*

En la figura 21 se observan los efectos de las nanopartículas sobre *Shigella flexneri*. Como se puede observar también en esta bacteria la mayor actividad se obtuvo con la solución de Zn+Cu solos con un halo de 38 mm, en segundo lugar se encuentran las nanopartículas de Zn+Cu+Epazote con un halo de 34 mm. El halo de menor tamaño se observó con las nanopartículas de Zn solo, presentando un halo de 20 mm.

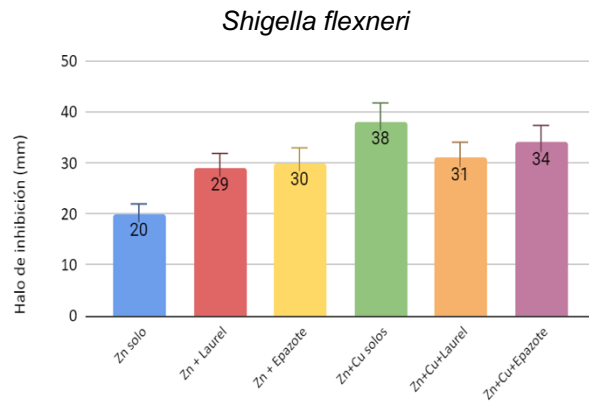
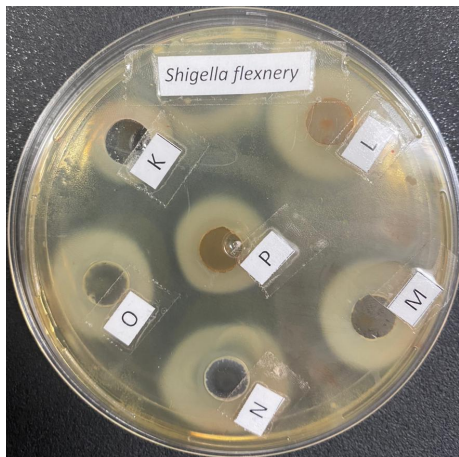


Figura 21 Efecto de las nanopartículas sobre *Shigella flexneri*

En la figura 22 se observa los resultados obtenidos en *E. coli*, donde hay un halo de inhibición mayor con la solución de zn+cu+epazote, con un halo de 36 mm, en segundo lugar las sintetizadas con Zn+Laurel y Zn+Cu+Laurel con halos de 32mm. El halo más pequeño al igual que con las bacterias anteriores es observado en las nanopartículas de zn solo con un diámetro de 26 mm.

En la figura 23 se observan los resultados obtenidos sobre *Enterococcus faecalis* donde se ve un halo de inhibición de gran tamaño con las nanopartículas de Zn+Cu+Epazote, ya que este midió 40 mm, en segundo lugar se observa el halo producido por la solución de Zn+Cu solo con un diámetro de 35 mm. El halo más pequeño fue el obtenido por las nanopartículas de Zn solo con un diámetro de 11mm.

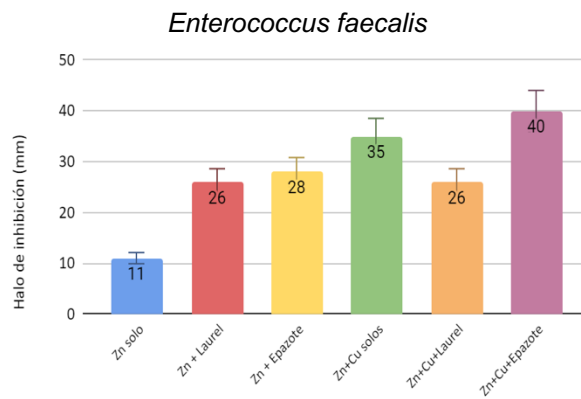
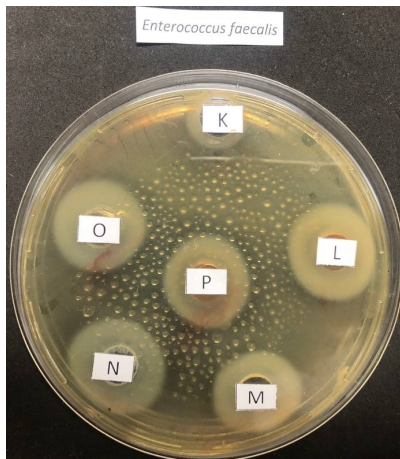


Figura 23 Efecto de las nanopartículas sobre *Enterococcus faecalis*

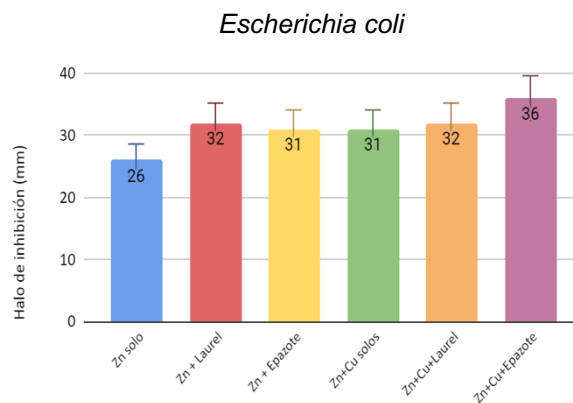
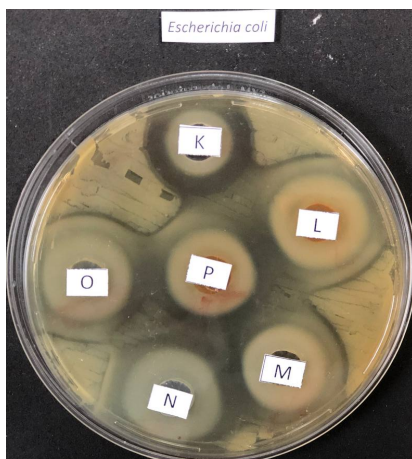


Figura 22 Efecto de las nanopartículas sobre *Escherichia coli*

En la figura 24 se observan los resultados obtenidos sobre *Staphylococcus epidermidis*, siendo el halo más relevante el originado por la solución de Zn+Cu+Epazote con 40 mm de diámetro, en segundo lugar se encuentra el Zn+Cu solo con un diámetro de 30mm. El diámetro más pequeño, al igual que en las bacterias anteriores, es el dado por las nanopartículas de Zn solo.

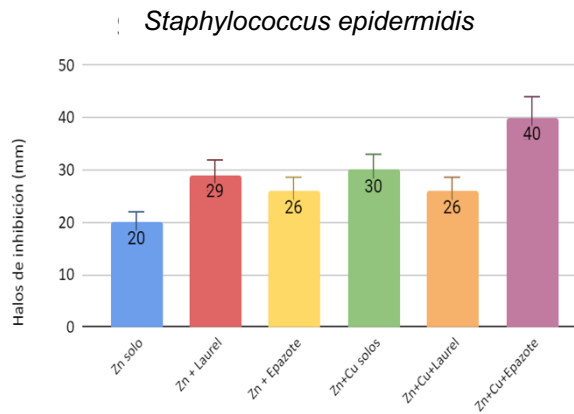
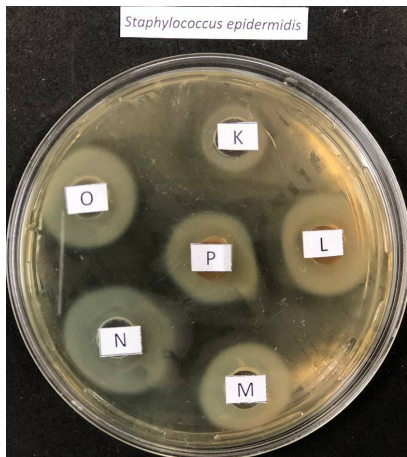


Figura 24 Efectos de las nanopartículas sobre *Staphylococcus epidermidis*

En el caso de *Candida albicans* que se observa en la figura 25 se observa que la inhibición es casi completa, por lo cual no es posible medir los halos de inhibición, ya que la inhibición fue tan grande que estos confluyen entre sí del gran poder antimicrobiano que tuvieron todas las nanopartículas.

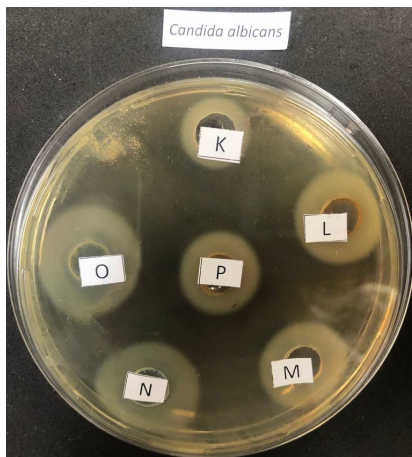


Figura 25 Efectos de las nanopartículas sobre *Candida albicans*

Según los resultados anteriormente comentados, podríamos decir que las nanopartículas con mayor actividad fueron las nanopartículas de Zn+Cu solos, seguidas de las nanopartículas de Zn+Cu+Epazote, y las nanopartículas con menor actividad fueron las de Zn solo. con esto podríamos deducir que las nanopartículas de Zn tiene muy buen efecto, pero si estas son acompañas de Cu y extractos naturales.

1.8.2.1.2 Segunda prueba

Debido a los buenos resultados y la gran inhibición que se obtuvo en la primera prueba se decidió realizar las nanopartículas a diferentes concentraciones para evaluar los efectos de estas, y determinar cuál era la concentración más baja que tuviera mejores efectos y resultados.

Se probaron en casi las mismas bacterias que en la primera prueba, solo se cambiaron algunas y esta vez se buscó que la mayoría fueran cepas ATCC (Colección Americana de Cultivos tipo por sus siglas en inglés ATCC - American Type Culture Collection) para garantizar mejores resultados en este ensayo.

Shigella Flexneri ATCC 0195

Cómo se puede observar en las imágenes 26 y 27 el efecto de las nanopartículas sobre shigella flexneri fue positivo para las concentraciones a 0.2m y 0.02m, ya que las nanopartículas sintetizadas a 0.01m no tuvieron efecto sobre esta bacteria.

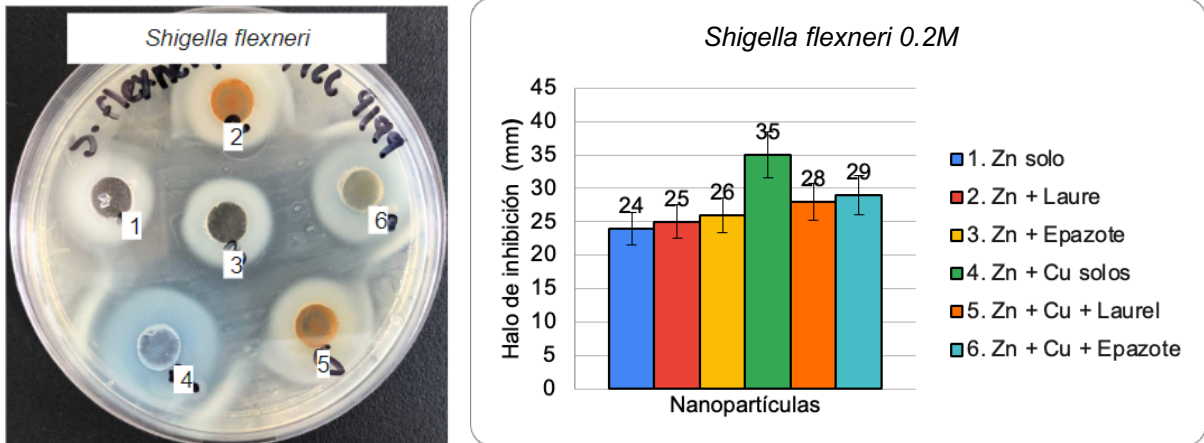


Figura 26 Efectos de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Shigella flexneri*

Destaca el gran halo de inhibición obtenido con las nanopartículas de Zn+Cu solos a concentración de 0.2M, ya que este midió 35 mm, siendo el halo más grande para esta bacteria, y el halo de inhibición más pequeño lo obtuvieron las nanopartículas de Zn solo con una medida de 24 mm (figura 26).

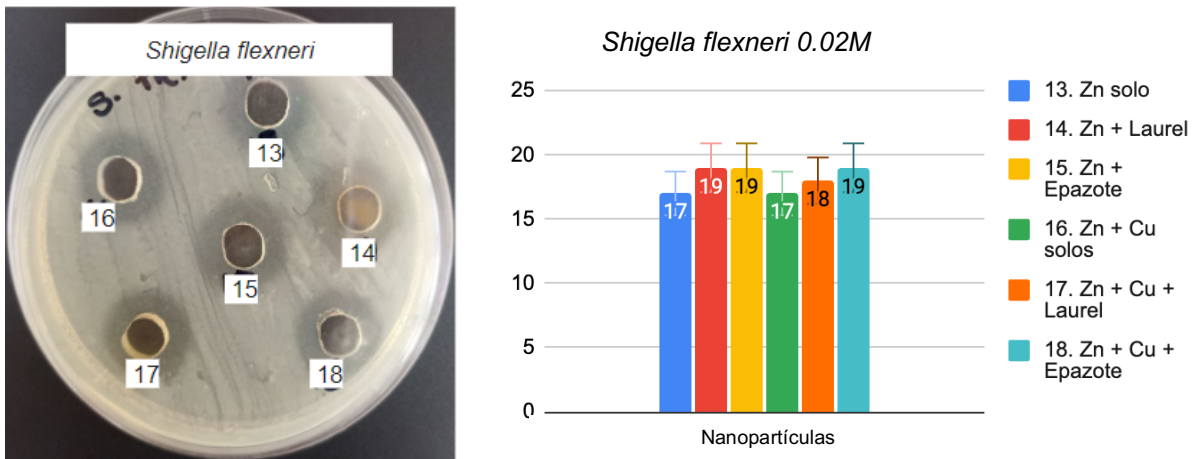


Figura 27 Efectos de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre *Shigella flexneri*

Los resultados obtenidos a concentraciones de 0.02M fueron un poco más uniformes, ya que los halos de inhibición obtenidos aquí son entre 17 y 19 mm, observando 3 halos de 19 para las nanopartículas de Zn + Laurel, Zn+Epazote y Zn+Cu+Epazote y los dos halos más pequeños de 17mm se observan en más las soluciones que no contienen extractos naturales.

Streptococcus pyogenes ATCC 14028

En el caso de los efectos de las nanopartículas sobre streptococcus pyogenes son muy similares a los analizados para shigella flexneri, ya que se observaron buenos halos de inhibición a concentraciones de 0.2M y 0.02M, y para 0.01M no se obtuvieron buenos resultados.

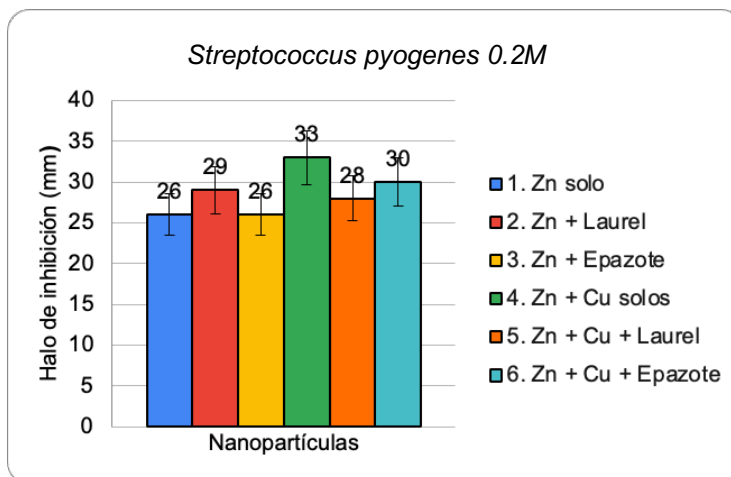
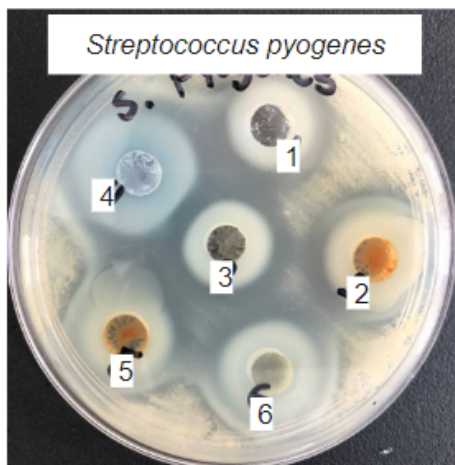


Figura 28 Efectos de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre Streptococcus pyogenes ATCC 14028

Para los efectos antimicrobianos de las nanopartículas de 0.2M (figura 28) se obtuvieron buenos halos de inhibición, destacando el efecto de las nanopartículas de Zn+Cu solos con un halo de 33mm, en segundo lugar Zn+Cu+Epazote con un halo de 30 mm. También se observa que las nanopartículas con menor inhibición fueron las nanopartículas de Zn solo con un halo de 26 mm.

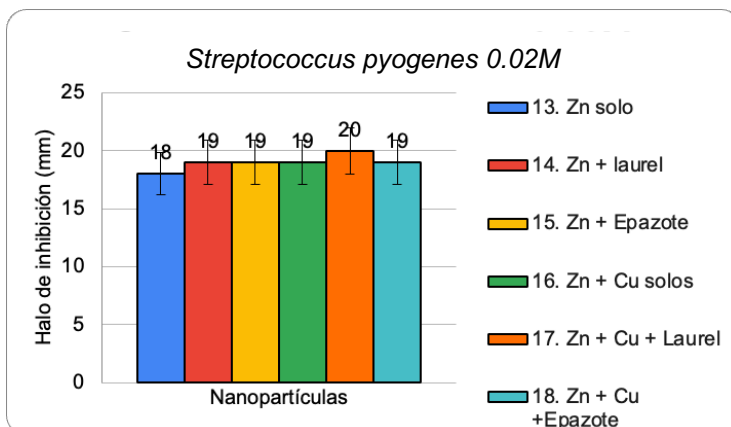
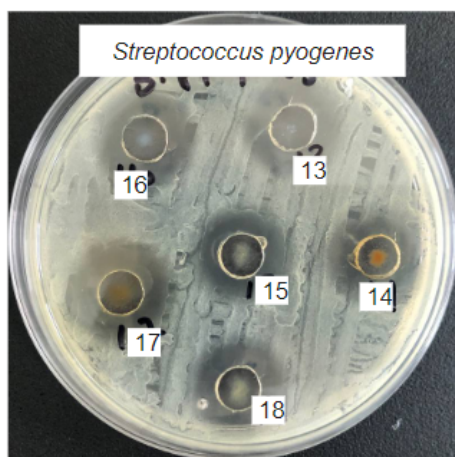


Figura 29 Efectos de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre Streptococcus pyogenes

En los resultados obtenidos para la concentración de 0.02M (figura 29) se observan resultados mas homogéneos ya que los halos de inhibición van de 18mm el menor, visto en las nanopartículas de Zn solo, hasta 20mm obtenidos en las nanopartículas de Zn con Laurel.

Para el caso de las nanopartículas a 0.01M no se obtuvieron efectos contra esta bacteria, como se puede ver en la figura 30.

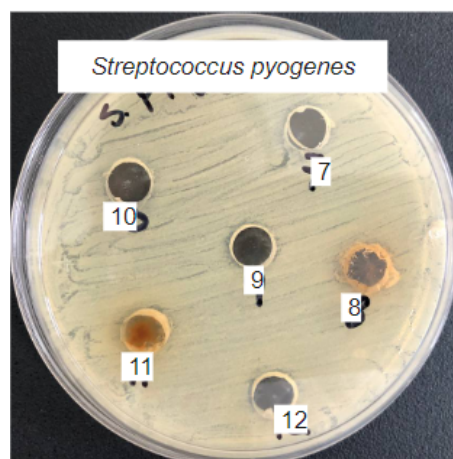


Figura30 Efectos de las nanopartículas sintetizadas al 0.01M sobre Streptococcus pyogenes

Staphylococcus aureus ATCC 43300

En las figuras 31, 32 y 33 podemos observar los resultados obtenidos del efecto de los nanocompuestos sobre *Staphylococcus aureus* atcc 43300. Estos resultados son relevantes ya que se obtuvieron buenos resultados pues se observan halos de inhibición con las tres concentraciones.

Cómo se puede ver en la figura 31 las nanopartículas a concentración de 0.2M crearon halos de muy buenos tamaños, pues se aprecian halos de 40mm con las nanopartículas de zinc +Epazote y Zn + Cu solos, el resto de los halos se encuentran entre 33 y 28, siendo este menor el producido por las nanopartículas de Zn solo

Para la concentración de 0.02M (figura 32) se obtuvieron resultados similares a los ya anteriormente descritos para esta concentración, pues las medidas de los halos no difirieron tanto en tamaños, ya

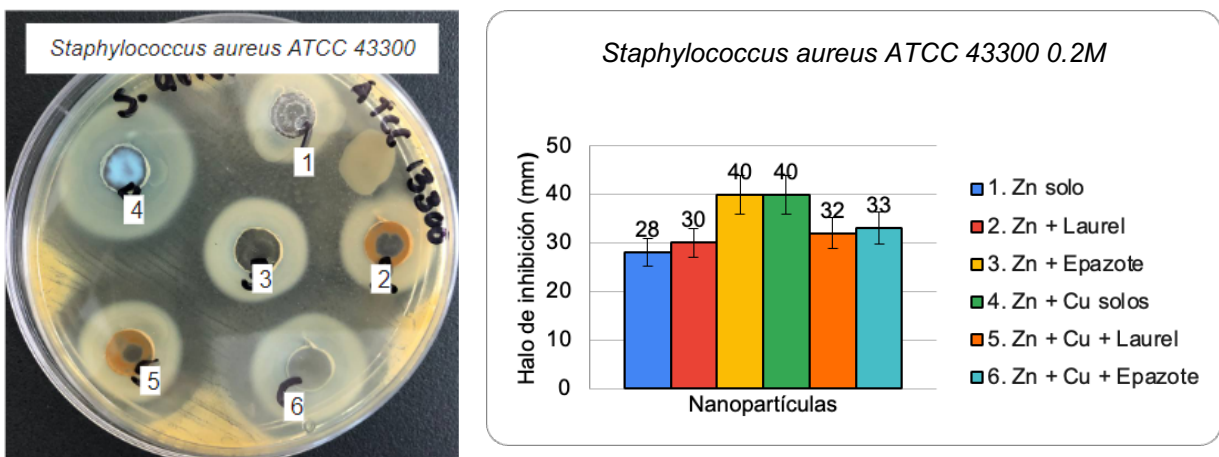


Figura 31 Efectos de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

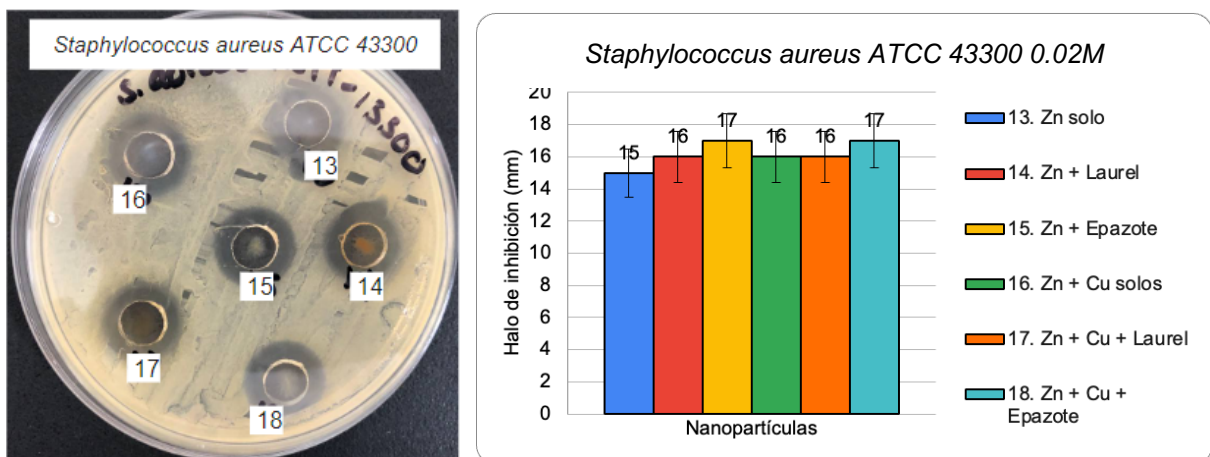


Figura 32 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

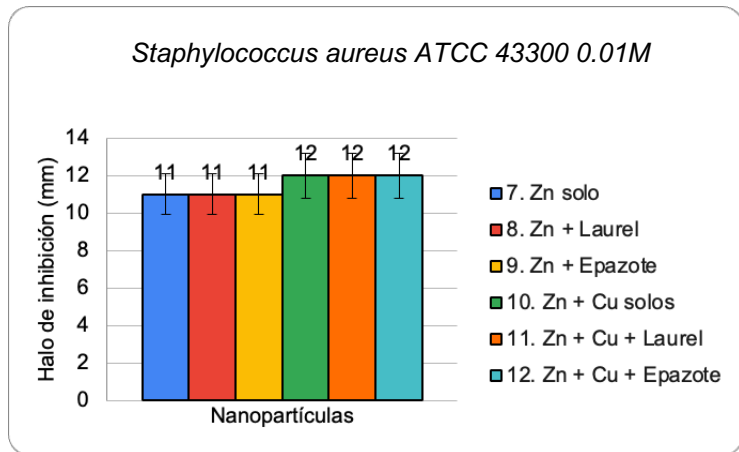
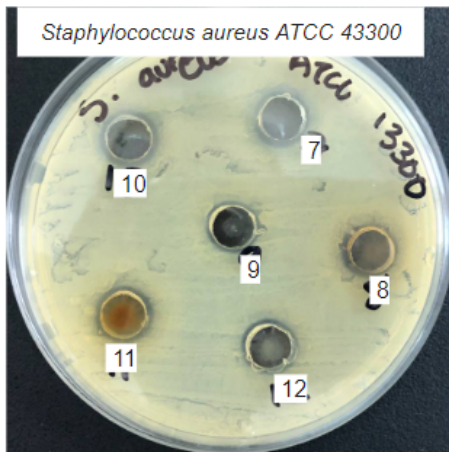


Figura 33 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.01M sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 43300

que el halo más grande midió 17mm y fue producido por las nanopartículas de Zn + Epazote y Zn+Cu + Epazote, y el halo más pequeño se observa con las nanopartículas de Zn solas. En este caso resalta el hecho de que los halos más grandes son los obtenidos con nanopartículas que contienen extracto de Epazote.

En el caso de las nanopartículas de sintetizadas a concentración de 0.01M (figura 33) se obtuvieron pequeños halos, muy homogéneos entre sí, ya que las 3 soluciones que sólo contienen Zn crearon halos de 11mm, y las 3 soluciones que contienen Zn +Cu crearon halos de 12 mm.

Staphylococcus aureus ATCC 29213

En las imágenes 34, 35, 36 observamos los resultados obtenidos para *Staphylococcus aureus* atcc 29213. Estos resultados son muy similares a los obtenidos con el *Staphylococcus aureus* atcc 43300. En cuanto a los resultados de la concentración de 0.2M (figura 34) se observa nuevamente como las nanopartículas de Zn +Cu sobresalen con un halo de inhibición de 34 mm, y de igual forma que en las bacterias antes evaluadas a esta concentración, se observa el halo de menor tamaño con las nanopartículas de Zn solo, con una medida de 26mm.

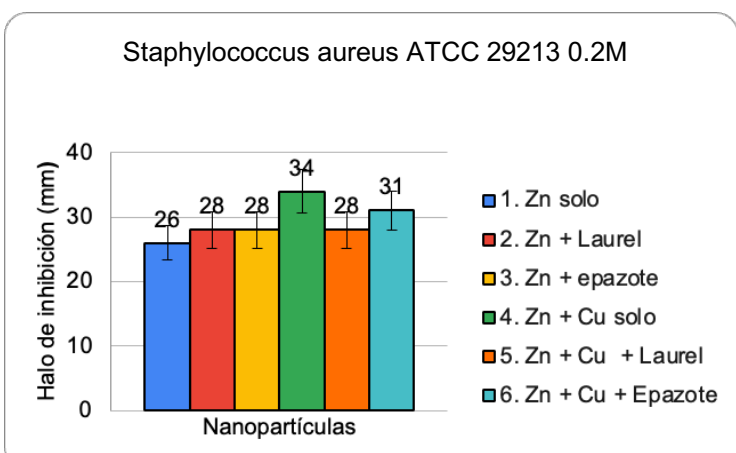


Figura 34 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

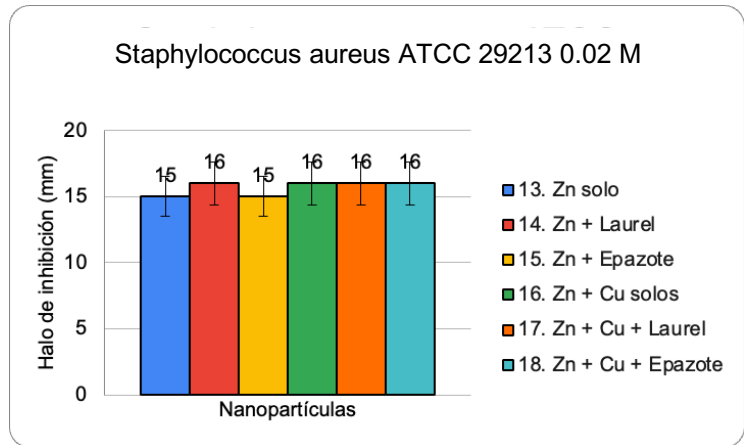
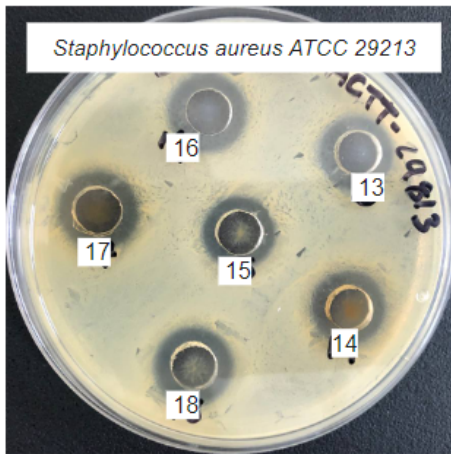


Figura 35 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Para las nanopartículas de concentración a 0.02M (figura 35), se observan resultados similares a las obtenidos con la cepa atcc 43300 puesto que las medidas de los halos son muy homogéneos y se encuentran entre 15mm y 16mm, resaltando qué nuevamente el halo de menor tamaño es el originado por las nanopartículas de Zn solo.

La figura 36 muestra los resultados obtenidos a concentraciones de 0.01M. Se pueden apreciar al igual que en la concentración anterior, halos de tamaños muy similares, qué van de los 12 a los 13 mm. En esta ocasión destaca qué los halos de 13 mm son los producidos por las nanopartículas de Zn solo, Zn + Laurel y Zn + Cu + Laurel, destacando así con esta bacteria las nanopartículas sintetizadas con extracto de Laurel.

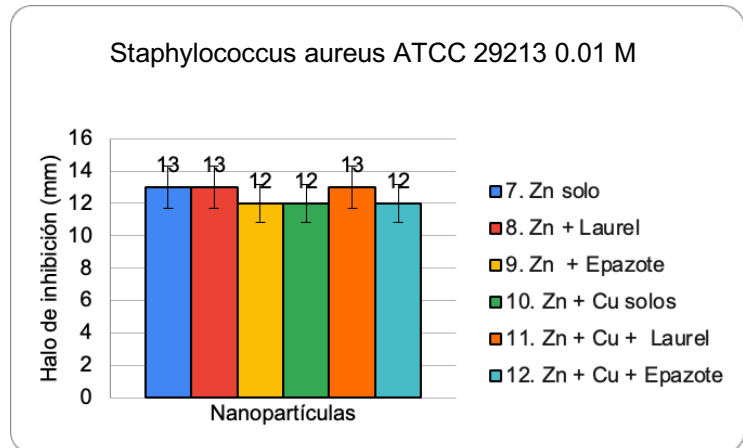
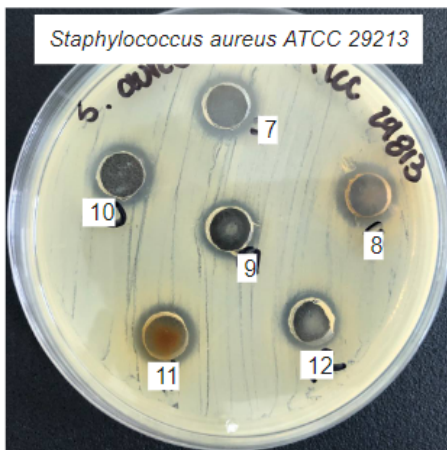


Figura 36 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.01M sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 29213

Staphylococcus aureus ATCC 25923

Cómo se puede apreciar en las figuras 37, 38 y 39 para esta cepa no fue la excepción y se obtuvieron también buenos resultados, pues se pueden apreciar halos de inhibición de buen tamaño a en todas las concentraciones.

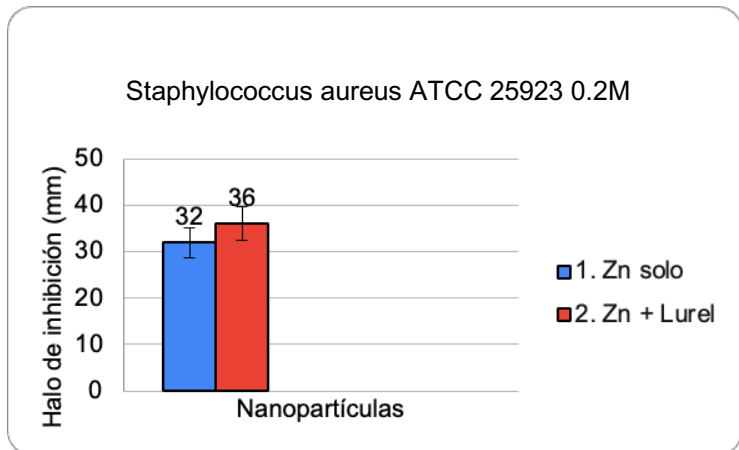
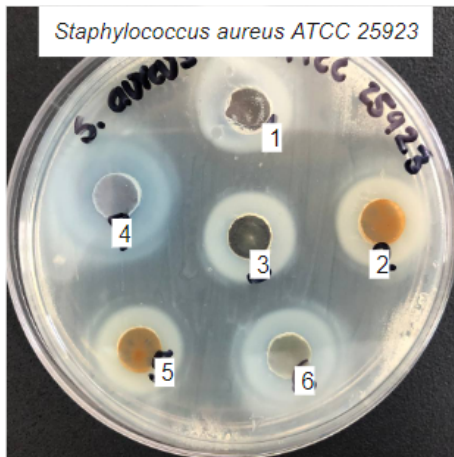


Figura 37 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

En el caso de las nanopartículas a concentración de 0.2M (figura 37) se obtuvieron buenos resultados, pues casi se alcanzas una inhibición total, por lo cual solo fue posible medir dos halos de inhibición, el resto por su gran tamaño confluyen entre sí. Los dos halos que pudieron medirse fueron también de muy buen tamaño, pero en esta ocasión destacaría más el de menor tamaño, que de nuevo fue el producido por las nanopartículas de Zn solo. Si bien también es un halo de muy buen tamaño ya que mide 32 mm, destaca por lo ya antes mencionado.

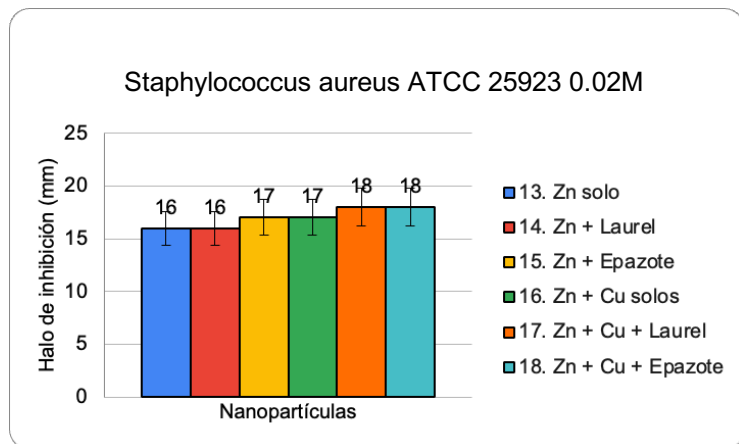
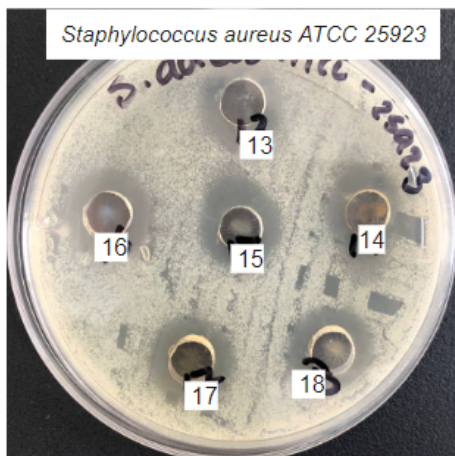


Figura 38 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Para las nanopartículas sintetizadas a concentración de 0.02M (figura 38) se nuevo se observan halos de inihcion muy similares entre sí. Esta vez sobresalen los halos de inihción de las nanopartículas de Zn +Cu+Epazote y Zn+Cu+Laurel, pues ambos midieron 18mm, pero solo hay una diferencia de 2mm con los halos más pequeños obtenidos por el Zn solo y el Zn+Laurel, los cuales midieron 16mm.

En la figura 39 se observan los resultados obtenidos para las nanopartículas a concentración de 0.01M, en las cuales se ven halos muy similares en tamaño, ya que se aprecian halos de 13 mm para las nanopartículas de Zn+Epazote, Zinc +Cu+ Epazote, halos de 14 mm en las nanopartículas de Zn solo, Zn +Laurel, y Zn +Cu solos y el balón de mayor tamaño se observó con las nanopartículas de Zn +Cu +Laurel, midiendo este 15mm.

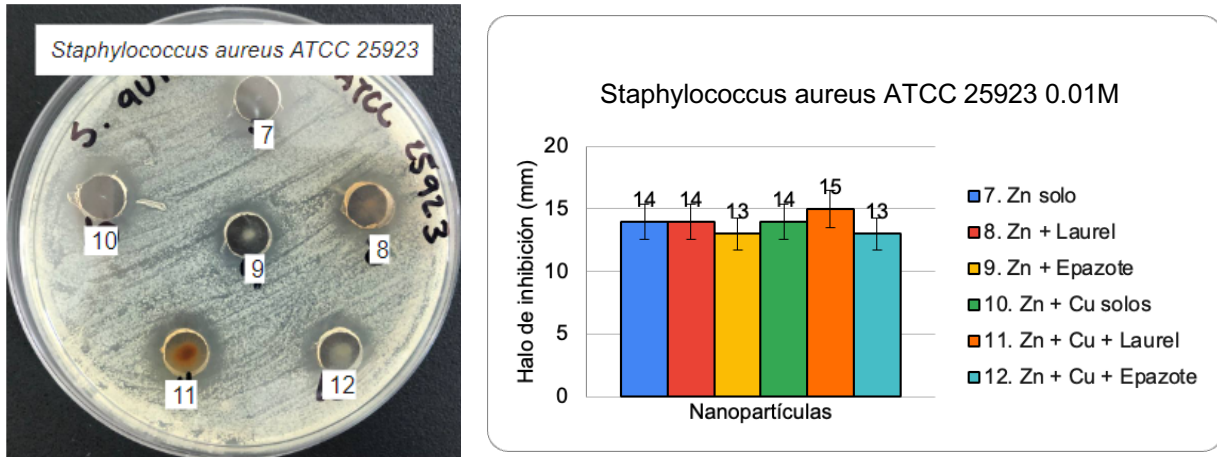


Figura 39 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.01M sobre *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Escherichia coli ATCC 10586

Cómo se puede observar en las figuras 40, 41 y 42 podemos ver que los halos de inhibición que se obtuvieron para todas las concentraciones.

Para las nanopartículas a concentración de 0.2M (figura 40) se observan buenos halos de inhibición de buen tamaño, destacando sobre esta bacteria también las nanopartículas de Zn +Cu solo, presentando un halo de inhibición de 30 mm. Sobre esta bacteria también se observó un menor efecto sobre las nanopartículas de Zn solo, con un halo de 25mm.

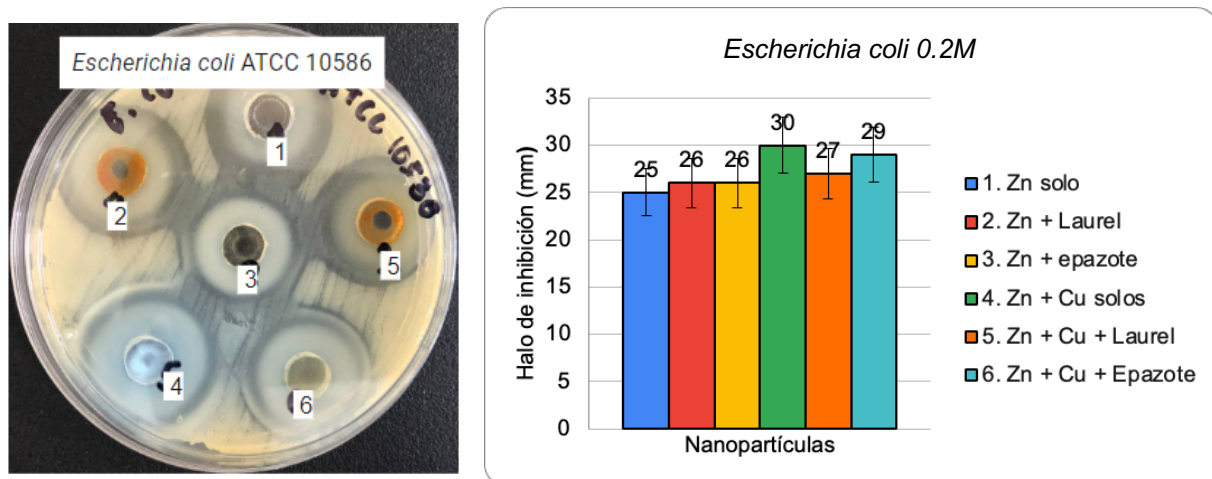


Figura 40 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Escherichia coli*

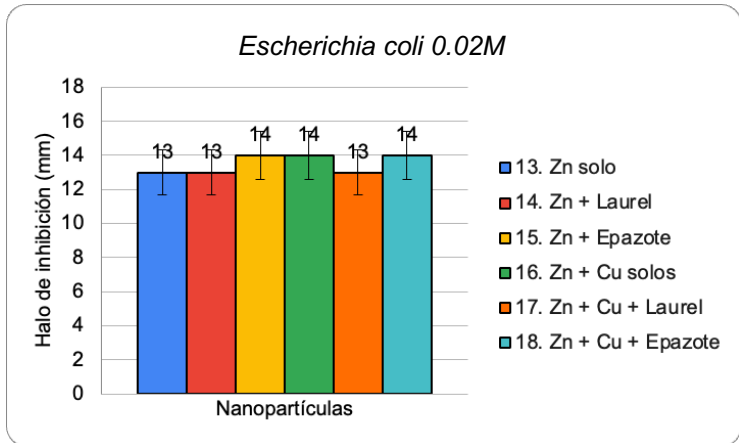
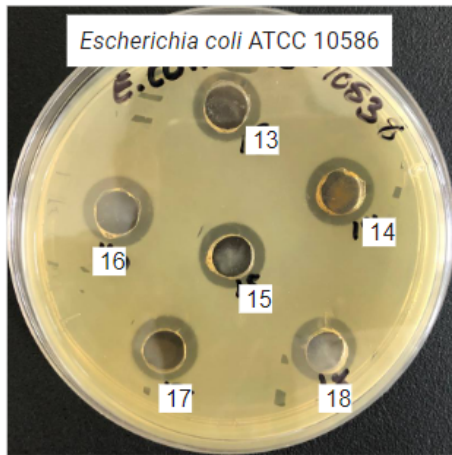


Figura 41 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre Escherichia coli

En el caso de las nanopartículas sintetizadas a concentración de 0.02M (figura 41) se obtuvieron resultados similares a los anteriores, ya que los halos son muy similares entre sí, y las medidas de estos son de 13mm para las nanopartículas de Zn solo, Zn + Laurel y Zn +Cu + Laurel; y de 14 mm para las nanopartículas de Zn + epazote, Zn + Cu solos y Zn +Cu +Epazote. En este caso podemos ver que las nanopartículas con extracto de Epazote tuvieron un efecto ligeramente mayor en comparación a las de Laurel.

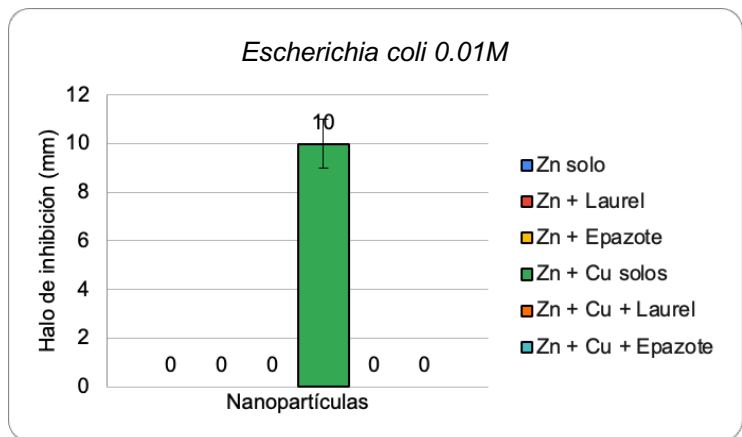
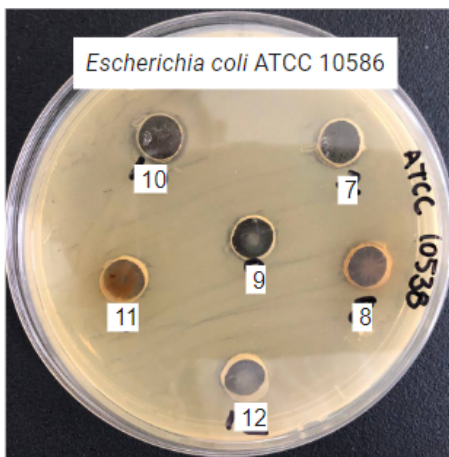


Figura 42 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.01M sobre Escherichia coli

Para los resultados obtenidos de la inhibición producida por las nanopartículas a concentración de 0.01M (figura 42) , solo se aprecia una pequeña inhibición de 10mm con las nanopartículas de Zn + Cu solas, el resto no tuvo inhibición alguna

Salmonella spp

En las figuras 43, 44 y 45 se puede apreciar los efectos de las nanopartículas sobre esta bacteria, siendo todos favorables para las 3 concentraciones.

En el caso de las nanopartículas sintetizadas a concentración de 0.2M (figura 43), resaltan los halo de inhibición producido por las nanopartículas de Zn + solos, y Zn + Cu + Epazote, ya que son los halo de mayor tamaño midiendo 28mm y para esta bacteria se observa el halo de menor tamaño con las nanopartículas de Zn +epazote, pues mide 22mm.

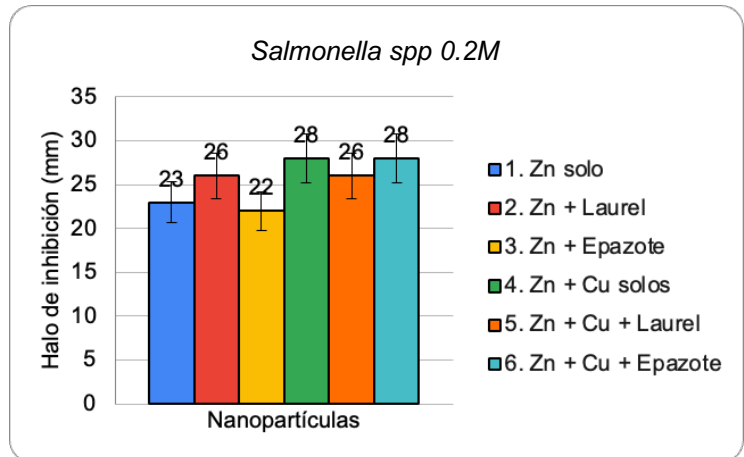
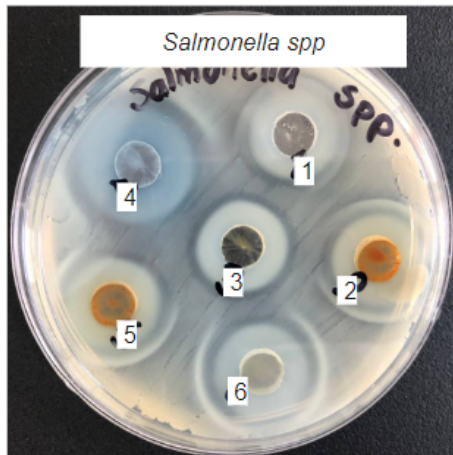


Figura 43 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Salmonella spp*

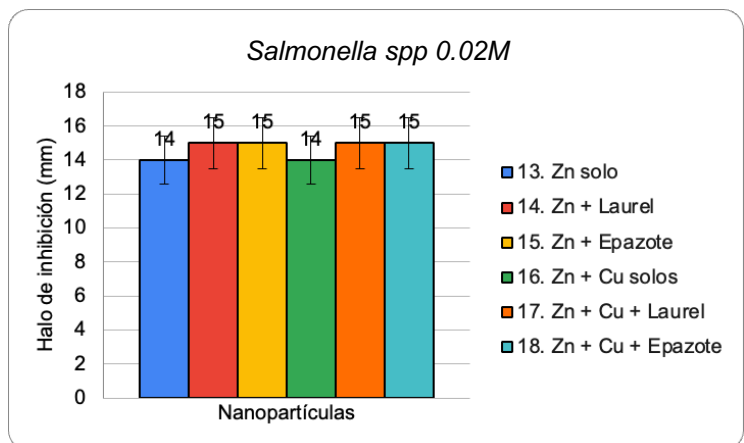
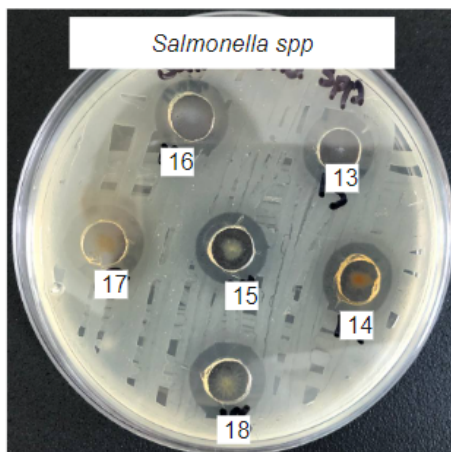


Figura 44 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre *Salmonella spp*

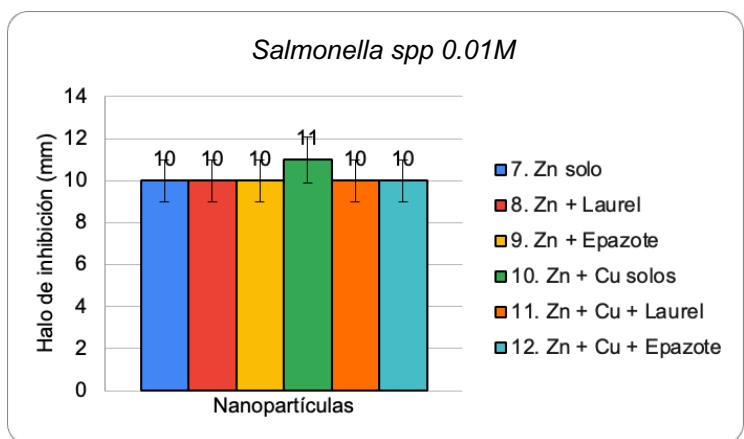
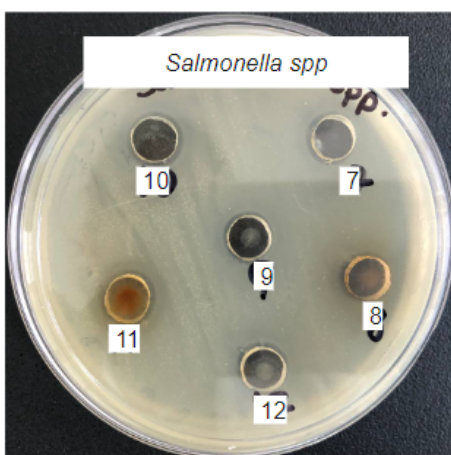


Figura 45 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.01M sobre *Salmonella spp*

La figura 44 muestra los resultados obtenidos para las nanopartículas de 0.02M. Se puede ver como estas al igual que con otras bacterias presentan halos de tamaños similares, qué miden 14 y 15 mm.

Los halos mas pequeños fueron los observados con las nanopartículas de Zn solo y Zn + Cu solos, en el resto de nanopartículas se obtuvieron halos de 15mm.

Para las nanopartículas a concentración de 0.01M (Figura 45), se observan halos muy pequeños y de tamaños similares entre sí, destacando solo el producido por las nanopartículas de Zn +Cu solo con una medida de 11mm. El resto de los halos tuvieron un diámetro de 10 mm.

Klebsiella pneumoniae

En las figuras 46, 47 y 48 se observan los resultados obtenidos para esta bacteria, siendo positivos en las 3 concentraciones, ya que en todas se aprecian halos de inhibición.

Para las nanopartículas a concentración de 0.2M (Figura 46) se puede observar halos de distintos tamaño, siendo los halos de mayor tamaño los producidos por las nanopartículas de Zn + Cu y Zn + Cu + Epazote con un diámetro de halo de 28mm. El halo de menor tamaño se observó con las nanopartículas de Zn + epazote con un diámetro de 22mm.

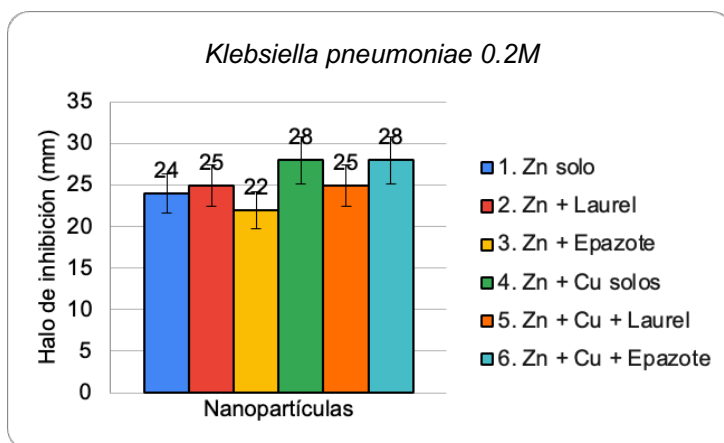
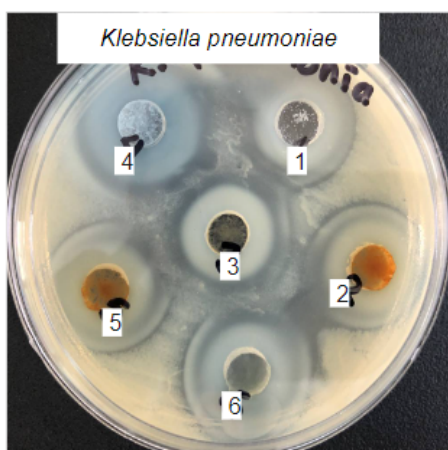


Figura 46 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Klebsiella pneummoniae*

En la figura 47 se aprecian los resultados obtenidos de las nanopartículas sintetizadas a concentración de 0.02M. Podemos ver cómo al igual que el resto de bacterias a esta concentración muestran halos de tamaños muy similares, pues tenemos al halo de mator tamaño con 18 mm con las nanopartículas de zn +cu + epazote, el resto de los halos se encuentran entre 16 y 17 mm.

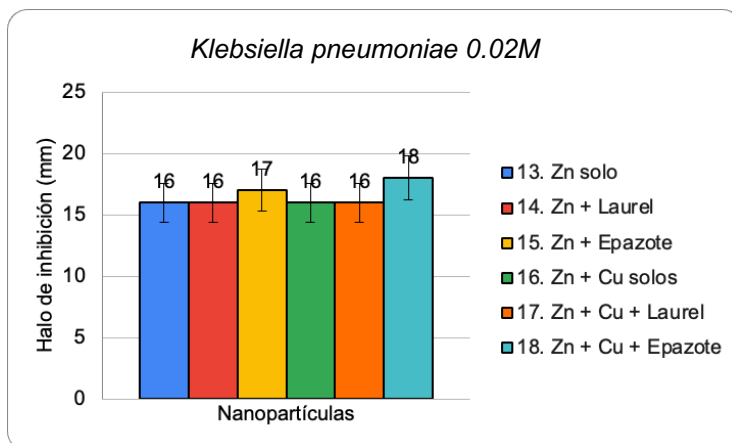
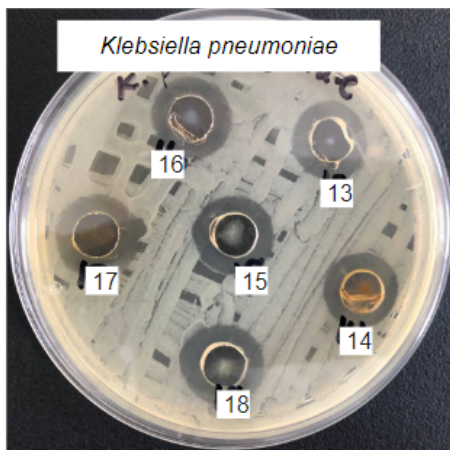


Figura 47 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre *Klebsiella pneumoniae*

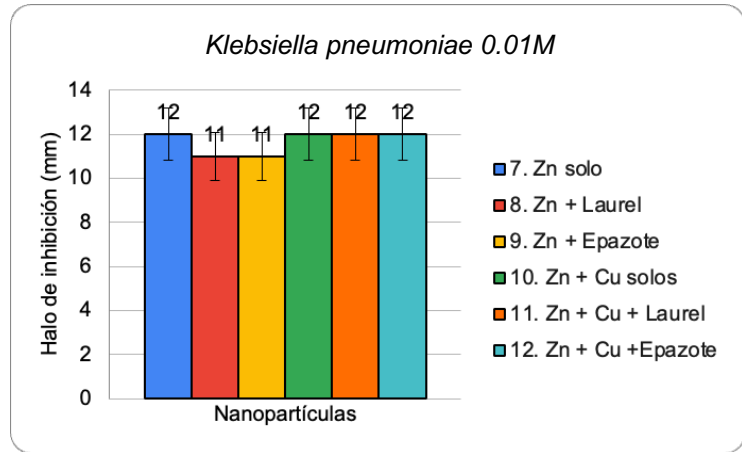
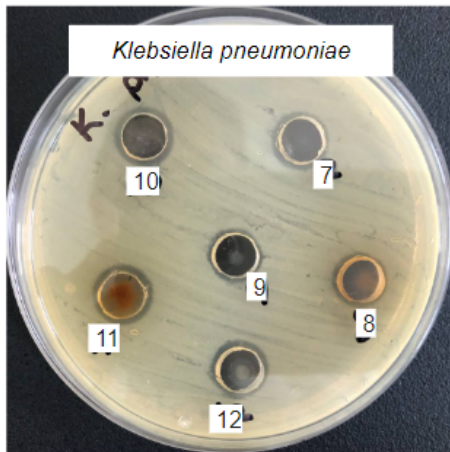


Figura 48 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.01M sobre *Klebsiella pneumoniae*

En el caso de las nanopartículas sintetizadas a concentración de 0.01M (figura 48) se observan de igual manera, halos muy similares entre sí de tamaño, pues estos miden 11 y 12 mm. Se observa halos de 12 mm para las nanopartículas de Zn solo, Zn + Cu solo, y Zn + Cu con ambos extractos, y halos de 11mm para las nanopartículas de zn + Laurel y Zn + Epazote.

Pseudomonas aeruginosa ATCC 25619

En las imágenes 49, 50 y 51 se observan los resultados obtenidos sobre una de nuestras bacterias de mayor importancia. Es importante resaltar que frente a la pseudomona aeruginosa las nanopartículas a 0.01M no tuvieron efecto alguno.

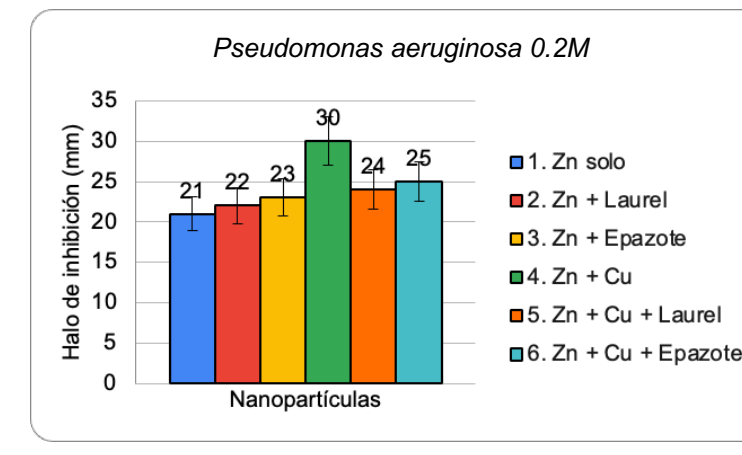
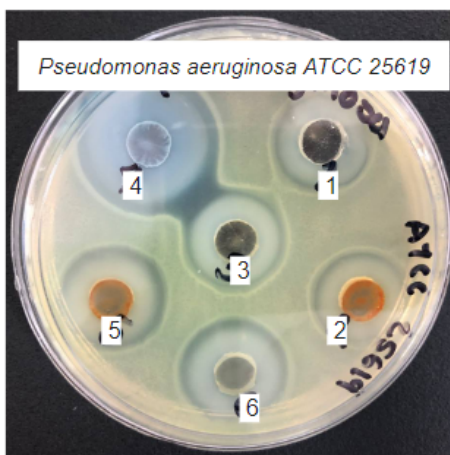


Figura 49 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Pseudomonas aeruginosa*

En el caso de las nanopartículas a 0.02M (Figura 49) podemos observar resultados similares al resto de las bacterias, ya que presentó mayor halo de inhibición con las nanopartículas de zn + cu solo ya que este mide 30 mm, a diferencia del halo de menor tamaño visto en las nanopartículas de zn sólo pues este mide 21mm.

En el caso de las nanopartículas a concentración de 0.02M (Figura 50) se observan halos de entre los 13 y 15 mm, siendo este último el obtenido por las nanopartículas de Zn + Cu + Laurel. Las soluciones que solo contienen Zn y extractos se presentaron halos del mismo tamaño, pues todos midieron 13 mm. El resto de las soluciones dieron halos de 14 mm de diametro.

A concentraciones de 0.01M no se observaron halos de inhibición.

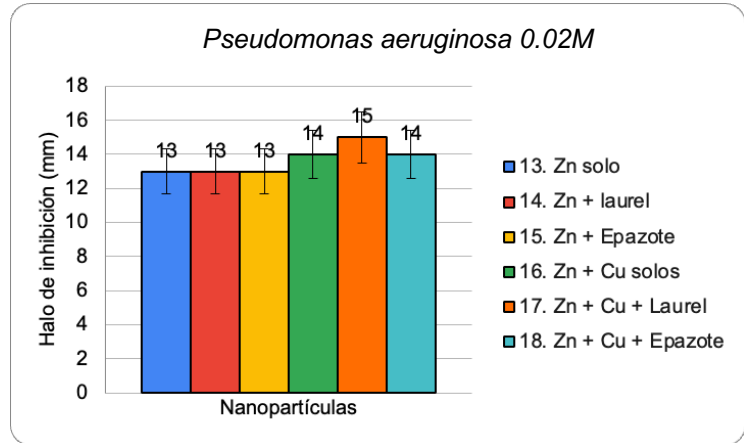
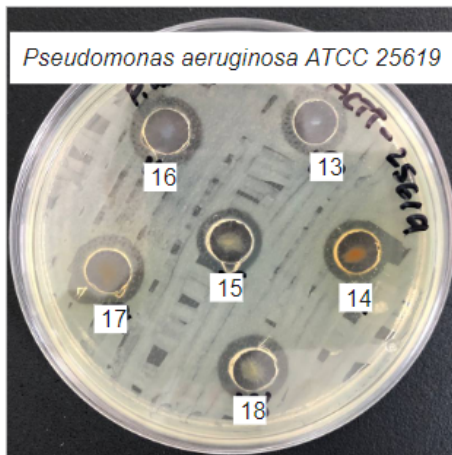


Figura 50 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre *Pseudomonas aeruginosa*

Candida albicans ATCC 10231

En el caso de *Candida albicans* los resultados fueron un poco diferentes a los esperados, ya que durante el primer ensayo se presentó inhibición completa, y para el segundo ensayo se mostraron halos más definidos, y al igual que en el caso de *Pseudomonas aeruginosa* no se observaron halos de inhibición a concentraciones de 0.01M.

En la Figura 51 se observan los resultados de las nanopartículas de 0.2M sobre *Candida albicans*. Al igual que en el resto de bacterias se obtuvo un halo de inhibición de mayor tamaño con las nanopartículas de Zn + Cu solo, observando un halo de 35 mm de diámetro. El halo de menor tamaño fue el producido por las nanopartículas de Zn solo con 25 mm de diámetro.

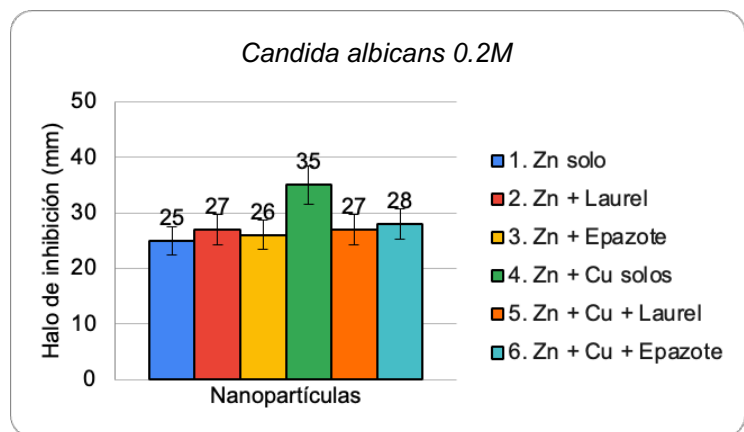
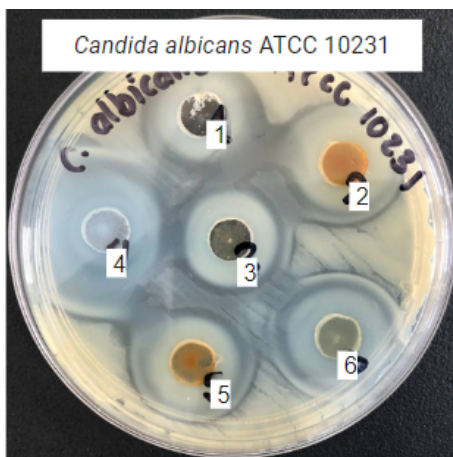


Figura 51 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Candida albicans*

Para las nanopartículas a 0.02M (Figura 52) se observaron halos de tamaños muy similares entre sí, con medidas de 15 a 17 mm. Sobre este hongo tuvieron mayor halo de inhibición las nanopartículas de Zn + laurel y Zn + Cu + Epazote con halos de 17 mm y las que presentaron un halo de menor tamaño fueron las nanopartículas de Zn+Cu+laurel.

Para el caso de las sintetizadas a concentración de 0.01M no se obtuvieron halos de inhibición.

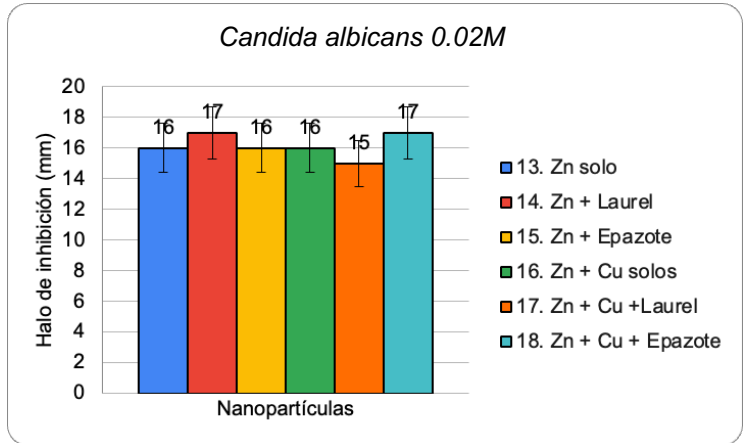
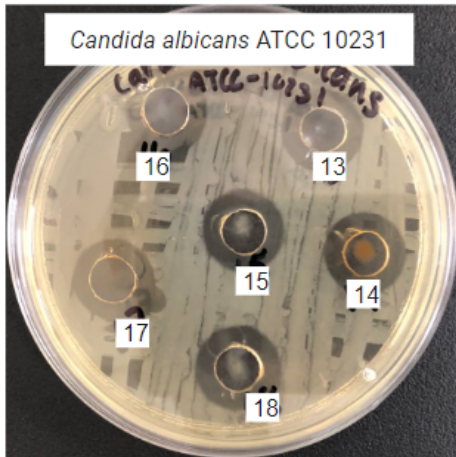


Figura 52 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre *Candida albicans*

Staphylococcus epidermidis ATCC 12228

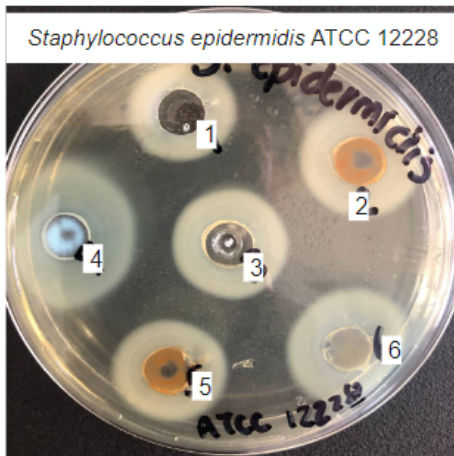


Figura 53 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Staphylococcus epidermidis*

Los nanocompuestos tuvieron muy buenos resultados sobre esta bacteria, pues a concentraciones de 0.02M se obtuvo inhibición completa, y a concentraciones de 0.01M se observan halos de muy buen tamaño.

Como se puede observar en la figura 53 no hay crecimiento bacteriano sobre el Agar. Solo se pueden apreciar los halos de dispersión de los nanocompuestos.

Para las nanopartículas a 0.02M los resultados fueron muy buenos, pues se pueden observar halos de muy buen tamaño para todos los nanocompuestos. Las nanopartículas de Zn+Laurel destacan con su halo de inhibición de 28 mm, y se observa el halo de menor tamaño con las nanopartículas de zn solo con 25 mm de diámetro. Todos los halos son muy similares en tamaño.

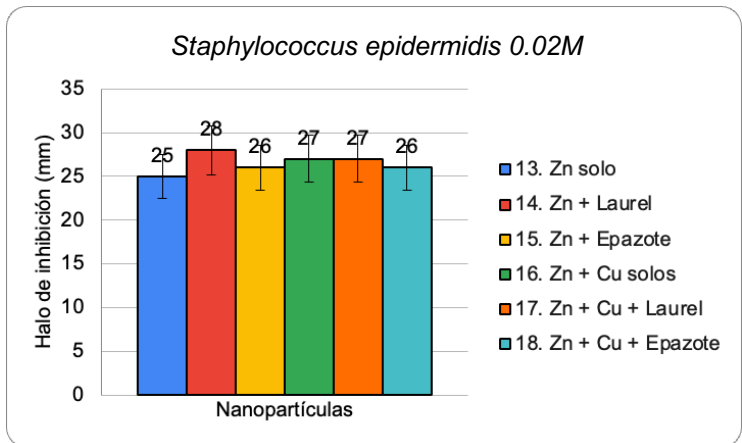
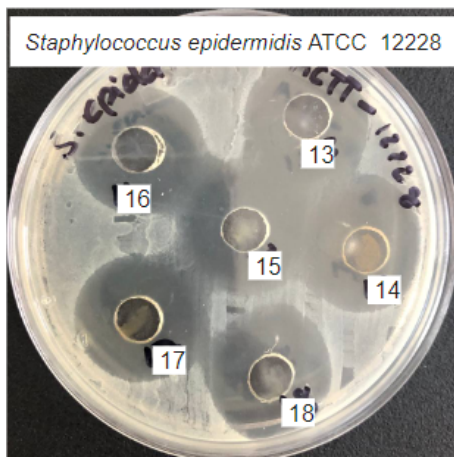


Figura 54 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.02M sobre *Staphylococcus epidermidis*

En el caso de las nanopartículas a concentración de 0.01M se puede ver que también crearon halos de muy buen tamaño, y al igual que en la concentración anterior, estos tuvieron poca variabilidad en tamaño, pues se obtuvieron halos de entre los 18mm y 20mm. Aquí una vez más destacan las nanopartículas de zn+cu solo con el halo de mayor tamaño (20mm).

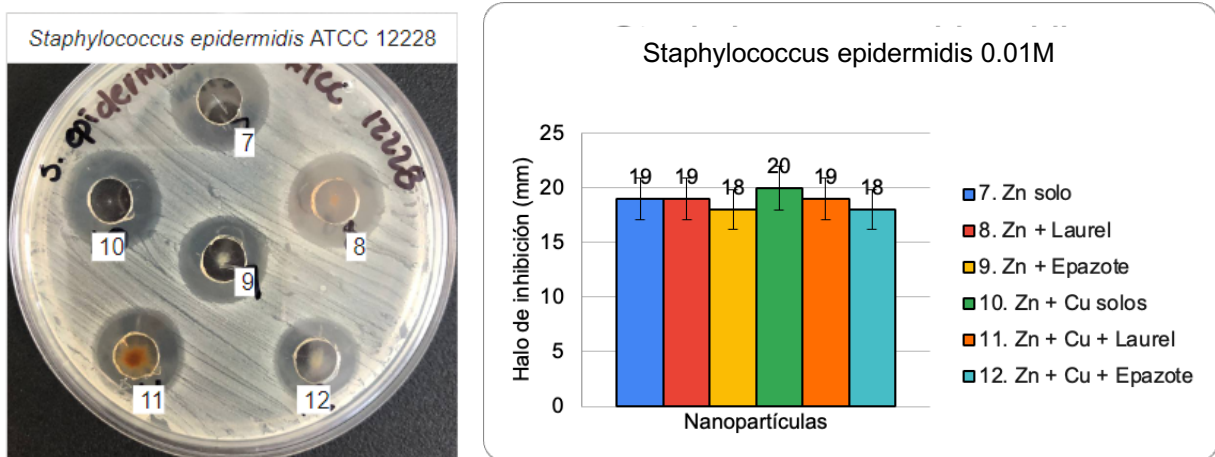


Figura 55 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.01M sobre *Staphylococcus epidermidis*.

Enterococcus faecalis ATCC 29212

En las figuras 56, 57 y 58 se observan los resultados obtenidos sobre *Enterococcus faecalis*. En el caso de esta bacteria las concentraciones de 0.02M y 0.01M mostraron resultados muy similares.

En la figura 56 observamos los resultados obtenidos a concentración de 0.2M y como el halo de mayor inhibición es el halo producido por las nanopartículas de Zn+Cu con un halo de 30 mm de diámetro, y observando halos de menor tamaño con las nanopartículas de zn solo y Zn+Cu+Laurel con halos de 23 mm.

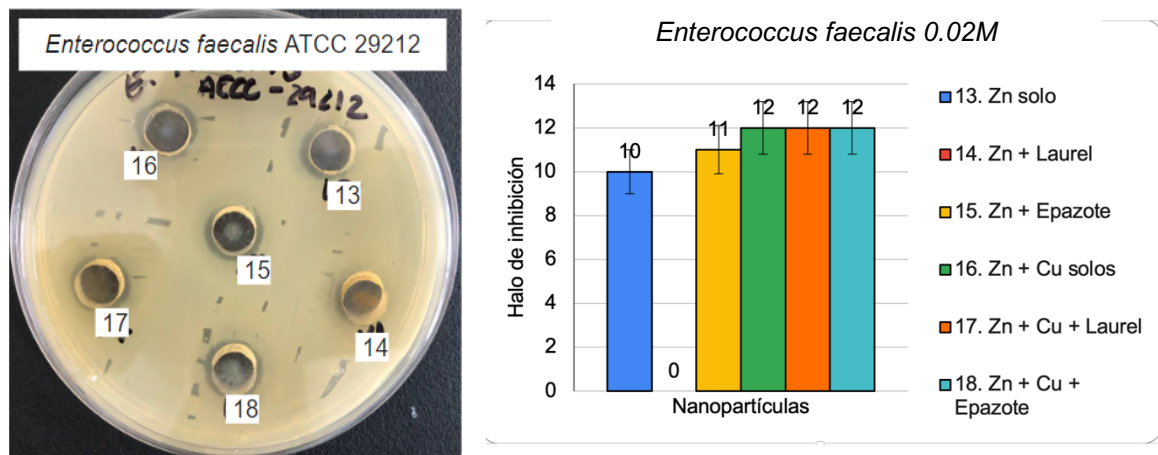


Figura 57 Efectos de las nanopartículas al 0.02M sobre *Enterococcus faecalis*

Para las nanopartículas de 0.02M (Figura 57) se observaron halos más pequeños, incluso en el caso de las nanopartículas de Zn+ Laurel no hubo halo de inhibición. En el caso de los halos de inhibición producidos por las nanopartículas de Zn+Cu y Zn+Cu con los extractos fueron muy homogéneos ya que los tres midieron 12 mm.

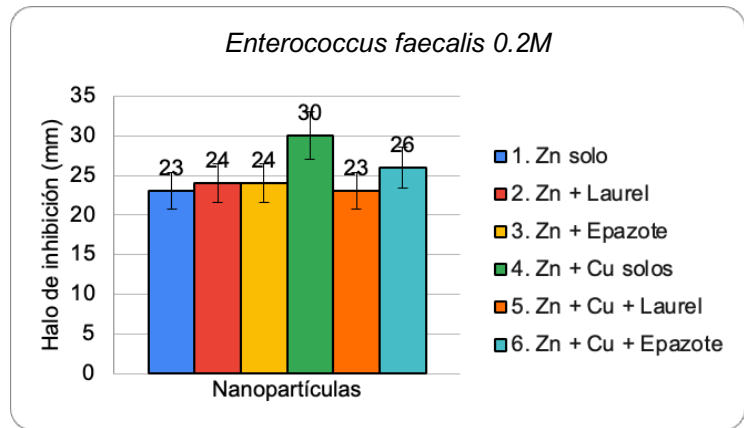
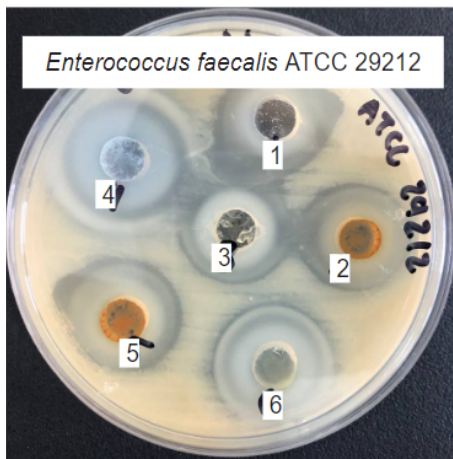


Figura 56 Efecto de las nanopartículas sintetizadas al 0.2M sobre *Enterococcus faecalis*

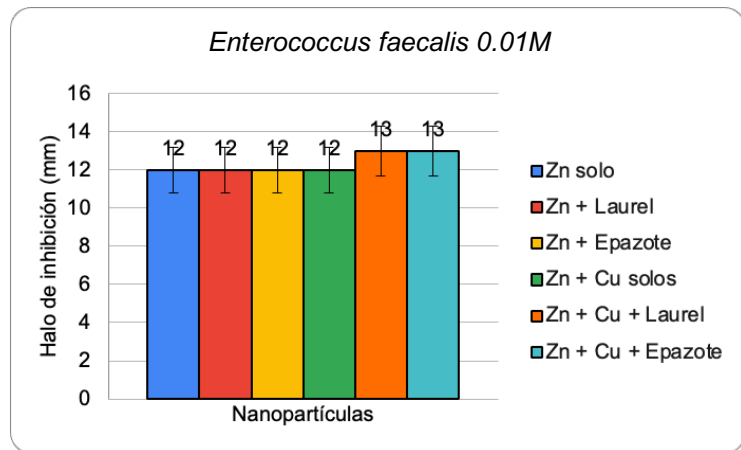
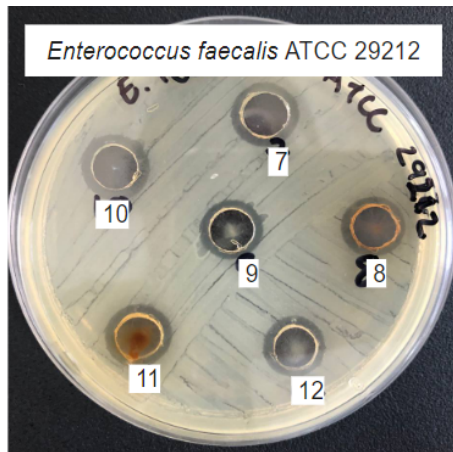


Figura 58 Efectos de las nanopartículas al 0.01M sobre *Enterococcus faecalis*

En el caso de las nanopartículas de 0.01M (Figura 58) sobre *Enterococcus faecalis* se obtuvieron resultados muy distintos a todas la bacterias anteriores, ya que en todas las demás bacterias las nanopartículas de 0.02M obtuvieron mejores resultados que las de 0.01M. Podemos observar que los halos de inhibición de mayor tamaño son de 13mm producidos por las nanopartículas de Zn+Cu+Laurel y Zn+Cu+Epazote. El resto de las nanopartículas las medidas de sus halos fueron de 12 mm.

Acinetobacter baumannii

Los resultados para esta bacteria fueron de mucha importancia, porque pese a que en las nanopartículas sintetizadas a 0.01M no tuvieron ningún efecto, en el caso de las nanopartículas a concentración de 0.2M se obtuvieron incluso mejores resultados que en el primer ensayo, pues aquí ya se observaron halos de inhibición aún mayores.

Como se puede observar en la figura 59 que muestra los resultados obtenidos para las nanopartículas a concentración de 0.2M, el halo de inhibición de mayor tamaño fue el obtenido con las nanopartículas de Zn+Cu con un halo de 36 mm de diámetro, al igual que el resto de las bacterias. Es importante señalar que en los halos obtenidos en el primer ensayo fueron menores que los obtenidos en el

segundo ensayo, pero coinciden en que en ambos ensayos el halo de mayor tamaño fue el obtenido con las nanopartículas de Zn+Cu.

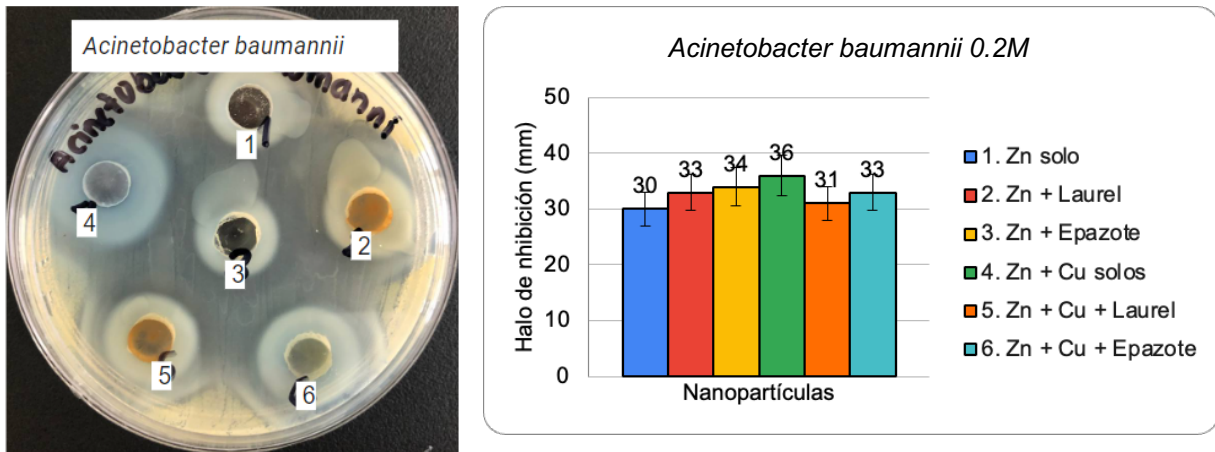


Figura 59 Efectos de las nanopartículas al 0.2M sobre *Acinetobacter baumannii*

En el caso de las nanopartículas de 0.02M que se observa en la figura 60, se pueden apreciar buenos halos de inhibición, con tamaños de halo de entre 18 mm para las nanopartículas de zn solo y 21 mm para las nanopartículas de zn+cu+laurel y zn+cu+epazote. El resto de las soluciones crearon halos de 19 mm de diámetro.

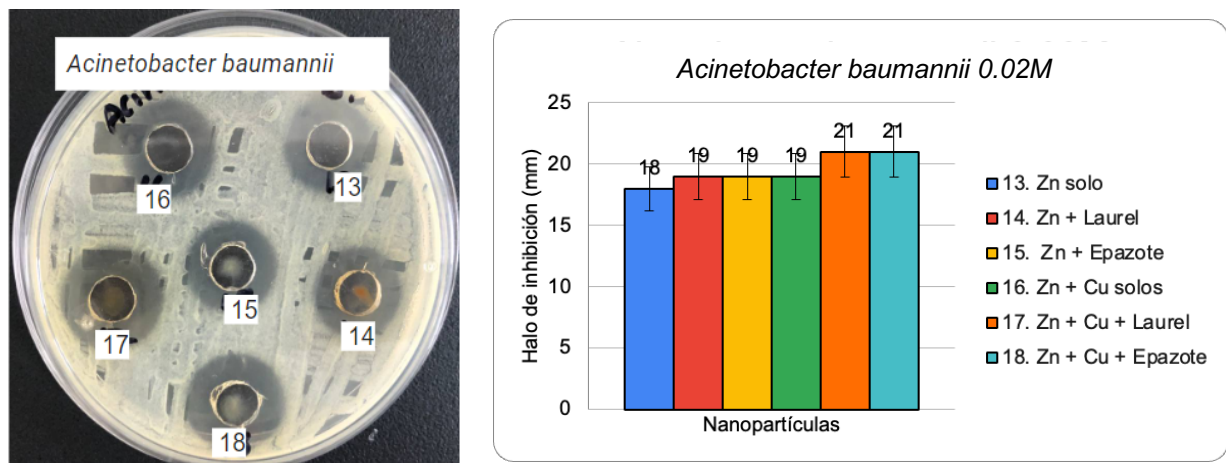


Figura 60 Efectos de las nanopartículas al 0.02M sobre *Acinetobacter baumannii*

Para las nanopartículas de 0.01M no se obtuvieron resultados favorables, ya que no se observaron halos de inhibición.

Todo lo antes descrito se resume en las tablas 5 y 6 donde se pueden comparar fácilmente los resultados obtenidos.

Se puede observar que en promedio las nanopartículas que tuvieron un mayor efecto produciendo halos de inhibición de mayor tamaño, fueron las nanopartículas de Zn+Cu solas, con un promedio de halo de 32.64 mm.

Si evaluamos las nanopartículas por composición, veremos que las nanopartículas donde solo se utilizó acetato de zinc y extractos naturales, para los sintetizados con 0.02m de acetato de zinc el promedio de halo mayor lo obtuvieron las nanopartículas de Zn + Laurel, para las sintetizadas al 0.02M las nanopartículas con promedio de halo mayor fueron las sintetizadas con extracto de epazote, y en el

caso de las sintetizadas al 0.01M las mayores fueron las sintetizadas con zn solo y las adicionadas con laurel.

Si observamos la tabla 6 en la cual se exponen los resultados obtenidos con las nanopartículas de Zinc dopadas de cobre solas y con extractos naturales de las cuales como ya se mencionó, las que destacaron fueron las nanopartículas que no contienen extractos naturales con un promedio de halo de 32.64 mm, lo cual no difiere mucho de lo ya observado en el primer ensayo, pues en la tabla _ se expone un promedio de halo para estas mismas nanopartículas de 34 mm, siendo también el halo de inhibición más grande en ese ensayo.

Tabla 5. HALOS DE INHIBICIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ZINC Y ZINC ADICIONADO CON EXTRACTOS

| Concentraciones | | 0.2 M | | | 0.02 M | | | 0.01 M | | |
|-----------------|--------------------------------------|------------|----------------|-----------------|-------------|-----------------|------------------|-------------|----------------|-----------------|
| | Bacterias | 1. Zn solo | 2. Zn + Laurel | 3. Zn + Epazote | 13. Zn solo | 14. Zn + Laurel | 15. Zn + Epazote | 7. Zn solo | 8. Zn + Laurel | 9. Zn + Epazote |
| | | 1 | 2 | 3 | 13 | 14 | 15 | 7 | 8 | 9 |
| 1 | <i>Shigella flexneri</i> | 24 | 25 | 26 | 17 | 19 | 19 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 26 | 29 | 26 | 18 | 19 | 19 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | <i>Staphylococcus aureus (43300)</i> | 28 | 30 | 40 | 15 | 16 | 17 | 11 | 11 | 11 |
| 4 | <i>Staphylococcus aureus (29213)</i> | 26 | 28 | 28 | 15 | 16 | 15 | 13 | 13 | 12 |
| 5 | <i>Staphylococcus aureus (25923)</i> | 32 | 36 | 36 | 16 | 16 | 17 | 14 | 14 | 13 |
| 6 | <i>Escherichia coli</i> | 25 | 26 | 26 | 13 | 13 | 14 | 0 | 0 | 0 |
| 7 | <i>Salmonella spp</i> | 23 | 26 | 22 | 14 | 15 | 15 | 10 | 10 | 10 |
| 8 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 24 | 25 | 22 | 16 | 16 | 17 | 12 | 11 | 11 |
| 9 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 21 | 22 | 23 | 13 | 13 | 13 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | <i>Candida albicans</i> | 25 | 27 | 26 | 16 | 17 | 16 | 0 | 0 | 0 |
| 11 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | - | - | - | 25 | 28 | 26 | 19 | 19 | 18 |
| 12 | <i>Enterococcus faecalis</i> | 23 | 24 | 24 | 10 | 0 | 11 | 12 | 12 | 12 |
| 13 | <i>Acinetobacter baumannii</i> | 30 | 33 | 0 | 18 | 19 | 19 | 0 | 0 | 0 |
| | Promedio de Halo | 22.00 | 23.79 | 21.57 | 15.64 | 15.79 | 16.64 | 7.00 | 7.00 | 6.86 |

Tabla 6. HALOS DE INHIBICIÓN DE NANOPARTÍCULAS DE ZINC Y ZINC ADICIONADO CON EXTRACTOS

| Concentraciones | | 0.2 M | | | 0.02 M | | | 0.01 M | | |
|-----------------|--------------------------------------|-----------------|---------------------|----------------------|------------------|----------------------|-----------------------|------------------|----------------------|-------------------|
| | Bacterias | 4. Zn + Cu solo | 5. Zn + Cu + Laurel | 6. Zn + Cu + Epazote | 16. Zn + Cu solo | 17. Zn + Cu + Laurel | 18. Zn + Cu + Epazote | 10. Zn + Cu solo | 11. Zn + Cu + Laurel | Zn + Cu + Epazote |
| 1 | <i>Shigella flexneri</i> | 35 | 28 | 29 | 17 | 18 | 19 | 0 | 0 | 0 |
| 2 | <i>Streptococcus pyogenes</i> | 33 | 28 | 30 | 19 | 20 | 19 | 0 | 0 | 0 |
| 3 | <i>Staphylococcus aureus</i> (43300) | 40 | 32 | 33 | 16 | 16 | 17 | 12 | 12 | 12 |
| 4 | <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) | 34 | 28 | 31 | 16 | 16 | 16 | 12 | 13 | 12 |
| 5 | <i>Staphylococcus aureus</i> (25923) | - | - | - | 17 | 18 | 18 | 14 | 15 | 13 |
| 6 | <i>Escherichia coli</i> | 30 | 27 | 29 | 14 | 13 | 14 | 10 | 0 | 0 |
| 7 | <i>Salmonella spp</i> | 28 | 26 | 28 | 14 | 15 | 15 | 11 | 10 | 10 |
| 8 | <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 28 | 25 | 28 | 16 | 16 | 18 | 12 | 12 | 12 |
| 9 | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 30 | 24 | 25 | 14 | 15 | 14 | 0 | 0 | 0 |
| 10 | <i>Candida albicans</i> | 35 | 27 | 28 | 16 | 15 | 17 | 0 | 0 | 0 |
| 11 | <i>Staphylococcus epidermidis</i> | - | - | - | 27 | 27 | 26 | 20 | 19 | 18 |
| 12 | <i>Enterococcus faecalis</i> | 30 | 23 | 26 | 12 | 12 | 12 | 12 | 13 | 13 |
| 13 | <i>Acinetobacter baumannii</i> | 36 | 31 | 33 | 19 | 21 | 21 | 0 | 0 | 0 |
| | Promedio de Halo | 32.64 | 27.18 | 29.09 | 16.69 | 17.08 | 17.38 | 7.92 | 7.23 | 6.92 |

1.8.2.2 Halos de inhibición de nanocompuestos de cobre solo

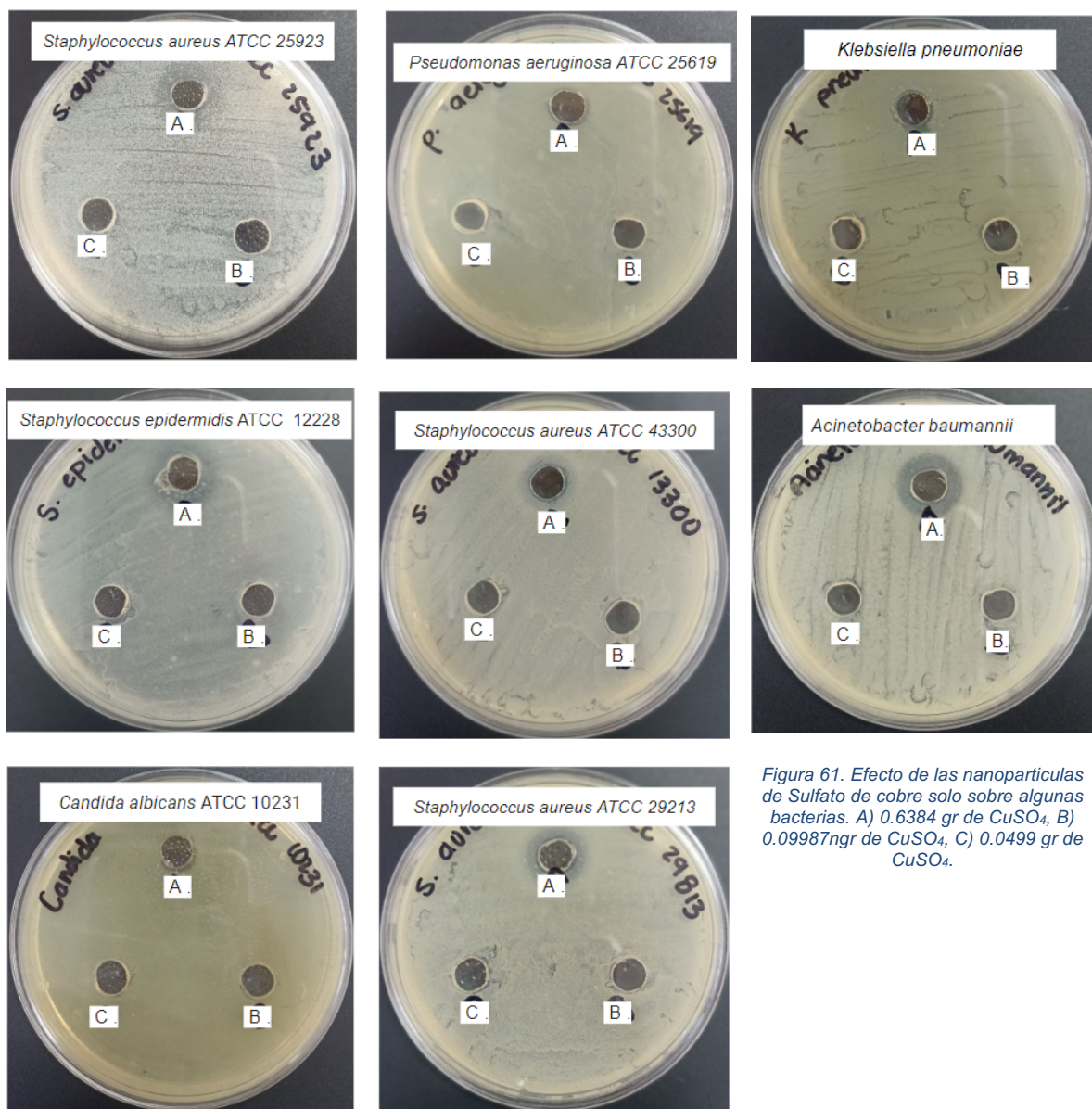


Figura 61. Efecto de las nanopartículas de Sulfato de cobre solo sobre algunas bacterias. A) 0.6384 gr de CuSO_4 , B) 0.09987ngr de CuSO_4 , C) 0.0499 gr de CuSO_4 .

Tabla 7. Nanopartículas de Sulfato de Cobre solo

| | A (0.2M) |
|--------------------------------------|----------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> (43300) | 11 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) | 15 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (25923) | 11 |
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> | 11 |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 11 |
| <i>Candida albicans</i> | 10 |
| <i>Staphylococcus epidermidis</i> | 16 |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 17 |

Al analizar los efectos del Sulfato de cobre de manera aislada, se puede observar que este tiene nulo o muy poco efecto sobre las bacterias, ya que los halos de inhibición fueron muy pequeños, siendo escasos milímetros mas grandes que la fosita donde se depositó el nanocompuesto. Es destacable el halo de inhibición generado para *Acinetobacter baumannii*, pues este presenta el halo de mayor tamaño con 17 mm, y también él observando en *Pseudomonas aeruginosa* midiendo 11 mm. Estos resultados son de gran importancia, ya que estas bacterias son consideradas de importancia para la OMS para el desarrollo de nuevos antibióticos.

También se observa inhibición en las tres sepas de *Staphylococcus aureus* con halos de inhibición de 11 y 15mm.

Según el estudio publicado por Montero H et al 2019, exponen que las nanopartículas de cobre han presentado buen efecto antifúngicos, pero principalmente en el medio agropecuario.

1.8.2.3 Halos de inhibición de los extractos naturales

Para la evaluación del efecto de los extractos de laurel y epazote, estos fueron probados de la misma forma en que se probaron las nanoparticulas, colocando 50 ul de extracto en un pocito en agar Muller Hinton y para evaluar su inhibición fe medido su halo de inhibición.

Los resultados se pueden observar en las imágenes.

En nuestro estudio el único extracto que mostró efecto de manera individual fue el extracto de laurel, y solo presento pequeños halos de inhibición en *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis* y *Staphylococcus epidermidis*.

Los resultados obtenidos coinciden un poco con lo reportado por Herrera Arias, F. C. & García Rico, R.O 2006 quienes reportaron que el efecto de extracto de laurel fue nulo contra bacterias como *Pseudomonas aeruginosa* y *Escherichia coli*, pero por otra parte mencionan obtener buenos resultados sobre *Staphylococcus aureus*, lo cual no se evidencio en este estudio.

Además, como se observa en la figura 63 los halos de inhibición del laurel fueron de diámetros pequeños, de entre los 12 y 14 mm que coinciden con los reportados por Espinoza, S. R. (2017) frente a bacterias similares a las utilizadas.



Figura 62 Efectos de los extractos sobre algunas bacterias. Q) Extracto de Epazote, R) Extracto de Laurel.

Extractos de Laurel y Epazote

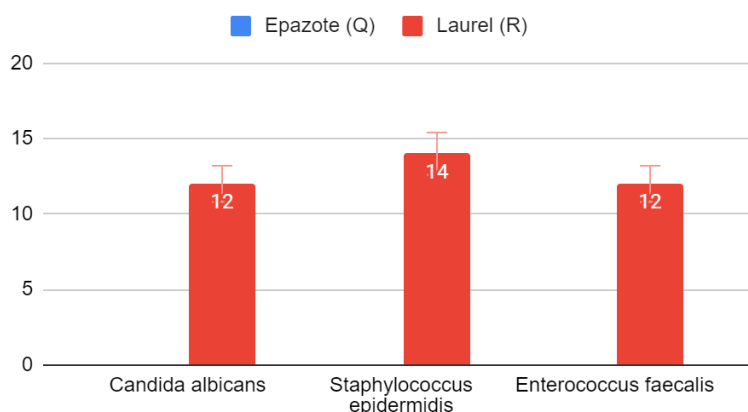


Figura 63 Gráfica de halos de inhibición producidos por extractos naturales

Por lo tanto, podríamos deducir que el extracto de laurel tiene mayor actividad sobre bacterias gram positivas que sobre bacterias gram negativas, según lo observado en este estudio y lo revisado en otros estudios publicados.

1.8.2.4 Concentración mínima inhibitoria

Para la evaluación de la concentración mínima inhibitoria se evaluó solamente con las nanopartículas que fueron sintetizadas con una concentración de acetato de zinc a 0.02M, esto debido a los resultados anteriores, ya que fueron las nanopartículas de menor concentración que presentaron buen efecto antimicrobiano frente a todas las bacterias.

Tabla 7. Concentración mínima inhibitoria ($\mu\text{g mL Zn}$)

| Bacteria | Zn solo | Zn + Laurel | Zn + Epazote |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> (43300) | 1.0975×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) | 5.4875×10^{-1} | 5.4875×10^{-1} | 5.4875×10^{-1} |
| <i>Escherichia coli</i> | 1.0975×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | - | 2.195×10^{-1} | 2.195×10^{-1} |
| <i>Candida albicans</i> | 1.0975×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 2.195×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} | 2.195×10^{-1} |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | - | 1.0975×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} |

Tabla 8. Concentración mínima inhibitoria ($\mu\text{g mL Zn + Cu}$)

| Bacteria | Zn + Cu solo | Zn + Cu + Laurel | Zn + Cu + Epazote |
|--------------------------------------|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| <i>Staphylococcus aureus</i> (43300) | 1.0975×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} |
| <i>Staphylococcus aureus</i> (29213) | 1.0975×10^{-1} | 5.4875×10^{-1} | 5.4875×10^{-1} |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 2.195×10^{-1} | 2.195×10^{-1} | 2.195×10^{-1} |
| <i>Acinetobacter baumannii</i> | 2.195×10^{-1} | 1.0975×10^{-1} | 2.195×10^{-1} |

Puede depender del tipo de exposición ya que al hacer el análisis de las muestras con el densimat para analizar la turbidez de los tubos en relación a la muestra blanco de bacterias, todos mostraron una turbidez menor al blanco de bacterias. Esto podría depender del tiempo de exposición, ya que todas las bacterias estuvieron expuestas a las nanopartículas durante 24 horas, talves se podrían haber evaluado en diferentes periodos de tiempo para estudiar la farmacodinamia de las nanopartículas y determinar si estas son dependientes de concentración o de tiempo de exposición.

Al realizar el analisis con densimat tambien se pudo observar que si bien algunas nanoparticulas no tuvieron efectos bactericidas, algunos tuvieron efecto bacteriostático.

1.9 Conclusiones de la investigación

El uso de extractos naturales con acciones antioxidantes es una excelente alternativa de medio reductor para la síntesis de nanopartículas, ya que estas pueden conferir mayores poderes antimicrobianos sobre las nanopartículas.

Según la presente investigación el efecto antimicrobiano de las nanopartículas de acetato de zinc es bueno, ya que tuvo buenos efectos sobre todas las bacterias sobre las que fueron probadas, sin embargo, esto dependió mucho de su concentración pues se observó que las nanopartículas con mayor efecto fueron las nanopartículas a concentración de 0.2M (esto debido a su alta concentración), es por eso que se determinó que las mejores nanopartículas fueron las sintetizadas con 0.02M de acetato de zinc, ya que se observaron muy buenos efectos sobre todas las bacterias, además de que se redujo drásticamente la concentración.

Por otra parte se observó que las nanopartículas de acetato de zinc si bien tuvieron buenos efectos, estos fueron incrementados gracias a la adición de más compuestos, como lo fueron los extractos naturales y sulfato de cobre. En el caso de los resultados de las nanopartículas a las cuales se les añadieron extractos naturales fueron muy similares entre si, pues todas tuvieron mayores efectos que el Zn solo, sin embargo los efectos fueron superiores con la adición de sulfato de cobre, ya que este tuvo mayor efecto sobre todas las bacterias en todas las concentraciones. De igual forma se estudió el efecto de las nanopartículas de Zn dopadas de Cu más los extractos naturales, y se concluyó que en este caso los extractos naturales no potencializaron el efecto, ya que como se mencionó anteriormente las nanopartículas de Zn+Cu fueron en las que se obtuvieron mejores resultados.

Esto es muy interesante, pues también se estudió el efecto de las nanopartículas de Sulfato de Cobre solas y se observó que estas no tuvieron grandes resultados, puesto que no se observaron halos de inhibición en todas las bacterias en las que fueron probadas, y solo en algunas tuvo efectos muy pobres, ya que los halos de inhibición son muy pequeños. Por lo tanto podemos concluir que las nanopartículas de Cu por si solas no tienen gran efecto, pero si confieren una gran sinergia o potencializan los efectos de las nanopartículas de Zn.

De igual manera, se concluyó que los extractos naturales por si solos pueden tener efectos antimicrobianos, estos son muy pobres ya que no generaron grandes halos de inhibición, pero si tuvieron efectos sobre algunas bacterias, y al igual que el sulfato de cobre, potencializaron los efectos del Zinc.

Por otra parte se observo que las bacterias en las cuales se presento mayor efecto fuerón en las diferntes sepas de *Staphylococcus aureus* y *Staphylococcus epidermidis*, pero se rezalta la gran acividad que presento sobre *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa*, ya que si bien no hubo inhibición en todas sus concentraciones, si se observarán muy buenos efectos con las nanopartículas a 0.2M y 0.02M. Esto resulta de gran importancia, ya que estas son unas de las principales bacterias de importancia para la OMS.

En cuanto a la evaluación de las características fisicoquímica de las nanopartículas, estas no entrarón dentro del rango de medidas para ser consideras nanoparticulas, ya que sus medida fueron micrometricas. Esto pudo ser debido a la metodología utilizada, por lo cual se sugeriría analizarla para determinar cuales son los errores y aciertos, además de realizar las modificaciones pertinentes.

1.10 Bibliografía

1. Adeyemi JO, Onwudiwe DC, Oyedeji AO. (2022). Biogenic Synthesis of CuO, ZnO, and CuO-ZnO Nanoparticles Using Leaf Extracts of *Dovyalis caffra* and Their Biological Properties. *Molecules*. 17;27(10):3206. doi: 10.3390/molecules27103206. PMID: 35630680; PMCID: PMC9144262.
2. Andleeb A, Andleeb A, Asghar S, Zaman G, Tariq M, Mehmood A, Nadeem M, Hano C, Lorenzo JM, Abbasi BH. 2021. A Systematic Review of Biosynthesized Metallic Nanoparticles as a Promising Anti-Cancer-Strategy. *Cancers (Basel)*. 3(11):2818.
3. Bisht G, Rayamajhi S. 2016. ZnO Nanoparticles: A Promising Anticancer Agent. *Nanobiomedicine (Rij)*. 1:3-9.
4. Cao Y, Dhahad HA, El-Shorbagy MA, Alijani HQ, Zakeri M, Heydari A, Bahonar E, Slouf M, Khatami M, Naderifar M, Iravani S, Khatami S, Dehkordi FF. 2021. Green synthesis of bimetallic ZnO-CuO nanoparticles and their cytotoxicity properties. *Sci Rep*.11(1):23479
5. Espinoza, S. R. (2017). Evaluación de la capacidad antimicrobiana de las hojas de *Laurusnobilis* y *Thymusvulgaris*. Dialnet. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=6430733>
6. Happy Agarwal, Soumya Menon, Venkat Kumar, S., & Rajeshkumar, S. (2018). Mechanistic study on antibacterial action of zinc oxide nanoparticles synthesized using green route. *Chemico-Biological Interactions*, 286, 60–70. doi:10.1016/j.cbi.2018.03.008
7. Hernández-Díaz, J. A., Garza-García, J. J., Zamudio-Ojeda, A., León-Morales, J. M., López-Velázquez, J. C., & García-Morales, S. (2020). Plant-mediated synthesis of nanoparticles and their antimicrobial activity against phytopathogens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 101(4), 1270–1287. doi:10.1002/jsfa.10767
8. Klink MJ, Laloo N, Leudjo Taka A, Pakade VE, Monapathi ME, Modise JS. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Zinc Oxide Nanoparticles against Selected Waterborne Bacterial and Yeast Pathogens. *Molecules*. 2022 May 31;27(11):3532. doi: 10.3390/molecules27113532. PMID: 35684468; PMCID: PMC9182006.

9. Kowalska-Krochmal, B., & Dudek-Wicher, R. (2021). The Minimum Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens* (Basel, Switzerland), 10(2), 165. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>
10. Li Y, Liao C, Tjong SC. Recent Advances in Zinc Oxide Nanostructures with Antimicrobial Activities. *Int J Mol Sci.* 2020 Nov 22;21(22):8836. doi: 10.3390/ijms21228836. PMID: 33266476; PMCID: PMC7700383.
11. López T, Álvarez M, González RD, Uddin MJ, Bustos J, Arroyo S, Sánchez A. 2011. Synthesis, characterization and in vitro cytotoxicity of Pt-TiO₂ nanoparticles. *Adsorption.* 17:573-581.
12. Malekkhaiat Häffner, S. y Malmsten, M. (2017). Interacciones de membrana y efectos antimicrobianos de nanopartículas inorgánicas. *Avances en ciencia coloidal e interfacial,* 248, 105–128. doi:10.1016/j.cis.2017.07.029
13. Montero H, Pariona N, Mtz-Enríquez A, Carrión G, Paraguay-Delgado F, Rosas-Saito G. (2019). Aqueous-phase synthesis of nanoparticles of copper/copper oxides and their antifungal effect against *Fusarium oxysporum*. *Journal of Hazardous.* <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.12085>
14. Muhamath B, Mubarak A, Rishikesan S. 2020. Synthesis, Characterization and Evaluation of Antimicrobial, Antioxidant & Anticancer Activities of Copper Doped Zinc Oxide Nanoparticles. *Acta Chimica Slovenica.* v. 67, n. 1, p. 235-245
15. Murali, M., Kalegowda, N., Gowtham, H. G., Ansari, M. A., Alomary, M. N., Alghamdi, S., Shilpa, N., Singh, S. B., Thriveni, M. C., Aiyaz, M., Angaswamy, N., Lakshmidivi, N., Adil, S. F., Hatshan, M. R., & Amruthesh, K. N. (2021). Plant-Mediated Zinc Oxide Nanoparticles: Advances in the New Millennium towards Understanding Their Therapeutic Role in Biomedical Applications. *Pharmaceutics,* 13(10), 1662. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13101662>
16. Nordin N, Kanagesan S, Zamberi NR, Yeap SK, Abu N, Tamilselvan S, Hashim M, Alitheen NB. 2017. Characterisation of sol-gel method synthesised MgZnFe₂O₄ nanoparticles and its cytotoxic effects on breast cancer cell line, MDA MB-231 in vitro. *IET Nanobiotechnol.* 11(3):343-348.
17. Patil, M. P., Kim, J.-O., Seo, Y. B., Kang, M., & Kim, G.-D. 2021. Biogenic Synthesis of Metallic Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. *Journal of Life Science,* 31(9), 862–872. <https://doi.org/10.5352/JLS.2021.31.9.862>
18. Pérez-Alvarez M, Cadenas-Pliego G, Pérez-Camacho O, Comparán-Padilla VE, Cabello-Alvarado CJ, Saucedo-Salazar E. Green Synthesis of Copper Nanoparticles Using Cotton. *Polymers* (Basel). 2021 Jun 8;13(12):1906. doi: 10.3390/polym13121906. PMID: 34201135; PMCID: PMC8228873.
19. Pirozzi D, Fanelli E, Aronne A, Pernice P, Mingione A. 2009. Lipase entrapment in a zirconia matrix: Sol-gel synthesis and catalytic properties. *J*

20. Ramesh M, Anbuvaran M, & Viruthagiri G. Green synthesis of ZnO nanoparticles using *Solanum nigrum* leaf extract and their antibacterial activity. (2015). *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 864–870. doi:10.1016/j.saa.2014.09.105
21. Riduan, S. N., & Zhang, Y. (2021). Recent Advances of Zinc-based Antimicrobial Materials. *Chemistry – An Asian Journal*. doi:10.1002/asia.202100656
22. Sharma H, Kumar K, Choudhary C, Mishra PK, Vaidya B. 2016. Development and characterization of metal oxide nanoparticles for the delivery of anticancer drug. *Artif Cells Nanomed Biotechnol*. 44(2):672-9
23. Soleymani, J. 2017. Materials and methods of signal enhancement for spectroscopic whole blood analysis: Novel research overview. *TrAC - Trends Anal Chem*. 81(1):122-142***
24. Szabo R, Bodolea C, Mocan T. 2021. Iron, Copper, and Zinc Homeostasis: Physiology, Physiopathology, and Nanomediated Applications. *Nanomaterials (Basel)*.11(11):2958.
25. Umar H, Kavaz D, Rizaner N. Biosynthesis of zinc oxide nanoparticles using *Albizia lebbek* stem bark, and evaluation of its antimicrobial, antioxidant, and cytotoxic activities on human breast cancer cell lines. *Int J Nanomedicine*. 2018 Dec 20;14:87-100. doi: 10.2147/IJN.S186888. PMID: 30587987; PMCID: PMC6304255.
26. Vijayakumar, S., Vaseeharan, B., Malaikozhundan, B., & Shobiya, M. (2016). *Laurus nobilis* leaf extract mediated green synthesis of ZnO nanoparticles: Characterization and biomedical applications. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 84, 1213–1222. doi:10.1016/j.biopha.2016.10.038
27. Vinardell MP, Mitjans M. 2015. Antitumor Activities of Metal Oxide Nanoparticles. *Nanomaterials (Basel)*. Jun 9;5(2):1004-1021
28. Vodyanoy V. 202. The Role of Endogenous Metal Nanoparticles in Biological Systems. *Biomolecules*.11(11):1574.
29. Wang Y, Yang F, Zhang HX, Zi XY, Pan XH, Chen F, Luo WD, Li JX, Zhu HY, Hu YP. 2013. Cuprous oxide nanoparticles inhibit the growth and metastasis of melanoma by targeting mitochondria.. *Cell Death Dis*, 4(8), doi: 10.1038/cddis.2013.314.
30. Ye, Q., Chen, W., Huang, H., Tang, Y., Wang, W., Meng, F., Zheng, Y. (2020). Iron and zinc ions, potent weapons against multidrug-resistant bacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*. doi:10.1007/s00253-020-10600-4
31. Zadeh FA, Bokov DO, Salahdin OD, Abdelbasset WK, Jawad MA, Kadhim MM, Qasim MT, Kzar HH, Al-Gazally ME, Mustafa YF, Khatami M. 2022. Cytotoxicity evaluation of environmentally friendly synthesis Copper/Zinc bimetallic nanoparticles on MCF-7 cancer cells. *Rend Lincei Sci Fis Nat*. 33(2):441-447

CAPÍTULO II DESCRIPCIÓN DE LA COMUNIDAD DONDE SE HIZO LA INVESTIGACIÓN

2.1 Datos históricos

Creación de la Universidad Autónoma Metropolitana

La Universidad Autónoma Metropolitana (UAM) es una prestigiosa universidad mexicana, nacional, autónoma y pública creada a fines de 1974 en el Área Metropolitana de la Ciudad de México. Actualmente está compuesta por cinco Unidades Académicas², pero comenzó sus actividades con tres de ellas: Azcapotzalco, Iztapalapa y Xochimilco, en 2005 fue creada la Unidad Cuajimalpa y en 2009 la Unidad Lerma.

En los inicios de 1970 México vivía un ascendente ciclo socioeconómico que hacía esperar un incremento de la demanda de estudiantes y de profesionales y en el Área Metropolitana solo existía la UNAM y en el Instituto Politécnico Nacional (IPN) como instituciones públicas. La Ley para la creación de la UAM entró en vigor el 1° de enero de 1974. Nació como una institución descentralizada del Estado, autónoma, con personalidad jurídica y patrimonio propio. El dictamen de la comisión del Senado, aparte de dotar a la nueva universidad con personalidad jurídica y patrimonio propio, la consideró como un centro coordinador de entidades desconcentradas con estructuras que facilitarían el cumplimiento de sus objetivos:

- a) Impartir estudios de licenciatura, maestría y doctorado, así como cursos de actualización y especialización.
- b) Promover la educación extramuros.
- c) Organizar y desarrollar actividades de investigación científica y humanística.
- d) Preservar y difundir la cultura.

El 18 de junio la Junta Directiva nombra al Dr. Villarreal como Rector de la Unidad para el periodo 1974-1978. El Dr. Ramón Villarreal Pérez le envía al Arq. Pedro Ramírez Vázquez (primer Rector General) el *Anteproyecto para establecer la Unidad Universitaria del sur de la Universidad Autónoma Metropolitana*. El 1ro de julio, toma de posesión del Dr. Villarreal. Para el 11 de noviembre La Unidad Xochimilco inicia sus actividades.



2.2 Geografía local

La UAM xochimilco se encuentra ubicada en Calzada del Hueso 1100 Colonia Villa Quietud, CP 04960 México, D.F.

CAPÍTULO III DESCRIPCIÓN DEL CENTRO DE TRABAJO, INFRAESTRUCTURA, RECURSOS FÍSICOS Y HUMANOS.

3.1 Infraestructura

La Universidad Autónoma Metropolitana unidad Xochimilco actualmente cuenta con 212548 m² de superficie, cuenta con múltiples edificios, aulas y laboratorios para el desarrollo de la comunidad universitaria.

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de microbiología y biología molecular de dicha institución, siendo liderada por la Dra Aida Hamdan Partida y el Dr Jaime Amadeo Bustos Martinez, jefes del laboratorio.

El laboratorio cuenta con amplio instrumental para el desarrollo de proyectos de investigación, ya que este es reconocido a nivel nacional por realizar investigaciones de gran valor e impacto para la comunidad científica.

En el laboratorio se contaba con mesa de laboratorio con tomas de gas y agua, varias estufas incubadoras, refrigeradores para el almacenamiento de material esteril y sucio, campana de gases, espectrofotómetro, densimat, entre otros múltiples materiales que fueron de gran utilidad para el desarrollo de esta investigación.

3.2 Recursos humanos

Dentro del laboratorio se contó principalmente con el asesoramiento de la Dra Aida Hamdan Partida y el Dr Jaime Amadeo Bustos Martinez. También se recibió ayuda y asesoramiento por parte del resto de investigadores del laboratorio que se encontraban realizando su doctorado, como el Dr. Samuel Gonzalez Garcia y la Dra. Veronica Gasga, la Mtra. Suzette Juárez Contreras y de igual forma la ayuda de la Laboratorista Norma Paredes, quien se encargaba de realizar los insumos necesarios para el desarrollo de todas las investigaciones del laboratorio.

CAPÍTULO IV ACTIVIDADES REALIZADAS EN EL SERVICIO SOCIAL

4.1 Docencia

Durante el servicio social una de las principales actividades realizadas fue la impartición de clases de farmacología a los alumnos del tercer trimestre de la carrera de medicina en colaboración con mi compañera del servicio social.

Las principales actividades realizadas eran coordinar clases, vigilar, acompañar durante actividades prácticas e impartir clases de temas selectos en la materia.

Buscamos desarrollar estrategias pedagógicas para hacer del aprendizaje de esta materia algo más fácil, dinámico y significativo para los alumnos.

Para el desarrollo de las prácticas de laboratorio nos basamos en las prácticas ya desarrolladas por la doctora titular de esta UEA, la Dra. Aida Hamdan Partida. Estas consisten en reforzar de manera práctica y dinámica el conocimiento adquirido previamente

Algunas dinámicas utilizadas para el reforzamiento de conocimiento adquirido era la aplicación de “Mini exámenes” los cuales eran basados en temas de la materia y algunos sobre conocimientos ya adquiridos previamente en otros trimestres. Este tipo de herramientas nos fue de utilidad, ya que por medio de ello pudimos explorar las áreas de oportunidad para desarrollar con el grupo.

Otro recurso utilizado fue la presentación y resolución de casos clínicos en grupo, ya que por medio de ellos lo aprendido de estos el conocimiento teórico cobraba sentido y tomaba más significado para el desarrollo clínico.

Como proyecto personal desarrollamos la evaluación de un producto final llamado “Flashcards de farmacología” el cual consiste en un compendio de tarjetas de medicamentos con toda la información necesaria y resumida que puede ser de utilidad para memorizar, recordar y repasar de una manera más simple, rápida y sencilla algunos grupos de medicamentos; además de que se visualiza que este producto final sirva a los alumnos para su posterior práctica clínica.

También se realizaban evaluaciones finales, por medio de examen escrito, el cual contenía todos los temas abarcados durante el curso, y algunos tópicos sobre los medicamentos más utilizados. Este fue diseñado para incluir preguntas abiertas, de opción múltiple, verdadero y falso, relación de columnas y completar actividades.

Además de impartir clases de farmacología, también brindamos asesorías y clases a alumnos de otros trimestres que lo solicitaban. Un ejemplo de esto fue la impartición de un seminario sobre historia clínica impartido a los alumnos de cuarto trimestre, en el cual se abarcó el desarrollo de una historia clínica, sus partes, como realizar el interrogatorio, y se vieron algunas clases de semiología por aparatos y sistemas.

4.2 Investigación

Uno de los objetivos principales del servicio social era el desarrollo de un trabajo de investigación. Este trabajo fue desarrollado, coordinado, guiado y dirigido por la Dra Aida Hamdan Partida en el laboratorio de microbiología. El tema asignado fue “Síntesis de nanopartículas metálicas con actividad antimicrobiana y su efecto citotóxico en líneas celulares”

Para su desarrollo se llevó a cabo una revisión bibliográfica exhaustiva para determinar cómo se llevaría a cabo y cuál sería la metodología a seguir.

Se realizó el protocolo ya descrito previamente y se llevaron a cabo los diferentes experimentos para poder obtener los resultados ya presentados.

Para poder realizar dicha investigación, la doctora nos instruyó en el desarrollo de la misma, ya que nos brindó herramientas como artículos y fuentes de información para obtener la información necesaria, además de instruirnos sobre cómo realizar algunos procedimientos en el laboratorio.

4.3 Acreditación de la carrera de medicina.

El objetivo de COMAEM consiste en evaluar los programas educativos nacionales e internacionales de la formación médica por medio de un conjunto de lineamientos académicos, técnicos y administrativos para impulsar la calidad de la educación médica a través de la acreditación así como, promover, la evaluación institucional continua de escuelas y facultades públicas y particulares para consolidar su excelencia educativa.

La Licenciatura en medicina en la UAM Xochimilco se rige bajo los lineamientos estipulados por el Consejo Mexicano para la Acreditación de la Educación Médica A. C. (COMAEM) dicho consejo se encarga de evaluar los programas educativos nacionales e internacionales de la formación médica por medio de un conjunto de lineamientos académicos, técnicos y administrativos para impulsar la calidad de la educación médica a través de la acreditación así como, promover, la evaluación institucional continua de escuelas y facultades públicas y particulares para consolidar su excelencia educativa. La UAM Xochimilco, al ser regida por este organismo inició el proceso de reacreditación a mediados del año 2021 dado que la vigencia de la certificación anterior fue hasta el 27 de junio del 2022.

Es por eso que a mi y a varios compañeros que de igual manera se encontraban realizando su servicio social se nos fue asignada la comisión de colaborar en la elaboración y desarrollo de algunos apartados para la acreditación.

Específicamente desarrollamos una pequeña base de datos sobre el personal académico de la licenciatura. Esta consistió en en la búsqueda, resumen y acondicionamiento de los curriculums vitae de toda la planta docente de la licenciatura, además de acondicionar en la nube un registro y resguardo de toda la documentación que avala a los profesore, como sus títulos universitarios, de maestría, doctorado, entre otros. También se buscó con el personal administrativo documentación que nos fuera de utilidad para cubrir los requisitos que la COMAEM impone para la acreditación.

4.4 Organización y desarrollo de congresos

En septiembre de 2022 se dio a conocer la UAM Xochimilco como sede del XXVII Congreso Estudiantil de Farmacología y X Congreso Estudiantil de Ciencias sin Fronteras en colaboración con la Escuela Superior de medicina y homeopatía del Instituto Politécnico Nacional.

Las actividades que se llevaron a cabo durante este congreso fue la creación y diseño de materiales como carteles, programas, elaboración de constancias y flyers publicitarios para dicho evento, además de colaboración en cuestiones de logística como la coordinación de programa y ponentes.

Además durante el congreso se nos permitió ser parte del comité evaluador de carteles y trabajos de investigación que fueron expuestos por los estudiantes de las distintas escuelas de medicina que participaron en dicho evento.

CAPÍTULO V CONCLUSIONES DEL PASANTE SOBRE SU SERVICIO SOCIAL

5.1 En relación a su formación como personal

Durante el último año, he experimentado un gran crecimiento personal y profesional. He aprendido mucho acerca de mí misma y he adquirido nuevas habilidades y perspectivas que me han ayudado a enfrentar los desafíos de la vida con más confianza y determinación.

En primer lugar, he aprendido a tener más paciencia y a ser más comprensivo con los demás. He descubierto la importancia del desempeño y desarrollo del trabajo en equipo, así como a entender diferentes puntos de vista.

Realmente es muy satisfactorio analizar a la pequeña alumna de primer trimestre que entró en 2016 toda temerosa sin saber casi nada, pero con mucha curiosidad y ganas de aprender; y ver ahora en 2023 a esa misma alumna que ya es médico pasante, es muy gratificante para mí, me demuestra que realmente puedo cumplir y hacer cualquier meta que me proponga, pues lo que hace años parecía un sueño hoy es básicamente una realidad. También he aprendido a ser más resiliente y a adaptarme a situaciones difíciles con calma y determinación. En lugar de permitir que los problemas me abrumen, he aprendido a enfocarme en soluciones prácticas y a buscar el apoyo de los demás cuando sea necesario. Esto ha aumentado mi confianza en mí misma en diferentes aspectos, tanto personales como académicos y profesionales.

En general, este último año ha sido una experiencia de aprendizaje invaluable que ha mejorado mi perspectiva y enriquecido mi vida de muchas maneras, principalmente en lo profesional y académico. Estoy emocionada por las nuevas experiencias y desafíos que están por venir, y estoy segura de que estoy mejor preparada para enfrentarlos gracias a todo lo que he aprendido este último año.

5.2 En relación a su formación profesional

Definitivamente mi servicio social ha sido una experiencia enriquecedora para mi desarrollo profesional, pues me brindó demasiadas herramientas para aplicar posteriormente en el campo laboral. Estoy agradecida por haber tenido la oportunidad de realizar mi servicio social en el área de investigación de la UAM, ya que desde mis primeros trimestres cursados en la UAM, siempre me llamó la atención.

El realizar varias actividades durante mi servicio social amplió mis horizontes sobre el área a laborar, ya que al permitirme desarrollarme como docente de grupo sembró en mí la inquietud de seguir aprendiendo para poder enseñar a los demás, pues de alguna forma también me obligó a repasar varios temas de distintas áreas de la medicina para poder impartir adecuadamente las clases, además de ayudarle a mis alumnos resolver dudas.

De igual forma dejó en mí el amplio gusto por la investigación, además de que me brindó muy buenas herramientas para poder seguir desarrollándome en este ámbito, pues no solo adquirí habilidades para el desarrollo teórico de la investigación, sino que me ayudó a desarrollar habilidades prácticas sobre técnicas de laboratorio para el desarrollo experimental de algunas investigaciones, y también dejó en mí el interés por seguir aprendiendo más sobre la investigación.

Además me enseñó que como médico es muy importante desarrollarse en estos ámbitos, no solo en lo clínico, pues cada uno depende del otro y el saber desarrollarte adecuadamente en todos los ámbitos te llevará a ser un mejor personal de salud, brindar una mayor calidad de atención, y retribuir a la sociedad científica y general algo de lo que se nos ha brindado.

También pude darme cuenta el campo de la medicina se basa en una brecha interminable de conocimiento, por lo cual la actualización continua es indispensable para convertirse en personal de salud de calidad, además de que no siempre se tiene conocimiento de todo, por o tanto la educación continua es básica para nuestro crecimiento y desarrollo profesional.

Como resumen este año me sirvió para adquirir más conocimiento, reflejar mis áreas de oportunidad, y descubrir el tipo de personal de salud que quiero ser y en el que me quiero convertir.

5.3 En relación a su aportación a la comunidad

Como aportaciones a la comunidad considero que la más importante fue el impartir clases y talleres a los alumnos de la carrera de medicina, ya que el conocimiento siempre debe ser compartido y divulgado para que este se vuelva significativo. Además de que vi reflejado el esfuerzo de la impartición de clases, tanto en mis alumnos como en mí, pues me ayudó a reforzar conocimientos previos, investigar más y documentarme más para poder resolver dudas a mis alumnos, y como consecuencia ellos obtuvieron un mejor rendimiento académico. Otra forma en la cual veía reflejado mi esfuerzo, que considero es la más importante, era cuando mis alumnos me agradecían por resolver sus dudas, brindarles información y proporcionarles material para su mejor desarrollo académico.

Considero que otra pequeña aportación fue la creación y desarrollo de mi investigación que pues si bien no es muy significativa, creo que es demasiado interesante y puede ser de utilidad para realizar una investigación más a fondo, ya que es un tema de investigación demasiado interesante, innovador y con demasiado potencial para el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas, diagnósticas.

5.4 En relación a su institución educativa

En relación a la institución educativa, podría decir que la UAM es definitivamente la mejor casa de estudios, jamás me arrepentiré de haber elegido estudiar en tan majestuosa universidad. Con la UAM siempre estaré agradecida y en deuda por haberme brindado tanto, por la educación de calidad y por haberme permitido crecer y desarrollarme académicamente en sus instalaciones.

El cursar la licenciatura de medicina en la UAM sin duda fue la mejor experiencia de mi vida, ya que me permitió crecer y desarrollarme como médico, como persona y como ser humano, pues debido a su ubicación tuve que migrar a la ciudad.

Si bien algunas veces no me fue tan bien y tanto la carrera como la universidad tienen algunas deficiencias en cuestión de infraestructura y planes académicos, siempre procure aprovechar de la mejor manera los recursos ofrecidos por parte de la UAM.

El cursar mi licenciatura en una de las mejores universidades públicas del país también me llena de orgullo y me hace estar en deuda con ella, pero creo firmemente que la mejor manera de gratificar a mi institución que me brindo y dio tanto es siendo desarrollarme de la mejor manera en mi ámbito

laboral, pues por medio de ello puedo evidenciar la gran calidad de educación que ofrece mi gran casa de estudios.