



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**Evaluación de la actividad antimicrobiana de nanocomposites de quitosano  
funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc**

**SANCHEZ FLORES JONATHAN ELIAN  
BIOQUIMICO FARMACEUTICO**

**MACHALA  
2023**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**Evaluación de la actividad antimicrobiana de nanocomposites de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc**

**SANCHEZ FLORES JONATHAN ELIAN  
BIOQUIMICO FARMACEUTICO**

**MACHALA  
2023**



**UTMACH**

**FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y DE LA SALUD**

**CARRERA DE BIOQUÍMICA Y FARMACIA**

**TRABAJOS EXPERIMENTALES**

**Evaluación de la actividad antimicrobiana de nanocomposites de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc**

**SANCHEZ FLORES JONATHAN ELIAN  
BIOQUIMICO FARMACEUTICO**

**VALVERDE DURAN SERGIO ANDRES**

**MACHALA  
2023**

# EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANOCOMPOSITES DE QUITOSANO FUNCIONALIZADOS CON NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC

*por Jonathan Elian Sanchez Flores*

---

**Fecha de entrega:** 29-feb-2024 03:56p.m. (UTC-0500)

**Identificador de la entrega:** 2308229247

**Nombre del archivo:** DOCUMENTO\_TURNITIN.pdf (690.54K)

**Total de palabras:** 9190

**Total de caracteres:** 50627

# EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIMICROBIANA DE NANOCOMPOSITES DE QUITOSANO FUNCIONALIZADOS CON NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC

---

INFORME DE ORIGINALIDAD

6%

INDICE DE SIMILITUD

5%

FUENTES DE INTERNET PUBLICACIONES

2%

TRABAJOS  
DEL ESTUDIANTE

1%

---

ENCONTRAR COINCIDENCIAS CON TODAS LAS FUENTES (SOLO SE IMPRIMIRÁ LA FUENTE SELECCIONADA)

---

< 1%

★ Lacoma, Alicia, Universitat Autònoma de Barcelona. Departament de Genètica i de Microbiologia. "Utilitat de la determinació sistèmica de nous biomarcadors en el maneig de les infeccions respiratòries", [Barcelona] : Universitat Autònoma de Barcelona,, 2011

Fuente de Internet

---

---

Excluir citas

Apagado

Excluir coincidencias Apagado

Excluir bibliografía

Apagado

## CLÁUSULA DE CESIÓN DE DERECHO DE PUBLICACIÓN EN EL REPOSITORIO DIGITAL INSTITUCIONAL

El que suscribe, SANCHEZ FLORES JONATHAN ELIAN, en calidad de autor del siguiente trabajo escrito titulado Evaluación de la actividad antimicrobiana de nanocomposites de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc, otorga a la Universidad Técnica de Machala, de forma gratuita y no exclusiva, los derechos de reproducción, distribución y comunicación pública de la obra, que constituye un trabajo de autoría propia, sobre la cual tiene potestad para otorgar los derechos contenidos en esta licencia.

El autor declara que el contenido que se publicará es de carácter académico y se enmarca en las disposiciones definidas por la Universidad Técnica de Machala.

Se autoriza a transformar la obra, únicamente cuando sea necesario, y a realizar las adaptaciones pertinentes para permitir su preservación, distribución y publicación en el Repositorio Digital Institucional de la Universidad Técnica de Machala.

El autor como garante de la autoría de la obra y en relación a la misma, declara que la universidad se encuentra libre de todo tipo de responsabilidad sobre el contenido de la obra y que asume la responsabilidad frente a cualquier reclamo o demanda por parte de terceros de manera exclusiva.

Aceptando esta licencia, se cede a la Universidad Técnica de Machala el derecho exclusivo de archivar, reproducir, convertir, comunicar y/o distribuir la obra mundialmente en formato electrónico y digital a través de su Repositorio Digital Institucional, siempre y cuando no se lo haga para obtener beneficio económico.

SANCHEZ FLORES JONATHAN ELIAN

0706864840

## DEDICATORIA

Este trabajo de titulación principalmente le dedico a Dios, por ser el inspirador y darme la fuerza necesaria para salir adelante y continuar con este largo y duro proceso de obtener uno de los anhelos más deseados y esperados, a mis padres y a mis hermanos por estar siempre ahí para mí en los buenos y malos momentos, su amor y apoyo incondicional por su trabajo, dedicación y sacrificio que han hecho por mí, para lograr convertirme en una persona preparada, a mi tío y a mis abuelitos siempre están presentes apoyándome diariamente aconsejándome y apoyándome, agradezco infinitamente a cada una de mis amigas que han sido compañeras en este proceso largo que me han acompañándome con el apoyo moral a lo largo de este camino y a todas las personas que de una u otra manera estuvieron durante este proceso y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos, en especial al Dr. Sergio Valverde que de una u otra manera estaba ahí pendiente de que culmináramos el trabajo de titulación con éxito.

Mayra Aracely Sánchez Cuenca

## DEDICATORIA

Este trabajo de titulación principalmente le dedico a Dios, por ser el inspirador y darme la fuerza necesaria para salir adelante y continuar con este largo y duro proceso de obtener uno de los anhelos más deseados y esperados, a mis padres por su amor e infinito apoyo incondicional, por su trabajo, dedicación y sacrificio que han hecho por mí, para lograr convertirme en una persona preparada, a mi abuelito que está en el cielo que a pesar de no estar presente sé que desde arriba me cuida y es mi guía, agradezco infinitamente a cada una de las personas que han estado acompañándome con el apoyo moral a lo largo de este camino y a todas las personas que de una u otra manera estuvieron durante este proceso y han hecho que el trabajo se realice con éxito en especial a aquellos que nos abrieron las puertas y compartieron sus conocimientos, en especial al Dr. Sergio Valverde que de una o otra manera estaba ahí pendiente de que culmináramos el trabajo de mejor manera.

Sánchez Flores Jonathan Elián

## **AGRADECIMIENTO**

A Dios porque sin en él, no tendría nada, por permitirme cumplir un sueño más, por siempre poner en mi camino a gente maravillosa y dejarme vivir momentos inolvidables. A mis padres, por todo su sacrificio, sus enseñanzas, su amor, su cuidado y el apoyo que me brindaron, mis padres y mi tío que siempre están apoyándome moralmente, no tengo palabras suficientes para agradecerles. A mis hermanos por siempre sacarme una carcajada en los momentos más inesperados, los quiero demasiado. A mis amigas que siempre están ahí apoyándome pase lo pase. Se agradece a Dr. Sergio Valverde, por transmitirme su conocimiento y brindarme siempre su tiempo, paciencia, apoyo y ayuda a lo largo de la culminación del proyecto de titulación.

Mayra Aracely Sánchez Cuenca

## **AGRADECIMIENTO**

En primer lugar, quiero agradecer a Dios por ser el motor principal para seguir adelante y darme las fuerzas necesarias para continuar en este proceso, a mis padres por su amor y sacrificio, que gracias a ellos me han permitido lograr cada una de mis metas y objetivos planteados, así mismo agradezco a mis amigos que nunca dudaron de mí y por ser un apoyo incondicional y estar siempre con un apoyo moral y siempre desearme lo mejor, a los profesionales que estuvieron durante este proceso y me impartieron todo su conocimiento para poder culminar con éxito este trabajo de tesis.

Sánchez Flores Jonathan Elián

## RESUMEN

La presente investigación tuvo como objetivo sintetizar nanocomposites de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc mediante el método de sol-gel para la evaluación de su actividad antimicrobiana. En la primera etapa se sintetizó el óxido de zinc a través del método de coprecipitación, para poder modificar a una matriz de quitosano permitiendo obtener el nanocomposite. En la siguiente etapa se evaluó la actividad antimicrobiana del nanocomposite funcionalizado permitiendo determinar la concentración inhibitoria del microorganismo de *E. coli*, el cual originó halos de inhibición al trabajar en tres concentraciones diferentes, siendo la biopelícula con concentración de 0.030g de ZnO la que demostró mayor halo de inhibición. Los materiales se caracterizaron con DRX y FTIR, permitiendo la obtención de espectros y difractogramas.

**Palabras claves:** Quitosano, Actividad antimicrobiana, Óxido de zinc, Nanocomposito, *E. coli*.

## SUMMARY

The present research aimed to synthesize chitosan nanocomposites functionalized with zinc oxide nanoparticles using the sol-gel method for the evaluation of their antimicrobial activity. In the first stage, zinc oxide was synthesized through the coprecipitation method, in order to modify a chitosan matrix, allowing the nanocomposite to be obtained. In the next stage, the antimicrobial activity of the functionalized nanocomposite was evaluated, allowing the inhibitory concentration of the *E. coli* microorganism to be determined, which caused inhibition halos when working at three different concentrations, with the biofilm with a concentration of 0.030g of ZnO being the one that demonstrated greater halo of inhibition. The materials were characterized with XRD and FTIR, allowing the obtaining of spectra and diffractograms.

**Keywords:** Chitosan, Antimicrobial activity, Zinc oxide, Nanocomposite, *E. coli*.

## ÍNDICE

RESUMEN.....	4
SUMMARY .....	5
INTRODUCCIÓN .....	11
OBJETIVO .....	14
Objetivo General .....	14
Objetivos Específicos.....	14
<b>1. MARCO TEÓRICO</b> .....	15
<b>1.1 Antecedentes</b> .....	15
<b>1.2 Óxido de zinc</b> .....	16
1.2.1 <i>Propiedades Antimicrobiana de nanopartículas de óxido de zinc</i> .....	16
<b>1.3 Quitosano</b> .....	17
1.3.1 <i>Quitosano como agente antimicrobiano</i> .....	18
1.3.2 <i>Modificaciones del quitosano</i> .....	19
<b>1.4 Evaluación antimicrobiana del Q-ZnO</b> .....	20
<b>1.5 Resistencia a la biopelícula</b> .....	20
<b>1.6 Propiedades antimicrobianas del nanocomposites</b> .....	21
<b>1.7 Métodos de Síntesis</b> .....	22
1.7.1 <i>Método de preparación sol gel</i> .....	22
1.7.2 <i>Método de coprecipitación</i> .....	23
<b>1.8 Técnicas instrumentales</b> .....	24
1.8.1 <i>Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR)</i> .....	24
1.8.2 <i>Difracción de Rayos-X (DRX)</i> .....	25
<b>2. METODOLOGÍA</b> .....	25
<b>2.1 Diseño de la Investigación</b> .....	26
<b>2.2 Técnicas de recolección de datos</b> .....	26
<b>2.3 Materiales y Métodos</b> .....	26
2.3.1 <i>Síntesis de nanopartículas</i> .....	27
2.3.2 <i>Preparación de nanocomposites de quitosano funcionalizados con NPs-ZnO</i> .....	27
2.3.3 <i>Cultivos microbiológicos</i> .....	27
2.3.4 <i>Método Microbiológico</i> .....	28
2.3.5 <i>Método del antibiograma disco-placa</i> .....	29
<b>2.4 Caracterización de los materiales</b> .....	30
2.4.1 <i>Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier</i> .....	30
2.4.2 <i>Difracción de rayos X</i> .....	30
<b>2.5 Análisis de datos</b> .....	31

<b>2.6 Síntesis y caracterización de nanopartículas</b> .....	32
2.6.1 <i>Síntesis de nanopartículas de óxido zinc</i> .....	32
2.6.2 <i>Síntesis de biopelículas de óxido de zinc y quitosano</i> .....	33
<b>2.7 Evaluación de la actividad antimicrobiana de las biopelículas de quitosano modificadas con nanopartículas de Óxido de Zinc</b> .....	<b>34</b>
<b>2.8 Caracterización de las nanopartículas</b> .....	38
2.8.1 <i>Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier</i> .....	39
2.8.2 <i>Difracción de Rayos-X (DRX)</i> .....	46
<b>3. CONCLUSIONES</b> .....	49
<b>4. RECOMENDACIONES</b> .....	49
<b>5. BIBLIOGRAFÍA</b> .....	50
<b>Anexos</b> .....	60

### SIMBOLOGÍA UTILIZADA

SÍMBOLO	SIGNIFICADO	UNIDADES
<b>NPs-ZnO</b>	Nanopartículas de óxido de zinc	
<b>NPs-ZnO-Q</b>	Nanopartículas de Quitosano funcionalizados con Nanopartículas de óxido de zinc	
<b><i>E. coli</i></b>	Escherichia coli	
<b>A</b>	Absorbancia	
<b>T</b>	Transmitancia	
<b>°C</b>	Grados Celsius	
<b>FTIR</b>	Espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier	
<b>DRX</b>	Difracción de Rayos-X	
<b>g</b>	Gramos	g
<b>ZnO</b>	Óxido de zinc	
<b>NaOH</b>	hidróxido de sodio	
<b>(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub></b>	nitrato de zinc	
<b>M</b>	moles	mol
<b>v/v</b>	Volumen / volumen	v/v
<b>cm</b>	Centímetros	cm
<b>min</b>	Minutos	min

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1: Estructura del Quitosano .....	21
Figura 2: Esquema del método Sol-gel .....	26
Figura 3: Método Sol-gel en la elaboración de nanopartículas de ZnO y quitosano .....	36
Figura 4: Evaluación de la Actividad Antimicrobiana .....	37
Figura 5: Prueba estadística de dispersión .....	39
Figura 6: Espectro de Quitosano .....	42
Figura 7: Espectroscopia infrarroja de NPs ZnO .....	44
Figura 8: Espectro de nanocomposite de Quitosano con 0.030 g de NPs ZnO .....	45
Figura 9: Espectro de nanocomposite de Quitosano con 0.060 g de NPs ZnO .....	46
Figura 10: Espectro de nanocomposite de Quitosano con 0.120 g de NPs ZnO .....	47
Figura 11: Difracción de Rayos X de NPs ZnO .....	51
Figura 12: Antibiogramas de biopelículas NPs ZnO frente a E. coli. ....	65
Figura 13: Preparación del Agar .....	66
Figura 14: Siembra de nanopartículas en tres concentraciones .....	66
Figura 15: Medición del halo de Inhibición de 0,120 gr .....	66
Figura 16: Difracción de Rayos X de NPs ZnO .....	67
Figura 17: Difractograma de nanopartículas de quitosano funcionalizado con NPs ZnO de 0.030 g .....	68
Figura 18: Difractograma de nanopartículas de quitosano funcionalizado con NPs ZnO de 0.060 g .....	69
Figura 19: Difractograma de nanopartículas de quitosano funcionalizado con NPs ZnO de	

0.120 g .....	69
Figura 20: Difractograma de NPs ZnO de Blanco. ....	70

**Índice de tabla**

Tabla 1: Concentraciones de los halos de 0,030g, 0,060g y 0,120g .....	65
Tabla 2: Tamaño de los cristalitos de ZnO .....	65

## INTRODUCCIÓN

El quitosano es un polímero natural derivado de la quitina, que se suele encontrar en el exoesqueleto de crustáceos. Posee propiedades antimicrobianas y se utiliza en una amplia gama de aplicaciones, en la agricultura, la industria alimentaria, la medicina y la industria cosmética (Khan et al., 2020).

Martínez-Trujillo & García-Rivero, (2020) señalan que el quitosano exhibe una destacada actividad antibacteriana al impedir el desarrollo de microorganismos, entre ellos *Escherichia coli*. Sus propiedades antimicrobianas se manifiestan de manera prominente en ambientes ácidos, donde puede eliminar el crecimiento de microorganismos al interactuar con las membranas celulares. (Martínez Trujillo & García-Rivero, 2020).

Otros microorganismos que presentan resistencia a la actividad antimicrobiana también se ven afectados por el quitosano. Esta propiedad se refleja tanto en la mejora de la cicatrización de heridas como en la conservación de verduras y alimentos. Los nanocompuestos de quitosano y óxido de zinc se emplean en la industria cosmética, biomédica y alimentaria (Martín Gil & Méndez Rojas, 2016).

El óxido de zinc, especialmente en forma de microestructuras o nanopartículas, ha demostrado una destacada actividad antimicrobiana. Se han desarrollado materiales antimicrobianos y envases bioactivos basados en el óxido de zinc, y se ha estudiado su actividad antibacteriana (Higiene ambiental, 2017).

Por otro lado, las nanopartículas de óxido de zinc se utilizan para inhibir y controlar el crecimiento microbiano. La actividad microbiana se refiere a las diversas funciones y procesos realizados por microorganismos, como bacterias, virus y levaduras, en su entorno (Ramírez-Benítez et al., 2019).

De acuerdo con varios autores, las nanopartículas de óxido de zinc (NP de ZnO) destacan como las más utilizadas debido a sus propiedades antimicrobianas, también cabe

mencionar que la actividad antimicrobiana de las NP de ZnO contrarrestan la resistencia bacteriana de cepas como la *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (Mendes et al., 2022, p. 1).

De acuerdo con diversos autores, las biopelículas antimicrobianas son películas delgadas y flexibles que contienen agentes que se utilizan para prevenir el crecimiento de microorganismos. Presentan diferentes aplicaciones como la conservación de alimentos y la protección de superficies, las cuales forman una barrera protectora que inhibe el crecimiento de microorganismos, como bacterias y hongos (González et al., 2017, p. 7).

Para potenciar la actividad antimicrobiana del quitosano se puede adicionar nanopartículas de óxido de zinc, que es un agente biocida efectivo contra bacterias, hongos y virus. El término "nanopelículas" se refiere a películas delgadas que tienen dimensiones a escala nanométrica, lo que significa que tienen espesores en el rango de nanómetros (un nanómetro es equivalente a mil millonésimas partes de un metro). Estas películas son utilizadas en diversas aplicaciones, especialmente en campos como la nanotecnología, la electrónica, la medicina y la ingeniería de materiales. (Ortega-Peña & Hernández-Zamora, 2019).

Las nanopelículas pueden estar compuestas por una variedad de materiales, como polímeros, metales, óxidos, y otros materiales nanocompuestos. Debido a su tamaño diminuto, las nanopelículas pueden tener propiedades únicas y ser aplicadas para mejorar diversas características, como la conductividad eléctrica, la resistencia mecánica, la capacidad de barrera, y la actividad biológica, dependiendo de su composición y aplicación específica. (Ortega-Peña & Hernández-Zamora, 2019).

La resistencia a los antimicrobianos es una gran amenaza que enfrenta la humanidad y la salud pública por el uso indebido y excesivo de los antibióticos según la (OMS). Existen microorganismos que son resistentes a los antibióticos. Estos microorganismos pueden

estar presentes en las personas, los animales, alimentos, plantas y en el medio ambiente (agua, aire y suelo) y propagarse de persona a persona y animales (Organización Mundial de Salud, 2021)

En la actualidad a nivel mundial las resistencias de los antimicrobianos se producen por bacterias, virus que cambian a lo largo del tiempo y las cuales dejan de responder a los medicamentos. (OMS, 2020) La OMS considera que la resistencia antimicrobiana es un dilema médico, ya que es una amenaza global y requiere control (Tusa-Torres Darwin et al., 2021).

La síntesis de nanocompuestos de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc a través del método de sol-gel fue un proceso innovador que presentó grandes oportunidades en el campo de la investigación antimicrobiana. La evaluación de la actividad antimicrobiana de estos materiales prometió contribuir al desarrollo de nuevas soluciones en la lucha contra microorganismos resistentes. Este estudio tuvo como objetivo principal la síntesis del nanocomposite de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc mediante el método de sol-gel para la evaluación de su actividad antimicrobiana.

## **OBJETIVO**

### **Objetivo General**

Sintetizar nanocomposites de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc mediante el método de sol-gel para la evaluación de su actividad antimicrobiana.

### **Objetivos Específicos**

- Obtener nanopartículas Óxido de Zinc por el método de coprecipitación para la obtención del nanocomposites.
- Sintetizar los nanocomposites de quitosano y nanopartículas Óxido de Zinc por el método de sol-gel.
- Evaluar la actividad antimicrobiana usando nanocomposites de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc.
- Caracterizar los materiales sintetizados mediante Espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR) y Difracción de Rayos-X (DRX).

## 1. MARCO TEÓRICO

### 1.1 Antecedentes

El quitosano es un heteropolisacárido que se encuentra en las paredes celulares de algunos hongos, en los caparazones de los crustáceos, y son polisacáridos catiónicos naturales considerados no tóxicos, que tienen una solubilidad y viscosidad que dependen de su peso molecular. El quitosano es un compuesto multifacético que destaca por sus propiedades antimicrobianas, biológicas, antifúngicas y antioxidantes. Su versatilidad se refleja en su uso en el tratamiento de aguas, la fabricación de cápsulas, el tratamiento antimicrobiano de alimentos y en aplicaciones dermatológicas (Saucedo-Plascencia et al., 2023).

El quitosano se adhiere a la membrana plasmática, también se puede acotar que el quitosano farmacéutico tiene biocompatibilidad y permite una liberación controlada de los fármacos, además de tener un efecto quelante (Emilia, 2019).

El óxido de zinc es un compuesto inorgánico de la fórmula ZnO ya que es un mineral que se encuentra fácilmente en la naturaleza, así mismo llama la atención de algunos investigadores en la forma de obtención. Es muy utilizado en la industria farmacéutica como alimenticia, considerando que posee propiedades protectoras y astringentes. Posee propiedades antimicrobianas, las cuales ayudan a inhibir el crecimiento y la propagación de microorganismos (Villagrán Ocádiz, 2018).

Desde la década de 1960, las películas de ZnO han sido objeto de amplia investigación y aplicación en diversos campos. Durante muchos años, el ZnO ha encontrado aplicación en áreas como la industria alimentaria, farmacéutica, cosmética, entre otras. Las nanopartículas de ZnO, al ser diminutas, presentan propiedades y características únicas relacionadas con su tamaño. Estas partículas se utilizan en diversas aplicaciones y destacan por su potencial antimicrobiano, que contribuye a inhibir el crecimiento de

microorganismos, favorecer la cicatrización y prevenir infecciones en heridas (Villagrán Ocádiz, 2018).

## **1.2 Óxido de zinc**

El óxido de zinc, un compuesto inorgánico, destaca en la actualidad por sus propiedades antibacterianas, lo que lo convierte en un candidato prometedor para diversas aplicaciones. Su estabilidad, robustez, resistencia al corte y larga vida útil lo posicionan como un material de gran interés, al igual que otros compuestos inorgánicos como  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{MgO}$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{CuO}$ , entre otros. En el ámbito de los semiconductores, el  $\text{ZnO}$  ha despertado considerable atención debido a sus múltiples aplicaciones potenciales, incluyendo su uso de fotocatalizador; debido a su excelente característica fotoeléctrica (gran absorción de la luz UV), celdas solares, sensores químicos; así como otras propiedades como la movilidad de electrones, facilidad de control morfológica, bajo costo de producción y abundante disponibilidad. El  $\text{ZnO}$  también muestra una propiedad antibacteriana efectiva y una superficie cargada positivamente (potencial zeta,  $\zeta$  aproximadamente de 20 mV) para la captura de bacterias. sin embargo, deben cumplirse diversos parámetros: estabilidad química y mecánica, alta relación superficie-volumen, fuerte carga superficial, robustez, durabilidad, reproducibilidad y seguridad (Contreras Zarazúa, 2020).

### *1.2.1 Propiedades Antimicrobiana de nanopartículas de óxido de zinc.*

Las nanopartículas de óxido de zinc ( $\text{ZnO}$ ) han demostrado tener una actividad antimicrobiana significativa contra una amplia gama de microorganismos, incluyendo bacterias, hongos y virus. Esta propiedad antimicrobiana se ha convertido en un área de investigación activa debido a la creciente preocupación por la resistencia a los antibióticos y la necesidad de encontrar alternativas efectivas para el control de las infecciones. De acuerdo con Vázquez Olmos (2018), "Las nanopartículas de  $\text{ZnO}$  actúan como agentes

antimicrobianos a través de diversos mecanismos, siendo el más importante la generación de especies reactivas de oxígeno” (Vázquez Olmos et al., 2018)

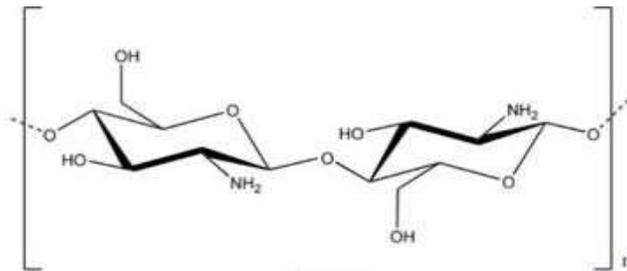
Las NP de ZnO se han utilizado ampliamente estudiado en diversos campos por sus propiedades antimicrobianas, sus aplicaciones con potencial médico, industria textil, para el tratamiento de agua, lo cual se ha utilizado como revestimientos de latas de alimentos. Además del uso en la industria médica, el envasado de productos cárnicos, medicamentos y cosméticos. Las propiedades físicas y químicas del ZnO dependen de cómo se sintetice, las nanopartículas de ZnO han atraído una renovada atención por parte de algunos investigadores debido a sus propiedades antibacterianas superiores. Este tipo de propiedades afectan a una variedad de bacterias, de las cuales clínicamente son las que se transmiten por el aire, el agua o los alimentos y causan las infecciones más comunes y graves. Una posible aplicación de las nanopartículas de óxido de zinc utilizando sus propiedades antibacterianas es como antiséptico, debido a que atribuye sustancias que inhiben el crecimiento de microorganismos en la superficie del tejido de la piel (Picazzo Hentschel & Jasso, 2019).

### **1.3 Quitosano**

El quitosano es un polímero obtenido a partir de la desacetilación de la quitina, un polisacárido abundante en la naturaleza, principalmente en los exoesqueletos de crustáceos y otros artrópodos. El quitosano se ha estudiado en aplicaciones biomédicas y farmacéuticas por sus propiedades biocompatibles, biodegradables y su capacidad para interactuar con iones y moléculas en solución.

Los nanocomposites de quitosano son materiales compuestos que combinan el quitosano, un polímero natural derivado de la quitina, con nanopartículas u otros materiales a nano escala. Estos nanocomposites presentan propiedades mejoradas en comparación con el quitosano puro, lo que los hace atractivos para diversas aplicaciones, además que el

quitosano es conocido por sus propiedades antimicrobianas, biocompatibilidad y capacidad de formar películas y recubrimientos. Al incorporar nanopartículas en la matriz de quitosano, se pueden obtener nanocomposites con propiedades adicionales, como mayor resistencia mecánica, estabilidad térmica, capacidad de liberación controlada de fármacos u otros compuestos activos, y mayor actividad antimicrobiana (Albarracín-Hernández & Bohórquez, 2018, p. 7). La figura 1 muestra la estructura química del quitosano.



*Figura 1: Estructura del Quitosano*

\*Adaptado por Quitosano: una alternativa sustentable para el empaque de alimentos, (p.3) por Ortega Cardona, César Eulogio y Aparicio Fernández, Xochitl, 2020. Fuente:

DOI: <http://doi.org/10.22201/cuaieed.16076079e.2020.21.5.4>

### *1.3.1 Quitosano como agente antimicrobiano.*

El quitosano ha sido estudiado por sus propiedades antimicrobianas y biocompatibles. De acuerdo con diversos autores caben de mencionar que la actividad antimicrobiana del quitosano se utiliza como un recubrimiento antimicrobiano, la cual ayuda a la cicatrización de heridas, prevenir infecciones y combatir enfermedades infecciosas (Rozman et al., 2019).

El quitosano tiene actividad antibacteriana contra hongos filamentosos, levaduras y bacterias y también se considera un agente antifúngico. Por otro lado, se relaciona con el efecto antibacteriano, mediante la integridad de la membrana, tomando en cuenta las cargas positivas y negativas en las membranas celulares bacterianas. Las películas de

quitosano tienen buenas propiedades mecánicas y permeabilidad selectiva a los gases CO<sub>2</sub> y O<sub>2</sub>. Además, el quitosano es biodegradable y biocompatible con otros compuestos

(Tarabay, 2017).

### *1.3.2 Modificaciones del quitosano.*

De acuerdo a diversas investigaciones acerca de las diferentes modificaciones existentes del quitosano, teniendo como objetivo incrementar tanto las aplicaciones como sus propiedades, las cuales nos ayudaran a mejorar su desempeño en diversas industrias, como la farmacéutica, alimentaria, biomédica, entre otras.(Romero–Serrano & Pereira, 2020).

Se modifica el quitosano por varias razones en diversos campos de la ciencia y la tecnología debido a sus propiedades únicas. Aquí hay algunas razones por las que se modifican el quitosano. La mejora de la solubilidad del quitosano es una modificación que puede facilitar su uso en aplicaciones farmacéuticas, alimentos, y otras industrias. El aumento de la biocompatibilidad ayuda a mejorar el uso en aplicaciones biomédicas, como la entrega de fármacos, la ingeniería de tejidos y la regeneración de órganos. La viscosidad del quitosano se puede ajustar mediante la modificación química, tomando una amplia gama de aplicaciones, desde productos farmacéuticos hasta revestimientos y adhesivos (Romero–Serrano & Pereira, 2020).

Las modificaciones de la carga superficial del quitosano pueden modificar las propiedades de interacción con otros compuestos. Estas aplicaciones como la purificación de agua, donde el quitosano puede utilizarse para eliminar contaminantes cargados negativamente. Las modificaciones químicas del quitosano pueden mejorar sus propiedades mecánicas, como la resistencia y la elasticidad. El control de la degradabilidad del quitosano se puede ajustar mediante modificaciones químicas para que se descomponga en condiciones específicas (Romero–Serrano & Pereira, 2020).

#### **1.4 Evaluación antimicrobiana del Q-ZnO**

La evaluación antimicrobiana es muy importante para determinar la actividad de estas estructuras combinadas. Poseen la capacidad de formar barreras protectoras, sin embargo, para la utilización de este nanocompuesto, se utiliza técnicas estándares para determinar la concentración mínima de inhibición, la cual ayuda inhibiendo el crecimiento de los microorganismos (Esquivel Rodríguez & Cancino González, 2017).

El nanocomposites de quitosano con óxido de zinc como agente antimicrobiano posee diversas aplicaciones, tanto en el recubrimiento de envases de alimentos y como material de médicos, optimizando el uso y las propiedades antimicrobianas (Esquivel Rodríguez & Cancino González, 2017).

El mecanismo de la actividad antimicrobiana de los nanocomposites de quitosano y ZnO no ha sido completamente establecido y sigue siendo objeto de investigación. Sin embargo, se han propuesto algunos posibles mecanismos que podrían contribuir a su actividad antimicrobiana. Uno de los mecanismos propuestos es la liberación controlada de iones de zinc (Zn) a partir del ZnO presente en el nanocomposites. Se ha demostrado que los iones de zinc pueden tener propiedades antimicrobianas al interactuar con las membranas celulares de los microorganismos y causar daño, inhibiendo su crecimiento y reproducción (Esquivel Rodríguez & Cancino González, 2017).

#### **1.5 Resistencia a la biopelícula**

Las comunidades de biopelículas son muy beneficiosas para muchos aspectos de la vida humana, incluida la provisión de resistencia a la colonización en el intestino grueso, la degradación de compuestos orgánicos y contaminantes ambientales, el ciclo global de nutrientes y la mejora de la calidad del agua. Sin embargo, estas comunidades multicelulares metabólicamente integradas se consideran en gran medida problemáticas tanto en entornos industriales como clínicos. Esto se debe a que las biopelículas son

extremadamente recalcitrantes a la eliminación por parte de agentes antimicrobianos y la respuesta inmune del huésped. En general, se informa que las biopelículas son mucho menos susceptibles a los tratamientos antimicrobianos que sus contrapartes planctónicas, con disminuciones de 100 a 1000 veces en la susceptibilidad, o más, frecuentemente demostradas (Wright et al., 2013).

Existe evidencia in vivo e in vitro de que el exopolímero protege las biopelículas de heridas crónicas de los procesos inflamatorios que son clave para la curación de heridas. Se ha sugerido que el exopolímero bloquea la activación del complemento, deprime la respuesta linfoproliferativa y previene la detección de opsoninas en las paredes celulares bacterianas por parte de los fagocitos. Los hallazgos también han demostrado que el exopolímero limita la capacidad de los leucocitos para penetrar la biopelícula, dificulta su movimiento a través de las biopelículas, atenúa su capacidad para degranularse y producir especies reactivas de oxígeno (ROS) y previene la fagocitosis de las bacterias. La exposición de biopelículas bacterianas a concentraciones de antibióticos subinhibitorias, o a antibióticos incorrectos, puede inducir fenotipos mucoides, que generan biopelículas más espesas con componentes de matriz adicionales. (Omar et al., 2017)

## **1.6 Propiedades antimicrobianas del nanocomposites**

En la última década, la combinación de materiales ha surgido como una estrategia para potenciar las propiedades antimicrobianas. El uso de nanocomposites en aplicaciones antimicrobianas ha recibido mucha atención en la industria. Las partículas nanométricas, como el grafeno, pueden ser incorporadas en la matriz polimérica para brindar propiedades antimicrobianas adicionales. Estas partículas tienen una gran área superficial y pueden interactuar con los microorganismos, inhibiendo su crecimiento y proliferación.

Además de proporcionar propiedades antimicrobianas, los nanocomposites también pueden mejorar otras propiedades de los materiales, como la resistencia mecánica y la

barrera a los gases. Esto los hace adecuados para una amplia gama de aplicaciones, como envases de alimentos, materiales médicos y textiles (Nanocompuestos poliméricos con grafeno, 2022).

## **1.7 Métodos de Síntesis**

### *1.7.1 Método de preparación sol gel.*

El método de preparación sol gel es una técnica coloidal utilizada para sintetizar materiales cerámicos y vítreos, que consiste en la formación de un hidrosol mediante la hidrólisis y condensación de precursores químicos (solución sol), el cual posteriormente se somete a procesos de deshidratación y densificación mediante un tratamiento térmico (gel). Este método tiene la ventaja de poder obtener materiales con una gran diversidad de formas y tamaños, y con un alto grado de pureza, homogeneidad y control de la microestructura. (Castro-León et al., 2020).

Este método comienza con la formación e implementación de precursores complejos de metales o semimetales con diferentes ligandos (normalmente grupos). El agua, cuando está presente en la misma solución, actúa como su catalizador de la polimerización del Sol-gel. La formación resultante se llama hidrogel porque corresponde al líquido atrapador del esqueleto inorgánico. Alternativamente, los hidrogeles pueden formarse mediante; el método de evaporación lenta del disolvente cuando aumenta la concentración del coloide y la probabilidad de su respuesta (Varela Thiermann, 2014).

En los últimos años, el método sol-gel se ha utilizado ampliamente en la producción de diversos materiales nanoestructurados. Este enfoque es atractivo porque incluye procesos a baja temperatura, también hay alta pureza y homogeneidad, por lo tanto, la forma en que se preparan en sistemas multicomponente. Se realizó la síntesis y caracterizaron de NPsZnO por la técnica sol-gel y utilizaron  $Zn(NO_3)_2$  y NaOH como precursores a una temperatura de reacción de 60°C (Aquino Granados, 2016).

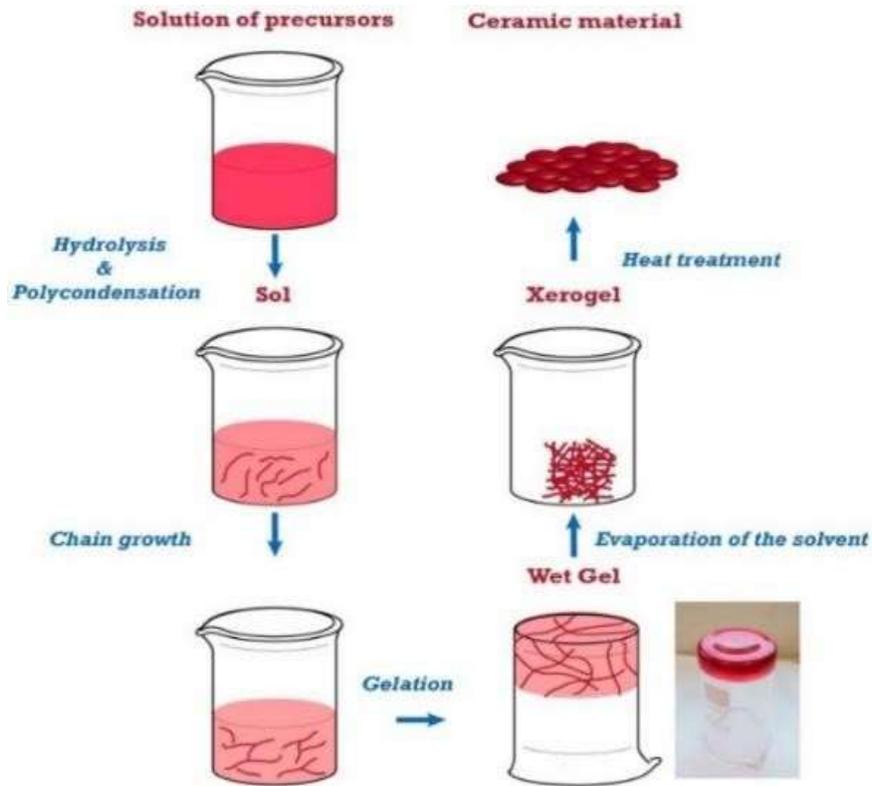


Figura 2: Esquema del método Sol-gel

\*Adaptado por a La química sol-gel “tradicional” como herramienta poderosa para la preparación de catalizadores de óxido metálico y metal soportado por, Serena Esposito, (p.4). Fuente: <https://doi.org/10.3390/ma12040668>

### 1.7.2 Método de coprecipitación.

El método de coprecipitación es un proceso de síntesis de materiales sólidos en el que dos o más iones diferentes se hacen reaccionar en una solución acuosa para producir una precipitación conjunta de los iones en forma de partículas sólidas. Este método a menudo se utiliza para sintetizar materiales cerámicos, como óxidos metálicos, y puede producir partículas de tamaño nanométrico con una distribución uniforme del tamaño de partícula.

Además, el método de coprecipitación también puede utilizarse para añadir impurezas o dopantes a los materiales sólidos, para producir materiales con propiedades específicas, tales como superconductores y materiales magnético (Morales et al., 2019).

Hoy en día el método de coprecipitación es diseñado para aplicaciones biológicas, debido a las principales ventajas de simplicidad y bajo el costo. Este método es uno de los más utilizados dado a su fácil uso, además se puede colocar otros elementos para sintetizar óxidos (Picazzo Hentschel & Jasso, 2019). En este proceso, existen variables que pueden influir en los métodos de síntesis de nanopartículas, como la velocidad de mezcla, el pH de la solución. La solución se mezcla mediante agitación magnética, Centrifugación, funcionalización molecular sustancias orgánicas y ligandos (López Aguila et al., 2014).

## **1.8 Técnicas instrumentales**

### *1.8.1 Espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR).*

La espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier (FTIR) es una técnica utilizada para obtener información sobre la composición química de una muestra. Se basa en el principio de que las moléculas absorben energía en el rango de la radiación infrarroja y esto produce cambios en la vibración y rotación de los enlaces químicos presentes en la muestra.

El FTIR utiliza un interferómetro de Michelson para generar un diagrama de interferencia que representa la energía infrarroja absorbida por la muestra en función de la longitud de onda (Carroll et al., 2022).

La señal generada se somete luego a un proceso matemático conocido como transformada de Fourier, que permite obtener el espectro infrarrojo de la muestra. Este espectro infrarrojo contiene información sobre los grupos funcionales presentes en la muestra y puede utilizarse para identificar compuestos químicos, analizar la estructura molecular y determinar la presencia de ciertos enlaces químicos o grupos funcionales. Además, la

espectroscopia FTIR también puede ser utilizada para estudiar la composición de muestras biológicas, como tejidos o células (Cortez, 2022).

### *1.8.2 Difracción de Rayos-X (DRX).*

La difracción de rayos-X (DRX) es una técnica utilizada para estudiar la estructura cristalina de materiales. Se basa en el principio de que los rayos-X son difractados cuando interactúan con la red cristalina de un material. Este fenómeno de difracción permite obtener información sobre la disposición de los átomos en el cristal. Para llevar a cabo la difracción de rayos-X, se dirige un haz de rayos-X hacia el material, y los rayos-X difractados son recogidos y detectados. Estos rayos-X difractados siguen patrones característicos que dependen de la estructura cristalina del material. Al analizar estos patrones, es posible determinar los ángulos y las intensidades de difracción, lo que permite inferir la disposición de los átomos en el material (Ochoa Contreras, 2017).

La difracción de rayos-X se utiliza en diversas áreas, como química, física de materiales, ciencia de los materiales, geología, biología estructural, entre otras. Es una técnica especialmente útil para determinar la estructura cristalina de compuestos inorgánicos y orgánicos, así como para analizar la presencia y la cantidad de fases cristalinas en una muestra. La difracción de los rayos X tiene un papel importante en la industria farmacéutica, a mismo ayudan a predecir las propiedades físicas y químicas (Rd., 2020).

## **2. METODOLOGÍA**

### **2.1 Diseño de la Investigación**

Esta investigación tiene un diseño experimental, descriptivo, exploratorio y transversal, puesto que se sintetizan nanocomposites de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc mediante el método de sol-gel en disolución. Los nanocomposites se caracterizaron mediante espectroscopia de infrarrojo por transformada de Fourier (FTIR), difracción de rayos X (XRD). Además, se manipularon variables de estudio para identificar la actividad antimicrobiana del biomaterial sintetizado en un tiempo establecido.

VARIABLES DEPENDIENTES

Actividad antimicrobiana

VARIABLES INDEPENDIENTES

El nanocomposite de quitosano combinado con las nanopartículas de óxido de zinc

### **2.2 Técnicas de recolección de datos**

Se realizará ensayo de difusión en agar, esto implicará colocar una cantidad conocida del nanocompuesto en una placa de agar inoculada con E. coli. Se mide el diámetro del halo de inhibición formado alrededor del disco o punto de aplicación del nanocompuesto. Las concentraciones variables se medirá mediante experimentos utilizando diferentes concentraciones del nanocompuesto para evaluar si hay una relación dosis-respuesta en la actividad antimicrobiana. También se realizará repeticiones para obtener datos confiables y reducir el sesgo experimental.

### **2.3 Materiales y Métodos**

#### **Materiales**

- Vasos de precipitado de la marca BOECO.
- Caja Petri de la marca BOECO.
- Pipetas graduadas y volumétrica de la marca BOECO.
- Matraz de Erlenmeyer de la marca BOECO.

- Capsula de porcelana de la marca BOECO.
- Tubos de ensayo de la marca BOECO.

### *2.3.1 Síntesis de nanopartículas*

#### *Método de coprecipitación*

Para la síntesis de nanopartículas de óxido de zinc se utilizó como agente precursor nitrato de zinc  $Zn(NO_3)_2$  e hidróxido de sodio en disolución en proporción de 1:1 (v/v). Se preparó disoluciones de hidróxido de sodio y nitrato de zinc  $Zn(NO_3)_2$  en concentración de 0,5 M. Luego se colocó la disolución de NaOH en agitación magnética constante (Biobase) hasta alcanzar una temperatura de 60 °C, donde se comenzó con la titulación del nitrato de zinc  $Zn(NO_3)_2$ . Se sometió a homogenización constante por 30 min con una temperatura de 80 °C. Luego se decantó y se eliminó el sobrenadante y se colocó en estufa (Biobase) por 18 h a una temperatura de 70 °C (Guerra Moran, 2022).

### *2.3.2 Preparación de nanocomposites de quitosano funcionalizados con NPs-ZnO.*

Se pesó por separado 1 g de quitosano en un vaso de precipitado (marca balanza) y se mezcló con 1 ml de disolución de ácido acético al 1% (); con agitación constante. Simultáneamente, se añadieron diversas cantidades de NPs de ZnO; desde 0.12; 0.06 y 0.03 g en 1 ml de ácido acético al 1 % en un vaso de precipitados y se mezcló adecuadamente para obtener una dispersión uniforme. El ZnO preparado se añadió gota a gota la glicerina (Kosher) para obtener un compuesto uniforme. (Visnuvinayagam et al., 2021).

### *2.3.3 Cultivos microbiológicos*

Se realizará un estudio de tipo descriptivo, observacional y experimental, para evaluar la actividad antimicrobiana frente a *E. coli* en los laboratorios de la Universidad Técnica de Machala. Siguiendo las normas y procedimientos de bioseguridad (Guerra Moran, 2022), se preparó el inóculo con cepas puras de *E. coli*, microorganismo donado por el INSPI, estas fueron sembradas en cajas Petri. Para luego realizar el control positivo y negativo, el cual

permitió comparar los resultados y validar la efectividad del nanocompuesto. No obstante, se llevará a cabo un análisis estadístico para recopilar datos que nos permitirán determinar si existen diferencias significativas en la actividad antimicrobiana entre diversas condiciones o concentraciones del nanocompuesto.

#### 2.3.4 Método Microbiológico

##### Preparación del Agar

Se utilizó el agar MB (Agar de Müller), se preparó disolviendo 36 g del medio MB en un litro de agua destilada. Dejar reposar durante 10 a 15 minutos. Posteriormente se llevó al calentamiento y disolución, luego se agitó frecuentemente hasta al alcanzar el punto de ebullición. Se mantuvo la ebullición durante 1 minuto para asegurar la completa disolución del medio. Posteriormente se llevó a esterilizar el medio en autoclave a una temperatura de 121°C y una presión de 15 lbs durante 15 minutos. Se lleva a enfriar el medio esterilizado a aproximadamente 45°C. Se vierte el medio enfriado en caja Petri estériles. Una vez preparado, el medio de cultivo MB está listo para ser utilizado en el laboratorio para el aislamiento y diferenciación de microorganismos entéricos.

Inoculación. Para la inoculación del agar MB se prepararon un asa de siembra esterilizada calentándola en una llama hasta que se ponga al rojo vivo. Se toma una pequeña cantidad de cultivo de *E. coli* utilizando el asa de siembra esterilizada. Se aseguró de que el asa de siembra esté caliente para evitar contaminaciones. Se mantendrá el asa en la llama por unos segundos antes de tomar la muestra. Con el asa caliente, realizara rayas o siembras en la superficie del agar MB previamente fundido y enfriado a una temperatura de 36°C a 37°C. Se realizará rayas en forma de cruz o en forma de zigzag. Finalmente, una vez realizado la siembra, se tapa la placa de agar MB y se coloca en la incubadora a una temperatura de 36°C a 37°C durante 24 o 48 horas. Tener en cuenta que la inoculación del agar MB en *E. coli* se realiza con el objetivo de detectar y diferenciar que este

microorganismo de *E. coli* en el agar MB presentará un brillo verde metálico característico debido a su capacidad de fermentar en la lactosa.

Incubación. La incubación del agar MB con la inoculación de la *E. coli* se realizó colocando en una caja Petri con agar en la incubadora a una temperatura de 36°C. Durante el período de incubación, que suele ser de 24 horas, las colonias de *E. coli* crecerán y se desarrollarán en el agar MB. Es importante asegurarse de que las condiciones de incubación sean adecuadas para el crecimiento óptimo de *E. coli*, incluyendo la temperatura y la humedad correctas. Durante este tiempo, las colonias de *E. coli* pueden exhibir un brillo verde metálico característico en el agar MB debido a su capacidad de fermentar la lactosa.

Observación y análisis. Después de un período de incubación adecuado (de 24 a 48 horas), observaron las placas para verificar el crecimiento de los microorganismos. Las colonias individuales deben ser visibles en la superficie del agar. Se realizará análisis adicionales, como el conteo de colonias o pruebas de identificación si es necesario.

Inoculación de la *E. coli* en el Agar. Rehidratar 50 g del medio en un litro de agua destilada. Reposar 10 a 15 minutos. Calentar agitando frecuentemente hasta el punto de ebullición durante 1 minuto para disolverlo por completo. Esterilizar en autoclave a 121°C (15 lbs de presión) durante 15 minutos. Enfriar aproximadamente a 45°C. Vaciar en cajas de Petri estériles. Conservar en refrigeración de 2 a 8°C.

### *2.3.5 Método del antibiograma disco-placa*

El antibiograma disco-placa, basado en el método desarrollado por Bauer, Kirby y colaboradores, es una de las técnicas recomendadas por el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) para la determinación. El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de petri previamente inoculada con el microorganismo, discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del

agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18-24 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición. La concentración de antibiótico en la interfase entre bacterias en crecimiento y bacterias inhibidas se conoce como concentración crítica y se aproxima a la concentración mínima inhibitoria (CMI) obtenida por métodos de dilución. Sin embargo, existen diámetros de inhibición, los cuales se expresan mm, las lecturas de los diferentes halos de inhibición se deben interpretar como sensibles, resistentes e intermedias de acuerdo a las categorías establecidas por el NCCLS (García & Valdivia, 2013)

## **2.4 Caracterización de los materiales**

Con el objetivo de determinar la composición de los materiales sintetizados, se utilizaron las siguientes técnicas de caracterización:

### *2.4.1 Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier.*

El método de FTIR consiste en la medición de la absorción de la radiación infrarroja por parte de las muestras del nanocomposite de quitosano funcionalizado con NPs ZnO. Se realizó el análisis de los espectros de los diferentes materiales sintetizados de Q-NPs ZnO<sub>1</sub>, Q- NPs ZnO<sub>2</sub> y Q- NPs ZnO<sub>3</sub>, con el fin de identificar las vibraciones moleculares y obtener información sobre los picos de la composición química y estructura molecular. El equipo que se utilizó para el análisis de los espectros fue Thermo Scientific - Nicolet Is10 (Valverde Durán, 2019).

### *2.4.2 Difracción de rayos X.*

La difracción de rayos X (DRX) tiene la característica de proporcionar información acerca del ordenamiento y espaciado de los átomos en materiales cristalinos, permite identificar las fases cristalinas de las muestras y determinar el tamaño y orientación de los cristales, considerando que cada material presenta un patrón de difracción característico.

Se realizó la difracción de rayos X a los materiales sintetizados de Q-NPs ZnO1, Q- NPs ZnO2 y Q- NPs ZnO3, con el fin de conocer la composición y confirmar la síntesis de los materiales a partir de los difractogramas obtenidos. El equipo que se utilizó para realiza este ensayo fue un difractómetro marca Bruker modelo D8 advance (Valverde Durán, 2019).

## **2.5 Análisis de datos**

Se realizará la prueba estadística de regresión lineal simple, que es una técnica estadística utilizada para modelar la relación entre una variable independiente (X) y una variable dependiente (Y). En esta técnica, se busca encontrar la línea recta que mejor se ajuste a los datos, de manera que se minimice la distancia entre los valores observados y los valores predichos por el modelo.

La regresión lineal simple se representa mediante la ecuación de la recta:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X + \varepsilon \text{ Donde:}$$

Y es la variable dependiente X

es la variable independiente

$\beta_0$  es la ordenada al origen  $\beta_1$

es la pendiente de la recta  $\varepsilon$

es el término de error

El objetivo de la regresión lineal simple es encontrar los valores de  $\beta_0$  y  $\beta_1$  que minimicen la suma de los cuadrados de los residuos (diferencia entre los valores observados y los valores predichos). Esto se logra mediante el método de mínimos cuadrados. (Carrasquilla-Batista et al., 2016)

## RESULTADOS Y DISCUSION

### 2.6 Síntesis y caracterización de nanopartículas

#### 2.6.1 Síntesis de nanopartículas de óxido zinc.

Para la síntesis de nanopartículas de ZnO se utilizó el método de coprecipitación, se empleó como agente precursor Zn (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> y NaOH como agente precipitante. La formación de las nanopartículas de ZnO (NPs ZnO) se evidenció visualmente por la aparición de un precipitado de color blanco característico del óxido de zinc.

Existen varios métodos para la obtención de las nanopartículas de ZnO, sin embargo, los métodos físicos y químicos son los más utilizados para sintetizar las nanopartículas, incluido técnicas conocidas como la coprecipitación, técnica de reacción de estado sólido, precipitación y sol-gel (Gharpure et al., 2022). El método de coprecipitación se empleó para la obtención de las nanopartículas de ZnO, el cual se toma en cuenta que es un proceso en el que los compuestos suelen disolverse, arrastrando sedimentos y separados de la solución (Fernández, 2013).

Se logró obtener una cantidad de 6 gramos de nanopartículas de ZnO, lo que constituyó un rendimiento excelente. La síntesis de estas nanopartículas puede depender de factores tanto biológicos como no biológicos, y una correcta aplicación del método, debido a que favorece el crecimiento e inhibición de microorganismos de forma confiable (Millán Mora, 2021). El método de coprecipitación demostró ser eficaz para la obtención de nanopartículas de óxido de zinc con propiedades deseadas, como tamaño uniforme y estructura cristalina, ya que cumple un rol fundamental al momento de optimizar los

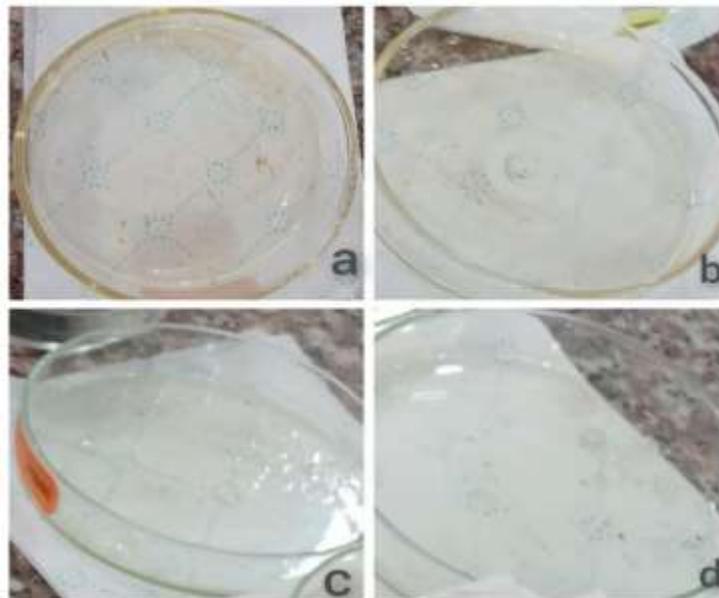
parámetros del proceso, como la temperatura, la velocidad de agitación y la relación molar entre los reactivos, para mejorar aún más la uniformidad y calidad de las nanopartículas. (López Zapata et al., 2023)

Los estudios de síntesis y caracterización realizados se verán respaldados por los análisis de Espectroscopia de Infrarroja transformada de Fourier y Difracción de Rayos-X mencionados posteriormente.

### *2.6.2 Síntesis de biopelículas de óxido de zinc y quitosano.*

Se disolvió quitosano en ácido acético a una temperatura de 60°C con agitación magnética constante durante 30 min, luego se agregó las NPs de ZnO a diferentes concentraciones, se trabajaron en tres concentraciones diferentes de 0.030g, 0.060g y 0.120, se mantuvo en agitación por 60 min y finalmente se agregó 1.5 mL de glicerina que actuó como agente plastificante.

Se agitó durante 5 minutos y se dejó en reposo para evitar la formación de burbujas al momento de secar durante 18 h en cajas Petri, tal como se observa en la figura 3.



*Figura 3: Método Sol-gel en la elaboración de nanopartículas de ZnO y quitosano*

La literatura plantea que la concentración de nanopartículas en la disolución afecta directamente la transparencia. Concentraciones más bajas suelen dar lugar a disoluciones más transparentes, mientras que concentraciones más altas pueden provocar una mayor opacidad debido a la dispersión de las partículas. En los nanocomposites no se observan burbujas de aire, así como el espesor, transparencia fueron adecuadas, debido a que cumplen con la literatura recomendada, la cual sugiere dejar reposar durante un tiempo determinado para la eliminación de burbujas (Sauceda Oloño, 2017).

## **2.7 Evaluación de la actividad antimicrobiana de las biopelículas de quitosano modificadas con nanopartículas de Óxido de Zinc**

El antibiograma disco-placa basado en el trabajo de Bauer, Kirby y colaboradores es uno de los métodos que el National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. Esta técnica permitió determinar el crecimiento bacteriano de *E. coli* frente a las diferentes biopelículas de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc a diferentes concentraciones, como se observa en el Anexo 3

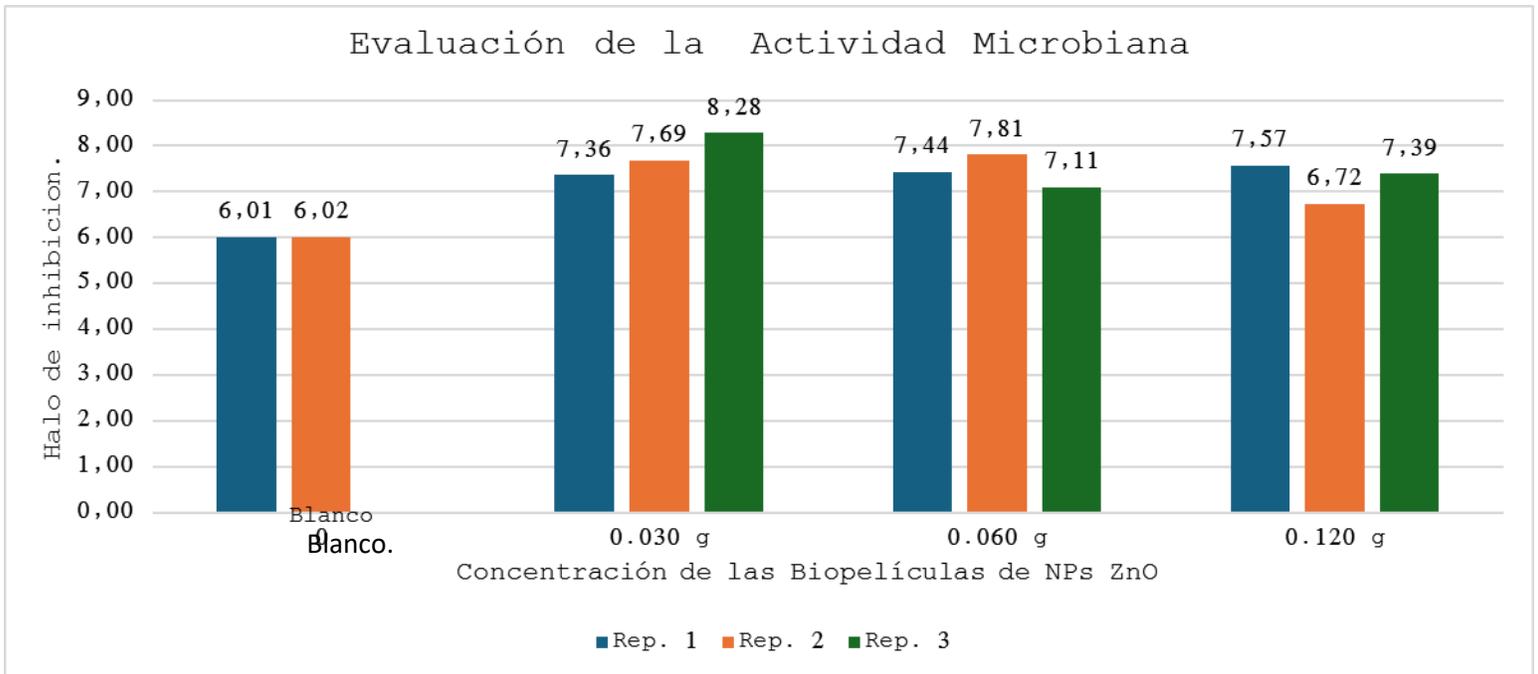


Figura 4: Evaluación de la Actividad Antimicrobiana

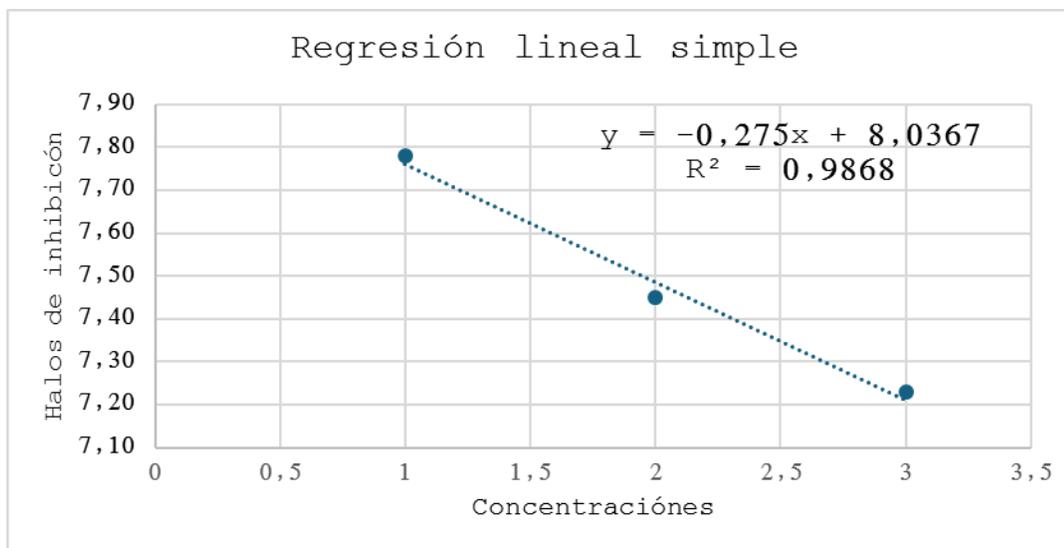
La figura 4 muestra la actividad antimicrobiana de los nanocomposites, en la que se puede observar que el blanco posee menor capacidad antimicrobiana con respecto a las demás concentraciones de las biopelículas, las cuales se pueden justificar debido a que poseen distintos factores que provocan la alteración directamente de la capacidad inhibitoria. La actividad antimicrobiana de las biopelículas de quitosano con nanopartículas de óxido de zinc (NPs ZnO) a diferentes concentraciones frente a *Escherichia coli* fue evaluada en triplicado. Se observan halos de inhibición de mayor tamaño en los nanocomposites con 0,03 g y 0,06 g de NPs de ZnO, con una media de 7.78 mm y 7.45 mm, tal como se evidencia en el anexo 1. Adicionalmente, se observó que las biopelículas con la mayor concentración (0,120 g) experimentaron una reducción más notable en su halo de inhibición, con una medida promedio de 7.23 mm, lo que podría estar asociado con fenómenos de saturación o efectos inhibitorios a concentraciones más altas.

Varios estudios evaluaron las concentraciones de 0,030 g, 0,060 g y 0,120 g de NPs ZnO en relación con la actividad antimicrobiana (Ahón-Ríos et al., 2022).

Se observó que la concentración de 0,030 g resultó significativamente mejor, obteniendo mayores halos de inhibición en comparación con otras concentraciones más altas de óxido de zinc. Esto sugiere que la concentración más baja de NPs ZnO (0,030 g) fue efectiva para inhibir el crecimiento de *Escherichia coli*, lo que indica una mayor actividad antimicrobiana a concentraciones más bajas (Xie et al., 2011).

La concentración de 0,060 g al encontrarse en un punto intermedio entre 0,030 g y 0,120 g, da respuesta a los halos de inhibición obtenidos, debido a que son menores las concentraciones de 0.030 g y mayores a los de 0.120 g, debido estos fenómenos de saturación antes descritos. Las biopelículas con la concentración de 0,120 g es la más alta de NPs ZnO, lo cual mostraron una disminución en su halo de inhibición, posiblemente debido a fenómenos de saturación o efectos inhibitorios a concentraciones elevadas. Esto sugiere que, a 0,120 g, la concentración de NPs ZnO puede haber alcanzado un punto en el que la eficacia antimicrobiana disminuye (Raghupathi et al., 2011).

Cabe resaltar la importancia de encontrar el equilibrio adecuado en la concentración de nanopartículas para lograr la máxima eficacia antimicrobiana. La concentración de 0,030 g fue la más efectiva, mientras que la concentración de 0,120 g indicó una disminución en la actividad antimicrobiana.



*Figura 5: Prueba estadística de dispersión*

Según el análisis de la prueba estadística de regresión lineal simple, el resultado obtenido de 0.9868 indica que los resultados son favorables para el trabajo de titulación. La  $R^2$  más cercana a 1 sugiere que el material analizado muestra una sólida relación entre 'Halo de inhibición' y 'Concentraciones'. La línea de tendencia punteada, representada por la ecuación  $y = -0.275x + 8.0367$ , atraviesa los puntos de datos, demostrando la relación ajustada entre las variables. Con un coeficiente de determinación de  $R^2 = 0.9868$ , se estima que aproximadamente el 98.68% de la variabilidad en los datos de 'Halo de inhibición' puede ser explicada por la variabilidad en las 'Concentraciones' según el modelo lineal presentado. Según Ayala Valencia, (2015), cabe mencionan que el efecto del quitosano es ampliamente estudiado debido a que puede llegar atribuir capacidad quelante, las cuales pueden llegar a tener presencia de grupos amino, ya que se encuentran en la superficie de los diferentes microorganismos. Existen diferentes factores tanto intrínsecos como extrínsecos, los cuales están presentes tanto en el pH, solubilidad, peso molecular, capacidad quelante y microorganismos.

Los diferentes efectos del quitosano dependen del microorganismo que se vaya a realizar el estudio, debido a que pertenezcan a diferentes tipos de bacterias tanto de gram negativas

como positivas. Sin embargo de acuerdo a diversos autores como Matica et al., (2019), señalan que una biopelícula llega a tener resistencia bacteriana, ya que los diferentes antibióticos suelen tener diferentes mecanismos moleculares. Sin embargo, se puede acotar que las biopelículas son menos susceptibles a los antibióticos, las cuales regulan tanto las propiedades como la formación de las mismas. Por ende, regulan a la mayoría de factores biológicos que se encuentra presentes. Los diferentes agentes antimicrobianos, antifúngicos, antivirales, antibacterianos y antiparasitarios, debido a que tienen presentes en sus estructuras compuesto naturales y químicos (Omar et al., 2017).

Las biopelículas elaboradas pueden llegar a ser beneficiosas para los seres humanos, debido a que son menos susceptibles a los tratamientos de los antimicrobianos. Según(Xing et al., 2015), acotan que la actividad antimicrobiana del quitosano no modificada se basa en la presencia de un grupo amino en la cadena, por lo tanto demuestran que el quitosano daña la membrana celular de la *E. coli*.

Según la investigación realizada por Matos González, (2020) determinó que la biopelícula que mejor acción antimicrobiana fue con la concentración de nanopartículas de 0.030 g lo que tiene relación con los resultados obtenidos en esta investigación.

Varios estudios respaldan que las nanopartículas con menor concentración de óxido de zinc son más eficaces como agentes antimicrobianos. Sin embargo, debido a su capacidad para generar oxígeno reactivo, estas partículas no penetran fácilmente en las células y pueden liberar iones tóxicos de zinc (Higiene ambiental, 2017).

## **2.8 Caracterización de las nanopartículas**

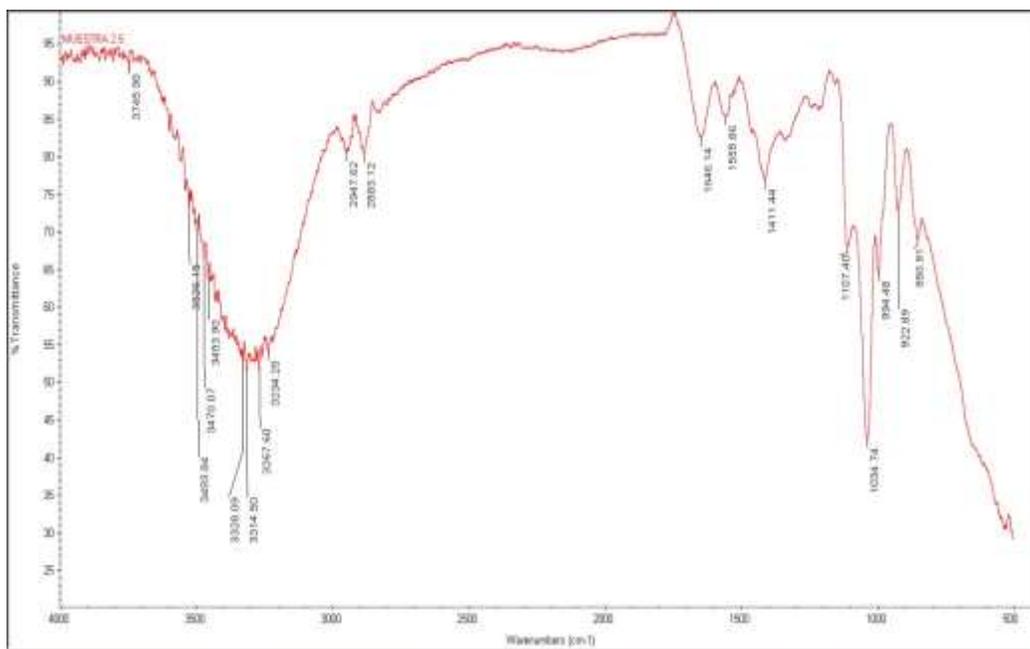
Las NPs-ZnO sintetizadas se caracterizaron por medio de diversas técnicas analíticas que incluyen difracción de rayos X (XRD), espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR). El análisis XRD se llevó a cabo en un difractómetro de rayos-X, con radiación K (de

cobre con longitud de onda, ( $= 1.5406\text{\AA}$  con el propósito de conocer la pureza de la muestra. El goniómetro se operó desde  $5^\circ$  hasta  $90^\circ$  en  $2^\circ$  (y la velocidad de barrido fue de  $30\text{ s}$  con un paso de  $0.026^\circ$ ). Las fases presentes se identificaron mediante las cartas de difracción ICSD (Inorganic Crystal Structure Data Base) y el software High Score Plus (GalindoGuzmán et al., 2022).

El espectro FTIR se registró con un equipo Nicolet IR 100 Thermo Scientific en un intervalo de  $4\,000\text{-}400\text{ cm}$  usando la técnica ATR. (Galindo-Guzmán et al., 2022).

### 2.8.1 Espectroscopia infrarroja transformada de Fourier

FTIR es un método por el cual se estudia la absorción o emisión de energía radiante originada por la interacción entre la radiación electromagnética y el material en estudio (Valverde Durán, 2019).



*Figura 6: Espectro de Quitosano*

El Espectro infrarrojo del quitosano que se muestra en la Figura 6 se observan señales características del quitosano entre la región  $3459.90$  a  $3526.15\text{ cm}^{-1}$  las cuales corresponden a la vibración por alargamiento de los grupos OH (Ramírez et al., 2016). Las

señales entre 3267.60 a 3328.09  $\text{cm}^{-1}$  que corresponde a las vibraciones de tensión N-H (Sánchez Cepeda et al., 2016).

Los picos de onda de absorción entre 3267.60  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a un estiramiento O-H, por otro lado, estos mismos picos corresponden a un estiramiento N-H característico de una amina secundaria (Cusihuamán Noa et al., 2018).

En la región comprendida entre 2947.62 a 2883.12  $\text{cm}^{-1}$  se aprecia dos bandas de absorción moderada correspondiente a las vibraciones de tensión (C-H) propias de grupos CH<sub>2</sub>. Así mismo en el pico 1646.14  $\text{cm}^{-1}$  se muestra una banda de absorción de intensidad moderada correspondiente a un estiramiento C=O propio de una amida primaria (Cusihuamán Noa et al., 2018).

Las señales alrededor de 1555.86  $\text{cm}^{-1}$  se encuentran grupos funcionales de estiramiento C=C. Las bandas de ondas que se encuentran entre 1411.44  $\text{cm}^{-1}$  corresponden a un estiramiento -OH. Las señales que se visualizan van entre 1034.74 a 1107.40  $\text{cm}^{-1}$  se muestran bandas de absorción de grupos funcionales R-O-R (Cardona Trujillo & Padilla Quintero, 2013). Otros autores como Royero Montejo, (2021) mencionan que la señal 1034.74  $\text{cm}^{-1}$  en este anillo aparece un estiramiento C-O del esqueleto del anillo. Mientras tanto otros autores como Lozano López, (2020) dan a conocer que en el pico 922.89 a 994.48  $\text{cm}^{-1}$  se registró una vibración simétrica en los enlaces C-H. Las bandas de onda de absorción entre 850.91  $\text{cm}^{-1}$  corresponde a un estiramiento C-N. De acuerdo con los resultados obtenidos podemos afirmar que el producto obtenido posee señales características de nanocomposites de quitosano.

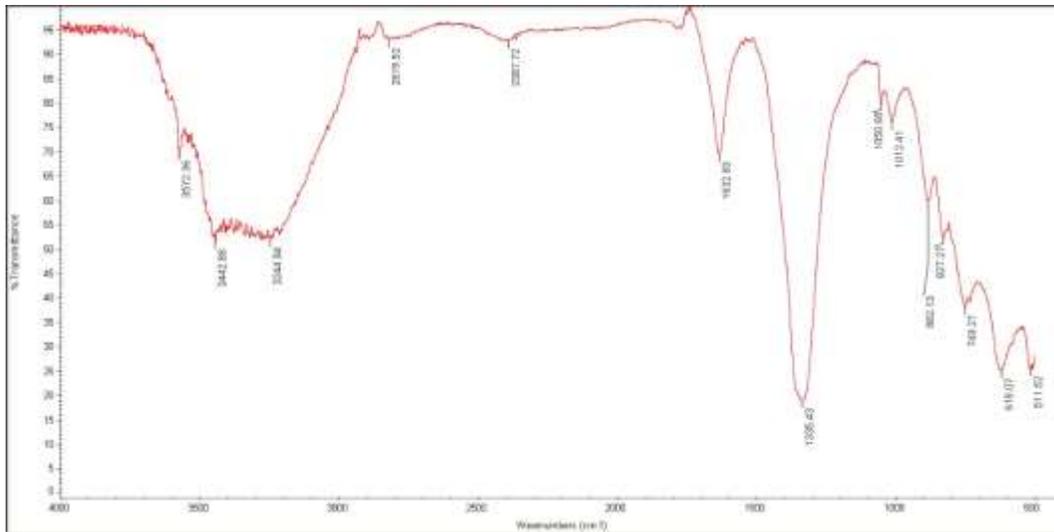
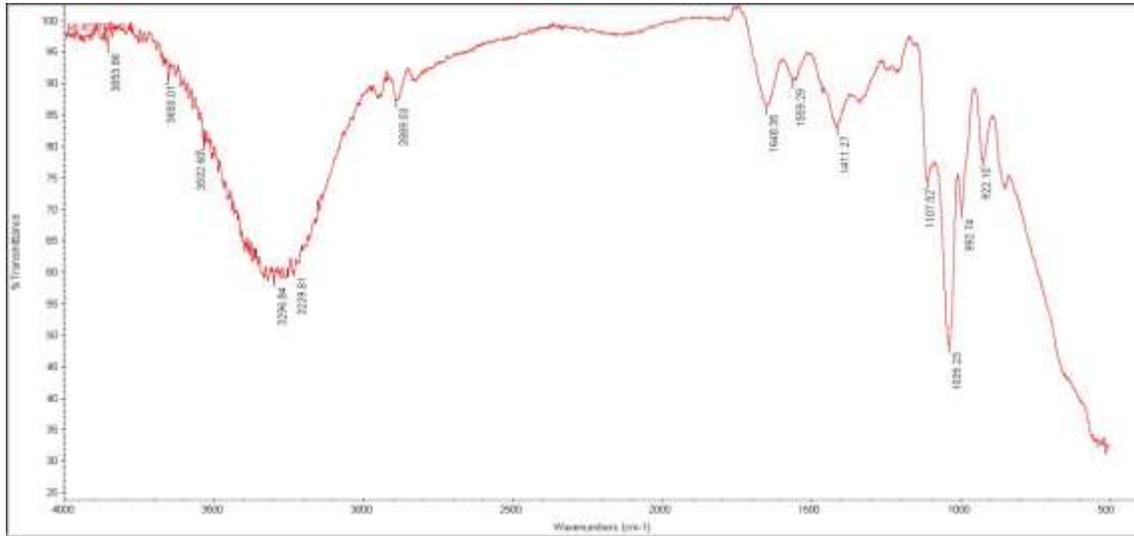


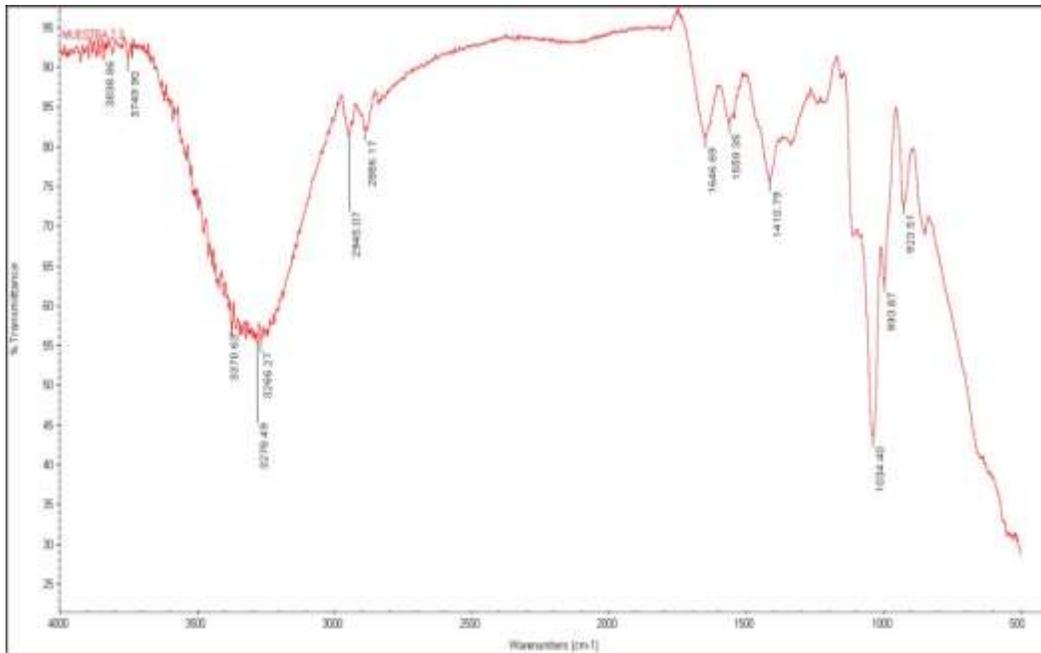
Figura 7: Espectroscopia infrarroja de NPs ZnO

Se muestran los números de onda de cada una de las bandas de espectroscopia infrarroja de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO), donde se aprecia una variación mínima de los diferentes números de ondas altos hacia los números más bajos, los cuales demuestran picos de un rango de 400 a 500  $\text{cm}^{-1}$ , donde contienen bandas de ondas de 511.52  $\text{cm}^{-1}$  permiten observar vibraciones de enlaces de Zn-O, mientras que en otra banda va entre 3200  $\text{cm}^{-1}$  y 3450  $\text{cm}^{-1}$  esto se debe a una vibración de tensión de enlace O-H del  $\text{H}_2\text{O}$  dada por la humedad que esta inducida. (Aquino Granados, 2016)



*Figura 8: Espectro de nanocomposite de Quitosano con 0.030 g de NPs ZnO*

Como se observa en la Figura 8 los diferentes picos muestran que las bandas de onda sufrieron pequeñas modificaciones en las bandas, esta grafica demuestra que entre las bandas de ondas va de entre  $3000\text{--}3500\text{ cm}^{-1}$  donde hace referencia a la señal  $3296.84\text{ cm}^{-1}$ , lo cual se debe a la presencia de picos combinados de las diferentes vibraciones de estiramiento del grupo  $\text{NH}_2$  y  $\text{OH}$  en el quitosano y las nanopartículas de quitosano (Deshpande et al., 2017). Los picos en  $2889.03\text{ cm}^{-1}$  las cuales corresponden al estiramiento asimétrico de  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$ . Los picos entre  $1645.35\text{ cm}^{-1}$  corresponden a grupos de amidas I ( $-\text{CONH}_2$ ) y la función de amida II ( $\text{NH}_2$ ) (Deshpande et al., 2017). Las bandas de onda que se produce en el pico  $1411.27\text{ cm}^{-1}$  representa vibraciones de deformación de  $(\text{CH})$  (Zegarra, 2015). En el pico  $1035.23\text{ cm}^{-1}$  se atribuye el estiramiento  $(\text{C} - \text{O} - \text{C})$  (Guerra Moran, 2022).



*Figura 9: Espectro de nanocomposite de Quitosano con 0.060 g de NPs ZnO*

Se muestran los números de onda que han mostrado que las bandas de ondas sufrieron modificaciones, en el pico  $3370.63\text{ cm}^{-1}$  atribuye a los picos de vibraciones de estiramiento de los grupos  $\text{NH}_2$  y  $\text{OH}$  (Deshpande et al., 2017). Los picos de las siguientes bandas se dan  $2945.70\text{ cm}^{-1}$  y  $2886.17\text{ cm}^{-1}$ , corresponde a un estiramiento asimétrico del  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$  (Deshpande et al., 2017). Las bandas de onda entre  $1646.69\text{ cm}^{-1}$  y  $1559.35\text{ cm}^{-1}$ , se atribuye a un grupo de amida I y la funcionalidad de una amida II (Deshpande et al., 2017). En el pico  $1410\text{ cm}^{-1}$  presenta vibraciones de deformaciones de  $\text{CH}$  (Zegarra Urquia, 2015). En el pico  $1034.40\text{ cm}^{-1}$ , se atribuye un estiramiento ( $\text{C} - \text{O} - \text{C}$ ) (Choudhary et al., 2019)

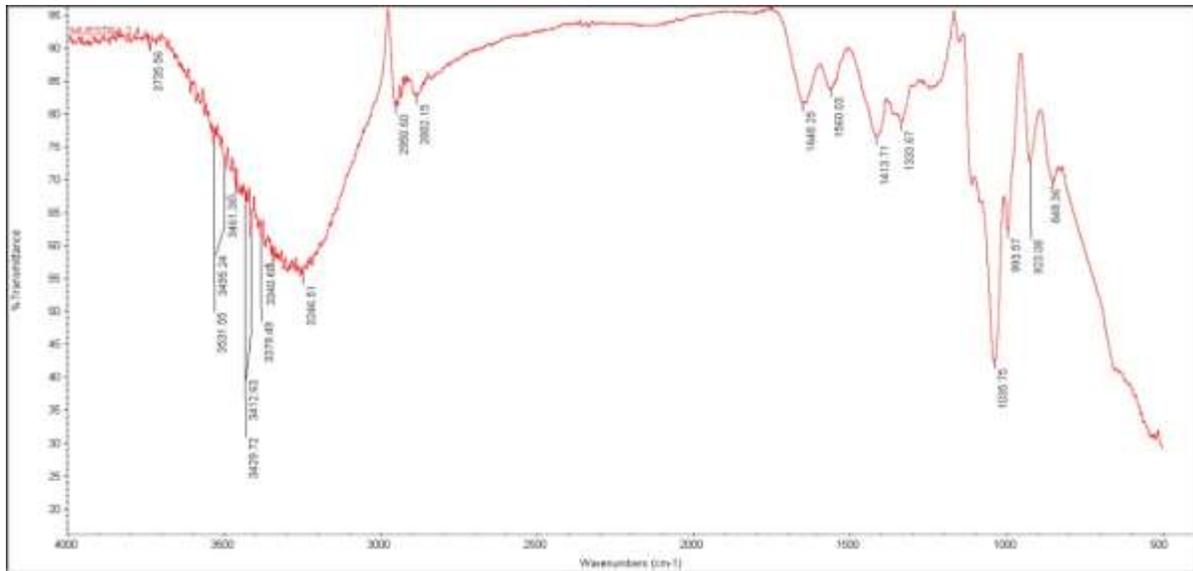


Figura 10: Espectro de nanocomposite de Quitosano con 0.120 g de NPs ZnO

Los picos sufrieron modificaciones comparadas con las otras biopelículas del nanocomposite de quitosano funcionalizado con NPs ZnO, debido a que muestran una leve interacción entre los grupos amino del quitosano y del óxido de zinc. En el pico 3246.52  $\text{cm}^{-1}$ , corresponde a una combinación de picos que presentan vibraciones de estiramiento de los grupos  $\text{NH}_2$  y  $\text{OH}$  (Deshpande et al., 2017). En las bandas de ondas de 2950.60  $\text{cm}^{-1}$  y 2882.15  $\text{cm}^{-1}$ , se atribuye un estiramiento asimétrico del  $\text{CH}_3$  y  $\text{CH}_2$ . Los picos en 1648.25  $\text{cm}^{-1}$  y 1560.03  $\text{cm}^{-1}$ , estos picos se atribuyen al grupo amida I y a la funcionalidad del grupo amida II (Deshpande et al., 2017). El pico 1413.71  $\text{cm}^{-1}$ , este representa las vibraciones deformación del CH (Zegarra Urquía, 2015). El pico 1333,67  $\text{cm}^{-1}$  se le atribuye al estiramiento de CN en la amida II. En el pico 1035.75  $\text{cm}^{-1}$  se atribuye el estiramiento (C – O – C) (Choudhary et al., 2019).

Los espectros de IR obtenidos a diferentes concentraciones (0.030g, 0.060g y 0.120 g) en esta investigación fueron cotejados con diferentes resultados conseguidos por diversos autores (Guerra Moran, 2022) y (Zegarra Urquia, 2015), obtuvieron espectros similares, los cuales permitieron comparar la capacidad que posee el nanocomposites de quitosano

funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc, las cuales fueron sintetizadas por el método de sol-gel, permitiendo obtener resultados favorables en esta investigación. De acuerdo a diversos autores en referencia a los espectros comparados se visualizan picos similares tanto del nanocomposites de quitosano funcionalizados con NPs ZnO, debido a esto en los Figura 6, Figura 7, Figura 8 Figura 9 y Figura 10, poseen diferentes señales de picos relevantes debido a de poseen similares grupos funcionales, permitiendo comparar el blanco (quitosano) y las NPs ZnO con los que son los espectros de los Figura 8 Figura 9 y Figura 10 debido a que estos espectros poseen unificado tanto el quitosano como las NPs ZnO, permitiendo comparar las tres concentraciones (0,030 g, 0,060g y 0,120g), se determinó que los tres poseen picos similares, dando a conocer que unos picos son más pronunciados para la determinación de óxido de zinc y quitosano en los estudios realizados. Se determinó que esta investigación nos dio resultados favorables, ya que en cada pico analizado se presentaron estiramientos de los diferentes grupos funcionales, esto permitió comparar con diversas investigaciones realizadas tanto al quitosano como a las nanopartículas de óxido de zinc con la cual se llevó a cabo en esta investigación

De acuerdo a estos resultados varios autores concuerdan que el método de espectroscopía infrarrojo tiene una menor variación en las bandas de absorción, sin embargo, los Figura 8 Figura 9 y Figura 10 de los espectros de FTIR del quitosano y NPs-ZnO, poseen bandas de absorción características entre  $3229.81$ ,  $3266.27-3278,49$  y  $3246.5167\text{ cm}^{-1}$  de acuerdo con la literatura estos picos corresponden a vibraciones de estiramiento en los grupos OH (García García, 2022). En  $2889.03$ ,  $2886.17$  y  $2882.15\text{ cm}^{-1}$  se presentan vibraciones atribuida a los grupos  $\text{CH}_2$ , debido a que otros autores lo citan (Deshpande et al., 2017). En  $1648.25$ ,  $1646.69$  y  $1648.35\text{ cm}^{-1}$  en los tres espectros se visualizan picos similares, ya que no varían podemos encontrar bandas de onda que correspondiente de vibraciones de flexión que se dan en enlaces N-H y a los estiramientos dados en los grupos amidas y

aminas (García García, 2022). De acuerdo con Cusihamán Noa et al., (2018) señalan que en el pico 1559.29, 1560.03 y 1559,35  $\text{cm}^{-1}$  se encuentra la presencia de vibraciones en los enlaces C=O del grupo amida (García García, 2022). En 1411.27, 1410,79 y 1413,71  $\text{cm}^{-1}$  se identifican picos asociados a  $\text{CH}_2$ . Además, los picos que se encuentran en el rango de 1035.23, 1034.40 y 1035.75  $\text{cm}^{-1}$  indican la presencia de grupos amino libres ( $-\text{NH}_2$ ) de la Glucosamina, según lo señalado por los autores (García García, 2022).

### *2.8.2 Difracción de Rayos-X (DRX).*

El patrón de difracción de rayos X de cristalinidad (XRD) de las biopelículas se midió empleando la metodología descrita por Xu (2005) con algunas modificaciones utilizando un difractómetro de rayos X Rigaku D/max-2500 (Rigaku Corporation, Tokio, Japón) con radiación de Cu-Ka ( $\lambda = 1.542 \text{ \AA}$ ) a 40 kV y 250 mA. Los patrones de difracción de rayos X se registraron a temperatura ambiente en el rango  $2\theta$  de 3-50 °C, a una velocidad de 2°C/min. La cristalinidad de las películas se determinó a partir de la relación de las áreas de los picos de difracción al área de todo el patrón de difracción después de restar los patrones de fondo amorfo (Escobar Guadarrama, 2020).

#### *Difracción de Rayos-X (DRX) de NPs ZnO*

En el difractograma de NPs-ZnO, se observan picos bien definidos a  $2\theta = 31^\circ, 34^\circ, 36^\circ, 48^\circ, 56^\circ, 63^\circ$  y  $68^\circ$ , respectivamente, correspondientes a las difracciones de los planos (100), (002), (101), (102), (110), (103) y (112) típicos de ZnO en la estructura cristalina tipo Wurtzita. El tamaño medio del cristalito de ZnO, estimado por comparación tomando dos de los máximos picos de difracción, respectivamente según la Tabla 2.

Los análisis de los difractogramas de las nanopartículas de ZnO muestran que los resultados del estudio son similares a los obtenidos por el software de comparación. Sin embargo, se observa cierta variabilidad en los datos, indicada por pequeños picos alrededor del difractogramas. Por otro lado, el difractograma del software presenta una curva más

suave y un pico menor en comparación con esta investigación, lo que sugiere una concentración diferente de un componente o una respuesta distinta en las nanopartículas bajo condiciones experimentales diferentes. Esta disparidad en la intensidad y forma de los picos entre los difractogramas proporciona información valiosa sobre la composición y propiedades de las nanopartículas de ZnO en distintas condiciones, lo que es esencial para comprender su comportamiento y posibles aplicaciones en diversos campos.

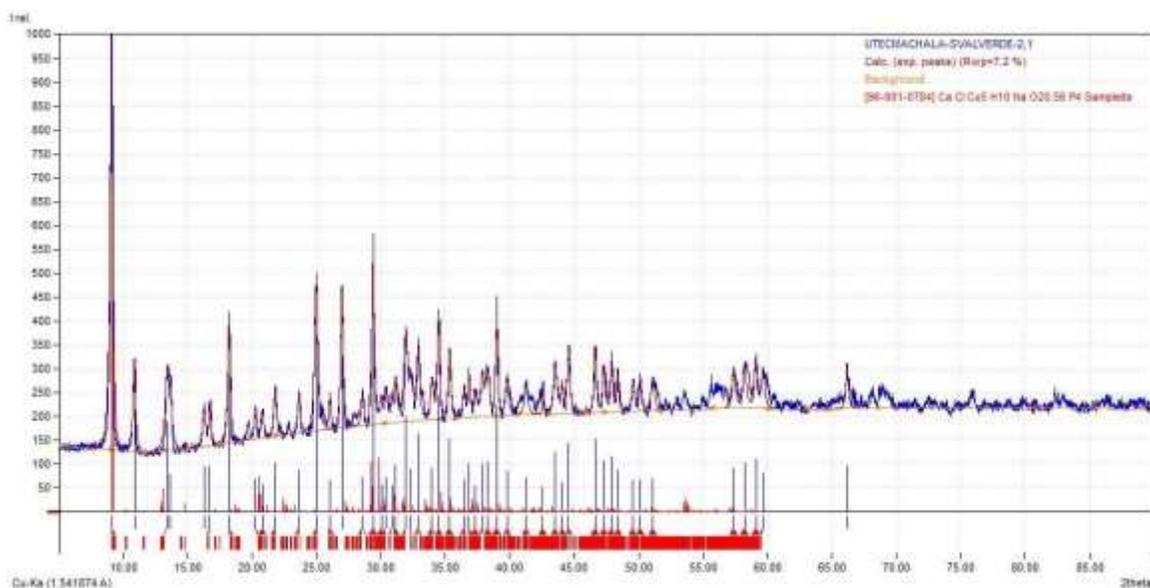


Figura 11: Difracción de Rayos X de NPs ZnO

*Difracción de Rayos-X (DRX) de NPs ZnO-Quitano (Blanco, 0.030g, 0.060g, 0.120g)*

Según el análisis de los difractogramas de NPs ZnO funcionalizados con quitosano en tres concentraciones diferentes (Blanco, 0.030g, 0.060g, 0.120g), se observa que los resultados obtenidos no cumplen con las expectativas planteadas. Una posible razón de este desempeño insatisfactorio podría ser la falta de homogeneidad en las muestras analizadas. Es crucial que las muestras sean representativas y consistentes para lograr resultados reproducibles. Es fundamental garantizar la homogeneidad de las muestras, especialmente en el segundo caso, para evitar la segregación por tamaño, que puede depender del tamaño máximo de las partículas, su distribución de tamaños y la presión aplicada durante la

aglomeración o compactación del polvo, como se detalla en otras secciones. (Serrano, 2016).

Otro factor que podría haber contribuido a estos resultados es la colocación de la probeta durante la técnica de difracción, un aspecto crítico. Para obtener resultados precisos y reproducibles, es esencial cumplir con dos condiciones fundamentales: asegurar que la prolongación del eje de giro del goniómetro esté dentro del plano superficial de la muestra y que el plano medio del haz de rayos X incluya la prolongación del eje de giro del goniómetro. (Jayachandran et al., 2021).

### **3. CONCLUSIONES**

Al término de esta investigación se plantean las siguientes conclusiones:

- Se sintetizaron NPs ZnO, demostrando la eficacia y versatilidad del método de coprecipitación, lo que sugiere que el método de resultó eficaz, sencillo, rápido y de bajo costo para la síntesis de NPs ZnO.
- La aplicación del método de sol -gel permitió la obtención del nanocomposites de quitosano funcionalizados con NPs ZnO demostrando la efectividad del proceso para la obtención de los nanocomposites con características físicas óptimas.
- La mayor capacidad de inhibición de E. Coli se observó en los nanocomposites con 0.030 g de NPs ZnO, mientras que los nanocomposites con 0.060 y 0.12 g de NPs ZnO presentaron menor capacidad inhibitoria frente al microorganismo, mientras que el blanco de referencia sintetizado a base de Quitosano presento una disminución de la capacidad inhibitoria en comparación con los nanocomposites funcionalizados con NPs ZnO.
- Los análisis de FTIR y DRX permitieron la caracterización de nanocomposites de quitosano funcionalizados con nanopartículas de óxido de zinc.

### **4. RECOMENDACIONES**

- Realizar la evaluación antimicrobiana con diferentes microorganismos para comprender mejor cómo diferentes concentraciones de NPs ZnO afectan la actividad antimicrobiana en biopelículas de quitosano.
- Se recomienda estudiar la estabilidad de las biopelículas de nanocomposite de quitosano funcionalizado con NPs ZnO.
- Realizar microscopia electrónica de barrido para determinar la estructura de la biopelícula.

## 5. BIBLIOGRAFÍA

- Ahón-Ríos, K. A., Rengifo-Méndez, F., Iglesias-Osores, S., & Mercado-Martínez, P. E. (2022). Actividad antibacterial de nanopartículas de óxido de zinc sobre *Listeria monocytogenes* ATCC 7644. *Revista del Cuerpo Médico Hospital Nacional Almanzor Aguinaga Asenjo*, 15(1), 71-75. <https://doi.org/10.35434/rcmhnaaa.2022.151.1032>
- Albarracín-Hernández, W., & Bohórquez, N. V. (2018). *INCLUSIÓN DE COMPUESTOS QUÍMICOS EN MATRICES POLIMÉRICAS DE QUITOSANO Y SU EFECTO EN LAS PROPIEDADES DE PELÍCULA*.
- Aquino Granados, P. A. (2016). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de zinc obtenidas por el método de precipitación para su aplicación en pintura esmalte comercial* [Universidad Nacional Mayor de San Marcos]. <https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/5656>
- Ayala Valencia, G. (2015). Efecto antimicrobiano del quitosano: Una revisión de la literatura. *Scientia Agroalimentaria*, 2, 32.
- Cardona Trujillo, V., & Padilla Quintero, B. C. (2013). *Preparación y caracterización fisicoquímica y estructural de un gel conductor a base de quitosano [recurso electrónico]*. <https://bibliotecadigital.univalle.edu.co/entities/publication/b046806e-246d-410b-8308-26b29e6e5ba1>
- Carrasquilla-Batista, A., Chacón-Rodríguez, A., Núñez-Montero, K., Gómez-Espinoza, O., Valverde, J., Guerrero-Barrantes, M., Carrasquilla-Batista, A., Chacón-Rodríguez, A., Núñez-Montero, K., Gómez-Espinoza, O., Valverde, J., & Guerrero-Barrantes, M. (2016). Regresión lineal simple y múltiple: Aplicación en la predicción de variables naturales relacionadas con el crecimiento microalgal. *Revista Tecnología en Marcha*, 29, 33-45. <https://doi.org/10.18845/tm.v29i8.2983>
- Carroll, J., Flinn, B., & Dale, C. (2022, julio 28). *Tecnología y análisis de infrarrojos por transformada de Fourier (FTIR)*. J.S. Held.

<https://es.jsheild.com/perspectivas/articulos-4xp/tecnología-y-análisis-deinfrarrojos-por-transformada-de-fourier>

- Castro-León, G., Baquero-Quinteros, E., Loor, B. G., Alvear, J., Montesdeoca Espín, D. E., De La Rosa, A., & Montero-Calderón, C. (2020). Waste to Catalyst: Synthesis of Catalysts from Sewage Sludge of the Mining, Steel, and Petroleum Industries. *Sustainability*, 12(23), 9849. <https://doi.org/10.3390/su12239849>
- Choudhary, R. C., Kumari, S., Kumaraswamy, R. V., Pal, A., Raliya, R., Biswas, P., & Saharan, V. (2019). Characterization Methods for Chitosan-Based Nanomaterials. En R. Prasad (Ed.), *Plant Nanobionics: Volume 1, Advances in the Understanding of Nanomaterials Research and Applications* (pp. 103-116). Springer International Publishing. [https://doi.org/10.1007/978-3-030-12496-0\\_5](https://doi.org/10.1007/978-3-030-12496-0_5)
- Contreras Zarazúa, I. Q. D. N. (2020). *Desarrollo de un compuesto de quitosano con PGMA con refuerzo de nanopartículas de Ag soportadas en ZnO* [UNIVERSIDAD DE GUANAJUATO]. [http://www.repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/2329/1/NUA%20310290\\_Diana%20Nelly%20Contreras%20Zarazua.pdf](http://www.repositorio.ugto.mx/bitstream/20.500.12059/2329/1/NUA%20310290_Diana%20Nelly%20Contreras%20Zarazua.pdf)
- Cortez, P. M. (2022). *ESPECTROSCOPIA DE INFRARROJO PARA TODOS*.
- Cusihuamán Noa, S., Talavera Núñez, M. E., Arenas Chávez, C., Pacheco Salazar, D. G., & Vera Gonzales, C. (2018). Caracterización por técnicas espectroscópicas del OCarboximetilquitosano obtenido por derivatización del quitosano. *Revista de la Sociedad Química del Perú*, 84(2), 204-216.
- Deshpande, P., Dapkekar, A., Oak, M. D., Paknikar, K. M., & Rajwade, J. M. (2017). *Zinc complexed chitosan/TPP nanoparticles: A promising micronutrient nanocarrier suited for foliar application*. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.02.061>
- Emilia, C. M. (2019). *OBTENCIÓN Y CARACTERIZACIÓN DE QUITOSANO Y PELÍCULAS QUITOSANO- GLICEROL*.

- Escobar Guadarrama, J. A. (2020). *Elaboración y caracterización de biopelículas elaboradas con quitosano y adicionadas con partículas de almidón*.  
<http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/109321>
- Esquivel Rodríguez, L. A., & Cancino González, M. B. N. (2017). *Estudio de las propiedades antimicrobianas de nanopartículas de ZnO y ZnO/Ag sintetizadas por el método de reacción en microemulsión* [Centro de Investigación en Materiales Avanzados S. C]. <http://cimav.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1004/2317>
- Fernández, I. K. C. (2013). *Síntesis y Caracterización de Nanopartículas Magnéticas* [Centro de Investigaciones en Óptica].  
<https://cio.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1002/559/1/15611.pdf>
- Galindo-Guzmán, A. P., Fortis-Hernández, M., De La Rosa-Reta, C. V., ZermeñoGonzález, H., Galindo-Guzmán, M., Galindo-Guzmán, A. P., Fortis-Hernández, M., De La Rosa-Reta, C. V., Zermeño-González, H., & Galindo-Guzmán, M. (2022). Síntesis química de nanopartículas de óxido de zinc y su evaluación en plántulas de Lactuca sativa. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 13(SPE28), 299-308.  
<https://doi.org/10.29312/remexca.v13i28.3284>
- García García, D. J. (2022). *Bionanocomposito de quitosano y ZnO nanoestructurado y su funcionalidad en la preservación de fresas*.  
<https://hdl.handle.net/20.500.12371/16964>
- García, M. A. D., & Valdivia, R. M. L. (2013). *Actividad Antibacteriana del Extracto Etanólico de hojas y tallo de Clibadium surinamense L. (Huaca) mediante el Método de difusión en disco (Kirby-Bauer)* [UNIVERSIDAD NACIONAL DE LA AMAZONÍA PERUANA].  
[https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/4286/Moises\\_Tesis\\_Titulo\\_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y](https://repositorio.unapiquitos.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12737/4286/Moises_Tesis_Titulo_2014.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

- Gharpure, S., Yadwade, R., & Ankamwar, B. (2022). Non-antimicrobial and Nonanticancer Properties of ZnO Nanoparticles Biosynthesized Using Different Plant Parts of *Bixa orellana*. *ACS Omega*, 7(2), 1914-1933.  
<https://doi.org/10.1021/acsomega.1c05324>
- Guerra Moran, Bach. J. W. (2022). *TESIS - GUERRA MORAN.pdf* [UNIVERSIDAD NACIONAL DE TUMBES].  
<https://repositorio.untumbes.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12874/2658/TESIS%20-%20GUERRA%20MORAN.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Higiene ambiental. (2017, julio 3). *El CSIC desarrolla un nuevo material antimicrobiano basado en óxido de zinc | Higiene Ambiental*.  
<https://higieneambiental.com/productos-biocidas-y-equipos/el-csic-desarrolla-unnuevo-material-antimicrobiano-basado-en-oxido-de-zinc>
- Jayachandran, A., T.r., A., & Nair, A. S. (2021). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using *Cayratia pedata* leaf extract. *Biochemistry and Biophysics Reports*, 26, 100995. <https://doi.org/10.1016/j.bbrep.2021.100995>
- Khan, F., Pham, D. T. N., Oloketuyi, S. F., Manivasagan, P., Oh, J., & Kim, Y.-M. (2020). Chitosan and their derivatives: Antibiofilm drugs against pathogenic bacteria. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 185, 110627.  
<https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2019.110627>
- López Aguila, J. L., Dias Filho, J. H., Paniago, R., Pfannes, H. D.-, & Balzuweit, K. (2014). Progresos en la preparación de nanopartículas ... · es. El quitosano que es un polisacárido que posee sitios catiónicos (grupos amina) que pueden actuar bien en la complejación—[PDF Document]. *fdocuments.ec*, 10(2).  
<https://fdocuments.ec/document/progresos-en-la-preparacion-de-nanoparticulases-el-quitosano-que-es.html>
- López Zapata, L. N., Mazonas Vanegas, R. V., & Romero Rodríguez, B. Y. (2023).

- Síntesis de nanopartículas de Óxido de Zinc a través de coprecipitación en Metanol* [Universidad ECCI]. <https://repositorio.ecci.edu.co/handle/001/3525>
- Lozano López, J. A. (2020). "*Compósito de SiO<sub>2</sub>/Quitosano*" *prospecto para uso como excipiente avanzado para la administración de fármacos por vía oral* [masterThesis]. <https://repositorio.ipicyt.edu.mx//handle/11627/5478>
- Martín Gil, Dr. J., & Méndez Rojas, Dr. M. Á. (2016). Biocomposites antifúngicos de base quitosano para la protección de especies agrícolas, forestales y de madera. *Research and Reviews in Materials Science and Chemistry*, 6, 25-40.
- Martínez Trujillo, A., & García-Rivero, M. (2020). Review article: Environmental applications of immobilized microorganisms. *Revista Mexicana de Ingeniera Química*, 11, 55-73.
- Martínez-Trujillo, M. A., & García-Rivero, M. (2020). Review article: Environmental applications of immobilized microorganisms. *Revista Mexicana de Ingeniera Química*, 11(1), 55-73.
- Matica, M. A., Aachmann, F. L., Tøndervik, A., Sletta, H., & Ostafe, V. (2019). Chitosan as a Wound Dressing Starting Material: Antimicrobial Properties and Mode of Action. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(23), Article 23. <https://doi.org/10.3390/ijms20235889>
- Matos González, C. A. (2020). *Revisión de literatura: Biopelículas a base de quitosano como potencial aplicación en empaque de alimentos*. Escuela Agrícola Panamericana.
- Mendes, C. R., Dilarri, G., Forsan, C. F., Sapata, V. de M. R., Lopes, P. R. M., de Moraes, P. B., Montagnolli, R. N., Ferreira, H., & Bidoia, E. D. (2022). Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens. *Scientific Reports*, 12(1), Article 1. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06657-y>
- Millán Mora, N. (2021). *Efecto del recubrimiento de nanopartículas de Plata, Cobre y Óxido de Zinc en PMMA de uso odontológico estudio in vitro*.

<http://ri.uaemex.mx/handle/20.500.11799/111744>

- Morales, F., Sagredo, V., Torres, T., & Márquez, G. (2019). *Caracterización de nanopartículas de magnetita sintetizadas por el método de coprecipitación*. 40. [https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/162186/CONICET\\_Digital\\_Nro.167399eb-3aea-4eea-9690-f6057027c886\\_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y](https://ri.conicet.gov.ar/bitstream/handle/11336/162186/CONICET_Digital_Nro.167399eb-3aea-4eea-9690-f6057027c886_A.pdf?sequence=2&isAllowed=y)
- Nanocompuestos poliméricos con grafeno: El futuro de la industria - Graphenemex*. (2022, junio 22). <https://www.graphenemex.com/en/solutions-withgraphene/polymers/polymeric-compounds/polymeric-nanocomposites-withgraphene-the-future-of-the-industry/>
- Ochoa Contreras, R. (2017). *CARACTERIZACIÓN MINERALÓGICA DE MATERIAL PARTICULADO EN HERMOSILLO, SONORA, MÉXICO, UTILIZANDO LA TÉCNICA DE DIFRACCIÓN DE RAYOS X*. <http://148.225.114.121/bitstream/unison/500/1/ochoacontrerasrobertom.pdf>
- Omar, A., Wright, J. B., Schultz, G., Burrell, R., & Nadworny, P. (2017). Microbial Biofilms and Chronic Wounds. *Microorganisms*, 5(1), Article 1. <https://doi.org/10.3390/microorganisms5010009>
- OMS. (2020, julio 31). *Resistencia a los antimicrobianos*. Datos y cifras. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-losantibi%C3%B3ticos>
- Organización Mundial de Salud. (2021, noviembre 17). *Resistencia a los antimicrobianos*. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
- Ortega-Peña, S., & Hernández-Zamora, E. (2019). Biopelículas microbianas y su impacto en áreas médicas: Fisiopatología, diagnóstico y tratamiento. *Boletín Médico del Hospital Infantil de México*, 75(2), 665. <https://doi.org/10.24875/BMHIM.M18000012>
- Picazzo Hentschel, N., & Jasso, L. (2019). *Propiedades antimicrobianas de*

*Nanopartículas de ZnO para aplicaciones antisépticas.*

<https://doi.org/10.13140/RG.2.2.28385.45920>

Raghupathi, K. R., Koodali, R. T., & Manna, A. C. (2011). Size-dependent bacterial growth inhibition and mechanism of antibacterial activity of zinc oxide nanoparticles.

*Langmuir: The ACS Journal of Surfaces and Colloids*, 27(7), 4020-4028.

<https://doi.org/10.1021/la104825u>

Ramirez, C., Delgado, E., & Andrade, A. (2016). Determinación del grado de desacetilación de quitosana mediante titulación potenciométrica, FTIR y Raman.

*Journal CIM*, 4, 769-776.

Ramírez-Benítez, J. E., Arjona Sabido, Raúl. A., Caamal Velázquez, J. H., Rodríguez Ávila, N. L., Solís Pereira, S. E., & Lizama Uc, G. (2019). Inhibición del crecimiento y modificación genética de *Phytophthora capsici* usando quitosano de bajo grado de polimerización. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(1), 12-17.

<https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.03.003>

Rd., D. (2020, octubre 20). ¿Qué es la difracción de rayos X (XRD) y por qué es tan importante para la industria? *Espectrometros*. <https://espectrometria.com.mx/quees-la-difraccion-de-rayos-x-xrd-y-por-que-es-tan-importante-para-la-industria/>

Romero–Serrano, A., & Pereira, J. (2020). Estado del arte: Quitosano, un biomaterial versátil. Estado del Arte desde su obtención a sus múltiples aplicaciones. *Revista INGENIERÍA UC*, 27(2), 118-135.

Royero Montejó, C. J. (2021). *Uso de biomasa residual para la obtención de quitosano con posible aplicación en la liberación controlada del Ibuprofeno: Estudio de caso* [Master thesis, Universidad Santo Tomás].

<https://repository.usta.edu.co/handle/11634/37395>

Rozman, N. A. S., Tong, W. Y., Leong, C. R., Tan, W. N., Hasanolbasori, M. A., & Abdullah, S. Z. (2019). *Potential Antimicrobial Applications of Chitosan*

- Nanoparticles (ChNP)*. 29(7), 1009-1013. <https://doi.org/10.4014/jmb.1904.04065>
- Sánchez Cepeda, Á. P., Vera-Graziano, R., Muñoz-Prieto, E. de J., Gómez-Pachón, E. Y., Bernad-Bernad, M. J., & Maciel-Cerda, A. (2016). Preparación y caracterización de membranas poliméricas electrohiladas de policaprolactona y quitosano para la liberación controlada de clorhidrato de tiamina. *Ciencia en Desarrollo*, 7(2), 133151.
- Sauceda Oloño, P. Y. (2017). *Encapsulamiento de nanopartículas de óxido de hierro tipo núcleo: Coraza en quitosana como posible agente teranóstico* [SAUCEDA OLOÑO, PERLA YAZMIN].  
<http://repositorioinstitucional.uson.mx/handle/20.500.12984/6191>
- Saucedo-Plascencia, M. D., Martínez, S. J. G., Zamudio-Ojeda, A., & Castillo-Romero, A. (2023). Nanopartículas de quitosano: Una prometedora estrategia para combatir la resistencia a antimicrobianos. *Ciencia Latina Revista Científica Multidisciplinar*, 7(1), 9562-9575. [https://doi.org/10.37811/cl\\_rcm.v7i1.5078](https://doi.org/10.37811/cl_rcm.v7i1.5078)
- Serrano, A. S. (2016). *Nanopartículas de óxido de zinc para la mejora de dispositivos de almacenamiento de energía* [UNIVERSIDAD POLITÉCNICA DE CARTAGENA].  
<https://repositorio.upct.es/xmlui/bitstream/handle/10317/6221/tfm-sannan.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Tarabay, A. S. G. (2017). *DISEÑO DE UN RECUBRIMIENTO COMESTIBLE ANTIMICROBIANO UTILIZANDO QUITOSANO Y PROTEÍNA DE CHÍCHARO ENTRECRUZADA CON TRANSGLUTAMINASA*.  
<https://ring.uaq.mx/handle/123456789/1260>
- Tusa-Torres Darwin, D., Gualpa-Jácome, G., & Echeverría-Llumipanta, I. (2021). Indicadores de resistencia antimicrobiana en la unidad de cuidados intensivos en un hospital de Quito, Ecuador. *INSPIPILIP*, 1-7.  
<https://doi.org/10.31790/inspilip.v5i2.43>

Valverde Durán, S. A. (2019). *Síntesis y aplicación de quitosano/manganeso-ferrita para la recuperación de neodimio en solución acuosa* [TRABAJO DE TITULACIÓN].

UNIVERSIDAD TÉCNICA PARTICULAR DE LOJA.

Varela Thiermann, R. I. (2014). *Síntesis mediante Sol-Gel de películas delgadas de sílice con nanopartículas de cobre* [Universidad de Chile].

<https://repositorio.uchile.cl/handle/2250/130664>

Vázquez Olmos, A. R., Vega Jiménez, A. L., & Paz Díaz, B. (2018). Mecanosíntesis y efecto antimicrobiano de óxidos metálicos nanoestructurados. *Mundo Nano*.

*Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología*, 11(21), 29.

<https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2018.21.62545>

Villagrán Ocadiz, Ing. M. A. (2018). *“Propiedades de ZnO nanoestructurado obtenido por la oxidación térmica de capas de zinc depositadas por CSS”* [CENTRO DE

INVESTIGACION Y DE ESTUDIOS AVANZADOS DEL INSTITUTO

POLITECNICO NACIONAL].

<https://repositorio.cinvestav.mx/bitstream/handle/cinvestav/2854/SSIT0015640.pdf>

?sequence=1

Visnuvinayagam, S., Murthy, L. N., Parvathy, U., Jeyakumari, A., Sivaraman, G. K., &

Karthikeyan, D. (2021). Food grade zinc oxide bulk particle composite can replace the toxic zinc oxide nano composite towards the control of pathogenic and spoilage bacteria. *FEMS Microbiology Letters*, 368(1), fnaa210.

<https://doi.org/10.1093/femsle/fnaa210>

Wright, C. J., Burns, L. H., Jack, A. A., Back, C. R., Dutton, L. C., Nobbs, A. H., Lamont, R. J., & Jenkinson, H. F. (2013). Microbial interactions in building of communities.

*Molecular Oral Microbiology*, 28(2), 83-101. <https://doi.org/10.1111/omi.12012>

- Xie, Y., He, Y., Irwin, P. L., Jin, T., & Shi, X. (2011). Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*. *Applied and Environmental Microbiology*, *77*(7), 2325-2331. <https://doi.org/10.1128/AEM.02149-10>
- Xing, K., Zhu, X., Peng, X., & Qin, S. (2015). Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: A review. *Agronomy for Sustainable Development*, *35*(2), 569-588. <https://doi.org/10.1007/s13593-014-0252-3>
- Zegarra Urquia, C. L. (2015). Síntesis y caracterización de nanopartículas de quitosano—Poliácido aspártico conteniendo isoniazida para el tratamiento de tuberculosis. *Repositorio de Tesis - UNMSM*.  
<https://cybertesis.unmsm.edu.pe/handle/20.500.12672/4162>

## Anexos

### Anexo 1

Con	Rep. 1	Rep. 2	Rep. 3		Promedio
0	6,01	6,02		12,03	6,02
0.030 g	7,36	7,69	8,28	23,33	7,78
0.060 g	7,44	7,81	7,11	22,35	7,45
0.120 g	7,57	6,72	7,39	21,69	7,23

Tabla 1: Concentraciones de los halos de 0,030g, 0,060g y 0,120g

### Anexo 2

Muestra	B obs. [°20]	B. std. [°20]	Peak pos. [°20]	B struct. [°20]	Crystallite size[Å]
1531200470401	0.160	0.058	31.768	0.102	810
1531200470401	0.168	0.052	36.254	0.116	721

Estándar: NIST SRM650b, LaB6, picos a 30,42° y 37, 48°

Tabla 2: Tamaño de los cristalitos de ZnO

### Anexo 3

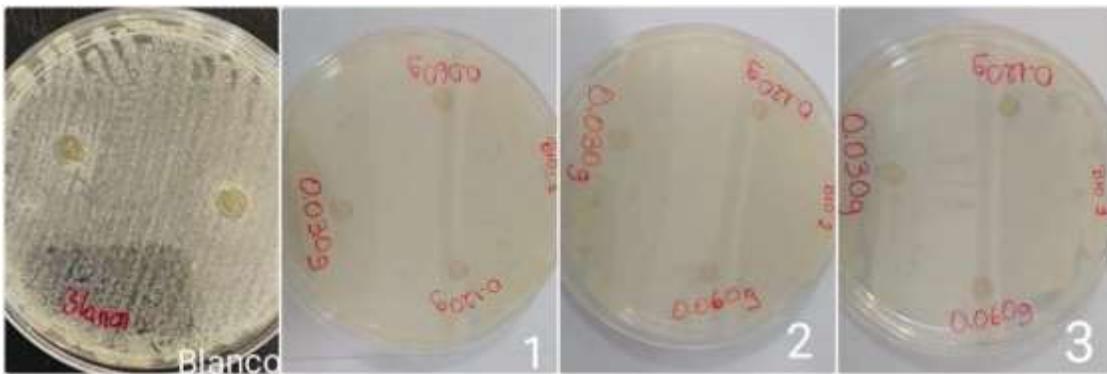


Figura 12: Antibiogramas de biopelículas NPs ZnO frente a *E. coli*.

#### Anexo 4



*Figura 13: Preparación del Agar*

#### Anexo 5



*Figura 14: Siembra de nanopartículas en tres concentraciones*

#### Anexo 6



*Figura 15: Medición del halo de Inhibición de 0,120 gr*

## Anexo 7

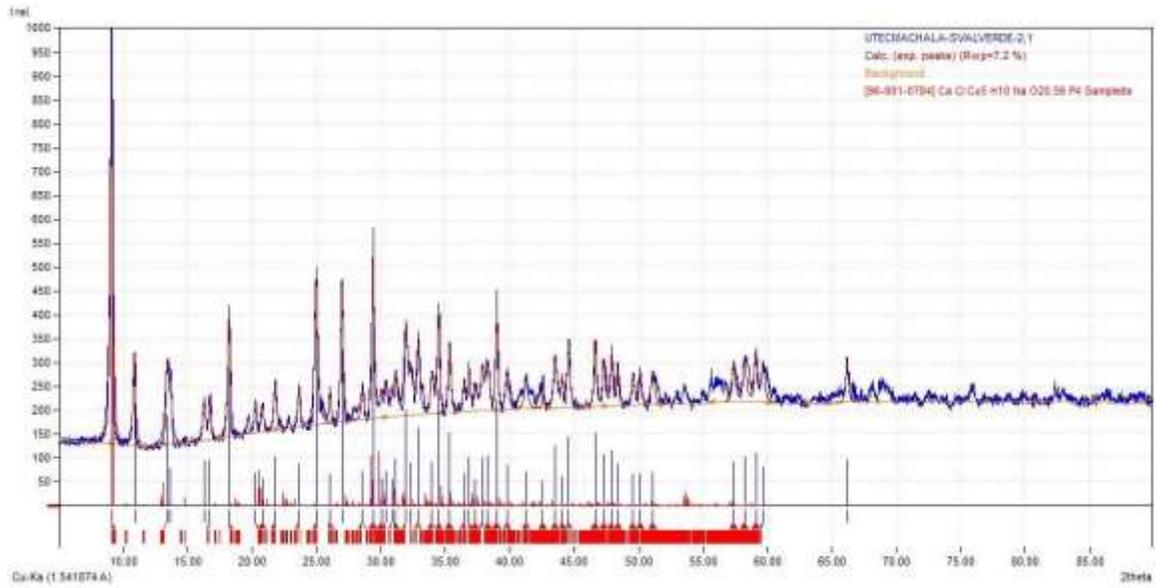


Figura 16: Difracción de Rayos X de NPs ZnO

## Anexo 8

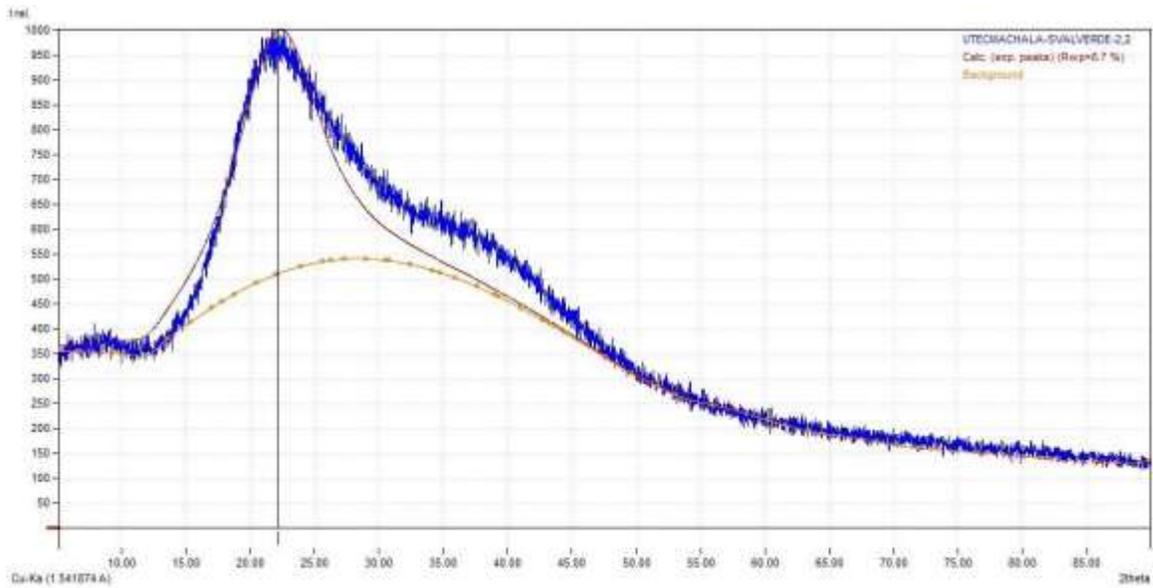


Figura 17: Difractograma de nanopartículas de quitosano funcionalizado con NPs ZnO de 0.030 g

## Anexo 9

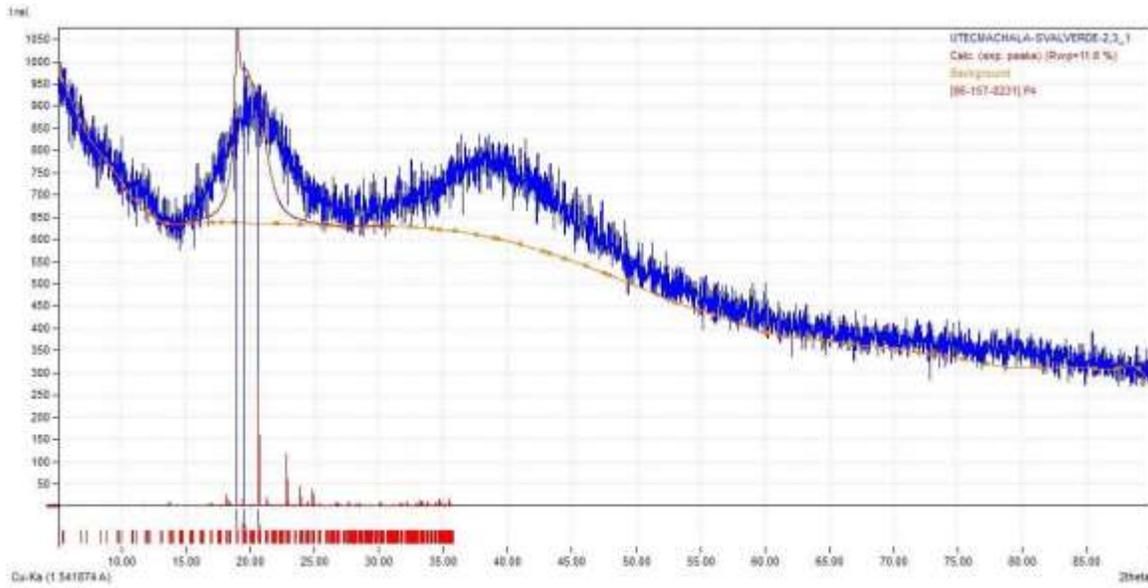


Figura 18: Difractograma de nanopartículas de quitosano funcionalizado con NPs ZnO de 0.060 g

## Anexo 10

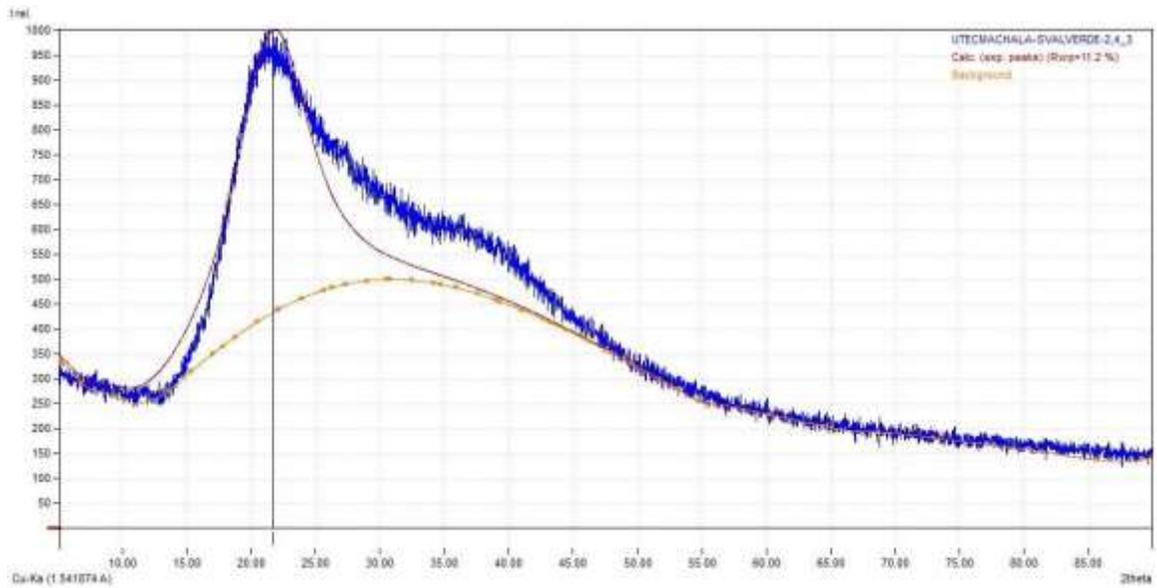


Figura 19: Difractograma de nanopartículas de quitosano funcionalizado con NPs ZnO de 0.120 g

## Anexo 11

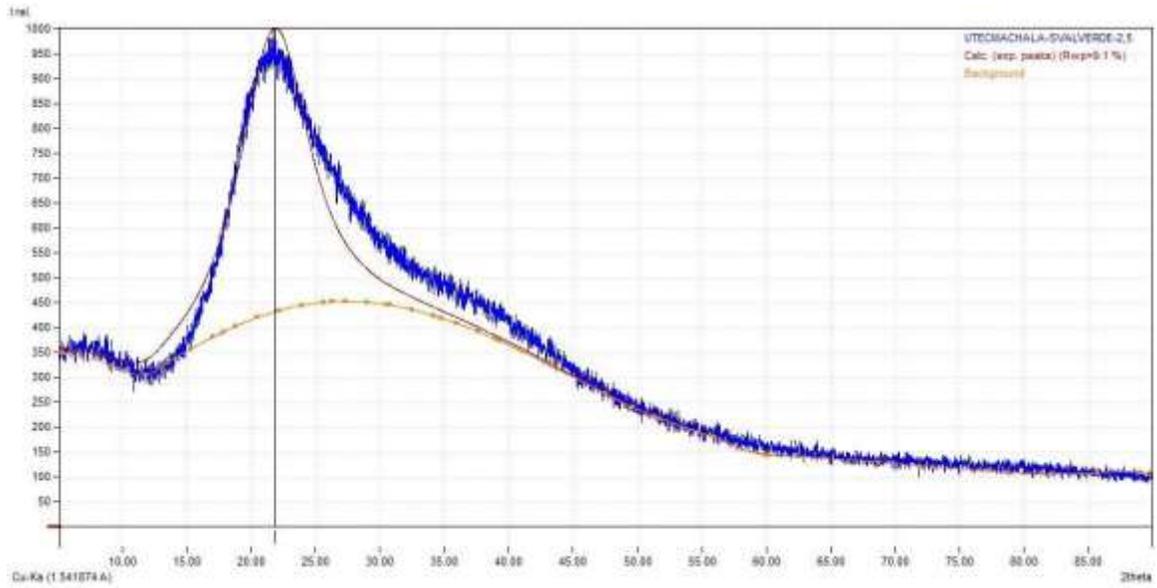


Figura 20: Difractograma de NPs ZnO de Blanco.

## Anexo 12

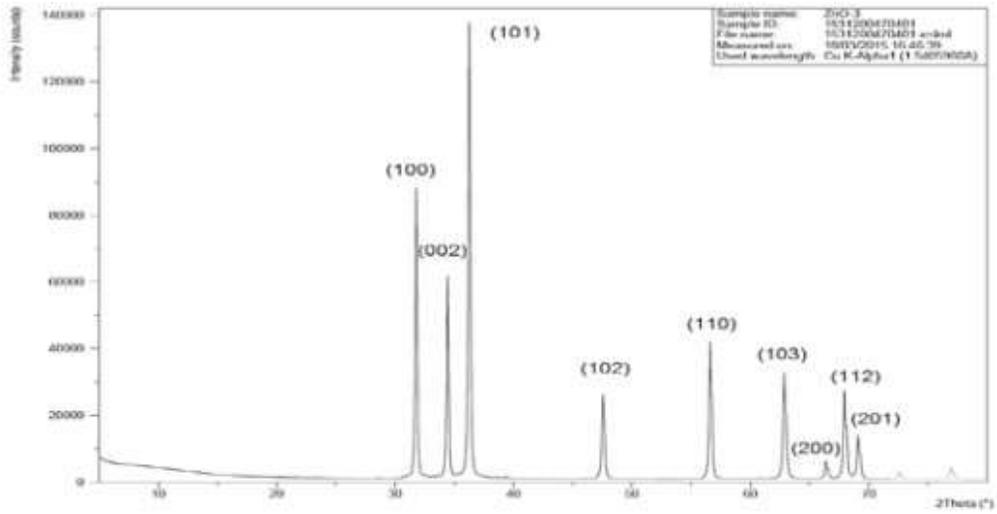


Figura 21: Difractómetro de las NPs-Zn 1