

UNIVERSIDAD DE SONORA

Facultad Interdisciplinaria de Ingeniería

Departamento de Polímeros y Materiales

Posgrado en Ciencia de Materiales

Tesis

**Propiedades Físicas, Químicas y
Bacteriológicas de Materiales
Nanoestructurados, Sintetizados en Zeolita y
Halogenuros Alcalinos como Matriz.**

Que para obtener el grado de:
Doctorado en Ciencia de Materiales

Presenta:

Elda Iveth Torres Flores

Dirigido por:

Dra. Judith Celina Tánori Córdova

Dr. Mario Flores Acosta

Universidad de Sonora

Repositorio Institucional UNISON



**"El saber de mis hijos
hará mi grandeza"**

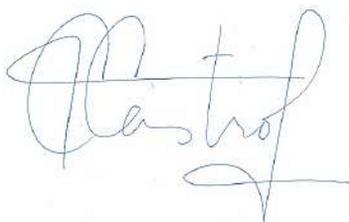


Excepto si se señala otra cosa, la licencia del ítem se describe como openAccess

DECLARACIÓN INSTITUCIONAL

La información generada en esta tesis es propiedad intelectual de la Universidad de Sonora y del Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales (DIPM). Se permiten y agradecen las citas breves del material contenido en esta tesis sin permiso especial del director de tesis, siempre y cuando se dé el crédito correspondiente. Para la reproducción parcial o total de la tesis con fines académicos, se deberá contar con la autorización escrita del Director de la Tesis.

La publicación en comunicaciones científicas o de divulgación popular de los datos contenidos en esta tesis, deberá dar los créditos al DIPM, previa autorización escrita del manuscrito en cuestión del director de tesis.

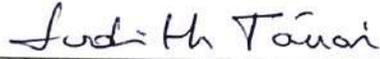
A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Castro', with a stylized flourish at the end.

Dra. Teresa del Castillo Castro

Jefe del Departamento

APROBACIÓN DE TESIS

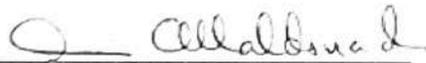
Los miembros del jurado designado para revisar la tesis de doctorado de la M.N. Elda Iveth Torres Flores, la han encontrado satisfactoria y recomiendan que sea aceptada como requisito parcial para obtener el grado de Doctora en Ciencia de Materiales.



Dra. Judith Celina Tánori Córdova
Presidente



Dr. Marió Flores Acosta
Secretario



Dr. Amir Darío Maldonado Arce
Sinodal



Dr. José Manuel Cortez Valadez
Sinodal



Dr. José Carmelo Encinas Encinas
Sinodal



Dr. Ángel Ramón Hernández Martínez
Sinodal Externo

DEDICATORIA

A mis padres Luis Alfonso Torres Jiménez y Elda Flores Acosta.

A mis hermanos Laura Daniela Torres Flores y Luis Alfonso Torres Flores.

A mi esposo Juan Carlos Ochoa Lizárraga.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) por el otorgamiento de una Beca (CVU No. 784065) durante el periodo del posgrado para poder continuar con mis estudios.

Al Departamento de Investigación en Polímeros y Materiales (DIPM) de la Universidad de Sonora (UNISON) por el aporte de todo lo necesario para realizar el presente proyecto.

Al Laboratorio de Semiconductores del Departamento de Investigación en Física (DIFUS) de la Universidad de Sonora por el apoyo durante los procesos de síntesis.

Al Laboratorio de Microbiología del Departamento de Ciencias Químico-Biológicas de la Universidad de Sonora, y a la Dra. Maritza Lizeth Álvarez Ainza, por el apoyo otorgado para la evaluación microbiológica de los materiales obtenidos.

A mi directora, la Dra. Judith Tánori Córdova.

A mi co-director, el Dr. Mario Flores Acosta, por la orientación brindada en todo el proyecto.

A mis sinodales.

ÍNDICE

	Página
LISTA DE FIGURAS	vii
LISTA DE TABLAS	xii
RESUMEN	1
ABSTRACT	2
CAPÍTULO 1	3
1.1 INTRODUCCIÓN	3
1.2 HIPÓTESIS	5
1.3 OBJETIVOS	5
1.3.1 Objetivo General	5
1.3.2 Objetivos Particulares	5
CAPÍTULO 2	6
2.1 ANTECEDENTES	6
2.1.1 El uso de la Zeolita para la Síntesis de Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas	6
2.1.2 Cloruro de Sodio (NaCl) como matriz de Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas	8
2.1.3 Relación del Plasmón de Superficie con el Tamaño y Forma las Nanopartículas Metálicas y Óxido Metálicas	10
2.1.4 La amenaza de la Resistencia a los Antimicrobianos	11

2.1.5 Mecanismo de Acción de las Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas como Antimicrobiano y Propiedades que Afectan su Efectividad.	12
CAPÍTULO 3	14
3.1 DESARROLLO EXPERIMENTAL	14
3.1.1 Materiales	14
3.1.2 Metodología	15
I. Molienda de la Chabazita	15
II. Activación de la Chabazita	16
III. Síntesis de Nanopartículas en Zeolita	17
IV. Alojamiento de Nanopartículas en Cloruro de Sodio (NaCl)	19
V. Desarrollo de Recubrimientos	20
VI. Caracterización Bacteriológica de los Materiales Obtenidos por Medio del Método de Kirby-Bauer (Discodifusión).	21
i. Cepas Bacterianas	21
ii. Medios de Cultivo	21
iii. Procedimiento	21
VII. Caracterización Bacteriológica de los Materiales Obtenidos por Medio del Método de Dilución en Caldo para la Determinación de las Propiedades Bactericidas.	22
i. Cepas Bacterianas	22
ii. Medios de Cultivo	23

iii. Procedimiento	23
3.1.3 Caracterización Física de Nanopartículas Metálicas y Óxido Metálicas en Zeolita y NaCl	24
I. Absorción Óptica por Reflectancia Difusa	24
II. Espectroscopía de Fotoelectrones Emitidos por Rayos X (XPS)	25
III. Espectroscopía de Absorción Atómica	26
IV. Microscopía Electrónica de Transmisión y Espectrometría de Dispersión de Energía de Rayos X (EDS) en MET	27
CAPÍTULO 4	28
4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN	28
4.1.1 Absorción Óptica por Reflectancia Difusa de Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas, Soportadas en Zeolita y Cloruro de Sodio	28
4.1.2 Espectroscopía de Fotoelectrones Emitidos por Rayos X (XPS), de Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas, Soportadas en Zeolita y Cloruro de Sodio.	33
4.1.3 Espectroscopía de Absorción Atómica de Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas, Soportadas en Cloruro de Sodio a partir de su Tratamiento con Zeolita	40
4.1.4 Microscopía Electrónica de Transmisión de Nanopartículas de Ag_3O_4, $AgClO_3$ y Ag, Soportadas en Zeolita y Cloruro de Sodio	41
I. Identificación Estructural de las Nanopartículas de Ag_3O_4 , $AgClO_3$ y Ag Obtenidas en Zeolita y NaCl.	41

II. Determinación de la Distribución de Tamaños de Nanopartículas de Ag_3O_4 , AgClO_3 y Ag , Obtenidas en Zeolita y NaCl como matriz.	44
4.1.5. Análisis Elemental por Espectrometría de Dispersión de Energía de Rayos X (EDS) en MET, para Nanopartículas de Ag_3O_4 , AgClO_3 y Ag , Obtenidas en Zeolita y NaCl como matriz.	48
4.1.6 Caracterización Bacteriológica de los Materiales Obtenidos por Medio del Método de Kirby-Bauer (Discodifusión).	54
4.1.7 Caracterización Bacteriológica de los Materiales Obtenidos por Medio del Método de Dilución en Caldo.	57
CAPÍTULO 5	61
5.1 CONCLUSIONES	61
5.2 PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES	62
REFERENCIAS	63
ANEXOS	68

LISTA DE FIGURAS

Figura		Página
1	Armazón estructural de las zeolitas.(Walcarius et al., 1997)	6
2	Difractograma de Rayos X, para muestras obtenidas utilizando chabazita como matriz. a) chabazita de yacimiento, b) chabazita pura activada, c) chabazita con AgNP's a partir de AgNO ₃ 0.01M, d) chabazita con AgNP's a partir de AgNO ₃ 0.05M, e) chabazita con AgNP's a partir de AgNO ₃ 0.07M. (E. I. Torres, 2018)	7
3	Difractograma de Rayos X de: A) NaCl, B) NaCl-Ag. (E. Torres, 2016)	9
4	Respuesta óptica de AgNP's según su tamaño y morfología a temperatura: (a) T= 80 K y (b) T= 600 K. (González, 2014)	10
5	Mecanismo de actividad de las nanopartículas metálicas y óxido-metálicas contra bacterias.(Mba & Nweze, 2021)	13
6	Molino planetario, marca FRITSCH, modelo Pulverisette 6, del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora.	15
7	Diseño experimental de la síntesis de nanopartículas y su alojamiento en zeolita.	18
8	Diseño experimental del alojamiento de nanopartículas en NaCl.	19
9	Representación esquemática del método de "Dip-Coating" o inmersión, para la elaboración de recubrimientos.	20

10	Representación esquemática del método de Kirby-Bauer para la determinación del halo de inhibición.	22
11	Representación esquemática del método de dilución en caldo para la determinación de las propiedades bactericidas	23
12	Espectrofotómetro UV-Vis, marca PERKIN-ELMER, modelo λ -19, del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora.	24
13	Espectrómetro de Fotoelectrones Emitidos por Rayos X, marca PERKIN-ELMER, modelo PHI5100 con fuente Mg y Al, del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora.	25
14	Espectrómetro de Absorción Atómica, marca PERKIN-ELMER, modelo AAnalyst 400, del Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia, de la Universidad de Sonora.	26
15	Microscopio Electrónico de Transmisión, marca JEOL, modelo JEM2010F, del Departamento de Física de la Universidad de Sonora.	27
16	Absorción óptica de nanopartículas de Ag_3O_4 soportadas en chabazita, y deconvolución del espectro obtenido.	29
17	Absorción óptica de nanopartículas de Ag_3O_4 soportadas en A4, y deconvolución del espectro obtenido.	30
18	Absorción óptica de nanopartículas de AgClO_3 soportadas en NaCl, a partir de la síntesis con Chabazita, y deconvolución del espectro obtenido.	31

19	Absorción óptica de nanopartículas de Ag soportadas en NaCl, a partir de la síntesis con A4, y deconvolución del espectro obtenido.	32
20	Espectro XPS de baja resolución, correspondiente a chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .	34
21	Espectro XPS de alta resolución y ajuste correspondiente del doblete Ag 3d, así como, la deconvolución de la señal para chabazita soportando nanopartículas de Ag_3O_4 .	35
22	Espectro XPS de baja resolución, correspondiente a NaCl alojando nanopartículas de $AgClO_3$, a partir de chabazita.	36
23	Espectro XPS de alta resolución correspondiente a la zona de localización del doblete Ag 3d, de NaCl alojando nanopartículas de $AgClO_3$, a partir de chabazita.	36
24	Espectro XPS de baja resolución, correspondiente a A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .	37
25	Espectro XPS de alta resolución y ajuste correspondiente del doblete Ag 3d, así como, la deconvolución de la señal para A4 soportando nanopartículas de Ag_3O_4 .	38
26	Espectro XPS de baja resolución, correspondiente a NaCl alojando nanopartículas de Ag, a partir de A4.	39
27	Espectro XPS de alta resolución correspondiente a la zona de localización del doblete Ag 3d, de NaCl alojando nanopartículas de Ag, a partir de A4.	39
28	Imágenes MET de chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 . a) Distribución de nanopartículas de Ag_3O_4 en chabazita, b) Nanopartícula en alta resolución.	42

29	Imágenes MET de A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 . a) Distribución de nanopartículas de Ag_3O_4 en A4, b) Nanopartícula en alta resolución.	43
30	Imágenes MET de NaCl alojando nanopartículas de $AgClO_3$, a partir de Chabazita. a) Distribución de nanopartículas de $AgClO_3$ en NaCl, b) Nanopartícula en alta resolución.	43
31	Micrografías de NaCl alojando nanopartículas de Ag, a partir de A4. a) Distribución de nanopartículas en NaCl, b) Nanopartícula en alta resolución.	44
32	Histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de Ag_3O_4 , sintetizadas en chabazita como matriz, n=506.	45
33	Histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de Ag_3O_4 , sintetizadas en A4 como matriz, n=506.	46
34	Histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de $AgClO_3$, sintetizadas en NaCl como matriz, a partir de chabazita. n=400.	47
35	Histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de Ag, sintetizadas en NaCl como matriz, a partir de A4. n=502.	47
36	Espectro obtenido por EDS en MET, para chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .	49
37	Espectro obtenido por EDS en MET, para zeolita sintética A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .	50
38	Espectro obtenido por EDS en MET, para NaCl alojando nanopartículas de $AgClO_3$, sintetizadas a partir de chabazita.	51

39	Espectro obtenido por EDS en MET (EDS 1), para NaCl alojando nanopartículas de Ag, sintetizadas a partir de zeolita sintética A4.	53
40	Espectro obtenido por EDS en MET (EDS 2), para NaCl alojando nanopartículas de Ag, sintetizadas a partir de zeolita sintética A4.	54
41	Representación esquemática de los resultados obtenidos de la medición de halo de inhibición por el método de Kirby-Bauer, para chabazita, A4 y NaCl, alojando nanopartículas, en comparativa con sus referencias.	56
42	Representación esquemática de los resultados obtenidos por el método de dilución en caldo, frente a E. coli BLEE (+), ($p \leq 0.05$).	58
43	Representación esquemática de los resultados obtenidos por el método de dilución en caldo, frente a SARM, ($p \leq 0.05$).	59

LISTA DE TABLAS

Tabla		Página
1	Análisis elemental por EDS en MET para chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .	49
2	Análisis elemental por EDS en MET para A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .	51
3	Análisis elemental por EDS en MET para NaCl alojando nanopartículas de AgClO_3 , sintetizadas a partir de chabazita	52
4	Análisis elemental por EDS en MET (EDS1), para NaCl alojando nanopartículas de Ag, sintetizadas a partir de zeolita sintética A4.	52
5	Análisis elemental por EDS en MET (EDS2), para NaCl alojando nanopartículas de Ag, sintetizadas a partir de zeolita sintética A4.	53

RESUMEN

La existencia de cepas resistentes supone un problema creciente en temas de salud a nivel mundial, en la presente investigación se llevó a cabo la síntesis de nanopartículas de Ag_3O_4 , tanto en chabazita como A4; y nanopartículas de AgClO_3 y Ag, utilizando NaCl como soporte. Estos materiales se han producido con la finalidad de obtener un material que cuenta con propiedades antibacterianas y bactericidas. La zeolita natural utilizada (chabazita) fue sometida a un proceso de activación, con la finalidad de crear el espacio en sus cavidades para el alojamiento de iones, este proceso no es necesario en el caso de la zeolita sintética (A4).

Los materiales sintetizados fueron caracterizados mediante las técnicas: absorción óptica por reflectancia difusa, microscopía electrónica de transmisión (MET), espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS), espectroscopia de absorción atómica y Microscopía Electrónica de Transmisión y espectrometría de dispersión de energía de rayos X (EDS) en MET; donde se confirmó la presencia de plata. Se utilizaron los métodos de Kirby-Bauer (discodifusión) y de dilución en caldo como parte de la evaluación de la acción como antibacteriano, donde se probaron los materiales frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* (BLEE+), *Staphylococcus aureus* 25923 y SARM. Por ambas metodologías se determinó que los controles negativos (chabazita activada, A4 y NaCl) no mostraron ninguna acción antibacteriana frente a las cepas estudiadas, fue *E.coli* BLEE(+) la cepa que se mostró más susceptible frente a los materiales analizados, así como, se determinó que las nanopartículas soportadas en NaCl fueron las que mostraron una mayor actividad antibacteriana. De manera general fueron las cepas de *S. aureus* las que mostraron mayor resistencia, y a su vez, las cepas de *E. coli*, las más susceptibles frente a los materiales sintetizados.

Se concluyó con la obtención de materiales en base a nanopartículas metálicas y óxido-metálicas, que tienen función antibacteriana tanto frente a cepas de referencia, como con resistencia adquirida, lo cual supone un avance en el camino a prevenir las complicaciones causadas por la resistencia bacteriana.

ABSTRACT

The existence of resistant strains is a growing problem in health issues worldwide, in the present investigation the synthesis of Ag_3O_4 nanoparticles was carried out, both in chabazite and A4; and AgClO_3 and Ag nanoparticles, using NaCl as support. These materials have been produced to obtain a material that has antibacterial properties and bactericide. The natural zeolite used (chabazite) was subjected to an activation process, to create space in their cavities for the accommodation of ions, this process is not necessary in the case of synthetic zeolite (A4).

The synthesized materials were characterized using the techniques: optical absorption by diffuse reflectance, transmission electron microscopy (MET), X-ray emitted photoelectron spectroscopy (XPS), atomic absorption spectroscopy, and Transmission Electron Microscopy and energy dispersion spectrometry of X-rays (EDS) at MET; where the presence of nanoparticles with sizes between 1-37 nm was observed and the presence of silver was confirmed. The Kirby-Bauer (disco-diffusion) and broth dilution methods were used as part of the evaluation of the action as antibacterial, where the materials were tested against *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* (ESBL+), *Staphylococcus aureus* 25923 and MRSA. By both methodologies it was determined that the negative controls (activated chabazite, A4, and NaCl) did not show any antibacterial action against the studied strains, *E. coli* ESBL(+) was the strain that was most susceptible to the analyzed materials, as well as, it was determined that the NaCl-supported nanoparticles were the ones that showed the highest antibacterial activity. In general, the *S. aureus* strains showed the greatest resistance, and in turn, the *E. coli* strains were the most susceptible to the synthesized materials.

It was concluded with the obtaining of materials based on metallic and oxide-metallic nanoparticles, which have an antibacterial function both against reference strains and with acquired resistance, which represents an advance in the way to prevent complications caused by bacterial resistance.

CAPÍTULO 1

1.1 INTRODUCCIÓN

La resistencia a los antimicrobianos es actualmente una de las principales amenazas en el deterioro de la salud humana, ya que en su consecuencia, se producen millones de muertes anuales a nivel mundial, siendo que para el año 2050, un aproximado de 10 millones de decesos podrían deberse a esta problemática en salud pública. En México, se ha encontrado a las cepas de *Escherichia coli* y *Staphylococcus aureus* como las principales causantes de muertes asociadas y atribuidas a resistencia bacteriana.(Murray et al., 2022)

La resistencia se da cuando los microorganismos sufren alteraciones al verse expuestos de manera excesiva a los antimicrobianos, volviéndose estos ineficaces y dificultando el tratamiento de infecciones.(OMS & OPS, 2021)

En busca de soluciones a esta problemática se ha hecho uso de la nanociencia y nanotecnología, para la síntesis de nuevos materiales que permitan su uso como antimicrobianos, y a su vez, donde se vea dificultada la adquisición de resistencia por parte de los microorganismos, siendo las nanopartículas metálicas sintetizadas en soportes como zeolitas y halogenuros alcalinos muy prometedores; como aportaciones en esta línea de investigación, Flores López y colaboradores en 2016 realizaron la síntesis de nanopartículas de plata en NaCl, obteniendo nanopartículas entre 5 y 35 nm con una buena actividad frente a *Escherichia coli* y *Klebsiella pneumoniae* por el método de Kirby-Bauer (discodifusión). (Flores-López et al., 2016)

Otros reportes confirman la actividad de nanopartículas de plata en zeolita sintética, con tamaños entre 2.12-3.11 nm con actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Shigella dysenteriae* (ATCC 9753), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM) (ATCC 700689), esto analizado por el método de Kirby-Bauer. (Shameli et al., 2011)

Para esta investigación se decidió utilizar además de zeolita sintética, zeolita natural, con el fin de analizar el comportamiento y eficiencia de la misma y obtener una comparativa; además se realiza un análisis antimicrobiano completo donde se utilizan tanto cepas de referencia, como aquellas con una resistencia adquirida; y se analiza su actividad por los métodos de Kirby-Bauer y de dilución en caldo, este último permite la determinación de la actividad de estos materiales como agentes bactericidas.

En el capítulo 1, se presentan la hipótesis propuesta y los objetivos por alcanzar en la presente investigación.

En el capítulo 2, se exponen los antecedentes de investigación previamente realizada en relación con la síntesis de nanopartículas metálicas utilizando zeolita y halogenuros alcalinos como matriz.

En el capítulo 3, se explican los materiales y metodología para la obtención de nanopartículas, utilizando zeolita sintética A4, siendo la zeolita sintética la mayormente utilizada en investigación y desarrollo de materiales; zeolita natural chabazita, la cual tiene como beneficio su bajo costo y su distribución en el estado de Sonora; y cloruro de sodio. También se explica en este capítulo las técnicas mediante las cuales se llevó a cabo la caracterización de los materiales y los protocolos seguidos para la evaluación de la acción antimicrobiana de las muestras por medio del método de Kirby-Bauer y dilución en caldo.

En el capítulo 4, se exponen los resultados obtenidos de la caracterización físicoquímica, así como, de la determinación de estos materiales como antibacterianos frente a las principales cepas causantes de muertes atribuidas a resistencia bacteriana en México; y a su vez, se lleva a cabo la discusión de estos resultados.

Por último, en el capítulo 5, se desarrollan las conclusiones obtenidas de la presente investigación y se muestran las perspectivas de trabajo futuro.

1.2 HIPÓTESIS

Es posible obtener materiales nanoestructurados utilizando como matriz: zeolita natural, zeolita sintética y NaCl, que cuenten con propiedades antibacterianas frente a distintos tipos de cepas.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo General

Estudiar las Propiedades físicas, químicas y bacteriológicas de nanopartículas metálicas y óxido-metálicas en diferentes matrices; así como, establecer una relación entre dichas propiedades y su actividad como antibacteriano.

1.3.2 Objetivos Particulares

- Limpieza y activación de zeolita natural.
- Establecer parámetros de síntesis para obtener nanopartículas metálicas y/o óxido-metálicas con una distribución de tamaño que potencie su actividad como antimicrobiano.
- Caracterización fisicoquímica de los materiales obtenidos.
- Determinar la propiedad antibacteriana y bactericida de los materiales.

CAPÍTULO 2

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 El uso de la Zeolita para la Síntesis de Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas

A lo largo de los años el uso de la zeolita se ha extendido, esto debido a sus importantes propiedades: catalíticas, estructura formada de cavidades y canales, facilidad de propiciar el intercambio de cationes, baja densidad, etc. un soporte como la zeolita es grandemente útil para la síntesis de nanopartículas ultra pequeñas, ya que si bien, estas cuentan con una alta área superficial que provoca que cuenten con sitios activos expuestos, la zeolita cuenta con una selectividad de forma y tamaño, por lo que permite un mejor control de la síntesis (figura 1). (N. S. Flores, 2010; Walcarius et al., 1997; Wang et al., 2021)

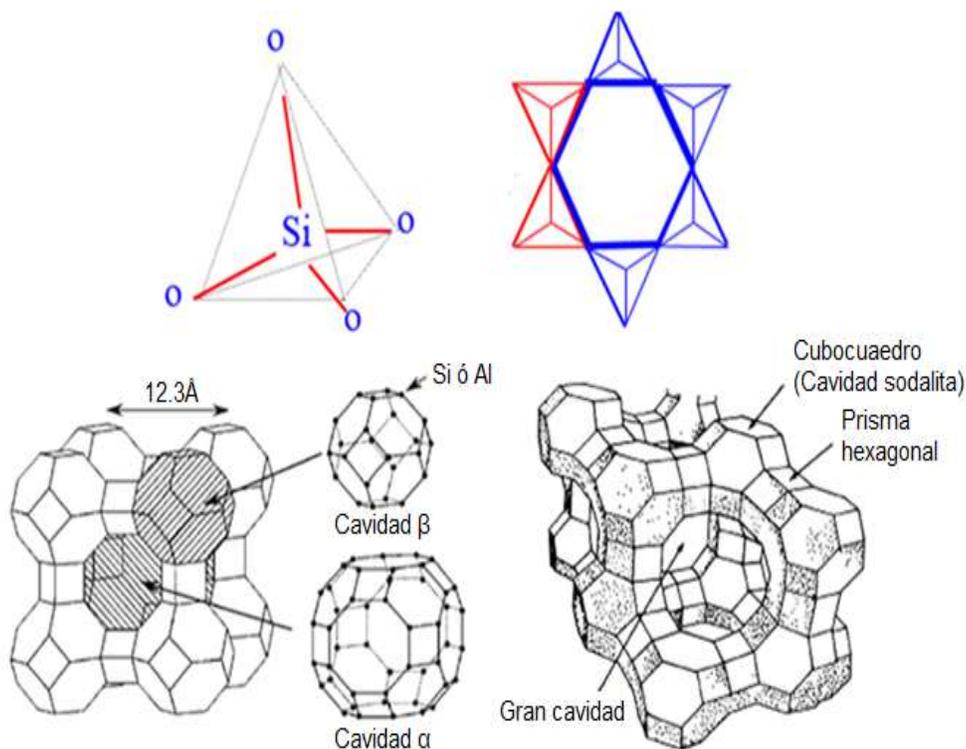


Figura 1.- Armazón estructural de las zeolitas.(Walcarius et al., 1997)

Aprovechando estas propiedades es que se ha utilizado para la síntesis de nanopartículas metálicas, Torres y colaboradores realizaron la síntesis de nanopartículas de plata en tres tipos de zeolita natural (chabazita, clinoptilolita y clinoptilolita/stilbita), obteniendo nanopartículas con una distribución de tamaños entre los 2-20 nm, que contaron con una acción bactericida frente a *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 25955 y *K. pneumoniae* BLEE+. (E. I. Torres, 2018)

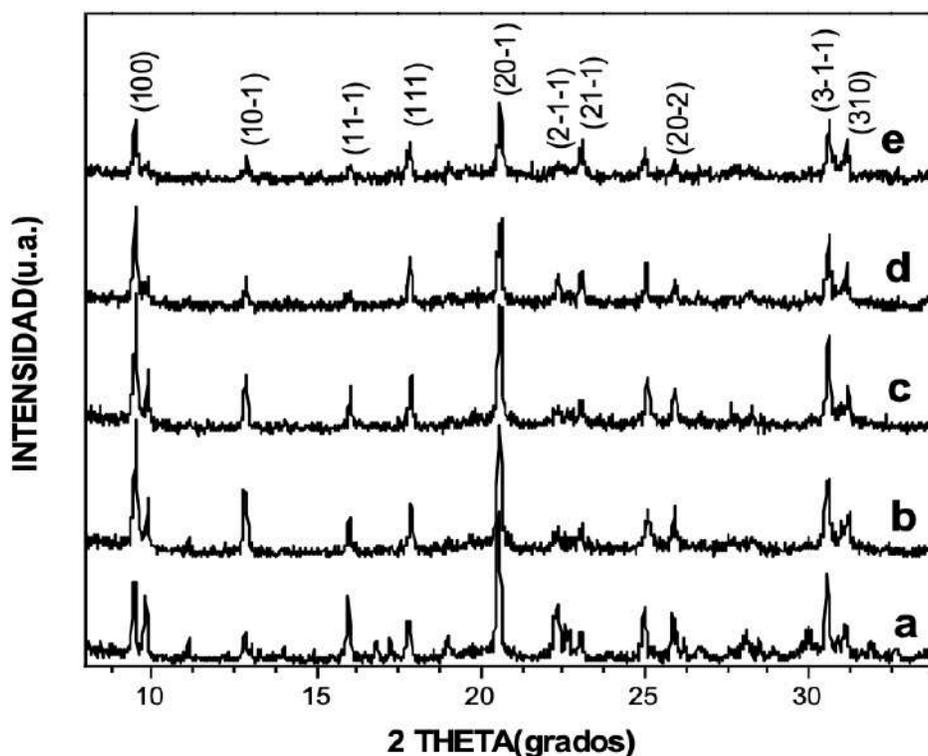


Figura 2.- Difractograma de Rayos X, para muestras obtenidas utilizando chabazita como matriz. a) chabazita de yacimiento, b) chabazita pura activada, c) chabazita con AgNP's a partir de AgNO_3 0.01M, d) chabazita con AgNP's a partir de AgNO_3 0.05M, e) chabazita con AgNP's a partir de AgNO_3 0.07M. (E. I. Torres, 2018)

Se ha destacado además, por medio de mediciones por difracción de rayos X, que la zeolita cuenta con la capacidad de mantener su estructura sin sufrir afectaciones importantes después del proceso de síntesis, incluso, siendo sometida

en repetidas ocasiones, sin embargo, si se puede observar un cambio en las intensidades de los picos del difractograma debido al estrés causado en la red durante dichas síntesis (figura 2); en el caso de la zeolita natural, esta no necesita ser sometida a exhaustivos y costosos procesos de purificación.(Mejia Zamudio et. al. 2009; Torres-Flores et al., 2021)

En otros trabajos realizados, se ha reportado la síntesis de nanopartículas de plata con estructura hexagonal, en zeolita sintética A4, obteniendo nanopartículas en el rango de 1-10 nm, las cuales mostraron una importante inhibición frente a *E. coli* y *Salmonella*.(N. Flores, 2017)

2.1.2 Cloruro de Sodio (NaCl) como matriz de Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas

A diferencia de la síntesis en zeolita, la cual se encuentra ampliamente estudiada; la síntesis de nanopartículas metálicas y/o óxido-metálicas soportadas en halogenuros alcalinos como matriz, es aún un campo relativamente nuevo en la obtención de estos materiales. Existen reportes de procesos utilizados para lograr este objetivo, sin embargo, su desarrollo supone un conjunto de complicaciones al ser altamente costosos por involucrar la necesidad de hornos a altas temperaturas, primero en la obtención del cristal y posteriormente en la evaporación del metal, se requiere además de un equipo de vacío y entrenamiento significativo para el desarrollo de dicha tarea. (Pérez-Rodríguez et al., 2006)

En contra parte, el método utilizado en la presente investigación, tiene marcadas ventajas al ser un método económico, efectivo y práctico.

Entre otras investigaciones y trabajos realizados se encuentra la síntesis de nanopartículas de plata soportadas en cloruro de sodio (NaCl) como matriz, utilizando como intermediario zeolita sintética(A4) y natural (chabazita), obteniendo nanopartículas entre los 5-35 nm, estas nanopartículas presuntivamente se encuentran en la superficie y/o en el interior de los nanocristales de NaCl, y se muestra que la matriz no sufre destrucción alguna después del procedimiento, sin embargo, por medio de difracción de rayos X se determinó que si existen ciertos

cambios en la intensidad de los picos principales para el NaCl, debido al estrés ocasionado por la presencia de la plata (figura 3). También se ha determinado que estos tipos de materiales pueden ser utilizados de manera exitosa contra microorganismos con resistencia adquirida, con una eficiencia incluso mayor que antibióticos conocidos como la gentamicina, significando una posible herramienta para contrarrestar infecciones, y que permite explorar la posibilidad de creación de soluciones salinas fisiológicas, como las ya existentes, pero con propiedades antimicrobianas y que puedan ser aplicadas en seres vivos. (Flores-López et al., 2016; E. Torres, 2016)

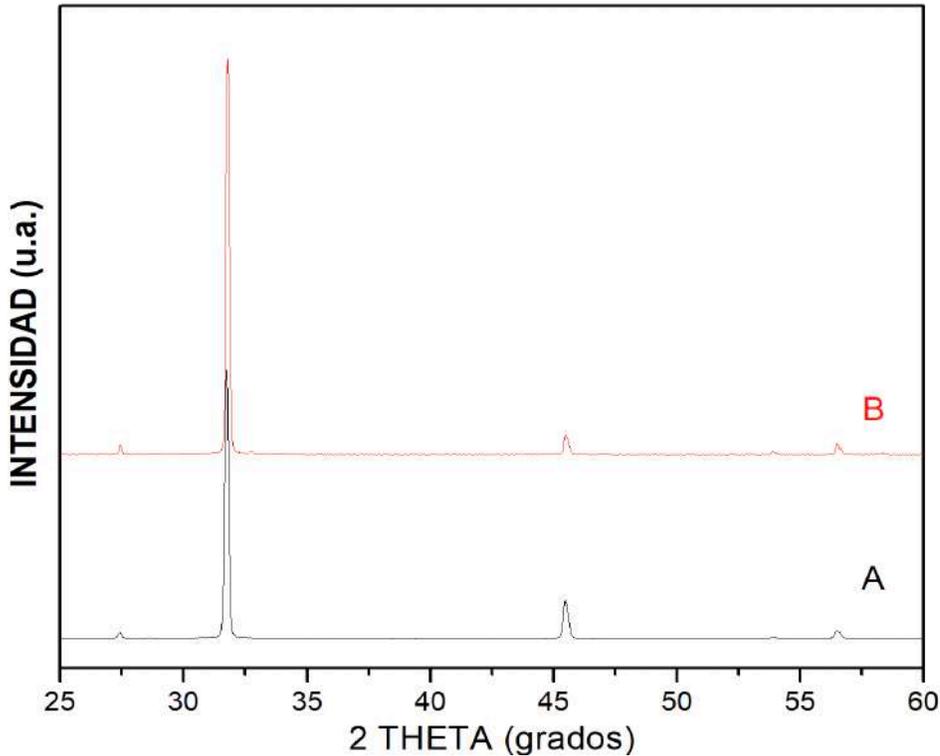


Figura 3.- Difractograma de Rayos X de: A) NaCl puro, B) NaCl-Ag. (E. Torres, 2016)

Debido a la alta biocompatibilidad y solubilidad en agua del NaCl, estos materiales podrian ser altamente efectivos no solo siendo utilizados en la

prevención, sino que también, en el tratamiento del paciente, siendo viable el consumo del mismo, ya sea por vía oral como intravenosa .

2.1.3 Relación del Plasmón de Superficie con el Tamaño y Forma las Nanopartículas Metálicas y Óxido Metálicas

Se denomina plasmón de superficie a las oscilaciones de los electrones libres, las cuales se desplazan colectivamente y producen una carga temporal en la superficie, esta respuesta de las nanopartículas metálicas se debe al acoplamiento de la radiación electromagnética con los electrones libres. Se ha determinado que la frecuencia de la resonancia depende de la distribución de cargas en la superficie, que, a su vez, tiene relación con el tamaño y morfología de las nanopartículas. (Noguez Cecilia, 2013)

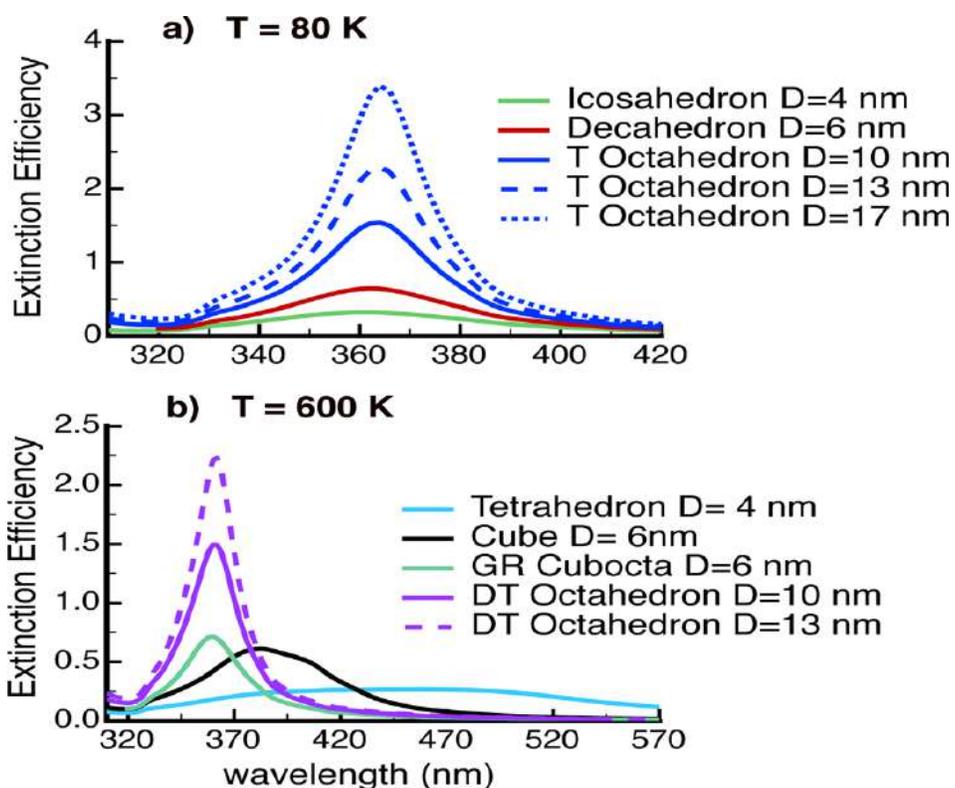


Figura 4.- Respuesta óptica de AgNP's según su tamaño y morfología a temperatura: (a) T= 80 K y (b) T= 600 K. (González, 2014)

A. L. González y colaboradores (2007;2014) han reportaron estudios teóricos sobre la relación entre el plasmón de superficie y la morfología, en nanopartículas de plata; encontraron que existe un cambio en la posición del plasmon de resonancia según la morfología, ya sea una nanopartícula esférica, cúbica, cubos truncados, decahedros, etc. Identificaron como las nanopartículas al encontrarse mayormente truncadas, el plasmón se desplaza a menor longitud de onda (figura 4). (González, 2014b; González & Noguez, 2007)

2.1.4 La amenaza de la Resistencia a los Antimicrobianos

La resistencia a los antimicrobianos es uno de los temas de salud actual que se han vuelto más preocupantes a nivel mundial, ya que afecta a cualquier persona independientemente de su sexo, edad, o país de origen; si bien la resistencia es un fenómeno esperado, se ha dado un aceleramiento excesivo debido al mal uso de los antimicrobianos, y entre las consecuencias se encuentran el incremento de la mortalidad en seres humanos, el aumento de los costos hospitalarios y complicaciones en varios tipos de intervenciones médicas como trasplantes, quimioterapia e intervenciones quirúrgicas en general. (OMS, 2020b)

A nivel mundial, las cepas bacterianas que causan mayor cantidad de muertes asociadas a la resistencia a los antibióticos son: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* y *Pseudomonas aeruginosa*; siendo las más problemáticas para México, las primeras dos mencionadas. (Murray et al., 2022)

Existen muy pocos antibióticos en desarrollo, y entre ellos, son los menos los que están dedicados a contrarrestar a las bacterias con resistencia adquirida más peligrosas, además, según la organización mundial de la salud aquellos que se encuentran en fase de pruebas clínicas, muestran pocos beneficios con los antibióticos disponibles actualmente. Informes según la OMS del año 2022, indican que si bien, en los últimos 4 años ha existido cierta estabilidad en el progreso de la resistencia bacteriana, algunos padecimientos comunes como septicemias

propiciadas por *E. coli* y *Salmonella* spp., y gonorrea, han tenido un incremento de 15% por lo menos; la OMS también indica que pueden existir falta de información al respecto, ya que en el año 2020 varios países no presentaron sus informes debido a la pandemia de COVID-19.(OMS, 2020a, 2022)

En el año 2020 se presentó un estudio realizado en el hospital de especialidades “Dr. Belisario Domínguez”, de la ciudad de México; en él, se reportan los resultados obtenidos de la vigilancia epidemiológica para cepas resistentes en el periodo que comprende del 1 de enero de 2015 al 31 de diciembre de 2018, se llevó a cabo el análisis de 1890 hemocultivos, de los cuales, 450 resultaron positivos para microorganismos del grupo ESKAPE (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus* resistente a la metilcolina [SARM], *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* y *Enterobacter* spp.), lo cual representa cerca de una cuarta parte de los hemocultivos analizados; se observó que los microorganismos mayormente aislados fueron *E. coli* y *S. aureus* con 34.4% y 24.4% de los aislados respectivamente, y a su vez, que la incidencia de los aislamientos va aumentando año con año. (Fuentes-González, 2021)

2.1.5 Mecanismo de Acción de las Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas como Antimicrobiano y Propiedades que Afectan su Efectividad.

Por mucho tiempo se han hecho esfuerzos por determinar el mecanismo mediante el cual las nanopartículas metálicas y óxido-metálicas causan la muerte celular de la bacteria, para lo cual, se ha determinado que existen múltiples procesos que se llevan a cabo dentro y fuera de la célula, entre los principales se encuentran: (Mba & Nweze, 2021)

- Adherencia de la nanopartícula a la membrana: donde provoca una disrupción de esta, causando filtración del material intracelular, daño en las bombas de flujo, disrupción de la señalización de la célula, etc.

- Producción de especies oxígeno reactivas, que pueden: dañar la bomba de Na^+/K^+ , causar peroxidación de la membrana lipídica, causar estrés oxidativo, evitar la formación de biofilmes, etc.
- Interacción de nanopartículas y iones con el ADN, lo que lleva a la inactivación de proteínas y posteriormente a la muerte celular.
- Interacción de nanopartículas y iones con el ARN, evitando la síntesis de proteínas.

Los mecanismos antes mencionados tienen como consecuencia la muerte celular, ya sea programada (apoptosis) o por necrosis; estos se esquematizan en la figura 5.

Ha sido muy reportado en la literatura la afinidad de los iones y/o nanopartículas de plata por interactuar con los enlaces disulfuro, por lo que, esta acción puede evitar la síntesis de proteínas esenciales para la bacteria; además se ha observado que la acción antimicrobiana se debe a la presencia de la plata tanto en forma iónica como, de nanopartícula. (Del Rocío Coutiño et al., 2017; Medina, 2010)

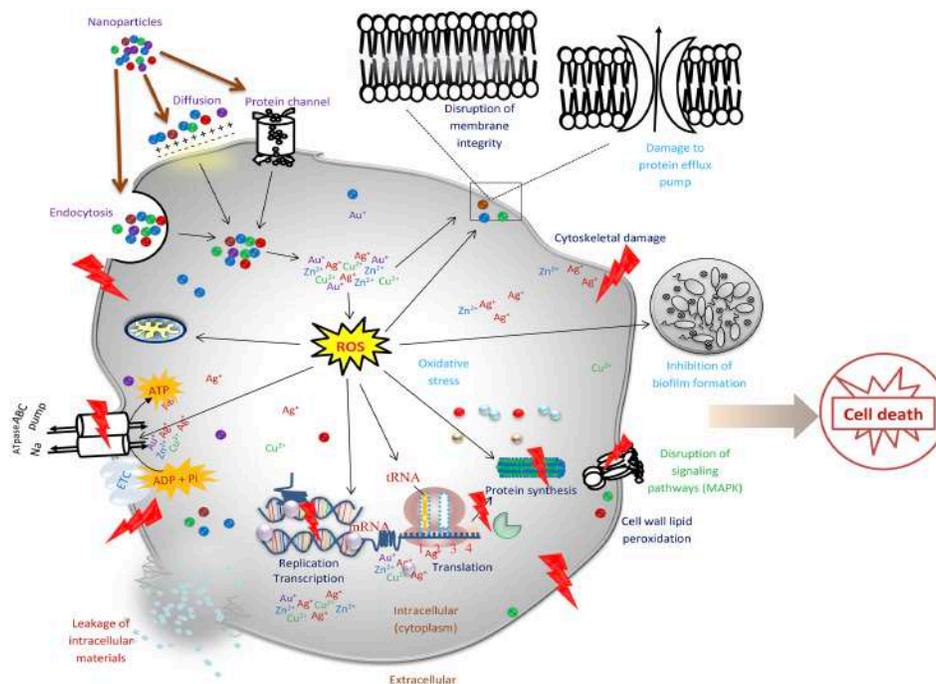


Figura 5.- Mecanismo de actividad de las nanopartículas metálicas y óxido-metálicas contra bacterias. (Mba & Nweze, 2021)

CAPÍTULO 3

3.1 DESARROLLO EXPERIMENTAL

3.1.1 Materiales

Se utilizó como matriz para la síntesis de nanopartículas:

- Zeolita natural chabazita, obtenida del yacimiento “La Palma”, ubicado en el municipio de Divisaderos, en el estado de Sonora.
- Zeolita sintética A4 comercial de Waco Chemicals Inc., (con formula $\text{Na}_{12}[(\text{SiO}_2)_{12}(\text{AlO}_2)_{12}] \cdot 27 \text{H}_2\text{O}$).
- Cloruro de Sodio (NaCl), marca Sigma-Aldrich. CAS 7647-14-5.

El proceso de activación y/o limpieza de la chabazita se llevó a cabo utilizando cloruro de amonio (NH_4Cl), de la marca “Fermont” (CAS 12125-02-9).

Para la síntesis de nanopartículas se utilizó nitrato de plata (AgNO_3), marca “Fermont” (CAS 7761-88-8).

Debido a que las sales de plata cuentan con una propiedad fotosensible, toda la cristalería utilizada fue recubierta de color negro y las áreas de síntesis, protegidas del paso de la luz.

Para la realización de recubrimientos se utilizó pintura comercial blanca, marca “Osel”.

Las pruebas antibacterianas fueron realizadas utilizando cepas gram positivas y gram negativas, tanto registradas como con resistencia adquirida a antibióticos, las cuales, fueron inoculadas en caldo Mueller-Hinton, agar para métodos estándar y solución salina fisiológica al 0.9%.

Los resultados obtenidos de manera experimental fueron analizados por medio de los softwares: OriginPro 9, MDI Jade, DigitalMicrograph e ImageJ.

3.1.2 Metodología

I. Molienda de la Chabazita

La molienda de la chabazita se realizó utilizando en primera instancia el molino de quijada del Departamento de Geología de la Universidad de Sonora, posteriormente, se realizó una separación granulométrica en medio acuoso, que consiste en tomar la zeolita que ha pasado por la primera molienda y agregarla en un recipiente con agua destilada por un tiempo determinado (de 30 min a 1 hora), pasado el tiempo se observará como la zeolita con mayor densidad por la presencia de óxidos de fierro precipita en el fondo, mientras que, la zeolita con una mayor pureza permanece “flotante”, esa zeolita “flotante”, es recuperada por decantación y llevada a filtración. (Mendoza Córdova, 2013)



Figura 6.- Molino planetario, marca FRITSCH, modelo Pulverisette 6, del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora.

Una vez obtenida la zeolita “flotante” de forma sólida por filtración, se realizó la última molienda en el molino planetario marca FRITSCH, modelo *Pulverisette 6*, del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora (figura 6), en el cual se programaron cinco ciclos de molienda a 400 rpm con duración de 1 minuto, seguido de 10 minutos de reposo, de este procedimiento se obtuvo chabazita pulverizada calidad talco en la que puede llevarse a cabo el proceso de activación.

II. Activación de la Chabazita

Se tomó como referencia el procedimiento utilizado por J.F. Román-Zamorano en 2006, donde se realizó la síntesis de Pb y PbS en zeolita natural.(Román, 2006)

Este es un proceso necesario para las zeolitas naturales, donde se propicia el intercambio iónico entre los cationes con los que la zeolita cuenta en su estructura de manera natural, con la finalidad de liberar espacio en las cavidades; para ello se utiliza el NH_4Cl , propiciando un intercambio entre el catión presente en la cavidad de la zeolita y el ion NH_4^+ , mediante el siguiente procedimiento:

1. En un tubo de ensaye se colocó la chabazita en contacto con agua desionizada y se dejó por 24 horas para su hidratación.
2. Se tomó la zeolita hidratada y se colocó en un sistema de baño químico con una temperatura controlada de 50°C .
3. Se agregó una solución acuosa de NH_4Cl 0.3M, después de pasada la solución, se mantuvo en agitación magnética 10 minutos más a temperatura de reflujo.
4. Filtrado de la solución.
5. Se lavó la zeolita nuevamente, manteniéndola 10 minutos en agitación magnética con agua desionizada.
6. Se pasó la solución a filtración obteniendo la zeolita sólida, consiguiendo el sistema zeolita- NH_4^+ .

7. Una vez eliminada el agua excedente por filtración, se procedió a realizar un tratamiento térmico con los siguientes intervalos:

- i. 5 minutos a 50°C
- ii. 3 horas a 125°C
- iii. 3 horas a 300°C
- iv. 3 horas a 400°C

Con este tratamiento térmico, se propicia que el NH_4^+ se descomponga en $\text{NH}_3 + \text{H}^+$, evaporándose el amoníaco, llevando a la obtención del sistema chabazita- H^+ .

III. Síntesis de Nanopartículas en Zeolita

En el presente apartado se muestra el procedimiento para la síntesis de nanopartículas en zeolita, controlando variables macroscópicas como: temperatura, molaridad, volumen y tiempo, dicho procedimiento se realiza de igual manera para zeolita natural activada, como para zeolita sintética.

En esta etapa, se sustituye el ion intercambiable presente en la zeolita (H^+ en el caso de la chabazita y Na^+ en el caso de la A4, por un ion Ag^+ , por medio de intercambio iónico y con el uso de un equipo de baño químico; para ello se tomó la zeolita y se hidrató con agua desionizada, después, se puso en agitación magnética a 50°C, simultáneamente, se preparó una solución de AgNO_3 al 0.07M, la cual se agregó a una bureta con el fin de mantener una temperatura homogénea en el sistema, y a su vez, obtener una síntesis controlada, para después pasar dicha solución gota a gota, pasado esto se dejó en agitación magnética durante 15 minutos más, después, se pasó la zeolita a un sistema de filtración al vacío, con la finalidad de eliminar los residuos de la síntesis y filtrar el agua agregada durante el proceso, para así obtener el material en forma sólida.

Una vez llevada a cabo la primera filtración de la zeolita, se procedió a lavar con agua desionizada, para así eliminar los iones no enlazados a la zeolita que se

encontraban por fuera de las cavidades de la misma, después del proceso de filtrado, el material obtenido se dejó secar a temperatura ambiente, obteniendo una muestra sólida.

El procedimiento anteriormente descrito se esquematiza en la figura 7.

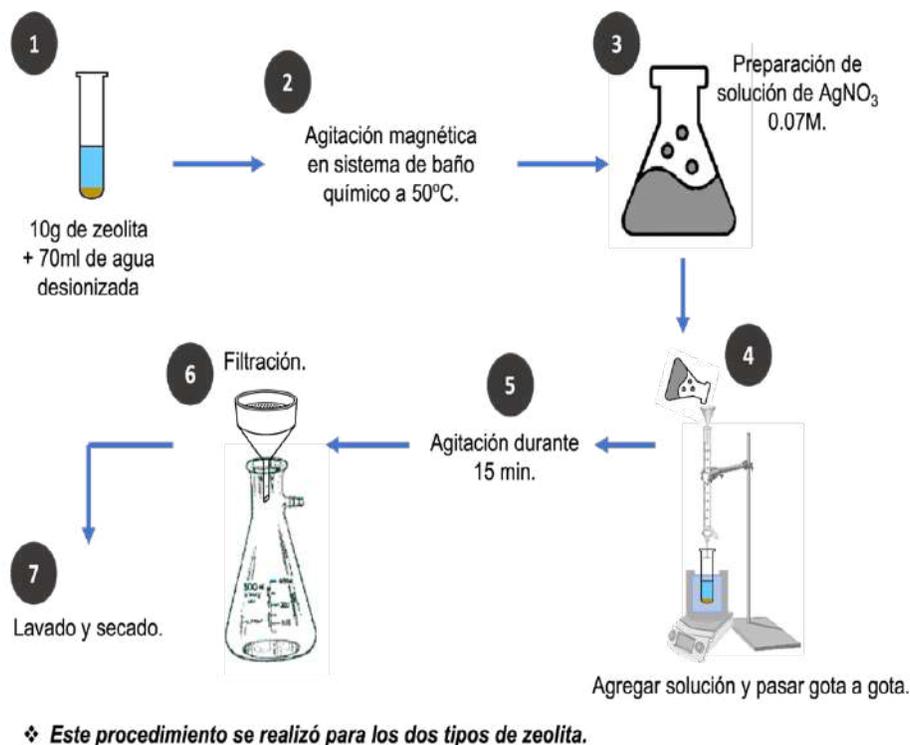


Figura 7.- Diseño experimental de la síntesis de nanopartículas y su alojamiento en zeolita.

Se obtuvieron 2 tipos de materiales de zeolita soportando nanopartículas metálicas y/o óxido metálicas:

- 1) Nanopartículas soportadas en chabazita
- 2) Nanopartículas soportadas en A4

IV. Alojamiento de Nanopartículas en Cloruro de Sodio (NaCl)

El presente procedimiento se realizó tanto para las nanopartículas soportadas en zeolita natural chabazita, como, para las nanopartículas soportadas en zeolita sintética A4. (N. Flores, 2023)

Primero, se prepararon 50ml. de una solución saturada de NaCl, la cual se puso en contacto con 5 gramos de zeolita alojando nanopartículas metálicas y/o óxido metálicas, una vez mezcladas, la solución fue agitada magnéticamente durante 30 minutos, con el fin de obtener una mezcla homogénea; pasado el tiempo, se llevó a cabo el filtrado de la solución, con el fin de separar la fase sólida de la líquida, finalmente, la solución acuosa obtenida en el matraz fue calentada mientras era agitada magnéticamente, esto con el fin de eliminar el agua y así obtener la muestra sólida de cloruro de sodio soportando nanopartículas (figura 8).

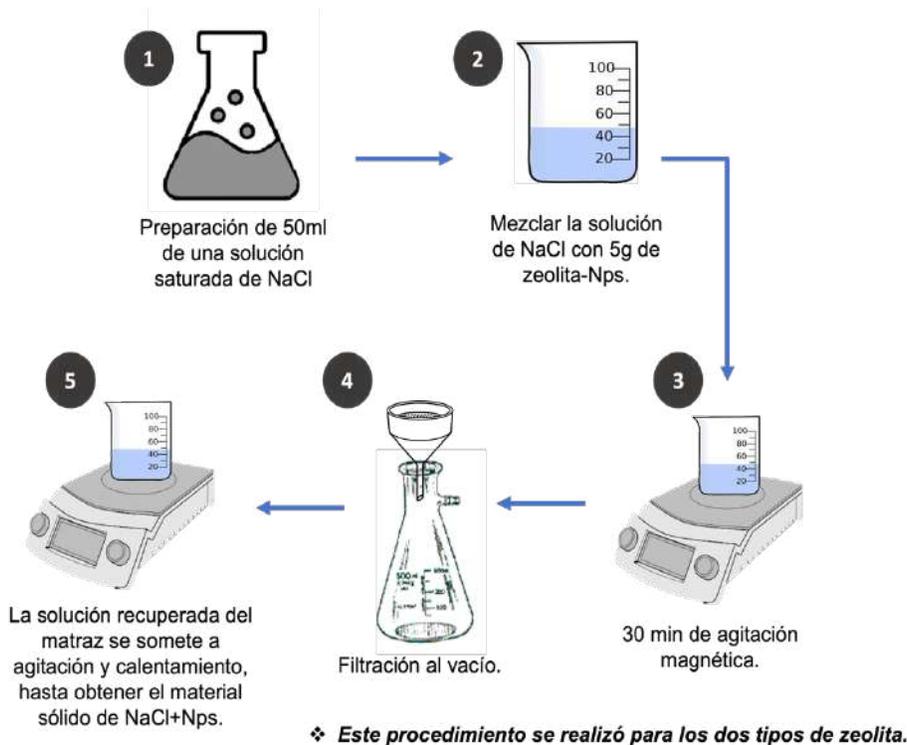


Figura 8.- Diseño experimental del alojamiento de nanopartículas en NaCl.

Se obtuvieron 2 tipos de materiales de NaCl soportando nanopartículas metálicas y/o óxido metálicas:

- 1) Nanopartículas soportadas en NaCl, obtenidas a partir de chabazita.
- 2) Nanopartículas soportadas en NaCl, obtenidas a partir de A4.

V. Desarrollo de Recubrimientos

En procedimientos separados, se mezcló 0.25 g de cada uno de los materiales sintetizados con 20 ml. de pintura comercial marca “Osel”, con ayuda de agitación magnética, utilizando un portaobjeto de vidrio como sustrato; se obtuvo el recubrimiento por medio del método de “dip-coating” o “inmersión” descrito en la figura 9.

Una vez realizados los recubrimientos, para cada uno de ellos fue evaluada la actividad antibacteriana.

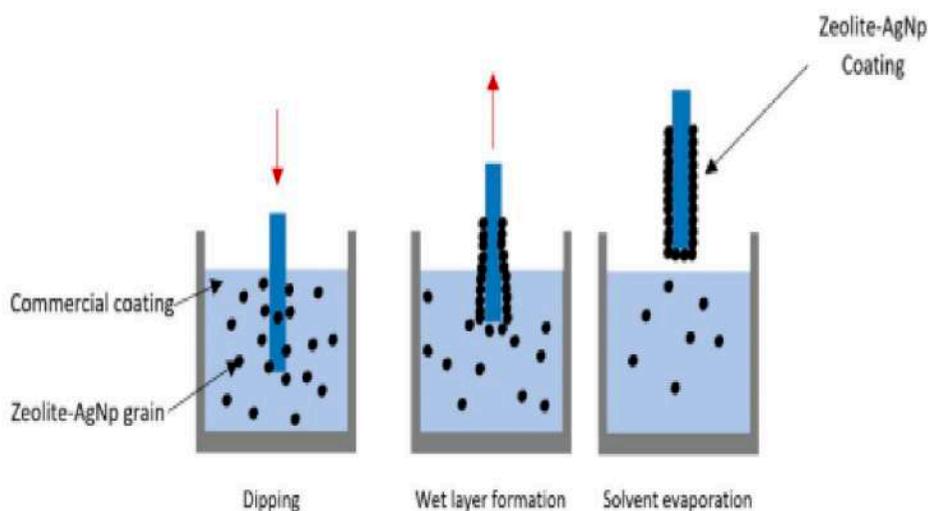


Figura 9.- Representación esquemática del método de “Dip-Coating” o inmersión, para la elaboración de recubrimientos.(Torres-Flores et al., 2021)

VI. Caracterización Bacteriológica de los Materiales Obtenidos por Medio del Método de Kirby-Bauer (Discodifusión).

La determinación de la actividad antibacteriana de los materiales obtenidos en el proceso de síntesis, se realizó en el Laboratorio de Microbiología, del Departamento de Ciencias Químico Biológicas y de la Salud, de la Universidad de Sonora.

i. Cepas Bacterianas

Se probó la eficacia como antibacteriano de los materiales, frente a las siguientes cepas:

- *Escherichia coli* ATCC 25922.
- *Escherichia coli* Beta-Lactamasa de Espectro Extendido positivo (BLEE+).
- *Staphylococcus aureus* 25923.
- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM)

ii. Medios de Cultivo

El desarrollo y crecimiento de las cepas en estudio se llevó a cabo en los siguientes medios de cultivo:

- Agar para métodos estándar
- Caldo Mueller-Hinton

Estos medios de cultivo permiten el crecimiento de gran variedad de cepas. También se utilizó solución salina fisiológica al 0.9% para la realización de las suspensiones bacterianas.

iii. Procedimiento

Se realizó el inóculo de la cepa bacteriana en caldo Mueller-Hinton y posteriormente se llevó a incubación a 37°C durante 24h; después de incubación se estandarizó la concentración de la cepa según el estándar de McFarland 0.5 (1.5×10^8 UFC/ml). Con ayuda de un asa microbiológica estéril se realizaron pequeñas perforaciones en el medio de cultivo, después, se llevó a cabo la inoculación de manera masiva de la cepa a partir de la solución salina estandarizada en el medio de cultivo, a

continuación, se colocaron porciones del material de 0.01 gramo en las perforaciones. Dichas placas se incubaron durante 24 horas a 37°C, pasado el tiempo, se midió el halo de inhibición; estos procedimientos se realizaron por triplicado.

El procedimiento anteriormente mencionado, se esquematiza en la figura 10.

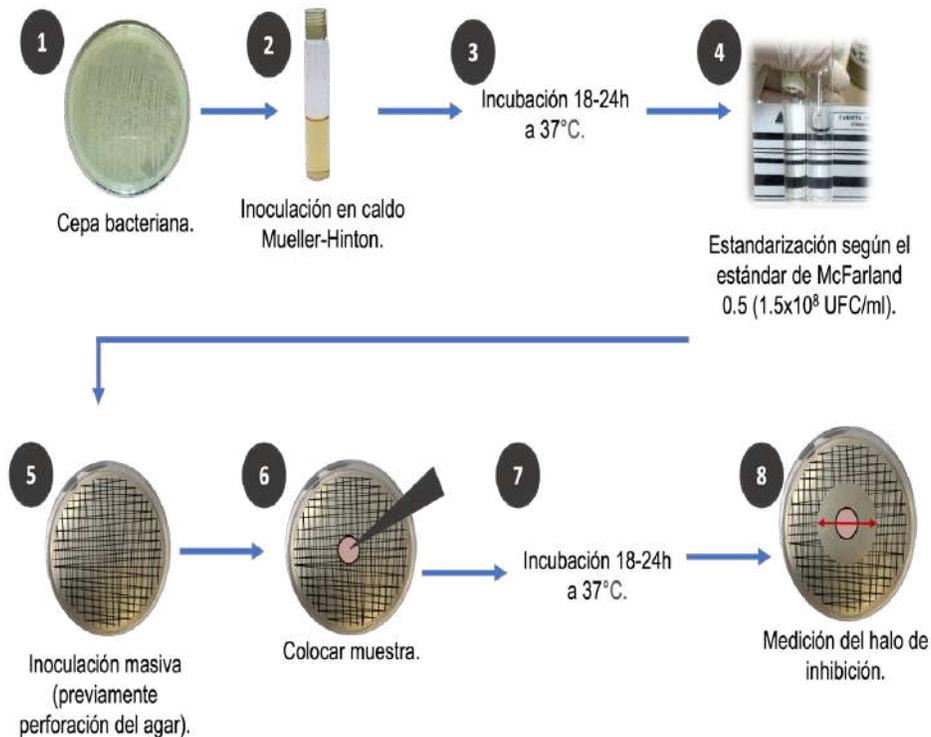


Figura 10.- Representación esquemática del método de Kirby-Bauer para la determinación del halo de inhibición.

VII. Caracterización Bacteriológica de los Materiales Obtenidos por Medio del Método de Dilución en Caldo para la Determinación de las Propiedades Bactericidas.

i. Cepas Bacterianas

Se probó la eficacia como antibacteriano de los materiales, frente a las siguientes cepas:

- *Escherichia coli* Beta-Lactamasa de Espectro Extendido positivo (BLEE+).
- *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM)

ii. Medios de Cultivo

El desarrollo y crecimiento de las cepas en estudio se llevó a cabo en los siguientes medios de cultivo:

- Agar para métodos estándar
- Caldo Mueller-Hinton
- Solución salina fisiológica al 0.9%

iii. Procedimiento

Se realizó el inóculo de la cepa bacteriana en caldo Mueller-Hinton y posteriormente se llevó a incubación a 37°C durante 24h; después de incubación, se estandarizó la concentración de la cepa según el estándar de McFarland 0.5 (1.5×10^8 UFC/ml). Se agregaron 100µl de la suspensión bacteriana en tubos con 3ml de caldo Mueller-Hinton, después, se agregó la muestra en distintas cantidades (0.02g, 0.06g y 0.1g) y se procedió a incubar por 24h.

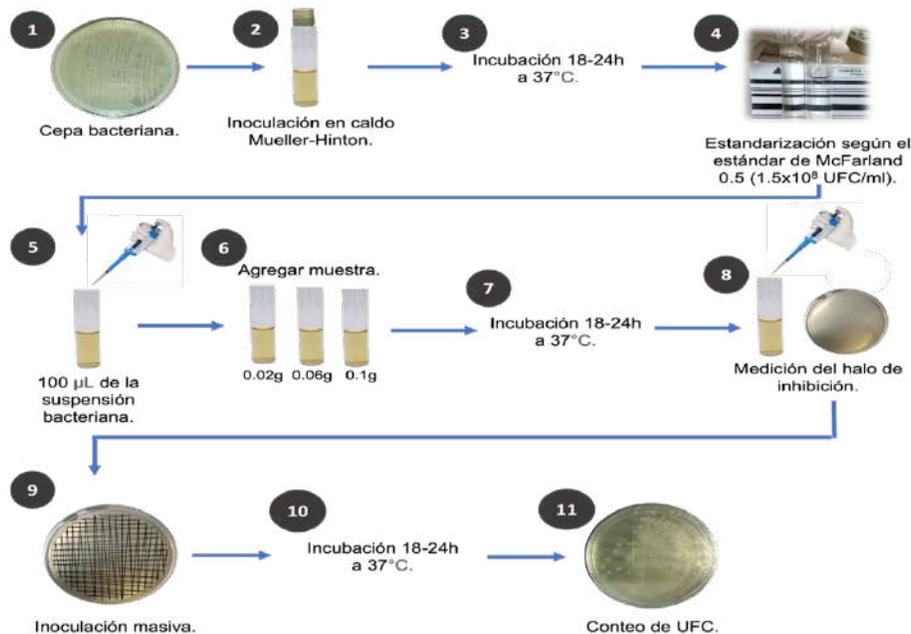


Figura 11.- Representación esquemática del método de dilución en caldo para la determinación de las propiedades bactericidas.

Una vez pasada la incubación, se tomaron 20µl de la suspensión y se agregaron en placas petri con agar para métodos estandar, lo cuál se inoculó de manera masiva; una vez inoculadas, dichas placas se pusieron en incubación 24h y se realizó el conteo de las UFC, se consideró como actividad bactericida, la existencia de una inhibición igual o superior al 99.9%. El procedimiento anteriormente mencionado, se esquematiza en la figura 11.

Una vez pasado el tiempo de incubación, se llevó a cabo el análisis y observación de los medios de cultivo, con el fin de determinar la actividad bactericida del material.

3.1.3 Caracterización Física de Nanopartículas Metálicas y Óxido Metálicas en Zeolita y NaCl

I. Absorción Óptica por Reflectancia Difusa



Figura 12.- Espectrofotómetro UV-Vis, marca PERKIN-ELMER, modelo λ-19, del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora.

Esta caracterización se realizó por medio del espectrofotómetro de UV-Visible, marca Perkin-Elmer, modelo: λ -19, equipado con esfera integradora, localizado en el Laboratorio de Estado Solido del Departamento de Investigación en Física, de la Universidad de Sonora (figura 12); donde se utilizó una celda de cuarzo, en la cual se depositó un aproximado de dos gramos del material en polvo.

II. Espectroscopía de Fotoelectrones Emitidos por Rayos X (XPS)

Para el análisis elemental del material, por medio de XPS, se utilizó el Espectrómetro de Fotoelectrones Emitidos por Rayos X, Marca PERKIN-ELMER, Modelo PHI5100, con fuente Mg y Al, del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora (figura 13).



Figura 13.- Espectrómetro de Fotoelectrones Emitidos por Rayos X, marca PERKIN-ELMER, modelo PHI5100 con fuente Mg y Al, del Departamento de Investigación en Física de la Universidad de Sonora.

III. Espectroscopía de Absorción Atómica

Para la determinación de la concentración de plata en los materiales sintetizados, se utilizó el espectrómetro de absorción atómica, marca PERKIN-ELMER, modelo AAnalyst 400, del Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia de la Universidad de Sonora (figura 14).



Figura 14.- Espectrómetro de Absorción Atómica, marca PERKIN-ELMER, modelo AAnalyst 400, del Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia, de la Universidad de Sonora.

IV. Microscopía Electrónica de Transmisión y Espectrometría de Dispersión de Energía de Rayos X (EDS) en MET

Se llevó a cabo la caracterización de los materiales sintetizados por medio de microscopía electrónica de transmisión y se utilizó el Microscopio Electrónico de Transmisión, marca JEOL, modelo JEM2010F, de la Universidad de Sonora.

Para ello, se preparó una suspensión agregando agua en el caso de los materiales utilizando zeolitas como matriz, y etanol para aquellos en los que se utilizó NaCl; y se separó en viales debidamente rotulados, los cuales fueron llevados para su medición, donde se agregó una pequeña alícuota en una rejilla de cobre, la que se coloca en el microscopio para obtener las imágenes que fueron posteriormente analizadas. El análisis elemental se realizó utilizando el espectrómetro de dispersión de energía de rayos X (EDS), marca BRUKER, con un detector XFlash 5030 (figura 15).



Figura 15.- Microscopio Electrónico de Transmisión, marca JEOL, modelo JEM2010F, del Departamento de Física de la Universidad de Sonora.

CAPÍTULO 4

4.1 RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1.1 Absorción Óptica por Reflectancia Difusa de Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas, Soportadas en Zeolita y Cloruro de Sodio.

De manera muy general podemos visualizar a la Nanociencia como la ocurrencia de dos fenómenos fundamentales que se observan en los materiales.

1. El primero de estos fenómenos ocurre cuando el mismo material se comporta de diferente manera en función del tamaño, como lo es en el caso de los semiconductores; y en función de su tamaño y/o forma, en el caso de metales.
2. El segundo fenómeno que ocurre y es igualmente de suma importancia, es cuando dos materiales diferentes exhiben el mismo comportamiento.

A continuación se presentan los resultados obtenidos para la caracterización de los materiales sintetizados por medio de absorción óptica por reflectancia difusa, en el eje horizontal se presenta la longitud de onda, la cual se barrió de 200-800 nm, mientras que, en el eje vertical se observa $(1-R)^2/2R$ que es la función de Kubelka-Munk, que es utilizada en el caso de materiales opacos y homogéneos, como es el caso de la zeolita. Esta función se presenta medida en unidades arbitrarias (u.a.). (Kubelka & Munk, 1931)

En la figura 16 se muestran los resultados obtenidos por medio de absorción óptica para nanopartículas soportadas en chabazita como matriz. En este espectro podemos apreciar dos bandas, la primera se encuentra en el intervalo de 200 a 250 nm, con máximo en 213 nm, dicha señal puede ser asignada a la presencia de iones de plata en el material.(Gulina et al., 2014). La segunda banda se encuentra en el intervalo de 350 a 800 nm con un máximo en 570 nm. Al realizar la deconvolución del espectro se observa como la envolvente coincide perfectamente con la señal experimental, y que dicha señal es reproducida por la suma de tres señales distintas

con máximos en; 455, 570 y 690 nm, las cuales podemos atribuir a tres poblaciones diferentes de nanopartículas, (con distinto tamaño, forma y/o composición). La diferente composición se puede asegurar apoyados en el espectro de alta resolución por XPS para este material mostrado en la figura 21, según la deconvolución realizada, la plata se encuentra en dos estados de oxidación que son: plata metálica y plata enlazada a oxígeno, hecho que nos hace deducir que las tres bandas observadas en el espectro de la figura 16, se deben a que en el material existe la presencia de nanopartículas de Ag_3O_4 , y también, nanopartículas de plata metálica. La presencia de nanopartículas de Ag_3O_4 en el material fue corroborada mediante Microscopía Electrónica de transmisión, hecho que quedo registrado en la figura 28b donde, haciendo uso del software “*DigitalMicrograph*” fue posible la identificación de una nanopartícula basado en sus distancias interplanares, corroborando que se trata de Ag_3O_4 .

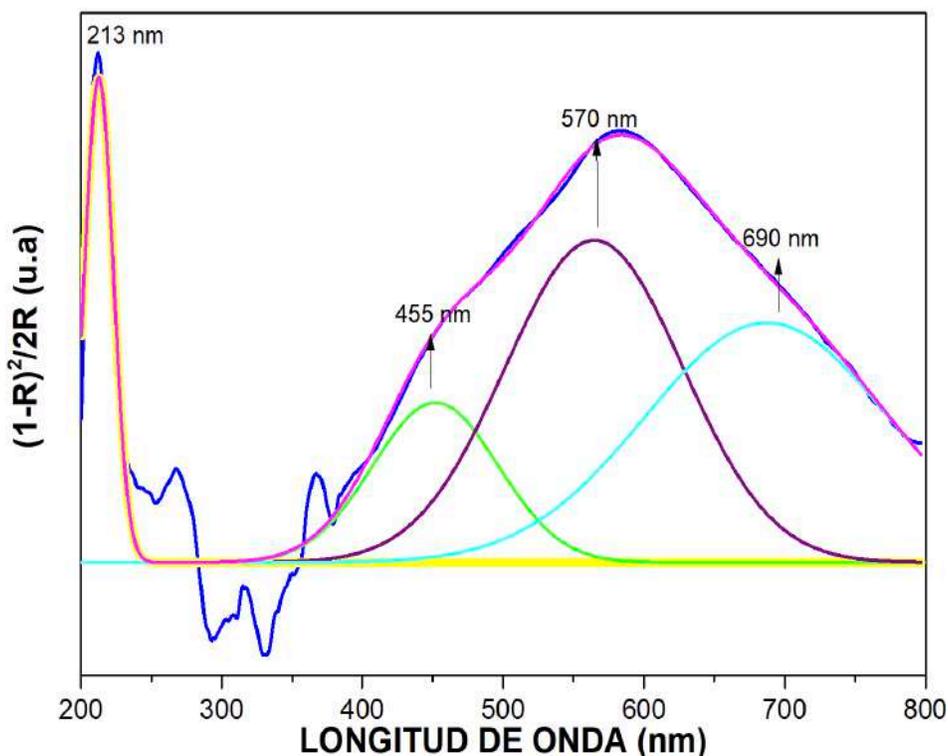


Figura 16.- Absorción óptica de nanopartículas de Ag_3O_4 soportadas en chabazita, y deconvolución del espectro obtenido.

En la figura 17 se muestran el espectro de absorción óptica obtenido para las nanopartículas soportadas en zeolita sintética A4, se pueden observar dos bandas bien definidas, la primera en el intervalo de 200-250 nm con un máximo en 212 nm, esta señal es atribuida a la presencia de iones de plata. La segunda banda se encuentra en el intervalo entre 250-800 nm, donde al analizar la deconvolución, se aprecia que la envolvente coincide perfectamente con la señal experimental, y que dicha envolvente es formada por la suma de cuatro bandas distintas con máximos a 385, 480, 562 y 647 nm, dichas señales se atribuyen a cuatro poblaciones diferentes de nanopartículas, en este punto solo se puede asegurar que son diferentes en tamaño, forma y/o composición. Este hecho se respalda en el espectro de alta resolución por XPS para este material mostrado en la figura 25, donde se observan dos estados de oxidación para la plata; plata metálica y plata enlazada a oxígeno. La existencia de nanopartículas de Ag_3O_4 en el material fue confirmada mediante MET, como se observa en la figura 29b, donde se realizó la identificación de una nanopartícula, confirmando que se trata de Ag_3O_4 .

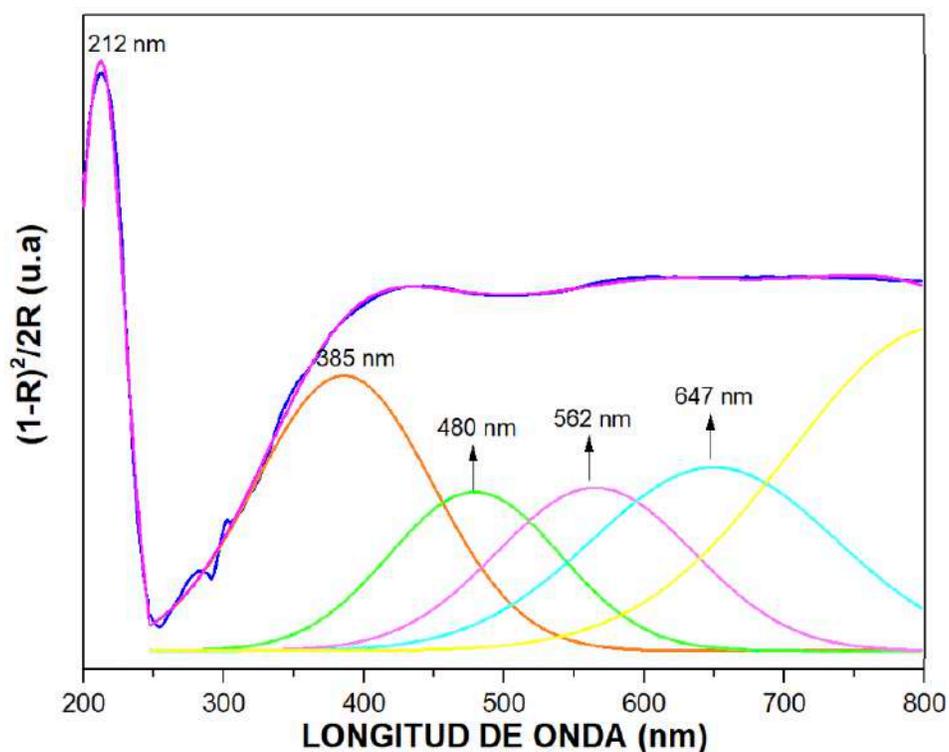


Figura 17.- Absorción óptica de nanopartículas de Ag_3O_4 soportadas en A4, y deconvolución del espectro obtenido.

En la figura 18 se muestra el espectro de absorción óptica dado por las nanopartículas soportadas en NaCl a partir de la síntesis con chabazita como matriz. En el espectro se observa una banda en el intervalo de 200 a 550nm, la deconvolución del espectro muestra como la envolvente coincide de muy aproximadamente con la señal experimental, dicha banda es reproducida por la suma de cuatro señales diferentes con máximos en; 231, 265, 319 y 412 nm, la señal a 231 nm se atribuye a la presencia de iones de plata, mientras que; las señales obtenidas con máximos en 265, 319 y 412 nm se atribuyen a la presencia de dos poblaciones distintas de nanopartículas, (con distinto tamaño, forma y/o composición). La presencia de nanopartículas de AgClO_3 en el material se confirmó su presencia por MET, según lo observado en la figura 30b donde, haciendo uso del software “*DigitalMicrograph*” fue posible la identificación de una nanopartícula de AgClO_3 .

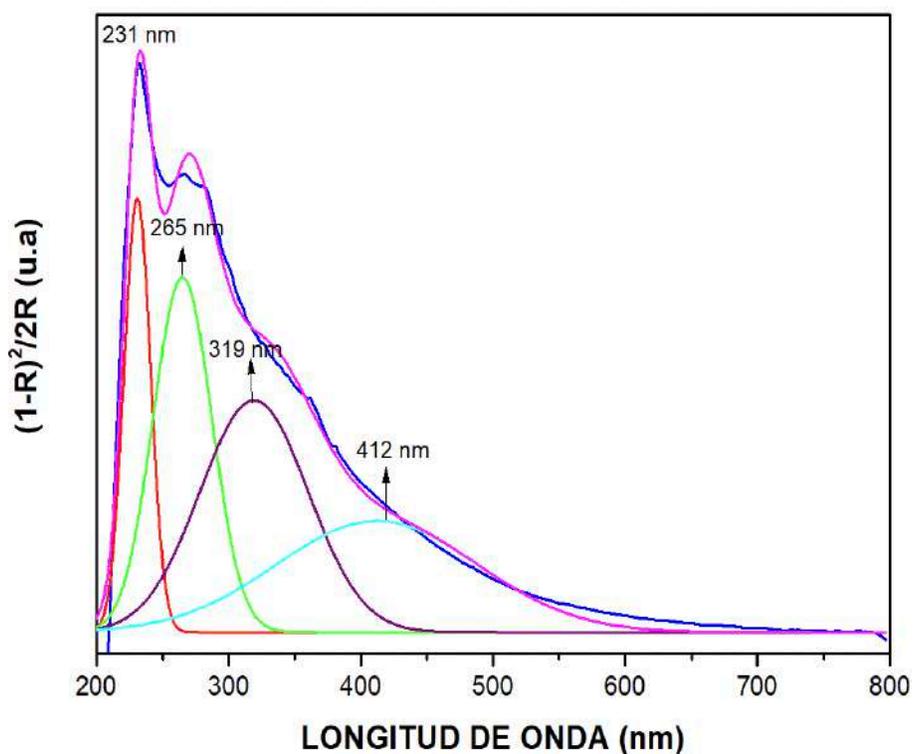


Figura 18.- Absorción óptica de nanopartículas de AgClO_3 soportadas en NaCl a partir de la síntesis con Chabazita, y deconvolución del espectro obtenido.

Por último, en la figura 19 se muestra el espectro de absorción óptica obtenido por la caracterización de nanopartículas soportadas en NaCl a partir de la síntesis con A4 como matriz. En el espectro se observa una banda, donde la deconvolución del espectro muestra como la envolvente coincide de manera perfecta con la señal experimental, dicha banda es reproducida por la suma de cuatro señales diferentes con máximos en; 226, 260, 318 y 420 nm, la señal a 226 nm se asigna a la existencia de iones de plata en el material, mientras que; las señales obtenidas con máximos en 260, 318 y 420 nm se atribuyen a la presencia de tres poblaciones diferentes de nanopartículas, (distinto tamaño, forma y/o composición). Por medio de MET se analizó la presencia de nanopartículas de Ag en el material, según lo observado en la figura 31b donde, fue posible la identificación de una nanopartícula corroborando que se trata de plata metálica.

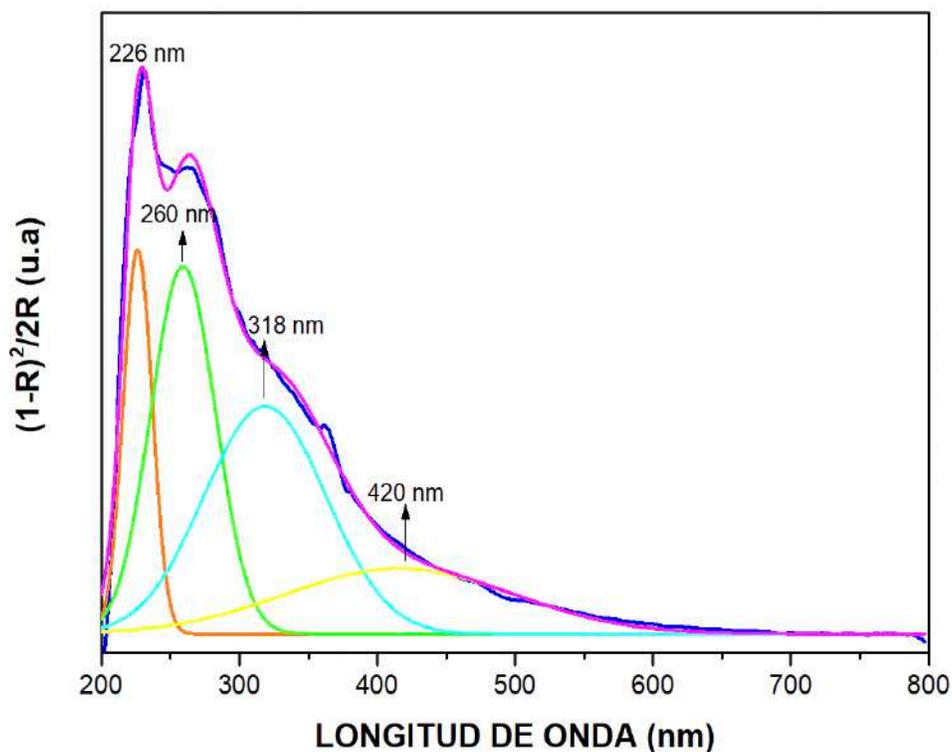


Figura 19.- Absorción óptica de nanopartículas de Ag, soportadas en NaCl a partir de la síntesis con A4, y deconvolución del espectro obtenido.

Es bien sabido y explicado en la literatura que la localización del plasmón depende de factores como lo es la forma y tamaño, siendo la forma quien tiene una mayor importancia, es por ello, que en el caso de nanopartículas esféricas con una alta simetría, podemos observar un solo plasmón de superficie que se traduce en una sola señal en el espectro; cuando esta condición desaparece, obtenemos nuevas resonancias que dependen de los factores ya mencionados, es por ello, que al observar los espectros obtenidos en la presente investigación, podemos aseverar la obtención de distintas poblaciones de nanopartículas metálicas y/o óxido-metálicas. (González & Noguez, 2007; Sau & Rogach, 2010)

4.1.2 Espectroscopía de Fotoelectrones Emitidos por Rayos X (XPS), de Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas, Soportadas en Zeolita y Cloruro de Sodio.

En la presente sección se muestran los resultados obtenidos por XPS para los materiales sintetizadas, donde se observan los elementos existentes en ellos.

La figura 20, exhibe el espectro XPS de baja resolución correspondiente a chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 (según la identificación realizada por los resultados obtenidos mediante MET). Es posible observar las señales correspondientes al Oxígeno, Silicio y Aluminio, que son los elementos que dan forma a la estructura esquelética de la zeolita, asimismo, es posible observar la señal del carbón 1s. La presencia del Carbono 1s aparece como una contaminación ambiental en el proceso de síntesis del material y sirve como referencia para el ajuste del espectro; además, se confirma la presencia de la plata, la cual fue agregada durante la síntesis. En la figura 21, se observa el espectro XPS de alta resolución correspondiente a plata presente en la chabazita, en la región 368-380 eV, donde podemos ver que la envolvente tiene una coincidencia casi perfecta con la señal obtenida experimentalmente, en él, se aprecia un doblete con máximos en 377.5 eV y 371.5 eV con una diferencia de energía entre ellas de 6 eV, que

corresponden a las señales $3d_{3/2}$ (377.5 eV) y $3d_{5/2}$ (371.5 eV) atribuidas a la plata. (Moulder et al., 1992)

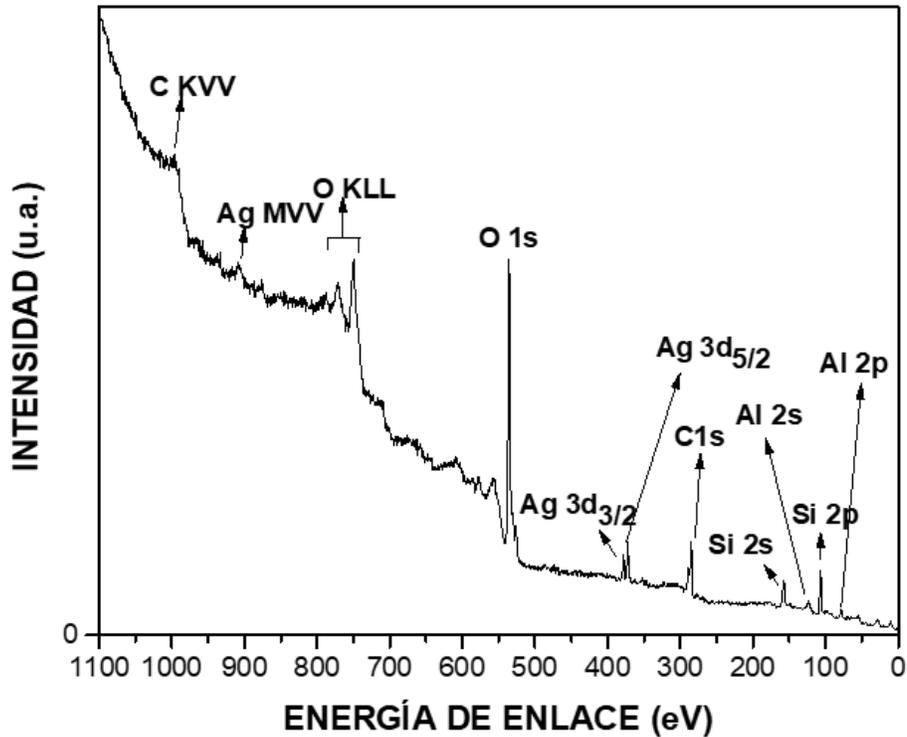


Figura 20.- Espectro XPS de baja resolución, correspondiente a chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .

Así mismo, al llevar a cabo la deconvolución del doblete obtenido, podemos observar que dichas señales se encuentran formadas por la suma de dos dobletes; el primer doblete con máximos en 378 y 372 eV. con una separación de 6 eV, el cual es atribuido a la presencia de plata metálica; el segundo doblete cuenta con máximos de intensidad ubicados a 377.07 y 371.07 eV. con una diferencia de energía de 6eV, y que es atribuido a la presencia de plata enlazada a oxígeno formando óxido de plata.

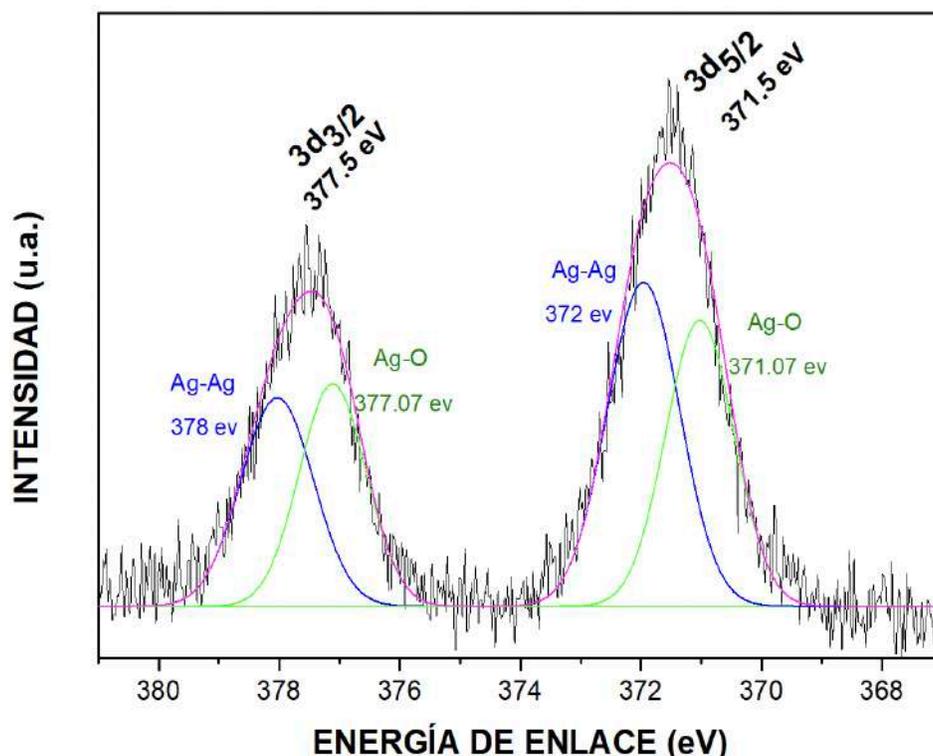


Figura 21.- Espectro XPS de alta resolución y ajuste correspondiente del doblete Ag 3d, así como, la deconvolución de la señal para chabazita soportando nanopartículas de Ag_3O_4 .

La figura 22, exhibe el espectro XPS de baja resolución correspondiente a NaCl alojando nanopartículas de $AgClO_3$, a partir de chabazita. Se observan las señales correspondientes al Sodio y Cloro, que son los elementos que dan forma a la estructura de la matriz, así mismo, es posible observar la señal del carbón 1s.

En la figura 23 se observa el espectro XPS de alta resolución para este material, correspondiente a la región 364-387 eV, donde podemos apreciar que la señal no nos permite confirmar la presencia de plata por medio de esta técnica, este hecho se atribuye a que probablemente la concentración de plata en el material es muy baja para ser detectada mediante XPS.

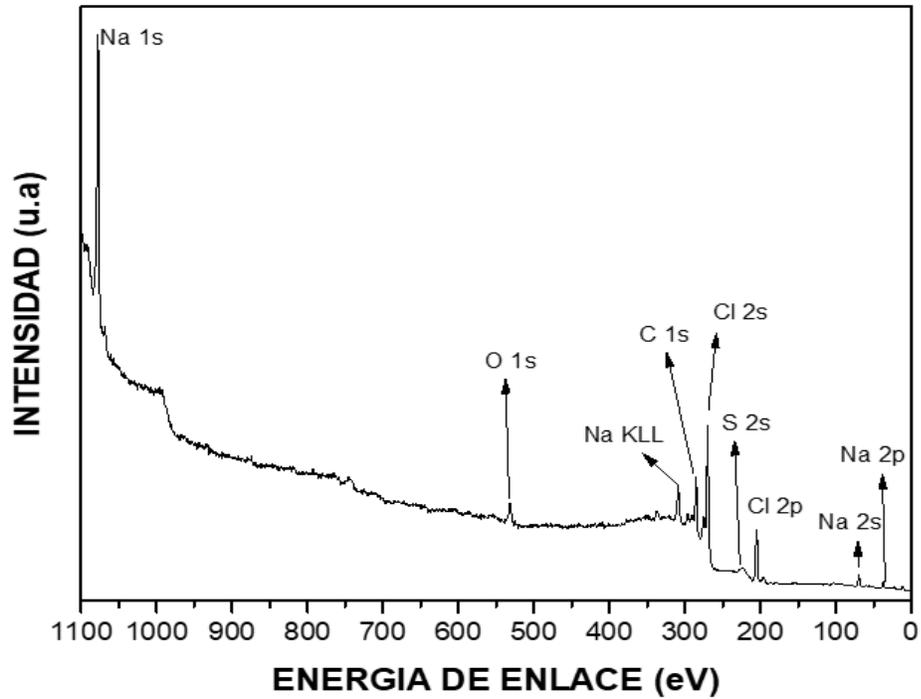


Figura 22.- Espectro XPS de baja resolución, correspondiente a NaCl alojando nanopartículas de $AgClO_3$, a partir de chabazita.

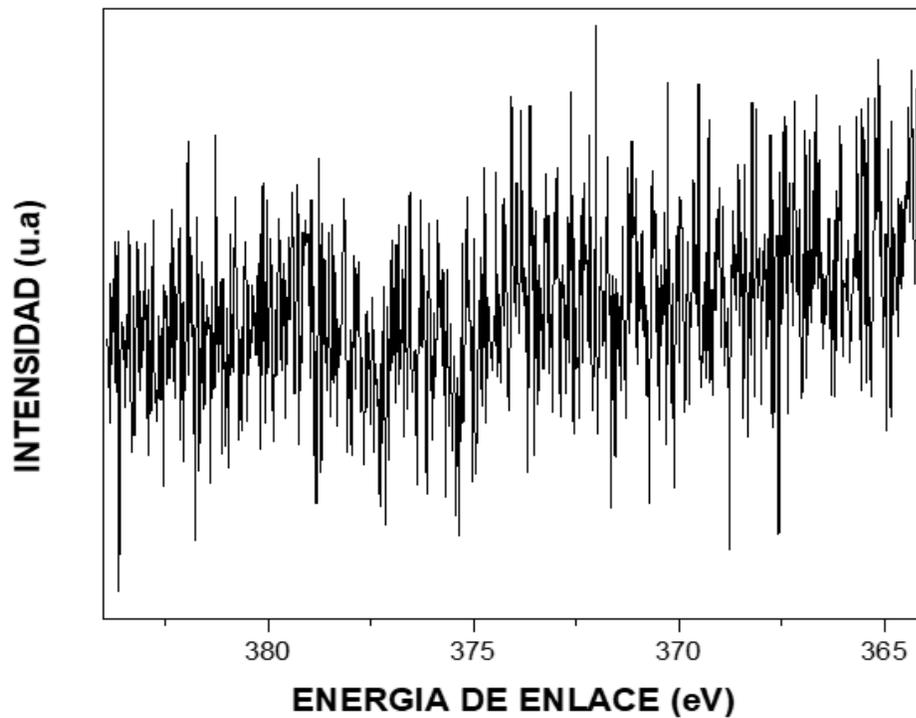


Figura 23.- Espectro XPS de alta resolución correspondiente a la zona de localización del doblete $Ag\ 3d$, de NaCl alojando nanopartículas de $AgClO_3$, a partir de chabazita.

La figura 24, exhibe el espectro XPS de baja resolución correspondiente a zeolita sintética A4 alojando nanopartículas. Nuevamente se observan las señales correspondientes a los elementos que forman la estructura esquelética de la zeolita (Si, O, Al), se puede observar la presencia de Sodio, que es el principal catión intercambiable para este tipo de zeolita, así como, la presencia de la plata agregada.

Para este material, en la figura 25 se observa el espectro XPS de alta resolución correspondiente a plata presente, en la región 367-381 eV, donde se observa el doblete dado por la existencia de plata, con señales con máximos a 376.8 eV y 370.8 eV con la misma diferencia de energía de 6 eV, que confirma la presencia de este elemento y corresponden a las señales $3d_{3/2}$ (376.8 eV) y $3d_{5/2}$ (370.8 eV). (Moulder et al., 1992)

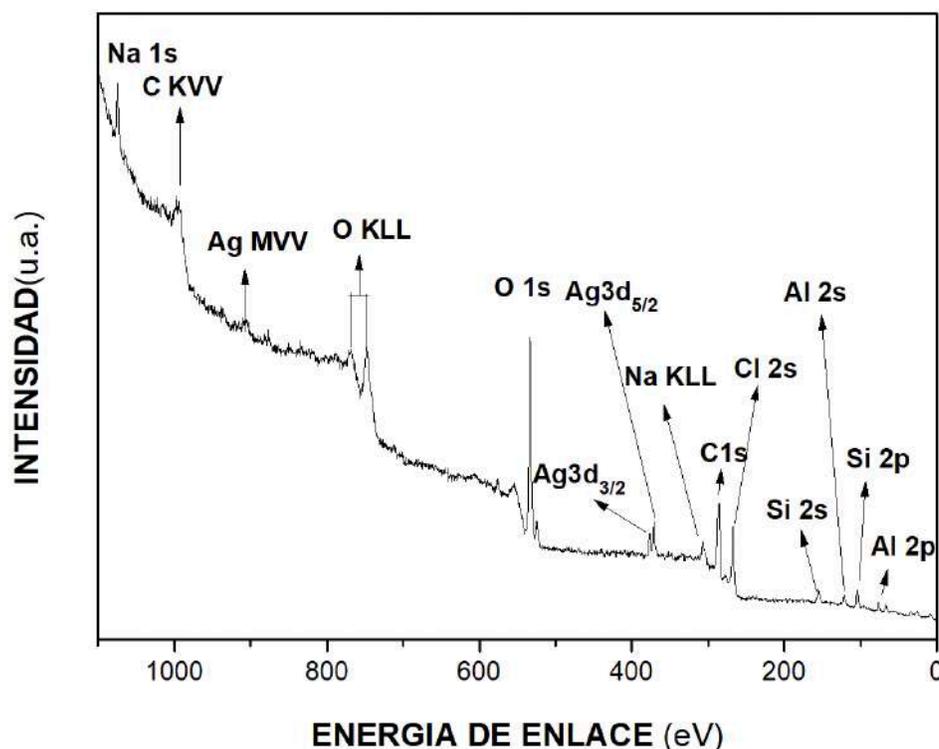


Figura 24.- Espectro XPS de baja resolución, correspondiente a A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .

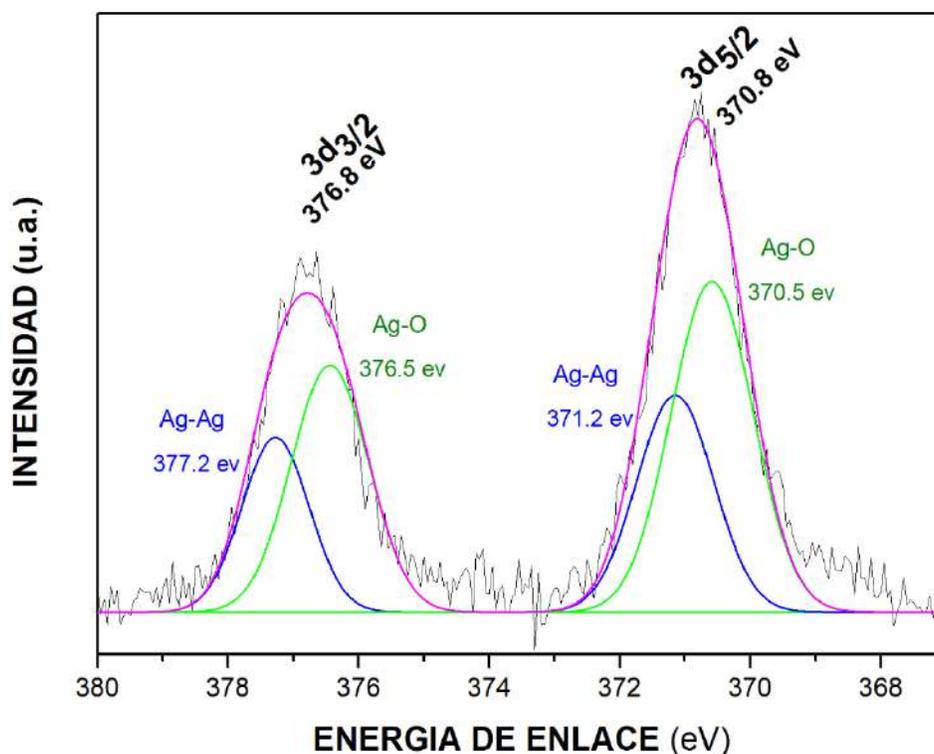


Figura 25.- Espectro XPS de alta resolución y ajuste correspondiente del doblete Ag 3d, así como, la deconvolución de la señal para A4 soportando nanopartículas de Ag_3O_4 .

Al llevar a cabo la deconvolución del doblete obtenido, observado en la figura 25, se aprecia que dichas señales se están formadas por la suma de dos dobletes; el primer doblete con máximos en 377.2 y 371.2 eV. con una diferencia de energía de 6 eV, el cual es atribuido a la presencia de plata metálica; el segundo doblete cuenta con máximos de intensidad ubicados a 376.5 y 370.5 eV. con una diferencia de energía de 6eV, y que es atribuido a la presencia de plata enlazada a oxígeno en la formación de óxido de plata.

Para el caso de NaCl alojando nanopartículas, obtenida a partir de A4, el espectro obtenido en la figura 26, muestra la existencia en el material de los elementos presentes en la matriz (Na y Cl), así como, la presencia de O y Ca; el O se encuentra presente en todas las mediciones debido a que es un elemento proveniente del ambiente, además de formar parte de la estructura de la zeolita de la cual se parte esta síntesis.

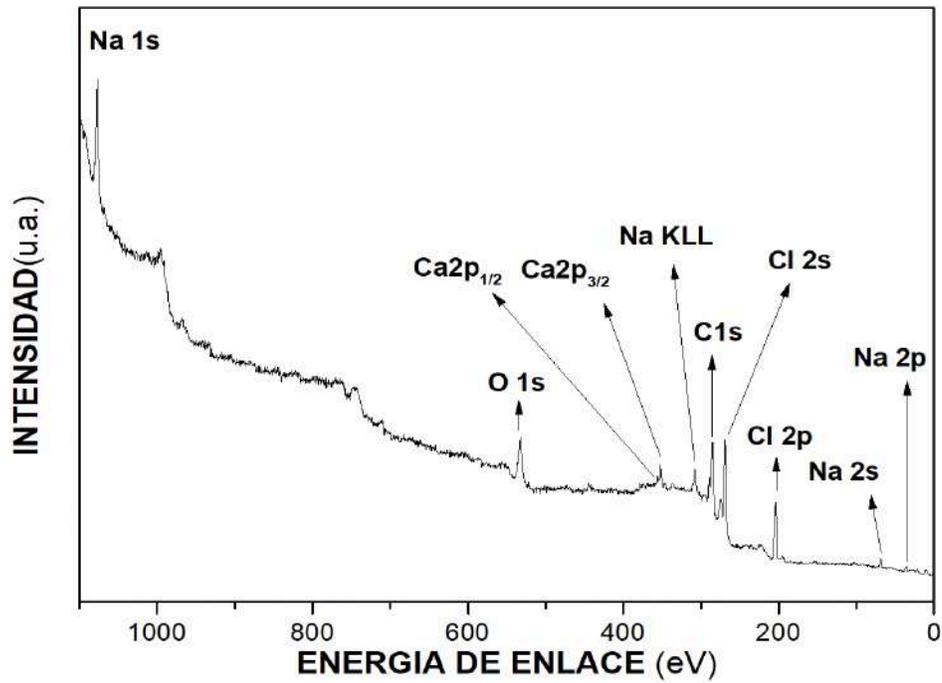


Figura 26.- Espectro XPS de baja resolución, correspondiente a NaCl alojando nanopartículas de Ag, a partir de A4.

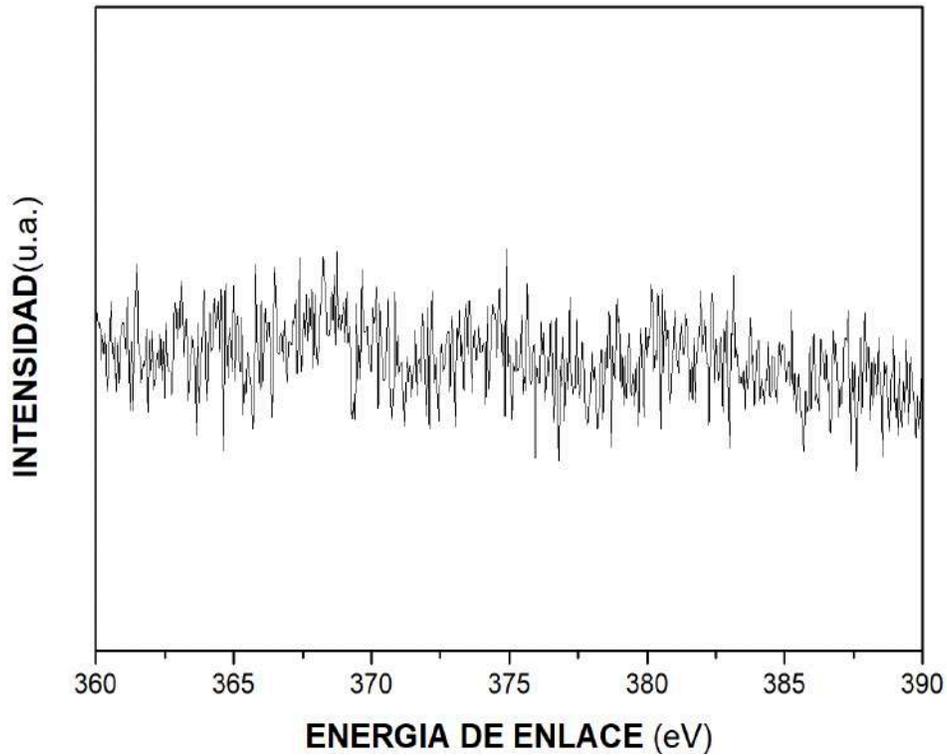


Figura 27.- Espectro XPS de alta resolución correspondiente a la zona de localización del doblete Ag 3d, de NaCl alojando nanopartículas de Ag, a partir de A4.

Para este material, en coincidencia con la sal con plata anteriormente obtenida a partir de chabazita, tampoco se determinó la presencia de plata por medio de XPS, tal y como se muestra en el espectro de alta resolución correspondiente a la zona de localización del doblete Ag 3d característico para determinar la presencia de este elemento mostrado en la figura 27.

Por medio de esta técnica se ha podido confirmar la presencia de plata en los materiales sintetizados utilizando zeolita como matriz, tanto chabazita como A4; sin embargo, no se ha podido concluir con la determinación de la presencia de este elemento en los materiales donde se utilizó NaCl como soporte, es por ello, que se hizo uso de espectroscopia de absorción atómica con este fin.

4.1.3 Espectroscopía de Absorción Atómica de Nanopartículas Metálicas y Óxido-Metálicas, Soportadas en Cloruro de Sodio a partir de su Tratamiento con Zeolita.

Debido a que la caracterización por medio de XPS no arrojó un resultado concluyente para la presencia de plata para los materiales formados de NaCl alojando nanopartículas metálicas y/o óxido metálicas, esto debido a la resolución para la detección por parte del equipo de XPS, se procedió a determinar la concentración de plata en partes por millón (ppm) por medio de la técnica de espectroscopia de absorción atómica.

Para este propósito se utilizó el espectrómetro de absorción atómica del Departamento de Ingeniería Química y Metalurgia, el cual fue operado en dicha medición por el Dr. Guillermo Tiburcio Munive.

En esta medición se determinó la concentración de plata para la sal con nanopartículas, obtenida a partir de chabazita, en la que la concentración de plata fue de 700 ppm.

Si bien, en esta técnica solo fue posible llevar a cabo la medición para el material ya mencionado, quedando como trabajo futuro la determinación de la concentración de plata por esta técnica para el NaCl alojando nanopartículas,

obtenida a partir de A4, se puede esperar una presencia de plata en esta muestra, ya que, por medio de EDS se determinó una concentración de 5.19% de plata, además de que se puede observar una importante actividad antibacteriana causada por la presencia de plata en este material.

4.1.4 Microscopía Electrónica de Transmisión de Nanopartículas de Ag_3O_4 , AgClO_3 y Ag, Soportadas en Zeolita y Cloruro de Sodio

I. Identificación Estructural de las Nanopartículas de Ag_3O_4 , AgClO_3 y Ag Obtenidas en Zeolita y NaCl.

En la figura 28, se aprecian las imágenes obtenidas por medio de microscopía electrónica de transmisión, para zeolita chabazita alojando nanopartículas, en la imagen a) se observa un cristal de zeolita soportando nanopartículas con una buena distribución, y con tamaños entre 1-14 nm, (mientras que, en b) se puede apreciar una imagen en alta resolución de una nanopartícula, donde es posible distinguir los planos cristalinos, y haciendo uso del software "digital micrograph" se realizó la medición de las distancias interplanares para estas nanopartículas, se determinaron los siguientes valores: 2.75, 2.59 y 1.59 Å, que corresponden a los planos (120), (012) y $(2\bar{2}\bar{2})$ respectivamente, estos planos se refieren a la estructura monoclinica del óxido de plata (Ag_3O_4), según la hoja cristalográfica número PDF: 40-1054.

En la figura 29, se presentan las imágenes para zeolita A4 alojando nanopartículas, en la figura a) se observa la distribución de las nanopartículas en la zeolita sintética A4, donde podemos apreciar nanopartículas de forma semiesférica y/o ovalada, y con tamaños entre 4-37 nm, soportadas en el cristal de zeolita.

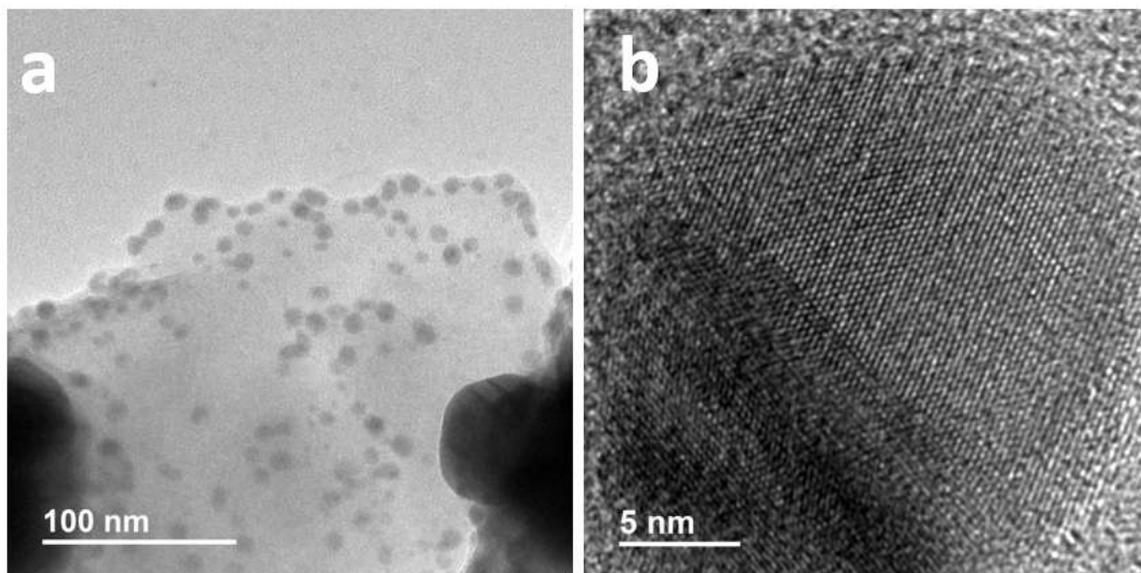


Figura 28.- Imágenes MET de chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 . a) Distribución de nanopartículas de Ag_3O_4 en chabazita, b) Nanopartícula en alta resolución.

También es posible observar, sobre el recubrimiento de carbón de la rejilla donde es soportada la muestra para su observación en el microscopio electrónico de transmisión, nanopartículas que crecieron en la superficie del cristal de zeolita pero que no se encontraban adheridas o atrapadas por la zeolita y que al preparar la muestra para su medición, se desprendieron de la misma, mientras que, en la figura b) se puede apreciar una imagen en alta resolución de una nanopartícula, donde es posible distinguir los planos cristalinos y haciendo uso de “digital micrograph” se determinaron sus distancias interplanares con valores de 3.1, 2.60 y 2.73 Å, que corresponden a los planos (110), (002) y $(\bar{1}02)$ respectivamente, se determinó que estos planos se refieren de igual manera a la estructura monoclinica del óxido de plata (Ag_3O_4), según la hoja cristalográfica número PDF: 40-1054.

En la figura 30, se encuentran las imágenes para NaCl alojando nanopartículas de $AgClO_3$, obtenidas a partir de la síntesis con zeolita chabazita, en a) se observa la distribución de las nanopartículas en NaCl, en formas semiesféricas y/o ovaladas, y con una distribución de tamaños de 1-11 nm, mientras que, en la imagen b) se realizó la determinación de las distancias interplanares, con valores

de: 4.16, 2.20 y 2.57 Å, que corresponden a los planos (200), (213) y (103) respectivamente, estos planos se refieren a la estructura tetragonal del clorato de plata (AgClO_3), según la hoja cristalográfica número PDF: 08-0481.

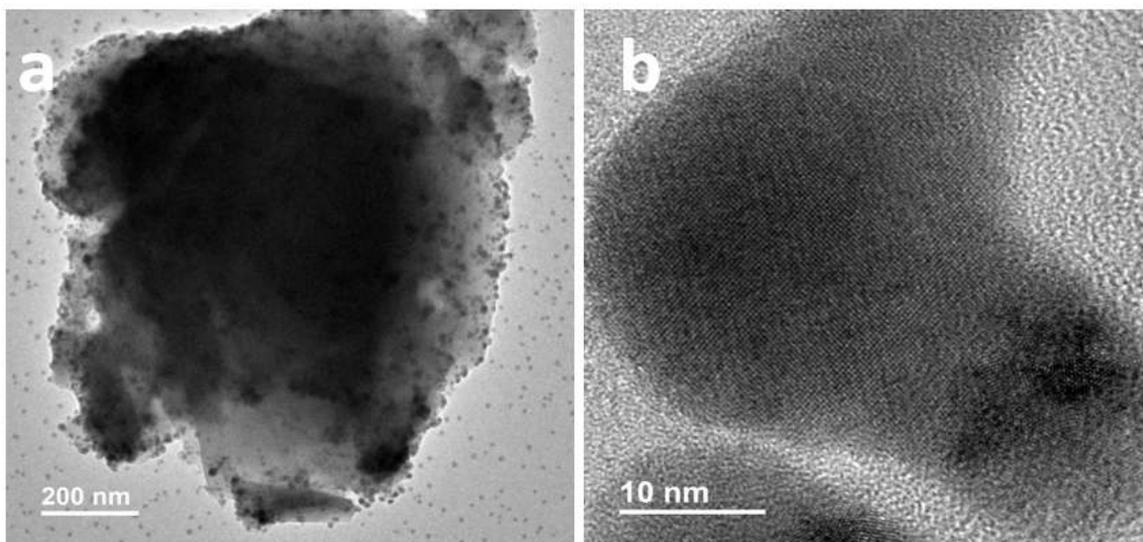


Figura 29.- Imágenes MET de A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 . a) Distribución de nanopartículas de Ag_3O_4 en A4, b) Nanopartícula en alta resolución.

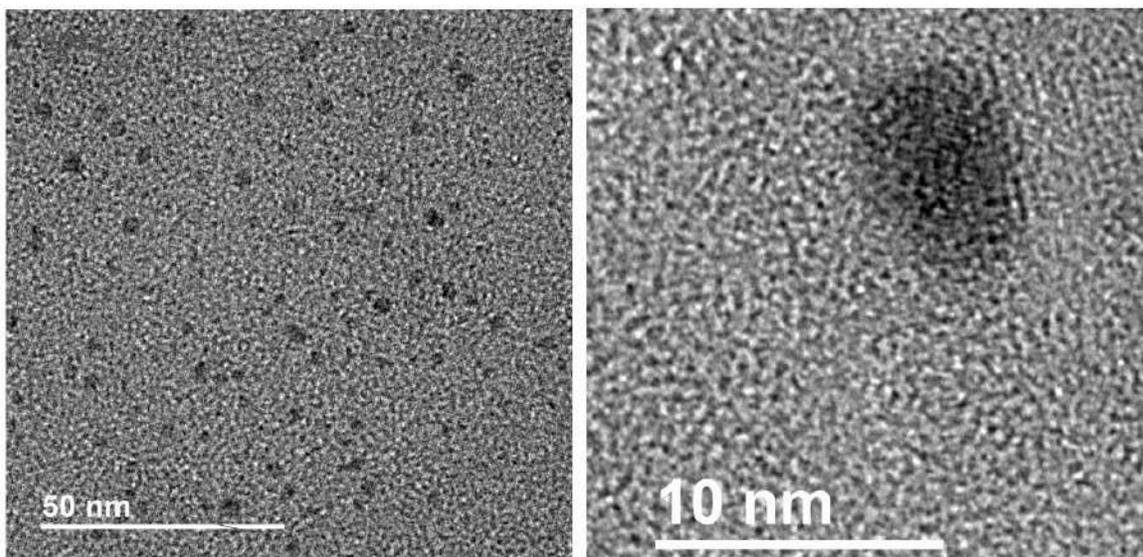


Figura 30.- Imágenes MET de NaCl alojando nanopartículas de AgClO_3 , a partir de Chabazita. a) Distribución de nanopartículas de AgClO_3 en NaCl, b) Nanopartícula en alta resolución.

Y por último, en la figura 31, se aprecian las imágenes obtenidas para NaCl alojando nanopartículas, obtenidas a partir de la síntesis con zeolita A4, en la imagen a) se observa la distribución de las nanopartículas en NaCl, con distintos tamaños y formas, y con una distribución de tamaños de 1,20 nm, mientras que, en b) se puede apreciar una imagen en alta resolución de una nanopartícula en la que es posible observar los planos cristalinos, al realizar la medición de estos planos mediante “digital micrograph”, el valor de las distancias interplanares se determinó como 2.53, 2.32 y 2.24 Å, que corresponden a los planos (004), (101) y ($1\bar{1}2$) respectivamente, estos planos se determinó que son debidos a la estructura hexagonal de la plata metálica, según la hoja cristalográfica número PDF: 41-1402.

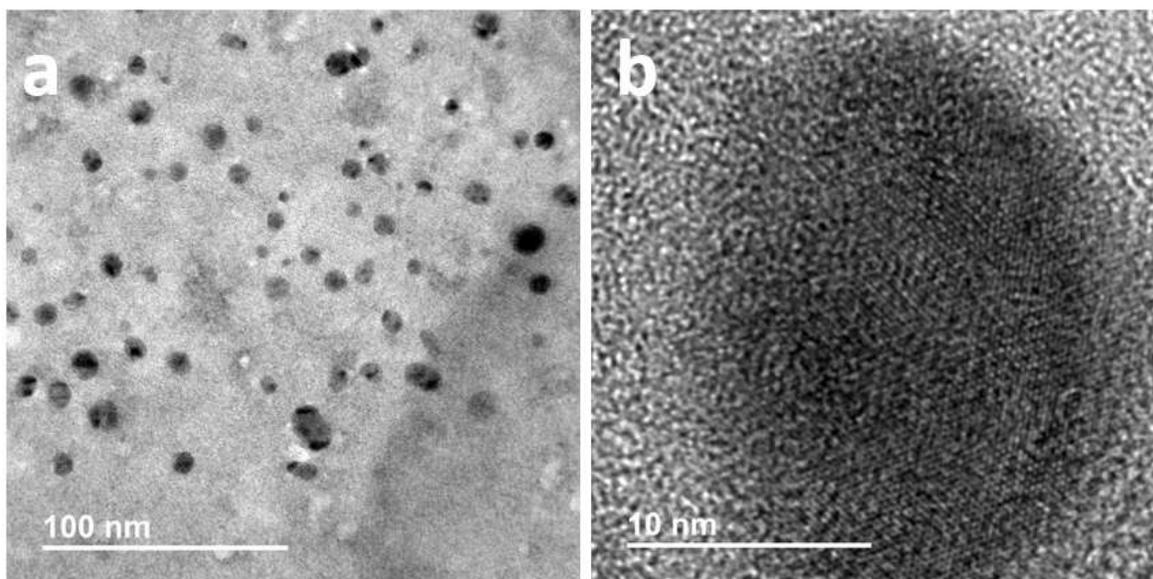


Figura 31.- Micrográficas de NaCl alojando nanopartículas de Ag, a partir de A4. a) Distribución de nanopartículas en NaCl, b) Nanopartícula en alta resolución.

II. Determinación de la Distribución de Tamaños de Nanopartículas de Ag_3O_4 , AgClO_3 y Ag, Obtenidas en Zeolita y NaCl como matriz.

Los histogramas de distribución de tamaño se realizaron a partir de una medición de más de 500 nanopartículas por cada una de las muestras sintetizadas, con

excepción de las nanopartículas en NaCl a partir de chabazita, donde fueron 400 las nanopartículas medidas; el procesamiento de los datos se realizó mediante los softwares “origin pro 9” e “Image J”.

En la figura 32, se observa el histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de Ag_3O_4 sintetizadas en chabazita como matriz, se observa que el tamaño de las nanopartículas está en el rango de 1-13 nm, donde el análisis estadístico arrojó los siguientes valores: media 5.26 nm, mediana 4.96 nm y moda de 4.7 nm (n= 506).

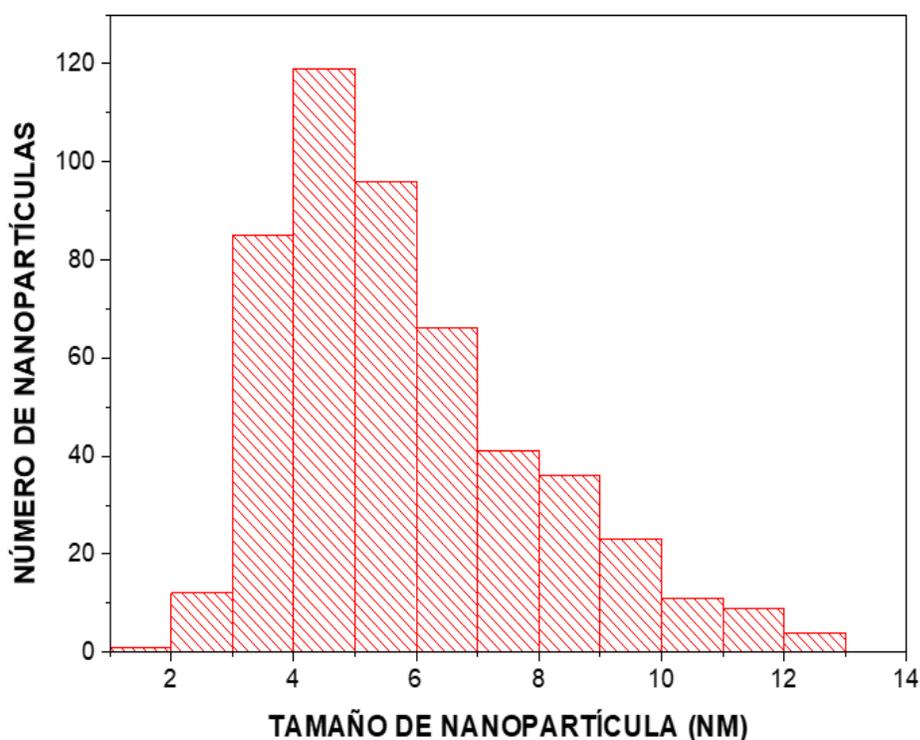


Figura 32.- Histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de Ag_3O_4 , sintetizadas en chabazita como matriz, n=506.

En la figura 33, se presenta el histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de Ag_3O_4 sintetizadas en A4 como matriz, en este caso, se encontró que el tamaño de las nanopartículas presentes en esta matriz, está en el rango de 4-37 nm, en este caso, el análisis estadístico arrojó los siguientes valores: media 12.4 nm, mediana 12.04 nm y moda de 11.5 nm (n= 506).

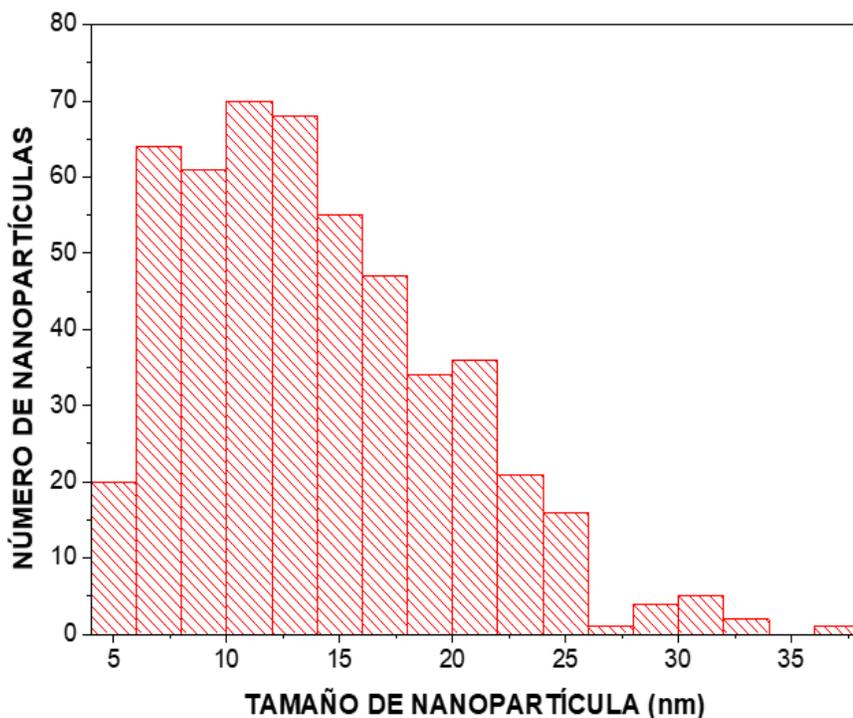


Figura 33.- Histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de Ag_3O_4 , sintetizadas en A4 como matriz, $n=506$.

Para el caso de las nanopartículas de $AgClO_3$ sintetizadas en NaCl como matriz, a partir de la síntesis con chabazita, en la figura 34, se observa el histograma de distribución de tamaños, donde se determinó, que el tamaño de las nanopartículas está en el rango de 1-11 nm, el análisis estadístico correspondiente determinó los siguientes valores: media 2.95 nm, mediana 3.02 nm y moda de 2.5 nm ($n= 400$).

Por último, en la figura 35, se observa el histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de Ag alojadas en NaCl, a partir de A4, donde se obtuvo que el tamaño de las nanopartículas está en el rango de 1-20 nm, para este material el análisis estadístico arrojó los valores siguientes: media 6.4 nm, mediana 6.43 nm y moda de 4.9 nm ($n= 502$).

De manera general se obtuvieron nanopartículas metálicas y óxido-metálicas con una distribución de tamaños que osciló entre los 1-37 nm.

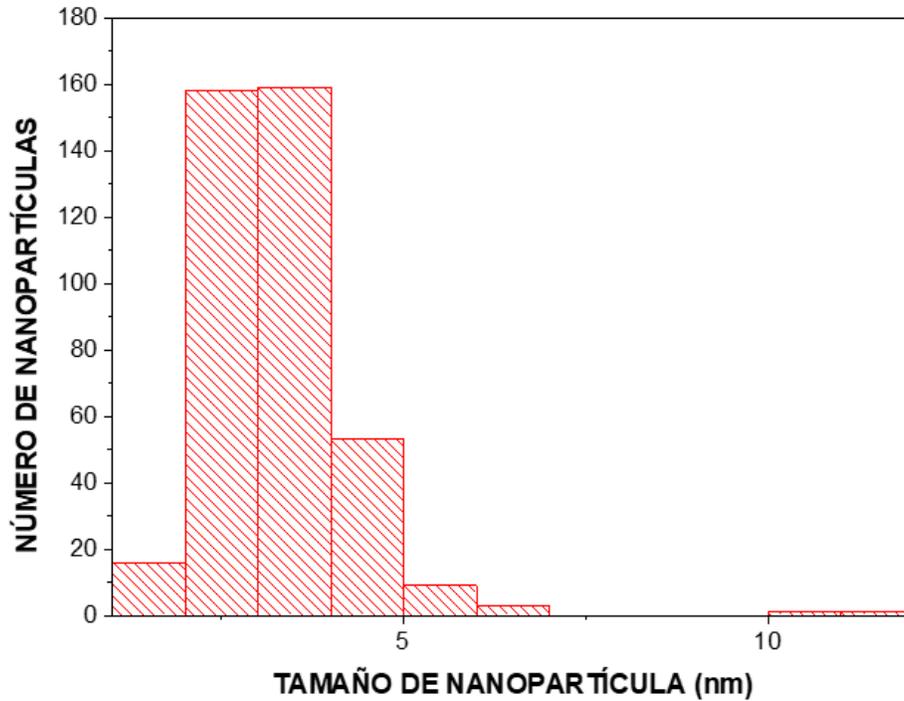


Figura 34.- Histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de AgClO_3 , sintetizadas en NaCl como matriz, a partir de chabazita. $n=400$.

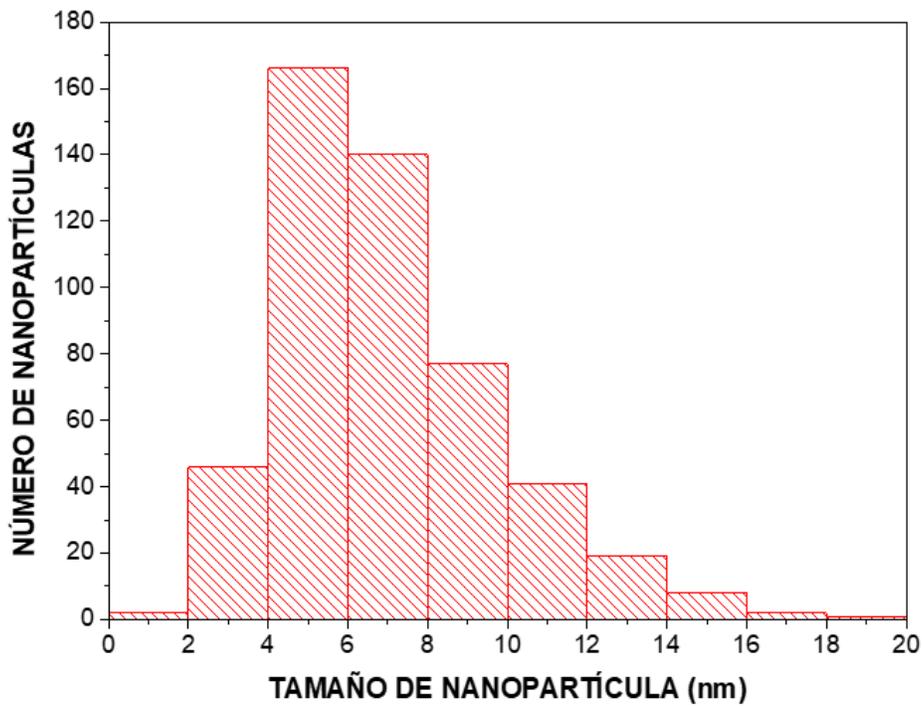


Figura 35.- Histograma de distribución de tamaño de nanopartículas de Ag , sintetizadas en NaCl como matriz, a partir de A4. $n=502$.

Se puede destacar que se obtuvieron nanopartículas de un tamaño menor en chabazita, en comparación con la zeolita sintética A4, lo que nos da una buena pauta sobre la utilización de zeolitas naturales, que además de más económicas, no necesitan un proceso riguroso de limpieza y purificación para su uso.

La misma relación de tamaño se puede observar para las nanopartículas obtenidas en NaCl a partir de chabazita, en comparación con las nanopartículas en NaCl a partir de A4, siendo las primeras mencionadas las de menor tamaño.

Como explicación para estos resultados se puede observar como por medio de EDS en MET, la disponibilidad de plata es considerablemente mayor para las nanopartículas en A4 y en NaCl a partir de A4, lo que se traduciría a una producción de nanopartículas con un tamaño ligeramente mayor, sin embargo, se puede considerar de manera general que estas nanopartículas cuentan con un tamaño idóneo para ser aplicadas como antibacterianos, ya que, estudios han indicado la buena acción antimicrobiana en nanopartículas con tamaños menores a 100 nm, siendo potenciada esta propiedad en aquellas menores de 50 nm. (Mba & Nweze, 2021)

4.1.5. Análisis Elemental por Espectrometría de Dispersión de Energía de Rayos X (EDS) en MET, para Nanopartículas de Ag_3O_4 , AgClO_3 y Ag, Obtenidas en Zeolita y NaCl como matriz.

En el espectro que se presenta en la figura 36, se muestra el análisis elemental puntual para la muestra de zeolita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 , se puede observar que se encontró la presencia de Oxígeno, Plata, Silicio, Aluminio, Calcio, Hierro, Magnesio, Cromo, Titanio y Zirconio. En la tabla 1 se indica la cantidad encontrada para cada uno de estos elementos (resultados mostrados en porcentaje en peso (wt. %) y porcentaje atómico (at. %)).

Algunos de estos elementos forman parte del arreglo estructural de la zeolita (Si, O y Al), otros forman parte de un residuo de los cationes intercambiables

presentes en las zeolitas naturales (Ca, Fe, Mg, Cr, Ti, Zr), y la plata fue agregada durante la síntesis.

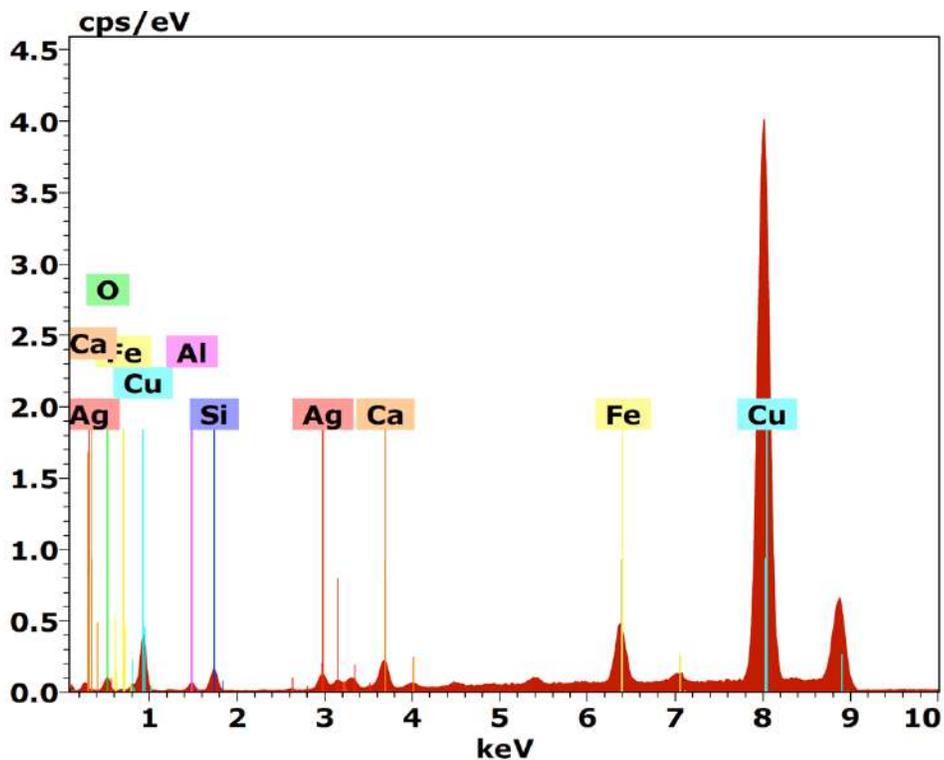


Figura 36.- Espectro obtenido por EDS en MET, para chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .

Tabla 1.- Análisis elemental por EDS en MET para chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .

El	AN	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error (1 Sigma) [wt.%]
O	8	K-series	7.04	11.72	31.79	2.23
Ag	47	K-series	29.37	48.90	19.67	0.73
Si	14	K-series	6.02	10.03	15.49	0.40
Al	13	K-series	3.39	5.64	9.08	0.31
Ca	20	K-series	4.49	7.48	8.10	0.20
Fe	26	K-series	6.09	10.15	7.89	0.19
Mg	12	K-series	1.96	3.27	5.84	0.27
Cr	24	K-series	0.88	1.47	1.22	0.06
Ti	22	K-series	0.38	0.63	0.57	0.05
Zr	40	K-series	0.43	0.72	0.34	0.05
Cu	29	K-series	0.00	0.00	0.00	0.00
Total:			60.05	100.00	100.00	

En el espectro que se presenta en la figura 37, se muestra el análisis elemental puntual para zeolita sintética A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 , se puede observar la presencia de Plata, Silicio, Aluminio y Azufre.

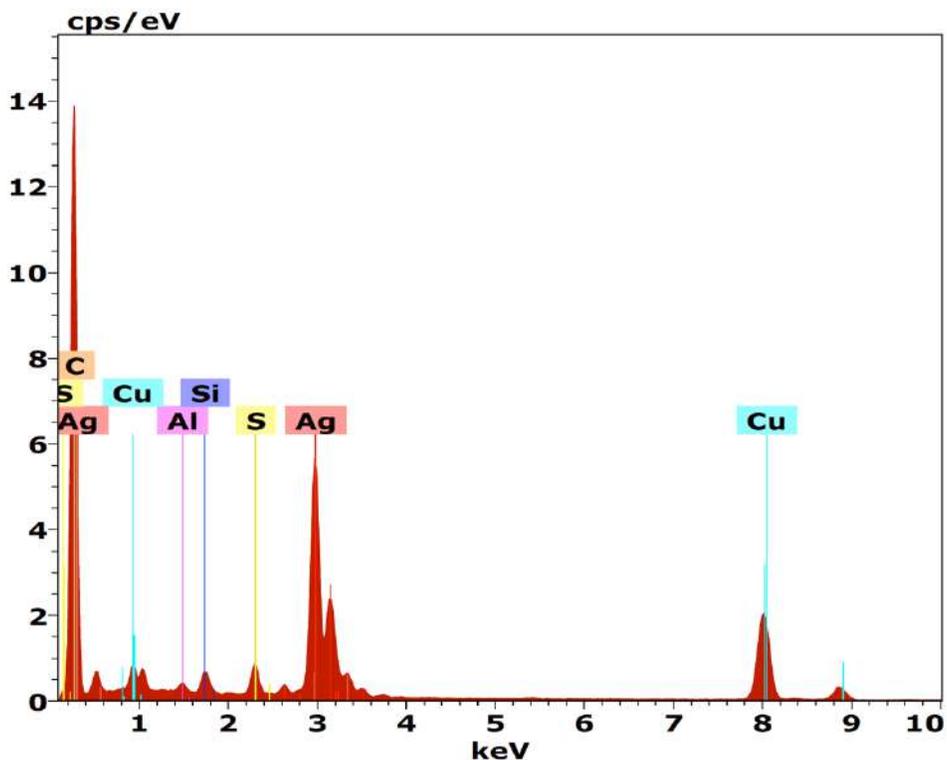


Figura 37.- Espectro obtenido por EDS en MET, para zeolita sintética A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .

En la tabla 2 se indica la cantidad encontrada para cada uno de los elementos identificados en el espectro de la figura 37 (resultados mostrados en porcentaje en peso (wt. %) y porcentaje atómico (at. %)). Algunos de estos elementos forman parte del arreglo estructural de la zeolita (Si, y Al) la plata fue agregada durante la síntesis, mientras que, se atribuye la presencia del azufre a una posible contaminación sufrida durante el proceso de manejo y/o medición de la muestra.

En el espectro que se presenta en la figura 38, se muestra el análisis elemental puntual para NaCl alojando nanopartículas de AgClO_3 , sintetizadas a partir de chabazita; se encontró la presencia de Oxígeno, Sodio, Silicio, Cloro, Azufre y Plata.

Tabla 2.- Análisis elemental por EDS en MET para A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .

El	AN	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error (1 Sigma) [wt.%]
Ag	47	K-series	109.09	68.47	36.31	2.53
Si	14	K-series	21.50	13.49	27.48	1.18
Al	13	K-series	19.10	11.98	25.41	1.21
S	16	K-series	9.65	6.06	10.80	0.45
C	6	K-series	0.00	0.00	0.00	0.00
Cu	29	K-series	0.00	0.00	0.00	0.00
Total:			159.33	100.00	100.00	

En la tabla 3 se indica la cantidad encontrada para cada uno de los elementos identificados en el espectro de la figura 38, algunos de estos elementos forman parte del arreglo estructural de la matriz de NaCl (Na y Cl), otros aparecen como parte de un residuo al estar en contacto con la zeolita, la plata fue agregada durante la síntesis (Ag) y el azufre (S) se atribuye de igual manera a una contaminación de la muestra en el manejo de esta y en el proceso de medición.

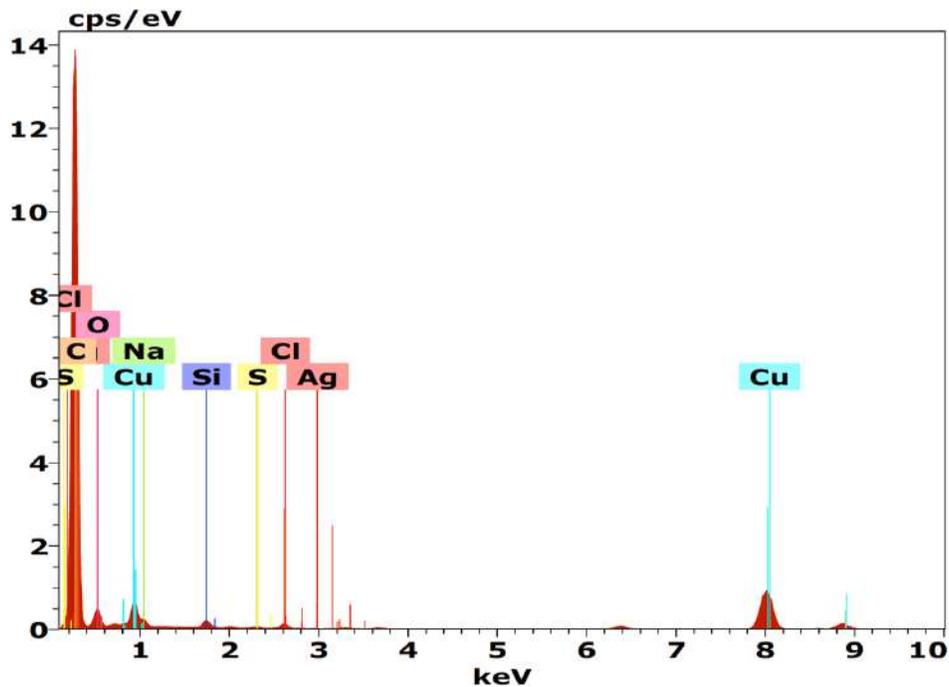


Figura 38.- Espectro obtenido por EDS en MET, para NaCl alojando nanopartículas de $AgClO_3$, sintetizadas a partir de chabazita.

Tabla 3.- Análisis elemental por EDS en MET para NaCl alojando nanopartículas de AgClO₃, sintetizadas a partir de chabazita.

El	AN	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error (1 Sigma) [wt.%]
O	8	K-series	400.01	62.92	72.05	61.46
Na	11	K-series	176.61	27.78	22.14	23.65
Si	14	K-series	45.29	7.12	4.65	2.67
Cl	17	K-series	7.56	1.19	0.61	0.39
S	16	K-series	6.16	0.97	0.55	0.38
Ag	47	K-series	0.10	0.02	0.00	0.04
C	6	K-series	0.00	0.00	0.00	0.00
Cu	29	K-series	0.00	0.00	0.00	0.00
Total:			635.72	100.00	100.00	

En los espectros que se presentan en las figuras 39 y 40, se muestra el análisis elemental puntual para NaCl alojando nanopartículas de Ag, sintetizadas a partir de zeolita A4, en dos zonas distintas (EDS 1 en la figura 39 y EDS 2 en la figura 40); se encontró la presencia de oxígeno, cloro, calcio y plata en las zonas estudiadas. En las tablas 4 y 5 se indica la cantidad encontrada para estos elementos (EDS 1 y EDS 2, respectivamente).

Tabla 4.- Análisis elemental por EDS en MET (EDS1), para NaCl alojando nanopartículas de Ag, sintetizadas a partir de zeolita sintética A4.

El	AN	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error (1 Sigma) [wt.%]
O	8	K-series	94.81	94.81	99.19	34.95
Ag	47	K-series	5.19	5.19	0.81	0.78
C	6	K-series	0.00	0.00	0.00	0.00
Cu	29	K-series	0.00	0.00	0.00	0.00
Ca	20	K-series	0.00	0.00	0.00	0.00
Total:			100.00	100.00	100.00	

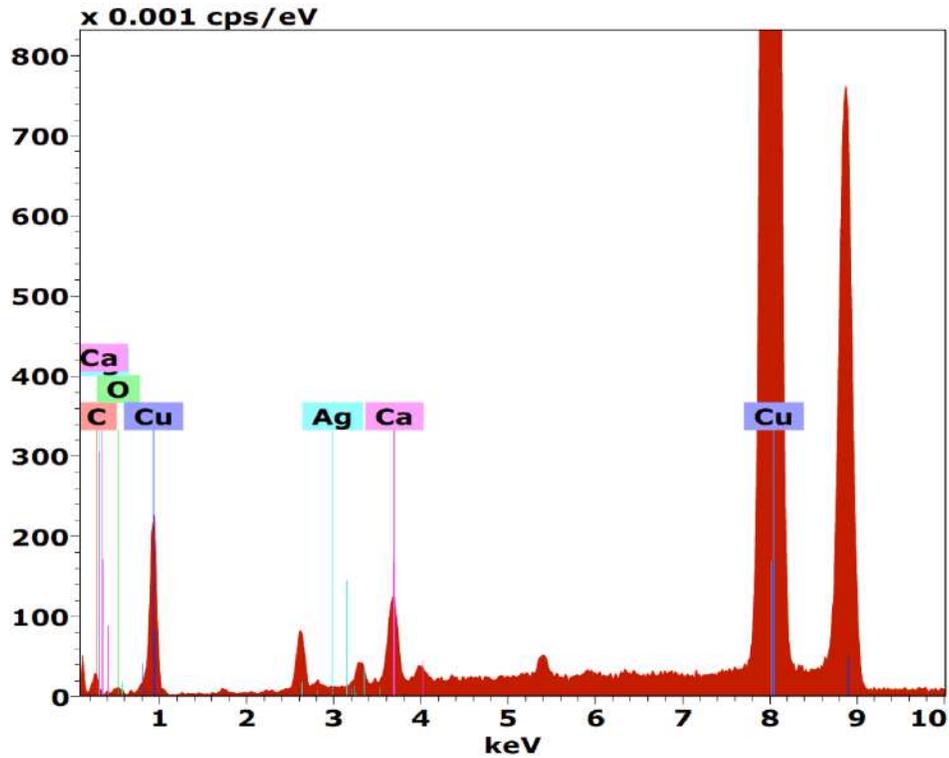


Figura 39.- Espectro obtenido por EDS en MET (EDS 1), para NaCl alojando nanopartículas de Ag, sintetizadas a partir de zeolita sintética A4.

Tabla 5.- Análisis elemental por EDS en MET (EDS2), para NaCl alojando nanopartículas de Ag, sintetizadas a partir de zeolita sintética A4.

El	AN	Series	unn. C [wt.%]	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error (1 Sigma) [wt.%]
Cl	17	K-series	1.96	47.17	51.73	0.21
Ca	20	K-series	1.99	47.92	46.50	0.10
Ag	47	K-series	0.20	4.91	1.77	0.05
C	6	K-series	0.00	0.00	0.00	0.00
Cu	29	K-series	0.00	0.00	0.00	0.00
Total:			4.16	100.00	100.00	

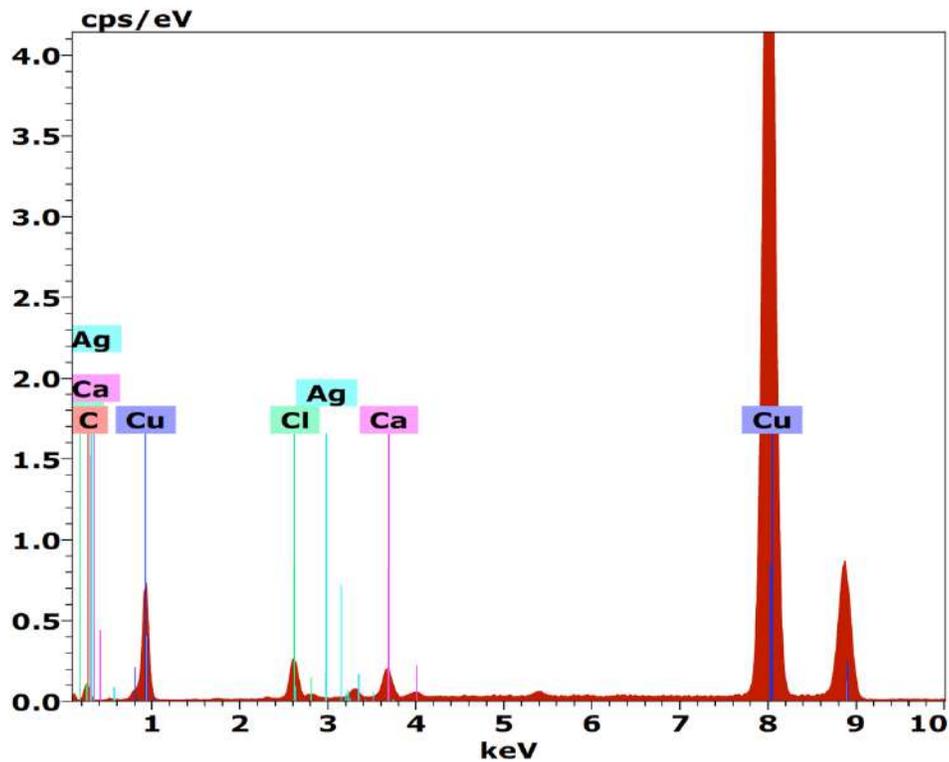


Figura 40.- Espectro obtenido por EDS en MET (EDS 2), para NaCl alojando nanopartículas de Ag, sintetizadas a partir de zeolita sintética A4.

Como se mencionó brevemente en el apartado anterior, se puede observar que la zeolita sintética A4 fue capaz de alojar una mayor cantidad de plata, y esto se debe directamente a la relación Si/Al en esta zeolita, la cual tiene un valor de 1, y permite que pueda alojar una mayor cantidad de iones, mientras que en el caso de la chabazita esta relación se encuentra en alrededor de 2.5. (Costafreda, 2011)

4.1.6. Caracterización Bacteriológica de los Materiales Obtenidos por Medio del Método de Kirby-Bauer (Discodifusión).

En la figura 41 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación mediante el método de Kirby-Bauer, de los materiales obtenidos de chabazita, A4 y NaCl,

alojando nanopartículas de Ag_3O_4 , AgClO_3 y Ag , en modalidad de polvo. En el eje horizontal se muestran los materiales obtenidos, mientras que, en el eje vertical se muestra la inhibición medida en milímetros (mm).

Para la interpretación de los resultados obtenidos se toman en cuenta las siguientes abreviaturas:

- NaCl: Referencia de NaCl puro utilizado.
- Chab: Referencia de zeolita natural chabazita activada utilizada.
- A4: Referencia de zeolita sintética A4 utilizada.
- Chab+Ag: Zeolita chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .
- A4+Ag: Zeolita A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .
- NaCl+Ag(chab): NaCl alojando nanopartículas de AgClO_3 , sintetizadas a partir de zeolita chabazita.
- NaCl+Ag(A4): NaCl alojando nanopartículas de Ag , sintetizadas a partir de zeolita A4.

Al llevar a cabo el análisis de resultados se observó que las referencias de chabazita activada, A4 y NaCl, no mostraron ninguna acción antibacteriana frente a las cepas estudiadas.

E. coli ATCC 25922 mostró una mayor inhibición en presencia de la muestra de chabazita con nanopartículas de Ag_3O_4 . Para *S. aureus* ATCC 25923 y SARM la mayor inhibición se mostró al contacto con la sal proveniente de la síntesis con chabazita ($\text{NaCl}-\text{AgClO}_3$), mientras que, para *E. coli* BLEE (+) se mostró una mayor inhibición en presencia de la muestra de NaCl+Ag, obtenida de la síntesis a partir de A4.

Para el caso de los recubrimientos estudiados se observó que no mostraron inhibición frente a las cepas analizadas con la pintura comercial, por lo que, al realizar una comparativa con los resultados obtenidos del material en polvo, se determina como causante de esta falta de actividad a la pintura, por lo tanto, se

propone analizar cómo trabajo a futuro, el tipo de pintura adecuada, así como la obtención del recubrimiento en otro tipo de solvente.

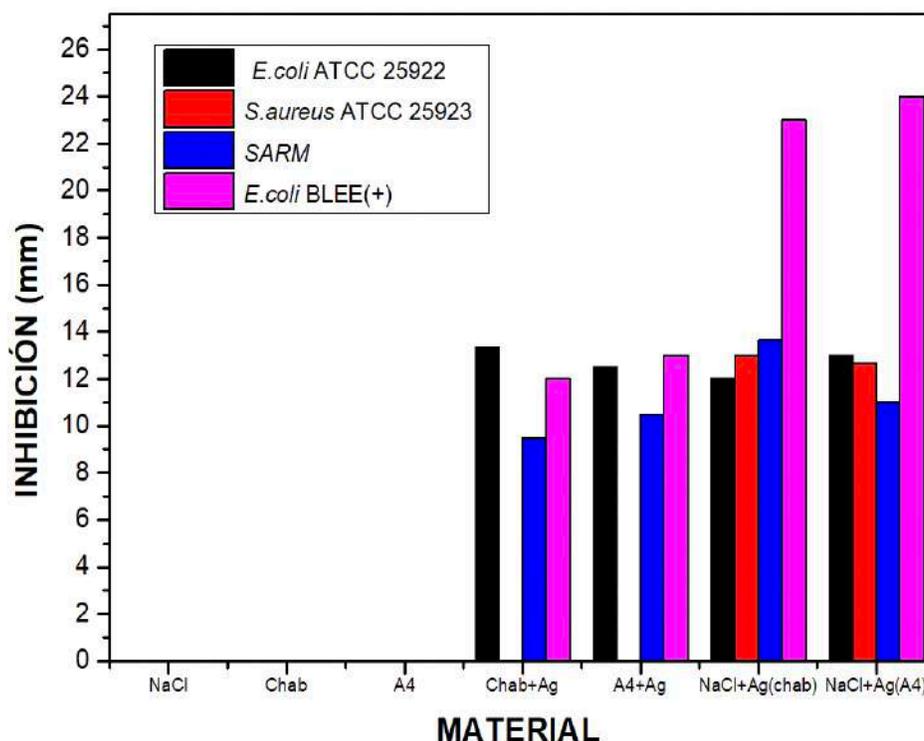


Figura 41.- Representación esquemática de los resultados obtenidos de la medición de halo de inhibición por el método de Kirby-Bauer, para chabazita, A4 y NaCl, alojando nanopartículas, en comparativa con sus referencias.

De este procedimiento se determinaron las siguientes conclusiones:

- De manera general, fueron las cepas de *Escherichia coli* las que mostraron más susceptible frente a los materiales analizados.
- *E. coli* BLEE(+) resultó la cepa más susceptible, especialmente frente a las muestras de NaCl alojando nanopartículas.

- Las cepas de *S. aureus* fueron las que mostraron una menor susceptibilidad, siendo *S. aureus* 25923 la menos vulnerable, sin embargo, todas las cepas mostraron algún grado de susceptibilidad frente a los materiales sintetizados.
- Se observó que las muestras utilizando NaCl como matriz fueron las que mostraron una mayor actividad por este método.

4.1.7. Caracterización Bacteriológica de los Materiales Obtenidos por Medio del Método de Dilución en Caldo.

Con fines ilustrativos, en las gráficas presentadas se utilizaron las siguientes abreviaturas para los materiales sintetizados:

- 1-0.02= 0.02g de chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .
- 1-0.06= 0.06g de chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .
- 1-0.1= 0.1g de chabazita alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .
- 13-0.02= 0.02g de NaCl alojando nanopartículas de AgClO_3 , obtenida a partir de chabazita.
- 13-0.06= 0.06g de NaCl alojando nanopartículas de AgClO_3 , obtenida a partir de chabazita.
- 13-0.1= 0.1g de NaCl alojando nanopartículas de AgClO_3 , obtenida a partir de chabazita.
- 2-0.02= 0.02g de A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .
- 2-0.06= 0.06g de A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .
- 2-0.1= 0.1g de A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 .
- 23-0.02= 0.02g de NaCl alojando nanopartículas de Ag, obtenida a partir de A4.
- 23-0.06= 0.06g de NaCl alojando nanopartículas de Ag, obtenida a partir de A4.
- 23-0.1= 0.1g de NaCl alojando nanopartículas de Ag, obtenida a partir de A4.

En la figura 42 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación

mediante el método de dilución en caldo, de los materiales obtenidos de chabazita, A4 y NaCl, alojando nanopartículas de Ag_3O_4 , $AgClO_3$ y Ag, en modalidad de polvo, en contacto con *Escherichia coli* BLEE(+). En el eje horizontal se muestran los materiales obtenidos, mientras que, en el eje vertical se muestran la unidades formadoras de colonia contabilizadas (UFC). Para este caso, *E. coli* BLEE (+) mostró una mayor sensibilidad en presencia de las muestras de chabazita y A4 alojando nanopartículas de Ag_3O_4 ; sin embargo, todos los materiales sintetizados mostraron una acción bactericida (inhibición igual o mayor al 99.9%) frente a esta bacteria. Para el caso de las muestras de nanopartículas sintetizadas en NaCl a partir de los dos tipos de zeolita, existe una diferencia estadística ($p \leq 0.05$) entre las unidades formadoras de colonia (UFC) contabilizadas y la concentración del material.

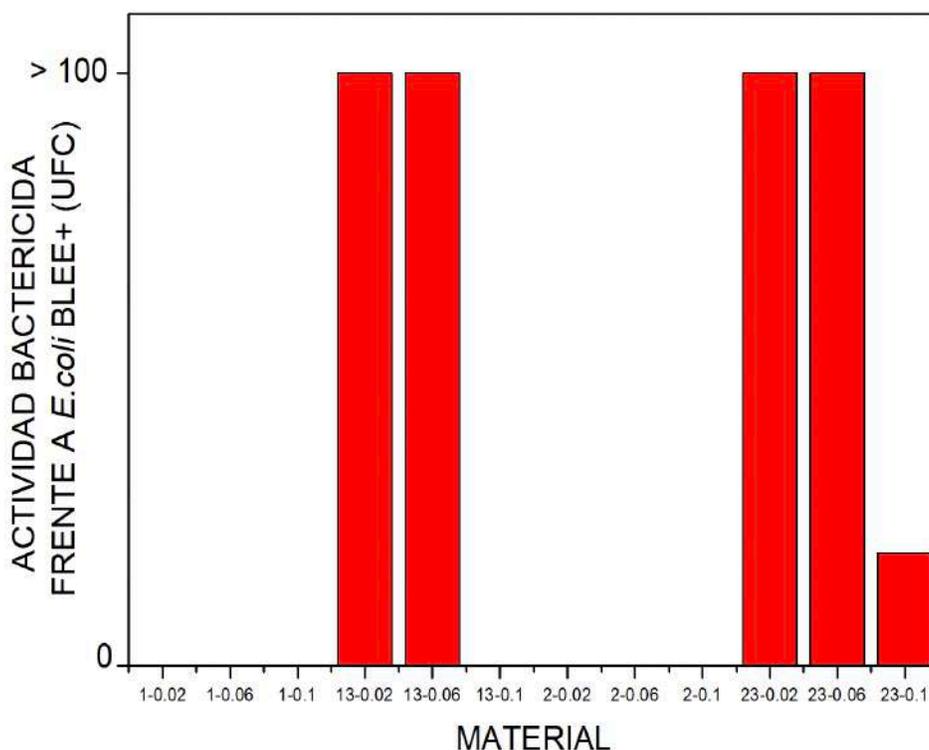


Figura 42.- Representación esquemática de los resultados obtenidos por el método de dilución en caldo, frente a *E. coli* BLEE (+), ($p \leq 0.05$).

En la figura 43 se muestran los resultados obtenidos de la evaluación mediante el método de dilución en caldo, de los materiales obtenidos, en contacto con *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM).

SARM solo mostró sensibilidad frente a NaCl alojando nanopartículas de AgClO₃, obtenidas a partir de chabazita; siendo este el único material que contó con una actividad bactericida a estas concentraciones, y para el cual, existe una diferencia significativa ($p \leq 0.05$) entre las unidades formadoras de colonia (UFC) contabilizadas y la concentración del material.

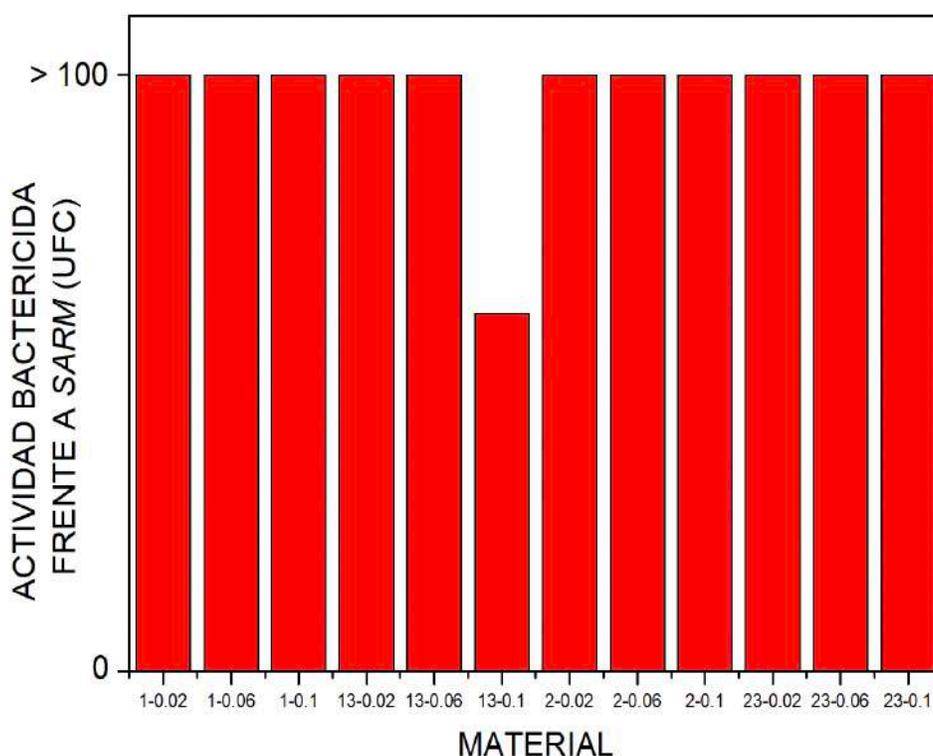


Figura 43.- Representación esquemática de los resultados obtenidos por el método de dilución en caldo, frente a SARM. ($p \leq 0.05$).

De este procedimiento se determinaron las siguientes conclusiones:

- Al llevar a cabo el análisis de resultados de las pruebas se observó que las referencias de chabazita activada, A4 y NaCl, no mostraron ninguna acción antibacteriana frente a las cepas estudiadas.

- Fue *Escherichia coli* BLEE (+) quien se mostró más susceptible frente a los materiales analizados.
- Se encontró que todos los materiales sintetizados en contacto con *E. coli* BLEE (+) mostraron un efecto bactericida.
- SARM fue quien mostró una menor susceptibilidad frente a los materiales analizados.
- Se encontró que NaCl alojando nanopartículas de AgClO₃, obtenida a partir de chabazita, mostró una actividad bactericida frente a SARM.
- Es necesario el análisis a menores y mayores concentraciones para determinar la CBM de algunos materiales.

CAPÍTULO 5

5.1 CONCLUSIONES

En la presente investigación y según el análisis realizado, ha sido posible la confirmación de la hipótesis propuesta en el inicio de esta tesis; ha sido posible la obtención de nanopartículas metálicas y óxido metálicas, soportadas en chabazita, A4 y NaCl; estas nanopartículas cuentan con propiedades antibacterianas y/o bactericidas frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *Escherichia coli* Beta-Lactamasa de Espectro Extendido positivo (BLEE+), *Staphylococcus aureus* 25923, y *Staphylococcus aureus* resistente a meticilina (SARM). Esto va encaminado como una vía de acción frente a la resistencia a los antimicrobianos y cepas resistentes, lo cual, se ha convertido en una de las principales problemáticas de salud pública.

De acuerdo a la caracterización fisicoquímica, se observó por medio de EDS que la zeolita sintética A4 fue capaz de alojar una mayor cantidad de plata, al igual que la sal derivada de ésta, sin embargo, la distribución de tamaños de las nanopartículas se encontró en el rango deseable, y su acción como antimicrobiano fue comparable, lo que nos indica que ambas zeolitas son altamente funcionales para esta aplicación, y hace atractivo el uso de zeolitas naturales, que cuentan con gran disponibilidad en México, son económicas y no necesitan pasar por finos procesos de purificación. Por medio de Absorción óptica por reflectancia difusa fue posible observar los plasmones de resonancia ubicados en distinta posición a donde se ha observado la señal de la plata en bulto, las señales se atribuyen a la presencia de nanopartículas de Ag_3O_4 , $AgClO_3$ y Ag alojadas en las distintas matrices y que cuentan con distintos tamaños y formas. XPS confirmó la presencia de plata en los materiales obtenidos usando chabazita y A4 como matriz, sin embargo, no fue posible determinar la presencia de este elemento en los materiales en base a NaCl como matriz por esta técnica, por lo que con este fin se determinó la concentración de plata por medio de espectroscopía de absorción atómica.

Para el caso de los recubrimientos analizados, en los que no fue posible determinar su actividad antibacteriana, se plantea como trabajo futuro el uso y

evaluación de otros tipos de soluciones y/o pinturas, que permitan la acción del material.

De acuerdo a la evaluación de la actividad antibacteriana y bactericida por los métodos de Kirby-Bauer y dilución en caldo de los materiales en polvo, se encontró que de manera general, fueron las muestras utilizando NaCl como matriz, las que mostraron un mejor efecto inhibitorio frente a las cepas estudiadas. Por el método de dilución en caldo, SARM mostró menor susceptibilidad en comparación a *E. coli* BLEE(+), por lo que es necesario como trabajo futuro, la evaluación de los materiales en mayor concentración, con el fin de determinar la concentración mínima bactericida.

5.2 PERSPECTIVAS Y RECOMENDACIONES

Como perspectivas de trabajo a futuro y derivado de las complicaciones causadas por la pandemia por COVID-19, se tiene como finalidad realizar una caracterización más amplia de los materiales sintetizados.

Se recomienda además experimentar con el uso de otros tipos de pinturas y soluciones, en los cuales se pueda agregar este tipo de materiales y que, a su vez, no impidan la acción antimicrobiana del mismo.

Por último, para evaluar la actividad bactericida frente a *S. aureus* ATCC. 25923 y SARM, se recomienda realizar diluciones con una concentración mayor de material sintetizado, caso contrario para evaluar la acción bactericida de los materiales frente a *E. coli* BLEE (+), donde se requiere evaluar concentraciones menores y así, en ambos casos poder obtener la concentración bactericida mínima.

REFERENCIAS

- Del Rocío Coutiño, E. M., Ávila, L., & Arroyo, O. (2017). Las nanopartículas de plata: mecanismos de entrada, toxicidad y estrés oxidativo. 36(2), 39–54.
- Flores, N. (2017). Nanopartículas de plata alojadas en zeolita A4 y en NaCl. Tesis Profesional. Universidad de Sonora.
- Flores, N. (2023). Nanopartículas de plata y su proceso de producción. Patente número MX/a/2017/009189. Instituto Mexicano de la Propiedad Intelectual. <https://siga.impi.gob.mx/newSIGA/content/common/principal.jsf>
- Flores, N. S. (2010). Propiedades ópticas y estructurales de nanopartículas de Plata en Chabazita. Tesis Profesional. Universidad de Sonora.
- Flores-López, N. S., Cortez-Valadez, M., Moreno-Ibarra, G. M., Larios-Rodríguez, E., Torres-Flores, E. I., Delgado-Beleño, Y., Martínez-Nuñez, C. E., Ramírez-Rodríguez, L. P., Arizpe-Chávez, H., Castro-Rosas, J., Ramirez-Bon, R., & Flores-Acosta, M. (2016). Silver nanoparticles and silver ions stabilized in NaCl nanocrystals. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 84, 482–488. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2016.07.012>
- Fuentes-González, M. F. (2021). Incremento de resistencias antimicrobianas en bacteriemias. Reporte de un centro de referencia. *Revista Médica Del Instituto Mexicano Del Seguro Social*, 58(3). <https://doi.org/10.24875/RMIMSS.M20000032>
- González, A. L. (2014a). Size, Shape, Stability, and Color of Plasmonic Silver Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry*, 118, 9128–9136.
- González, A. L. (2014b). Size, Shape, Stability, and Color of Plasmonic Silver Nanoparticles. *The Journal of Physical Chemistry*, 118, 9128–9136.
- González, A. L., & Noguez, C. (2007). Influence of Morphology on the Optical Properties of Metal Nanoparticles. 4(2), 231–238. <https://doi.org/10.1166/jctn.2007.005>

- Gulina, L. B., Korotcenkov, G., Cho, B. K., Han, S. H., Tolstoy, V. P., & Mater, J. (2014). Ag nanoclusters synthesized by successive ionic layer deposition (SILD) Ag nanoclusters synthesized by successive ionic layer deposition method and their characterization. *Journal of Materials Science*, 46(July 2011), 4555–4561. <https://doi.org/10.1007/s10853-011-5350-x>
- Jorge Luis Costafreda Mustelier. (2011). *Tectosilicatos con características especiales: las zeolitas naturales*. Editorial Fundación Gomez-Pardo. Universidad Politécnica de Madrid.
- Kubelka, P., & Munk, F. (1931). An Article on Optics of Paint Layers. *Z. Tech. Phys*, 259–274.
- León, E. (2009). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de Pb y PbSe en matriz zeolita*. Tesis Profesional. Universidad de Sonora.
- Mba, I. E., & Nweze, E. I. (2021). Nanoparticles as therapeutic options for treating multidrug-resistant bacteria: research progress, challenges, and prospects. In *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol. 37, Issue 6). Springer Science and Business Media B.V. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03070-x>
- Medina, D. M. (2010). *Propiedades bactericidas de la Plata alojada en las cavidades de Zeolita modificada contra Bacterias Gram positivas y Gram negativas*. Tesis Profesional. Universidad de Sonora.
- Mejia Zamudio Flérida, Valenzuela García Jesús, A. S. S. y M. F. D. (2009). Adsorción de Arsénico en Zeolita Natural Pretratada con Óxidos de Magnesio. *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*, 25(4), 217–227.
- Mendoza Córdova, A. V. S. J. F. L. N. R. B. R. F. A. M. (2013). Aplicación de la técnica de separación granulométrica por vía húmeda para determinar el origen del Fe en zeolitas naturales. *Epistemus*, 15, 44–47.
- Moulder John, Stickle William, Sobol Peter, B. K. (1993). *Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy*. Editado por Jill Chastain. Minnesota, E.U.A. Perkin-Elmer Corporation. 120–121.

Murray, C. J., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Robles Aguilar, G., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Kashef Hamadani, B. H., Kumaran, E. A. P., McManigal, B., ... Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(21)02724-0)

Noguez Cecilia. (2013). Física a la escala nanométrica. In *Fronteras de la Física en el Siglo XXI* (pp. 161–175). <http://scifunam.fisica.unam.mx/mir/copit/TS0011ES/TS0011ES.html>

Organización mundial de la salud. (2020a, January 17). La falta de nuevos antibióticos pone en peligro los esfuerzos mundiales por contener las infecciones farmacorresistentes. <https://www.who.int/es/news/item/17-01-2020-lack-of-new-antibiotics-threatens-global-efforts-to-contain-drug-resistant-infections>.

Organización mundial de la salud. (2020b, Julio 31). Resistencia a los antibióticos. <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/resistencia-a-los-antibioticos>.

Organización mundial de la salud. (2022, December 9). Un informe pone de relieve el aumento de la resistencia a los antibióticos en infecciones bacterianas que afectan al ser humano y la necesidad de mejorar los datos al respecto. <https://www.who.int/es/news/item/09-12-2022-report-signals-increasing-resistance-to-antibiotics-in-bacterial-infections-in-humans-and-need-for-better-data>.

Organización mundial de la salud, & Organización panamericana de la salud. (2021, March 3). La resistencia antimicrobiana pone en riesgo la salud mundial. <https://www.paho.org/es/noticias/3-3-2021-resistencia-antimicrobiana-pone-riesgo-salud-mundial> .

- Pérez-Rodríguez, A., Flores-Acosta, M., Rodríguez-Mijangos, R., & Pérez-Salas, R.. (2006). Cu halide nanoparticle formation by diffusion of copper in alkali halide crystals. *Revista mexicana de física*, 52(2), 151-154.
- Román, J. F. (2006). Nanopartículas de Pb y PbS en zeolita natural. Tesis Profesional. Universidad de Sonora. Pag. 25.
- Sau, T. K., & Rogach, A. L. (2010). Nonspherical Noble Metal Nanoparticles: Colloid-Chemical Synthesis and Morphology Control. *Advanced Materials*, 22(16), 1781–1804. <https://doi.org/10.1002/adma.200901271>
- Shameli, K., Mansor Bin Ahmad, M., Mohsen, Z., Yunis, W. Z., & Ibrahim, N. A. (2011). Fabrication of silver nanoparticles doped in the zeolite framework and antibacterial activity. *International Journal of Nanomedicine*, 331. <https://doi.org/10.2147/IJN.S16964>
- Torres, E. (2016). Síntesis de Nanopartículas de Plata en Chabazita, para la Elaboración de Recubrimientos Bactericidas. Tesis Profesional. Universidad de Sonora.
- Torres, E. I. (2018). Síntesis de Nanopartículas de Plata en Zeolitas Naturales, para la Elaboración de un Material con Propiedades Bactericidas. Tesis Profesional. Universidad de Sonora.
- Torres-Flores, E. I., Flores-López, N. S., Martínez-Núñez, C. E., Tánori-Córdova, J. C., Flores-Acosta, M., & Cortez-Valadez, M. (2021). Silver nanoparticles in natural zeolites incorporated into commercial coating: antibacterial study. *Applied Physics A*, 127(1), 71. <https://doi.org/10.1007/s00339-020-04227-5>
- Walcarius, A., Barbaise, T., & Bessiere, J. (1997). Factors affecting the analytical applications of zeolite-modified electrodes preconcentration of electroactive species. *Analytica Chimica Acta*, 340(1–3), 61–76. [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(96\)00539-9](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(96)00539-9)
- Wang, M., Liu, X., Ren, K., Zhou, Y., Li, T., Bi, Y., Kang, H., Xing, E., & Chen, Q. (2021). Ultrasmall and Stable Pd and Pt Nanoparticles Within Zeolite HY

Through Impregnated Method with Enhanced Semihydrogenation Selectivity.
Catalysis Letters, 151(9), 2684–2695. <https://doi.org/10.1007/s10562-020-03523-2>

ANEXOS

PRODUCTOS OBTENIDOS DURANTE EL PROGRAMA.

Congresos. -

Silver Nanoparticles in Natural Zeolites Incorporated into Commercial Coating: Antibacterial Study. XXX International Materials Research Congress and International Conference on Advanced Materials. Cancún, Quintana Roo. **14-19 de Agosto, 2022.**

Synthesis of Nanostructured Materials in Zeolite as Matrix and its Potential as an Antimicrobial Agent. International Forum for the Dissemination and Development of Nanotechnological Research. **31 de Marzo, 2023.**

Propiedades Físicas, Químicas y Bacteriológicas de Materiales Nanoestructurados, Sintetizados en Zeolita y Halogenuros Alcalinos como Matriz. XIV Coloquio Bienal en Ciencia de Materiales. “Responsabilidad Social en la Ciencia de Materiales”. **10-12 de Marzo, 2021.**

Propiedades Físicas, Químicas y Bacteriológicas de Materiales Nanoestructurados, Sintetizados en Zeolita y Halogenuros Alcalinos como Matriz. XV Coloquio Bienal en Ciencia de Materiales. 4ta Edición Internacional. **8-10 de Marzo, 2023.**

Miembro del Jurado Evaluador de Carteles. IV Simposio de Ingeniería Biomédica y 2da Reunión Anual de Investigación Biomédica (RADIB) 2022. **28-30 de Noviembre, 2022.**

Artículo.-

Silver nanoparticles in natural zeolites incorporated into commercial coating: antibacterial study. Torres-Flores, E. I., Flores-López, N. S., Martínez-Núñez, C. E., Tánori-Córdova, J. C., Flores-Acosta, M., & Cortez-Valadez, M. (2021). *Applied Physics A*, 127(1), 71. <https://doi.org/10.1007/s00339-020-04227-5>

Formación de Recursos Humanos.-

Síntesis de Partículas de Plomo en Zeolita A4. Tesis profesional para la obtención del grado de licenciatura en Física del alumno Luis Alfonso Torres Flores, expediente: 215205713 . Universidad de Sonora. Octubre, 2022.



Silver nanoparticles in natural zeolites incorporated into commercial coating: antibacterial study

E. I. Torres-Flores¹ · N. S. Flores-López² · C. E. Martínez-Núñez³ · J. C. Tánori-Córdova¹ · M. Flores-Acosta³ · M. Cortez-Valadez⁴

Received: 3 September 2020 / Accepted: 17 December 2020 / Published online: 4 January 2021
© The Author(s), under exclusive licence to Springer-Verlag GmbH, DE part of Springer Nature 2021

Abstract

In this study, silver nanoparticles on chabazite, clinoptilolite, and clinoptilolite-stilbite natural zeolites were synthesized. The nanomaterials were incorporated into commercial coatings and afterward, the antibacterial activity was carried out. The zeolites were exposed to the activation step before the ion-exchange process with the precursor. The optical properties of the nanoparticles were studied through UV-Vis and FT-IR spectroscopy. Morphological and structural parameters were analyzed through TEM microscopy. The particle size of about 2–20 nm with spherical approach morphologies was obtained. Using XPS spectroscopy, the silver oxidation state was determined. The obtained nanomaterials showed antibacterial activity after their incorporation into the coatings. For this analysis, the Kirby-Bauer method was performed, studying the material against *E. coli* ATCC 25,922, *K. pneumoniae* ATCC 25,955, and *K. pneumoniae* ESBL + bacteria.

Keywords Natural zeolites · Antibacterial effect · Silver nanoparticles · Antibacterial coatings

1 Introduction

The nanostructured systems have modified the functional perspective of materials used in different domains of application. This has improved biosensors such as biomarkers, drug delivery, and theranostics applications [1–5]. The zeolites have been used as templates or mediums to synthesize

nanoparticles. These have grown considerably in the last few years, increasing their use in the application of nanomaterials, and providing them greater stability [6]. The ion-exchange capacity means that these aluminosilicates are highly attractive for the synthesis and stabilization of nanostructured and sub-nanostructured materials [7]. In such templates, several structures with different applications and morphologies have been obtained, such as nanowires, nanostars, hollow nanospheres, and ultra-small clusters [8–11]. The use of natural zeolites to obtain nanostructures has been increasing in recent years. Among these are chabazite, clinoptilolite, heulandite, mordenite, etc. [12–15]. As some types of zeolites have antibacterial properties, this usually represents a great synergy with nanostructured materials, enhancing such applications [16].

The synthetic zeolites in relation to natural zeolites are most used for nanoparticles obtaining. Using natural zeolites promotes the sustainable utilization of natural resources. The chabazite, clinoptilolite, and clinoptilolite-stilbite zeolites have been selected since these are natural zeolites obtained from regional deposits. With the results achieved in this work, we intend to enhance its application. Concerning other types of zeolite, those indicated in this work symbolize a representatively lower cost.

Supplementary Information The online version contains supplementary material available at <https://doi.org/10.1007/s00339-020-04227-5>.

✉ M. Cortez-Valadez
manuelcortez@live.com; jose.cortez@unison.mx

¹ Depto. de Investigación en Polímeros y Materiales, Universidad de Sonora, Blvd. Encinas y Rosales s/n, 83000 Hermosillo, Sonora, Mexico

² Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA), Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM), Blvd. Juriquilla 3000, Querétaro, Mexico

³ Departamento de Investigación en Física, Universidad de Sonora, Apdo. Postal 5-88, 83190 Hermosillo, Sonora, Mexico

⁴ CONACYT-Departamento de Investigación en Física, Universidad de Sonora, Apdo. Postal 5-88, 83190 Hermosillo, Sonora, Mexico

Additionally, it has been reported that Ag NPs are obtained in a zeolite matrix such as the mordenite, 4A, and ZSM-5, with spherical geometry, regularly [17–19]. In some cases, the antibacterial capacity of Ag NPs in the zeolite matrix has been analyzed [20, 21]. On the other hand, metallic nanoparticles exhibit the optical property known as the surface plasmon resonance (SPR) easily tunable and directly dependent on the morphological and dimensional parameters [22]. This property has been related to the antibacterial properties, allowing the identification of structural parameters that increase the antimicrobial effect [23]. Due to this, metallic nanoparticles obtaining especially silver, in a template that previously exhibited an antibacterial effect, enhances its properties [24]. Additionally, up-conversion nanoparticles (UCNPs) and carbon dots have provided applications in cancer therapy [25, 26]. Zeolite-stabilized nanoparticles can be a suitable medium for immersion in other coating types, preserving the antibacterial properties of the nanoparticles. In the case of clinoptilolite-stilbite and heulandite, the application, deposition, and subsequent characterization studies in coatings have not been entirely addressed [27]. There are nanostructured materials incorporated in coatings that achieve an acceptable antibacterial effect [28]. However, usually the methodology for their incorporation requires the use of sophisticated equipment and time-consuming synthesis processes.

Recently, Duangkamon Jiraroj et al. have evaluated the bactericidal activity in coatings with Ag⁺ ions and Ag NP, achieving the optimal combination of these to enhance the above applications using synthetic zeolite A [29]. The bactericide efficiency of zeolite coatings with silver nanoparticles has been evaluated by Mpenyana-Monyatsi et al. removing bacteria from groundwater using low concentrations and reaching 100% efficiency [30]. Galeano et al. obtained a coating based on paint zinc incorporated nanoparticles for application on steel surfaces. Achieving a bactericidal effect on *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, and *B. subtilis* bacteria. In the previously mentioned cases, the study focuses only on standardized bacterial strains [31].

The present investigation addresses the comparative study of stabilized nanoparticles in chabazite, clinoptilolite, and clinoptilolite-stilbite natural zeolites including both standardized and extended-spectrum β -lactamases-positive (ESBL+) bacterial cultures. We consider the analysis of its antibacterial property after the incorporation in commercial coatings. Additionally, the proposed method represents an agreement with the green chemistry philosophy and means an extremely low cost for nanomaterials application.

2 Materials and methods

2.1 Ag NPs synthesis and incorporation into coatings

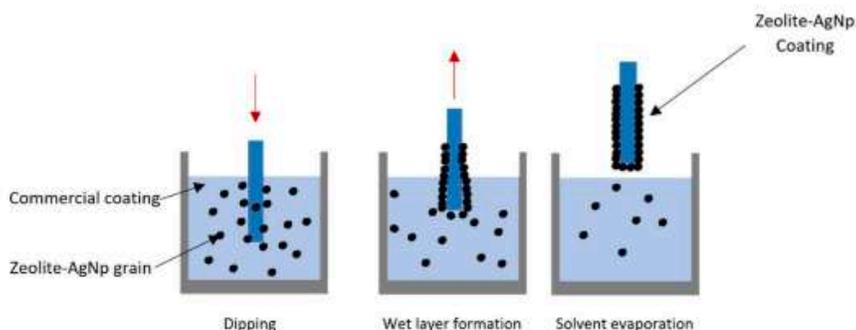
Three types of natural zeolite were used as a matrix (chabazite, clinoptilolite-stilbite, and clinoptilolite) for hosting the Ag NPs. The activation and cleaning process of the zeolite was carried out as reported by J. F. Román. [32] The Ag NPs synthesis was carried out employing the ion-exchange property of the zeolites and based on the method previously proposed by M. Flores and coworkers [33–35]. A detailed description of this process has been included in the Supplemental information.

For the coatings, we use the classic white commercial paint from the *Osel* company. A portion of zeolite-Ag NPs of 0.25 g was combined with 20 ml of paint. The mixture was magnetically stirred for 20 min. Using the dip-coating method a glass slide was employed as a substrate. This was kept at 5 s immersion time and it was dried at room temperature for 24 h. Subsequently, the coated glass slides were sectioned to 1 cm² to carry out the antibacterial study. This procedure was done for all zeolite types, as shown in scheme 1.

2.2 Antibacterial study

The following cultures were used for the antibacterial tests: *Escherichia coli* ATCC 25,922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 25,955, and *Klebsiella pneumoniae* ESBL+.

Scheme 1 Process of slide coating with zeolite-Ag NP



These were developed in culture media: tryptic soy broth and agar for standard methods.

For the inhibition halo measurement by the Kirby-Bauer method, a bacterial inoculum was performed to match the 0.5 (1.5×10^8 UFC/ml) McFarland standard. This was massively seeded on a plate with culture medium, then 1 cm² glass sections with coating were placed. It was incubated for 24 h at 37 °C, then the inhibition halo was measured.

3 Results and discussion

The low-resolution XPS spectra are included in Fig. 1 and were obtained using a Mg source. These spectra correspond to clinoptilolite-stilbite, clinoptilolite, and chabazite, Fig. 1a–c, respectively. In all cases the high-resolution spectrum on the silver region is shown in the inset. The signals associated with oxygen, silicon, and aluminum, which represent the framework of the zeolite, are observed. In the low-resolution XPS spectrum, it is also possible to observe Auger transitions are located at 990, 902, and 745 eV

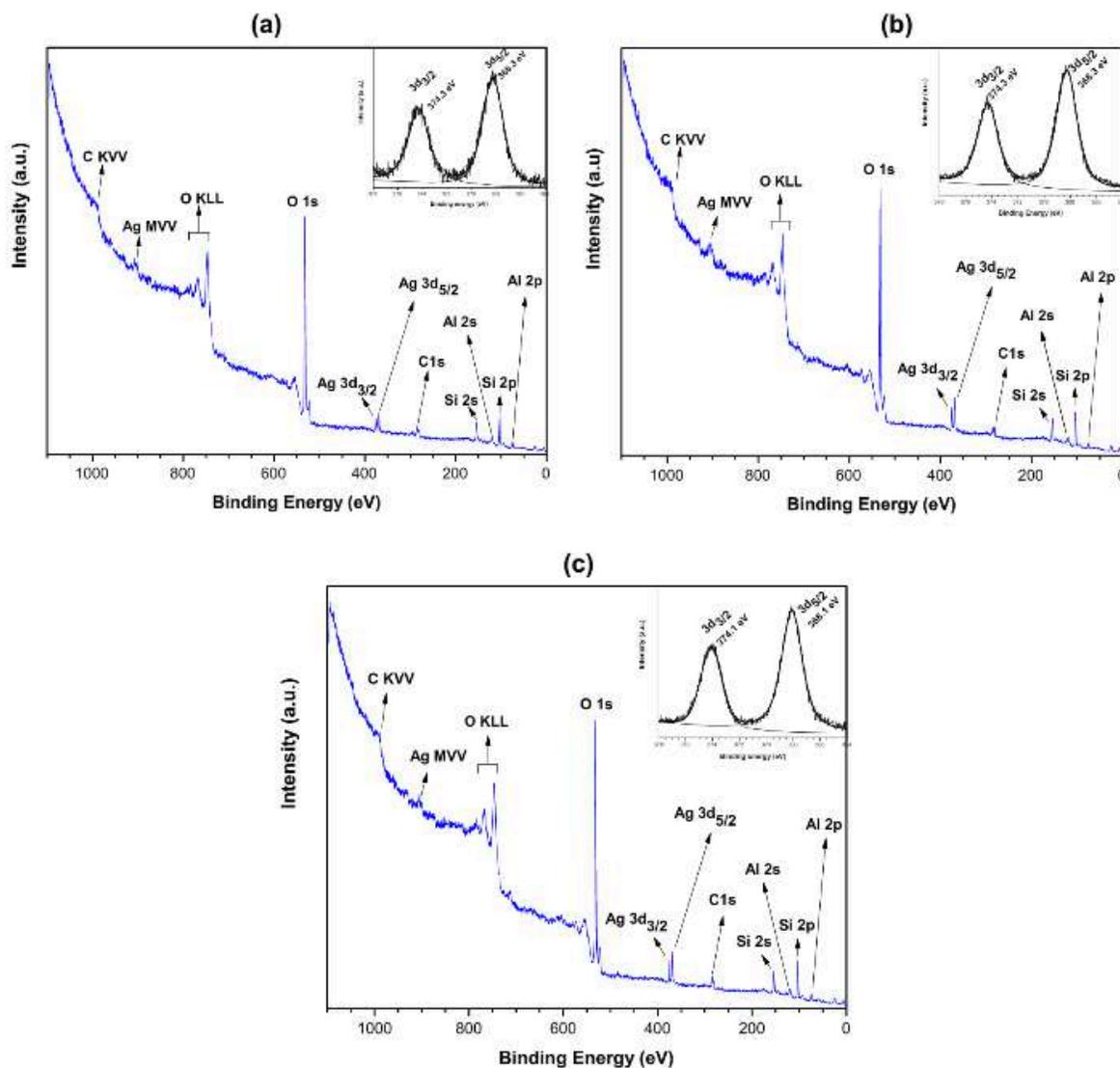


Fig. 1 Low-resolution XPS spectra and high-resolution spectrum at 3d silver region (inset): **a** clinoptilolite-stilbite, **b** clinoptilolite, and **c** chabazite

approximately. Which, according to Moulder et al., can be associated with Carbon (KVV), Silver (MVV), and Oxygen (KLL) [36].

Similarly, it is possible to observe the carbon 1 s signal. Analyzing the high-resolution spectrum in the 364–378 eV region, it is observed that this adjustment closely presents a good match to the signal obtained experimentally. Here, two signals with peaks at 374.3 eV and 368.3 eV with an energy difference between them of 6 eV, corresponding to the $3d_{3/2}$ (374.3 eV) and $3d_{5/2}$ (368.3 eV) associated to silver [36–38].

Figure 2 displays the optical absorption spectra, corresponding to Ag NPs stabilized in the different zeolite types. For all cases, a molarity of 0.07 M of AgNO_3 was considered. The experimental signal is produced by the contribution of 4 bands, located at 206, 282, 364, and

496 nm for the case of clinoptilolite-stilbite (Fig. 2a). For clinoptilolite (Fig. 2b), these bands are located at 200, 259, 362, and 516 nm, and for chabazite (Fig. 2c) at 203, 277, 474, and 625 nm. Figure 2d provides a comparison of Ag NPs optical absorption in the three zeolite types. The absorption bands in the range of 200–259 nm have been associated with the presence of silver ions by other systems. [39] However, in some reports there are associated bands between 277 and 282 nm to the presence of Ag_{147} clusters with cube-octahedral morphology. [40] The SPR in Ag NPs with spherical type geometry is regularly observed between 400 and 530 nm. [41] The absorption bands obtained between the region of 496–516 nm in Fig. 2 represent such a case.

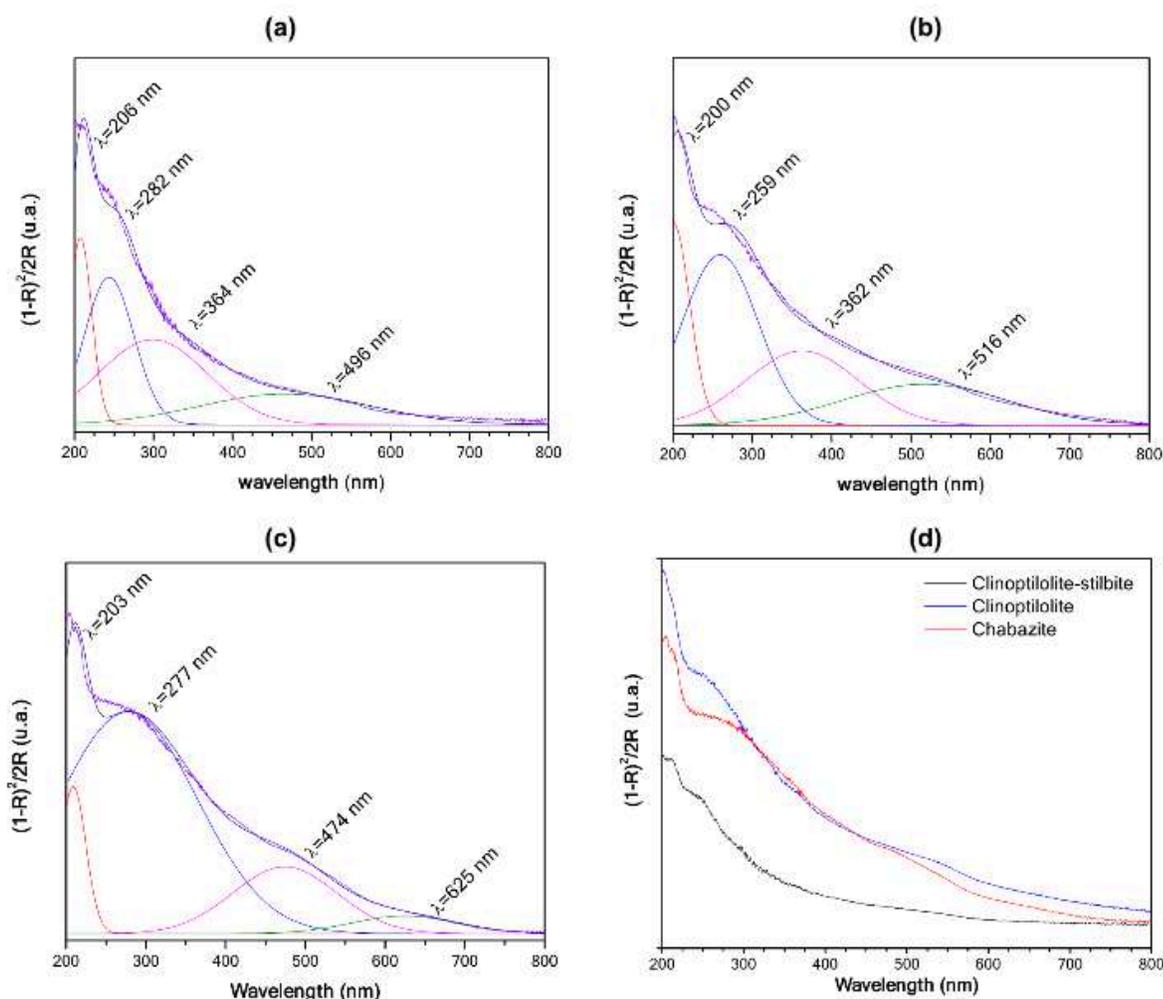


Fig. 2 Optical absorption of Ag NPs and deconvolutions in **a** clinoptilolite-stilbite, **b** clinoptilolite, **c** chabazite, and **d** absorption spectra of the three types of zeolite hosting Ag NPs

In other templates, nanoparticles with triangular geometries, plates, and cubes have been obtained. These have exhibited SPR in near red regions [42, 43].

In addition, Fig. 2d shows that the absorption maxima (SPR) have slight shifts. This suggests that different types of zeolite can influence on particle size, even considering the same parameters of the synthesis method. With a particular feature for different types of applications [34, 38, 44–46].

On the other hand, the (black line) in Fig. 3 indicates the result of activated zeolite types and the b (red line) indicates the result of zeolite with Ag NP (0.07 M). In the spectra, absorption peaks are observed around 3300 and 1630 cm^{-1} , these are associated to water molecules interacting with Na^+ and Ca^+ at the channels and cages of the zeolite skeletal

structure [47]. In the vibrational spectrum regions, it is possible to observe behaviors or modifications associated with the trend of metallic species to form aqua-complexes and hydration in aqueous media [48]. Featuring slight alterations in bands located on the 3700–3100 cm^{-1} (OH^- groups present in the zeolite structure). As well as regions from 800 to 500 cm^{-1} affected by metal cations sorption. In this work, for the varieties of zeolite involved, slight modifications are observed on these vibrational regions. However, for clinoptilolite zeolite, a stronger modification is observed on the 3700–3100 cm^{-1} and 800–500 cm^{-1} region. Meaning that it is a representation of the silver species [48]. Other bands emerge around 1020, 770, 535, and 458 cm^{-1} . The band in 1020 cm^{-1} corresponds to vibration modes of

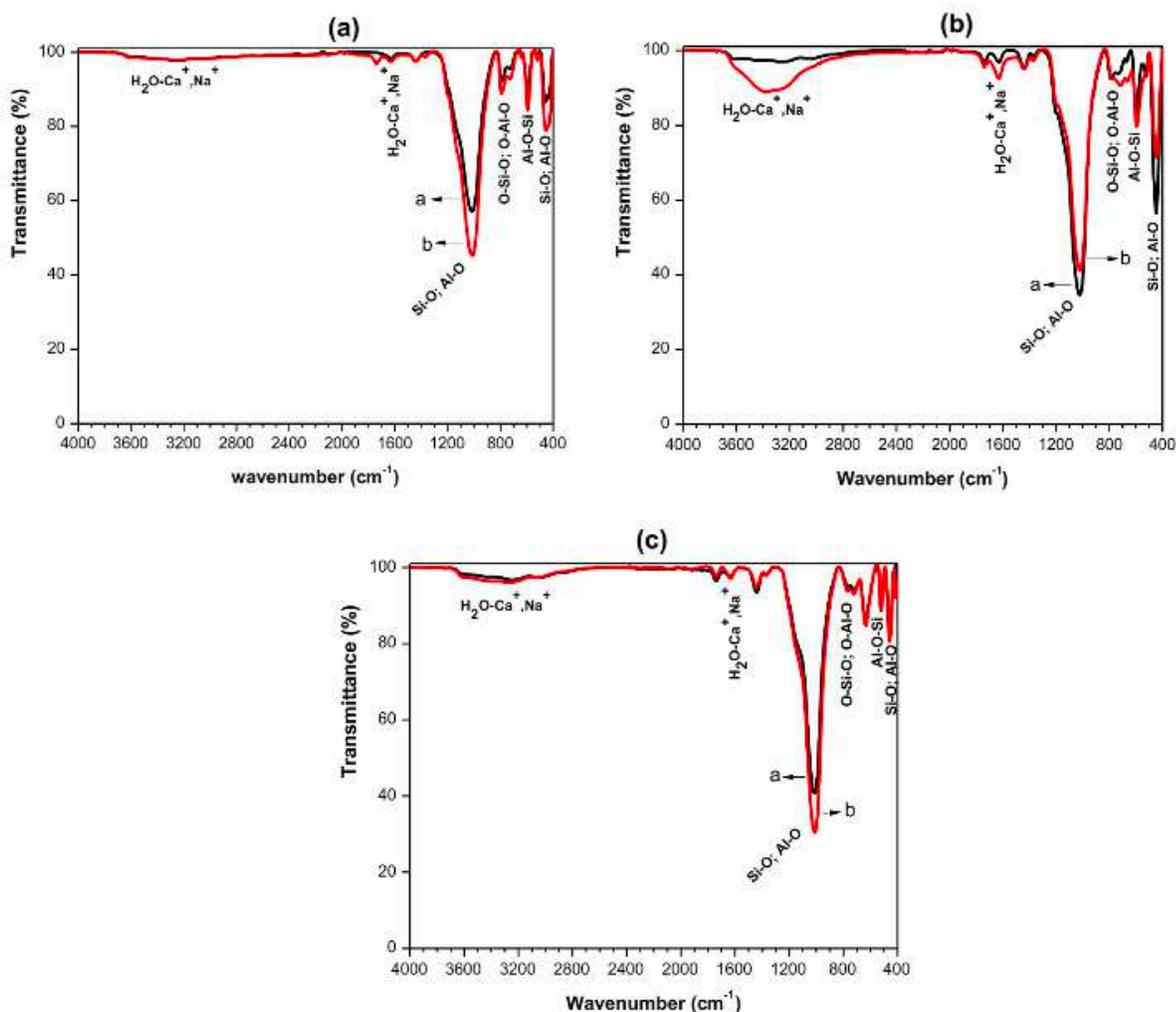


Fig. 3 FT-IR spectra of individual activated zeolite types (black line) and hosting Ag NPs (red line): **a** Clinoptilolite-Stilbite, **b** Clinoptilolite, and **c** Chabazite

asymmetric stretching of Si–O and Al–O bonds [49]. The band at 770 cm^{-1} is assigned to stretching vibration modes of the O–Si–O and O–Al–O groups. Whereas the band found in 535 cm^{-1} is assigned to the torsional vibrations of the Al–O–Si bonds. [50] Finally, the 458 cm^{-1} band is associated with the bending vibrations of the Si–O and Al–O bonds [51–53].

The morphology and structural parameters of the nanoparticles were obtained by TEM (Fig. 4). Figure 4a shows the micrographs for the nanoparticles synthesized using clinoptilolite-stilbite. The interplanar distance (inset) is 1.45 \AA , which can be associated with the plane (1 1 0) [54]. The particle size histogram in Fig. 4b represents the distribution of the particles in Fig. 4a. It is observed that the size range is between 2 and 13 nm, with two prominent populations of 5 and 8 nm. Moreover, using the Clinoptilolite as a template, a decrease in the particle size has been obtained (Fig. 4c). In this matrix, the predominant size is between 4 and 6 nm. Likewise, the interplanar distance found is associated with the plane (1 1 0) corresponding to the hexagonal silver space group P63/mmc. Although the size range is wider, it is limited by parameters of 2–20 nm as shown in Fig. 4d. In the Chabazite study, as in the previous cases, nanoparticles with spherical morphologies were obtained as shown in Fig. 4e. However, the size range has a better delimitation between 3 and 8.5 nm. Similarly, the predominant nanoparticle population is located between 4.5 and 5 nm as shown in Fig. 4f. Once again, the (1 1 0) plane was identified.

Using the three zeolite types with the same parameters of the proposed synthesis method, slight shifts in the size range of the nanoparticles have been obtained. This behavior may depend on the size of the zeolite crystal and sometimes on the silicon/aluminum ratio [55, 56]. In other zeolite species, particles with sizes ranging from 50 nm have been obtained [57]. Since the predominant size of the nanoparticles obtained in this work is less than 30 nm, it is attractive for drug delivery applications. Because they can be easily removed from the bloodstream [58]. Nanoparticles with well-defined regions of size have promoted their application for therapeutic purposes [59].

In addition, theoretical studies using DFT, Monte Carlo simulation, molecular dynamics, etc., have indicated that small clusters (below 1 nm) are confined to the zeolite channels and exhibit interaction with oxygen atoms within $2.88 \pm 0.02\text{ \AA}$ [60]. Sub-nanometric particles confined to the zeolite structure represent an application field on catalysis, achieving selective characteristics in specific reactions [61].

Table 1 shows the elemental analysis by EDS for zeolites with Ag NPs. The amount of oxygen, aluminum, and silicon is higher than the amount of potassium, iron, magnesium, calcium, sulfur, and silver. Since these elements constitute the skeletal structure of the zeolite. Additionally, it is

observed that the amount of silver after treatment was variable according to the zeolite type. In this case, the clinoptilolite-stilbite achieved the highest amount of silver with 14.43 wt%, compared to 4.21 wt% and 3.90 wt% obtained for clinoptilolite and chabazite, respectively.

For the inhibition halo study by the Kirby-Bauer method, the control cultures were tested with a $10\text{ }\mu\text{g}$ Gentamicin disk used as positive control. Whereas an activated zeolite coating and a zeolite coating from deposit were used as a negative control.

Figure 5 provides a schematic representation of the results obtained. The horizontal axis represents the Ag NPs zeolite samples obtained from 0.07 M AgNO_3 aqueous solutions and the corresponding controls. On the vertical axis, the inhibition halo measurement is presented in millimeter (mm) units. As observed in the case of Chabazite-Ag NPs, for *E. Coli* a higher inhibition was shown with a diameter of 17 mm, better than the 15 mm obtained by Clinoptilolite-stilbite and Clinoptilolite. The zeolites extracted from the deposit, as well as the ones activated later, provided a better antibacterial effect than the positive control. In the case of *K. pneumoniae* ATCC, the antibacterial effect of zeolites by incorporating nanoparticles did not increase significantly. With the clinoptilolite-stilbite, it was possible to increase the inhibition radius by only 1 mm. In other cases, the radius was increased up to 2 mm.

Additionally, against *K. pneumoniae* ESBL+ bacteria, clinoptilolite showed an enhanced inhibition radius of up to 19 mm. Other authors have reported Ag NPs stabilized in zeolite ZSM-5 against *E. coli* and *P. aeruginosa*, reaching inhibition radii up to 10 mm [62]. As zeolites are powders and have micro-pores, their application in coatings is attractive. The results reported in this work suggest that using only these types of natural zeolite in combination with commercial paint, a superior antibacterial effect to the positive control is obtained. This combined antibacterial effect, between zeolites and Ag NPs, is not commonly associated between the stabilizer and the precursor [63]. This behavior has been observed in some plant extracts when these are used as reducing agents/stabilizers of metallic nanoparticles [64].

In general, in this work the Ag NPs supported in chabazite, obtained a prominent antibacterial activity against the studied cultures. According to TEM analysis, chabazite-hosted Ag NPs have the smallest nanoparticle size distribution (3–8.5 nm), which is a factor that contributes to antibacterial capacity [65]. According to the EDS analysis, this behavior could be due to the chabazite contain a lower amount of silver (3.90 wt%).

The most susceptible bacteria to Ag NPs were *Escherichia coli*, although the *K. pneumoniae* ESBL+ variant showed slightly higher resistance to Ag NPs. This can be attributed to the fact that bacteria of this genre possess a protective polysaccharide capsule [66].

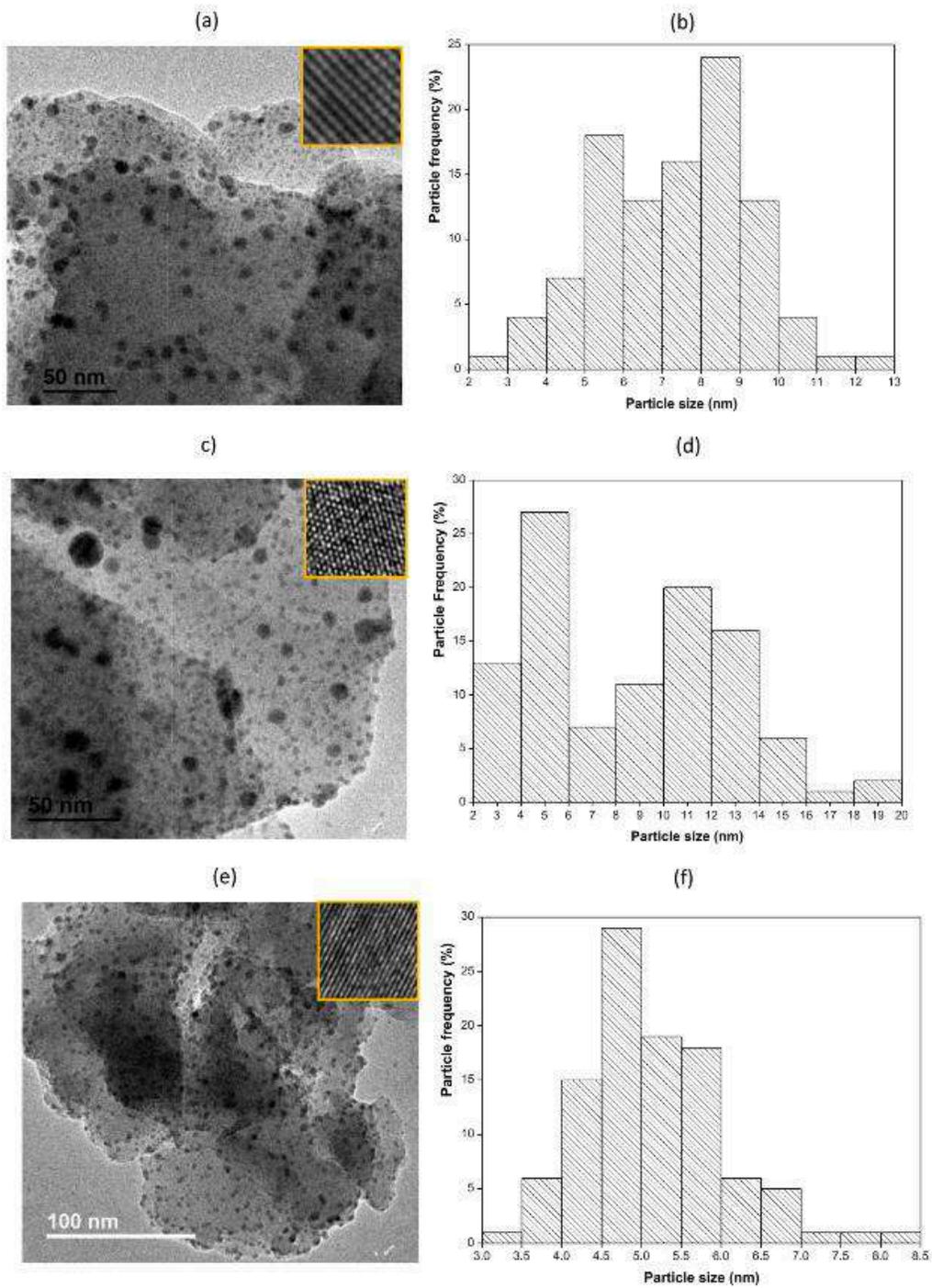


Fig. 4 TEM images of Ag NPs, interplanar distance (inset) and related particle size histogram: **a** Clinoptilolite-Stilbite, **b** Clinoptilolite, and **c** Chabazite

Table 1 Elemental analysis for zeolite types with Ag NPs

Element	Clinoptilolite-stilbite (%)	Clinoptilolite (%)	Chabazite (%)
Oxygen	39.10	42.50	42.08
Aluminum	9.08	8.28	11.29
Silicon	33.96	42.70	40.33
Potassium	*	1.02	*
Iron	0.47	0.53	1.28
Magnesium	0.82	0.25	0.72
Calcium	1.14	0.52	*
Sulfur	1.00	*	0.40
Silver	14.43	4.21	3.90

*Excluded from the sample

4 Conclusions

From this study, it is confirmed that a material with antibacterial properties based on Ag NPs and natural zeolites was obtained. The Zeolite- Ag NPs systems exhibited features to be incorporated into commercial paint and still retain their antibacterial properties. The use of different zeolite types is indicated without a rigorous cleaning process. In the zeolite types, the surface plasmon resonance located in the UV-Vis region was observed in a different position than the silver bulk absorption bands.

In the test of the antibacterial activity after the incorporation of the nanoparticles in commercial coatings, the effect of

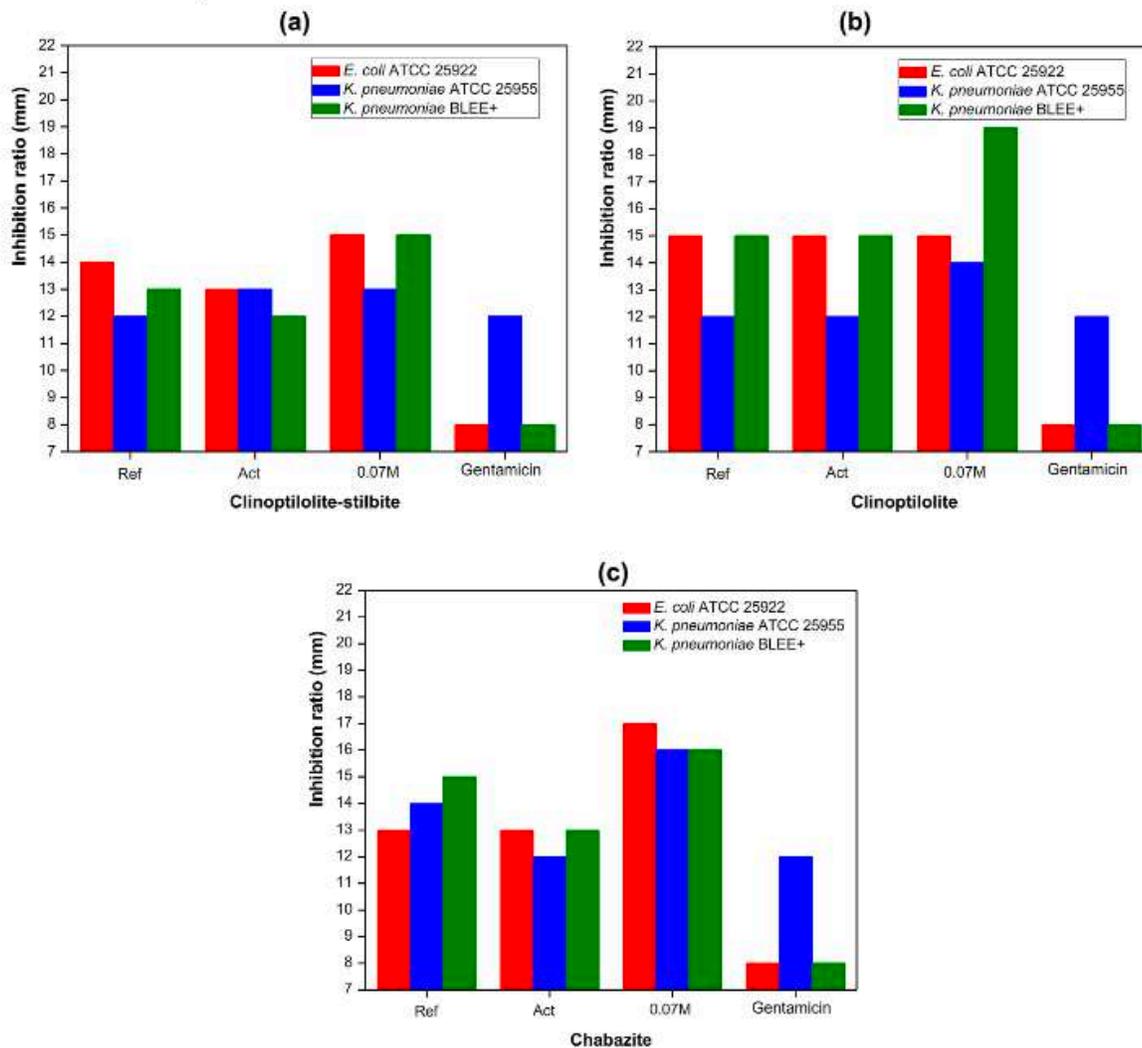


Fig. 5 Inhibition radius (mm) given by the gentamicin, zeolite, zeolite-Ag NP systems by the Kirby-Bauer method. **a** Clinoptilolite-stilbite, **b** Clinoptilolite and **c** Chabazite

the material on the cultures *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 25,955, and *Klebsiella pneumoniae* ESBL+ was confirmed. A higher inhibition halo was observed compared to the positive control used. The nanoparticles obtained in the Chabazite were smaller in size, between 2 and 8.5 nm. These presented prominent antibacterial activity. Clinoptilolite-stilbite was able to host higher amounts of silver, achieving a quantity of 14.43 wt%. In all cases, the nanoparticles were smaller than 20 nm.

The results obtained can be generalized and applied on different coatings such as resins, natural oils, sealants, and ceramic paste, to prevent bacterial growth on several surfaces.

Acknowledgements This work was supported by project A1-S-46242 of the CONACYT Basic Science. The author M. Cortez-Valadez appreciates the support by "Cátedras CONACYT" program. Special thanks to the support brought by the Laboratory of Transmission Electron Microscopy at the University of Sonora.

References

- S. Singh, A.A.S. Gill, M. Nlooto, R. Karpoornath, Prostate cancer biomarkers detection using nanoparticles based electrochemical biosensors. *Biosensors Bioelectron* **137**, 213–221 (2019)
- H. Nagar, N. Sahu, V.V. Basava Rao, S. Sridhar, Surface modification of sulfonated polyethersulfone membrane with polyaniline nanoparticles for application in direct methanol fuel cell. *Renewable Energy* **146**, 1262–1277 (2020)
- R.M. Pallares, N.T.K. Thanh, X. Su, Sensing of circulating cancer biomarkers with metal nanoparticles. *Nanoscale* **11**, 22152–22171 (2019)
- M. Manzano, M. Vallet-Regí, Mesoporous silica nanoparticles for drug delivery. *Adv. Funct. Mater.* 1902634, (2019)
- S.M. Dadfara, K. Roemhild, N.I. Drude, S. Stillfried, R. Knüchel, F. Kiessling, T. Lammers, *Adv. Drug Delivery Rev.* **138**, 302–325 (2019)
- A.W. Petrov, D. Ferri, O. Kröcher, J.A. van Bokhoven, Design of stable palladium-based zeolite catalysts for complete methane oxidation by postsynthesis zeolite modification. *ACS Catal.* **9**(3), 2303–2312 (2019)
- J. Vergara-Figueroa, S. Alejandro-Martín, H. Pesenti, F. Cerda, A. Fernández-Pérez, W. Gacitúa, Obtaining nanoparticles of Chilean natural zeolite and its ion exchange with copper salt (Cu²⁺) for antibacterial applications. *Materials* **12**, 2202 (2019)
- X. Lin, J. Lin, C. Zeng, J. Niu, R. Chenna Krishna Reddy, J. Liu, Y. Cai, Z. Yuan, *J. Colloid Interface Sci.* **565**, 156–166 (2020)
- C. Carrillo-Carrión, R. Martínez, M.F. Navarro Poupard, B. Pelaz, E. Polo, A. Arenas-Vivo, A. Olgíati, P. Taboada, M.G. Soliman, Ú. Catalán, S. Fernández-Castillejo, R. Solà, W.J. Parak, P. Horcajada, R.A. Alvarez-Puebla, P. del Pino, Aqueous stable gold nanostar/ZIF-8 nanocomposites for light-triggered release of active cargo inside living cells. *Angewandte Chemie Int. Edition* **58**, 7078–7082 (2019)
- K. Wang, M. Dong, J. Li, P. Liu, K. Zhang, J. Wang, W. Fan, Facile fabrication of ZSM-5 zeolite hollow spheres for catalytic conversion of methanol to aromatics. *Catal. Sci. Technol.* **7**, 560–564 (2017)
- Q. Sun, N. Wang, Yu. Risheng Bai, T.Z. Hui, D.A. Do, P. Zhang, L. Song, S. Miao, Yu. Jihong, Synergetic effect of ultrasmall metal clusters and zeolites promoting hydrogen generation. *Adv. Sci.* **6**, 1802350 (2019)
- M. Moliner, J.E. Gabay, C.E. Kliewer, R.T. Carr, J. Guzman, G.L. Casty, P. Serna, A. Corma, Reversible transformation of Pt nanoparticles into single atoms inside high-silica chabazite zeolite. *J. Am. Chem. Soc.* **138**, 15743–15750 (2016)
- H. Derikvand, A. Nezamzadeh-Ejhi, A comprehensive study on electrochemical and photocatalytic activity of SnO₂-ZnO/c clinoptilolite nanoparticles. *J. Mol. Catalysis A Chem.* **426**(PART A), 158–169 (2017)
- D. Lin, H. Zhu, Wu. Yining, Lu. Teng, Y. Liu, X. Chen, C. Peng, C. Yang, X. Feng, Morphological insights into the catalytic aquathermolysis of crude oil with an easily prepared high-efficiency Fe₃O₄-containing catalyst. *Fuel* **245**, 420–428 (2019)
- P. Sánchez-López, Y. Kotolevich, S. Miridonov, F. Chávez-Rivas, S. Fuentes, V. Petranovskii, Bimetallic AgFe Systems on Mor-denite: effect of cation deposition order in the NO reduction with C₃H₆/CO. *Catalysts* **9**, 58 (2019)
- M. Nasrollahzadeh, T. Baran, N. Yılmaz Baran, M. Sajjadi, M.R. Tahsili, M. Shokouhimehr, Pd nanocatalyst stabilized on amine-modified zeolite: antibacterial and catalytic activities for environmental pollution remediation in aqueous medium. *Sep. Purif. Technol.* **239**, 116542 (2020)
- V.S. Gurina, V.P. Petranovskii, M.-A. Hernandez, N.E. Bogdan-chikova, A.A. Alexeenko, Silver and copper clusters and small particles stabilized within nanoporous silicate-based materials. *Mater. Sci. Eng., A* **391**, 71–76 (2005)
- Hu. Xiaosong, J. Bai, H. Hong, C. Li, Supercritical carbon dioxide anchored highly dispersed silver nanoparticles on 4A-zeolite and selective oxidation of styrene performance. *CrystEngComm* **18**, 2469–2476 (2016)
- A. GhavamiNejad, A. Kalantarifard, G.S. Yang, C.S. Kim, In-situ immobilization of silver nanoparticles on ZSM-5 type zeolite by catechol redox chemistry, a green catalyst For A³-coupling reaction. *Microporous Mesoporous Mater.* **225**, 296–302 (2016)
- J. Milenkovic, J. Hrenovic, D. Matijasevic, M. Niksic, N. Rajic, Bactericidal activity of Cu-, Zn-, and Ag-containing zeolites toward *Escherichia coli* isolates. *Environ Sci Pollut Res* **24**, 20273–20281 (2017)
- M.I. Panayotova, N.N. Mintcheva, O.T. Gemishev, G.T. Tyuliev, G.D. Gicheva, L.P. Djerahov, Preparation and antimicrobial properties of silver nanoparticles supported by natural zeolite clinoptilolite. *Bul. Chem. Commun.* **50**, 211–218 (2018)
- A. Amirjani, D.H. Fatmehsari, Colorimetric detection of ammonia using smartphones based on localized surface plasmon resonance of silver nanoparticles. *Talanta* **176**, 242–246 (2018)
- NG Mlalila, HS Swai, A Hilonga, DM Kadam, Antimicrobial dependence of silver nanoparticles on surface plasmon resonance bands against *Escherichia coli*. *Nanotechnol. Sci. Appl.* **10**: 1–9, (2017)
- J.R. Koduru, S.K. Kailasa, J.R. Bhamore, K.-H. Kim, T. Dutta, K. Vellingiri, *Adv. Colloid Interface Sci.* **256**, 326–339 (2018)
- R. Rafique, S.K. Kailasa, T.J. Park, *TrAC Trends Anal. Chem.* **120**, 115646 (2019)
- M. Ashrafizadeh, R. Mohammadinejad, S.K. Kailasa, Z. Ahmadi, E.G. Afshar, A. Pardakhty, *Adv. Colloid Interface Sci.* **278**, 102123 (2020)
- G.E. Machado, A.M. Pereyra, V.G. Rosato, M.S. Moreno, E.I. Basaldella, Improving the biocidal activity of outdoor coating formulations by using zeolite-supported silver nanoparticles. *Mater. Sci. Eng., C* **98**, 789–799 (2019)
- M. Li, L. Gao, C. Schlaich, J. Zhang, I.S. Donskyi, Yu. Guozhi, W. Li, Tu. Zhaoxu, J. Rolff, T. Schwerdtle, R. Haag, N. Ma, Construction of functional coatings with durable and broad-spectrum antibacterial potential based on mussel-inspired

- dendritic polyglycerol and in situ-formed copper nanoparticles. *ACS Appl. Mater. Interfaces* **40**, 35411–35418 (2017)
29. D. Jiraroj, S. Tungasmita, D.N. Tungasmita, Silver ions and silver nanoparticles in zeolite A composites for antibacterial activity. *Powder Technol.* **264**, 418–422 (2014)
 30. L. Mpenyana-Monyatsi, N.H. Mthombeni, M.S. Onyango, M.N.B. Momba, Cost-effective filter materials coated with silver nanoparticles for the removal of pathogenic bacteria in groundwater. *Int. J. Environ. Res. Public Health* **9**, 244–271 (2012)
 31. B. Galeano, E. Korff, W.L. Nicholson, Inactivation of Vegetative Cells, but Not Spores, of *Bacillus anthracis*, *B. cereus*, and *B. subtilis* on Stainless Steel Surfaces Coated with an Antimicrobial Silver- and Zinc-Containing Zeolite Formulation, applied and Environmental Microbiology, 4329–4331, (2003)
 32. J.F. Román-Zamorano, M. Flores-Acosta, H. Arizpe-Chávez, F.F. Castellón-Barraza, M.H. Farías, R. Ramírez-Bon, Structure and properties of lead and lead sulfide nanoparticles in natural zeolite. *J. Mater. Sci.* **44**, 4781–4788 (2009)
 33. N.S. Flores-Lopez, Nanopartículas de Ag en Zeolitas A4 y Chabazita. Professional thesis. Centro de Investigación en Materiales Avanzados, S. C. 13, 34
 34. N.S. Flores-López, J. Castro-Rosas, R. Ramírez-Bon, A. Mendoza-Córdova, E. Larios-Rodríguez, M. Flores-Acosta, Synthesis and properties of crystalline silver nanoparticles supported in natural zeolite chabazite. *J. Mol. Struct.* **1028**, 110–111 (2012)
 35. E. Torres, Síntesis de Nanopartículas de Plata en Chabazita, para la Elaboración de Recubrimientos Bactericidas. Tesis profesional. Universidad de Sonora. 15–46. (2016)
 36. M. John, S. William, B.K. Sobol Peter, Handbook of X-ray Photoelectron Spectroscopy. Edited by Jill Chastain. Minnesota, E.U.A. Perkin-Elmer Corporation. 120–121. (1993)
 37. M.D. Martínez de Yuso García, Aplicaciones de la Espectroscopía Fotoelectrónica de Rayos X en la Caracterización de Materiales Funcionales. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. 7–8, (2015)
 38. Á.B. Sifontes, L. Melo, C. Maza, J.J. Mendes, M. Mediavilla, Preparación de Nanopartículas de Plata en Ausencia de Polímeros Estabilizantes. *Química Nova* **33**(6), 1266–1269 (2010)
 39. G.A.C.M. Spierings, Optical absorption of Ag⁺ ions in 11(Na, Ag)₂O · 11B₂O₃ · 78SiO₂ glass. *J. Non-Cryst. Solids* **94**, 407–411 (1987)
 40. G. Barcaro, M. Broyer, N. Durante, A. Fortunelli, M. Stener, Alloying effects on the optical properties of Ag-Au nanostructures from TDDFT calculations. *J. Phys. Chem. C* **115**, 24085–24091 (2011)
 41. K. Natarajan, S. Selvaraj, V.R. Murty, Microbial production of silver nanoparticles. *Digest J Nanomater Biostruct* **5**, 135–140 (2010)
 42. H. Lee, G. Ro, J.M. Kim, Y. Kim, Discrete-dipole approximation for the optical properties with morphological changes of silver nanoprisms and nanospheres via galvanic reaction. *Mater. Lett.* **209**, 138–141 (2017)
 43. D.H. Kim, J.C. Park, G.E. Jeon, C.S. Kim, J.H. Seo, Effect of the size and shape of silver nanoparticles on bacterial growth and metabolism by monitoring optical density and fluorescence intensity. *Biotechnol. Bioprocess Eng.* **22**, 210–217 (2017)
 44. A.L. González, C. Noguez, Influence of morphology on the optical properties of metal nanoparticles. *J Comput Theoretical Nanosci.* **4**, 231–238 (2007)
 45. L.B. Gulina, G. Korotcenkov, B.K. Cho, S.H. Han, V.P. Tolstoy, Ag nanostructures synthesized by successive ionic layer deposition-method and their characterization. *J Mater Sci* **46**, 4555–4561 (2011)
 46. F. Collins, A. Rozhkovskaya, J.G. Outram, G.J. Millar, A critical review of waste resources, synthesis, and applications for Zeolite LTA. *Microporous Mesoporous Mater.* **291**, 109667 (2020)
 47. J. Singh, R.L. White, A variable temperature infrared spectroscopy study of NaA zeolite dehydration. *Vib. Spectrosc.* **94**, 37–42 (2018)
 48. M. Król, W. Mozgawa, W. Jastrzebski, K. Barczyk, Application of IR spectra in the studies of zeolites from D4R and D6R structural groups. *Microporous Mesoporous Mater.* **156**, 181–188 (2012)
 49. N.N. Safie, A.Z. Yaser, N. Hilal, Ammonium ion removal using activated zeolite and chitosan. *Asia-Pac J Chem Eng.* **15**, e2448 (2020)
 50. M.R. Abukhadra, S.M. Ibrahim, S.M. Yakout, M.E. El-Zaidy, A.A. Abdeltawab, Synthesis of Na⁺ trapped bentonite/zeolite-P composite as a novel catalyst for effective production of biodiesel from palm oil; effect of ultrasonic irradiation and mechanism. *Energy Conversion Manage.* **196**, 739–750 (2019)
 51. M. Nabiollah, N. Rikhtegar, H.A. Panahi, A. Farideh, B.K. Shahraki, Porosity, characterization and structural properties of natural zeolite—clinoptilolite—as a sorbent. *Environ. Protect. Eng.* **39**, 139–152 (2013)
 52. A.D. Montes-Luna, N.C. Fuentes-López, Y.A. Perera-Mercado, O. Pérez-Camacho, G. Castruita-de León, S.P. García-Rodríguez, M. García-Zamora, Caracterización de Clinoptilolita Natural y Modificada con Ca²⁺ por Distintos Métodos Físico-Químicos para su Posible Aplicación en Procesos de Separación de Gases. *Sociedad Mexicana Ciencia Tecnología Superficies Materiales.* **28**, 5–11 (2015)
 53. T.M. Piqué, A. Vázquez, Uso de Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) en el Estudio de la Hidratación del Cemento. *Concreto Y Cemento. Investigación Y Desarrollo* **3**, 62–71 (2012)
 54. D. Novgorodova, A. Gorshkov, A. Mokhov, Standard X-ray diffraction powder patterns. *Zap. Vses. Mineral. O-va.* **108**, 552–554 (1979)
 55. M.L. Lind, A.K. Ghosh, A. Jawor, X. Huang, W. Hou, Y. Yang, E.M.V. Hoek, Influence of zeolite crystal size on zeolite-polyamide thin film nanocomposite membranes. *Langmuir* **25**, 10139–10145 (2009)
 56. E. Kolobova, A. Pestryakov, G. Mamontov, Y. Kotolevich, N. Ogdanchikova, M. Farias, A. Vosmerikov, L. Vosmerikova, V. Cortes Corberan, Low-temperature CO oxidation on Ag/ZSM-5 catalysts: Influence of Si/Al ratio and redox pretreatments on formation of silver active sites. *Fuel* **188**, 121–131 (2017)
 57. A. Nagy, A. Harrison, S. Sabbani, R.S. Munson Jr., P.K. Dutta, W.J. Waldman, Silver nanoparticles embedded in zeolite membranes: release of silver ions and mechanism of antibacterial action. *Int. J. Nanomed.* **6**, 1833–1852 (2011)
 58. H. Khodabandehloo, H. Zahednasab, A.A. Hafez, Nanocarriers usage for drug delivery in cancer therapy, Iran. *J. Cancer Prev.* **9**, e3966 (2016)
 59. D. Ho, X. Sun, S. Sun, Monodisperse magnetic nanoparticles for theranostic applications. *Acc. Chem. Res.* **44**, 875–882 (2011)
 60. T. Miyanaga, H. Hoshino, H. Endo, Local structure of silver clusters in the channels of zeolite 4A. *J. Synchrotron Rad.* **8**, 557–559 (2001)
 61. Y. Chai, W. Shang, W. Li, W. Guangjun, W. Dai, N. Guan, L. Li, Noble metal particles confined in zeolites: synthesis, characterization, and applications. *Adv. Sci.* **6**, 1900299 (2019)
 62. M.J. Sánchez, J.E. Mauricio, A.R. Paredes, P. Gamero, D. Cortés, Antimicrobial properties of ZSM-5 type zeolite functionalized with silver. *Mater. Lett.* **191**, 65–68 (2017)
 63. L. Zhu, S. Ye, A. Asghar, S.-H. Bang, Oh. Won-Chun, Additional effect of zeolite based on bactericidal activated carbon spheres

- with enhanced adsorption effect and higher ignition temperature. *J. Korean Ceram. Soc.* **53**, 68–74 (2016)
64. M. Vanaja, G. Annadurai, Coleus aromaticus leaf extract mediated synthesis of silver nanoparticles and its bactericidal Activity. *Appl Nanosci* **3**, 217–223 (2013)
65. A. Ávalos, A.I. Haza, D. Mateo, P. Morales, Nanopartículas de plata: aplicaciones y riesgos tóxicos para la salud humana y el medio ambiente. *Rev Complutense Ciencias Veterinarias*. **7**, 1–23 (2013)
66. Y.H. Tan, Y. Chen, W.H.W. Chu, L.-T. Sham, Y.-H. Gan, Cell envelope defects of different capsule-null mutants in K1 hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* can affect bacterial pathogenesis. *Mol. Microbiol.* **113**, 889–905 (2020)

Publisher's Note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.