



**CENTRO DE INVESTIGACIÓN Y DE ESTUDIOS AVANZADOS  
DEL INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL**

UNIDAD SALTILLO  
SUSTENTABILIDAD DE LOS RECURSOS NATURALES Y ENERGÍA

Nanopartículas Cu y CuO/Cu<sub>2</sub>O mediadas por extracto de  
*Larrea tridentata* y su potencial en la remediación de agua y  
como antimicrobiano

Tesis que presenta

**Ing. Lilia Itzel Sánchez Ramírez**

Para obtener el Grado de

**Maestra en Ciencias en Sustentabilidad de los Recursos Naturales y  
Energía**

Directores

**Dr. Arturo Isaías Martínez Enríquez**

**Dra. Nicolaza Pariona Mendoza**

**Ramos Arizpe, Coahuila**

**Agosto, 2021**

## AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigación y de Estudios Avanzados del Instituto Politécnico Nacional (Cinvestav-IPN), al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el sustento financiero que me brindó, en conjunto con la Secretaría de Energía (SENER) durante los dos años de mis estudios de maestría.

Al FORDECYT, por haber contribuido financieramente en la realización de este trabajo a través del proyecto “Generación de estrategias científico-tecnológicas con un enfoque multidisciplinario e interinstitucional para afrontar la amenaza que representan los complejos ambrosiales en los sectores agrícola y forestal de México”. No. 292399.

Al Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria a través del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (SENASICA-CNRF) y al Instituto de Ecología A.C. de México (INECOL) por facilitar las instalaciones y el equipo necesario para la elaboración de esta tesis.

A los Dres. Gregorio Vargas Gutiérrez y Prócoro Gamero Melo, integrantes del Comité de Investigación, por sus observaciones y comentarios.

A los alumnos del Laboratorio de Revaloración de Residuos (LARR) por su amistad y apoyo. Así como a los investigadores encargados de dicho laboratorio: los Dres. Lourdes V. Díaz Jiménez y Salvador Carlos Hernández quienes facilitaron equipo de laboratorio.

A mis directores de tesis, los Dres. Arturo Isaías Martínez Enríquez y Nicolaza Pariona Mendoza.

A las personas que contribuyeron con sus comentarios, observaciones, correcciones o actividades de forma directa o indirecta a la elaboración de esta tesis.

## CONTENIDO

<b>RESUMEN</b> .....	<b>XII</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>XIII</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>2. ANTECEDENTES</b> .....	<b>2</b>
2.1 Nanociencias y nanotecnología .....	2
2.2 Nanopartículas .....	5
2.3 Biosíntesis de nanopartículas .....	7
2.3.1 Biosíntesis de nanopartículas metálicas (MNPs) mediadas por plantas .....	10
2.4 <i>Larrea tridentata</i> .....	14
2.5 La nanotecnología en el tratamiento de agua.....	17
2.6 Contaminación de agua por colorantes .....	18
2.7 Fotocatálisis heterogénea para el tratamiento de agua.....	20
2.7.1 Potencial del cobre y óxidos de cobre como fotocatalizadores.....	23
2.8 La nanotecnología en la agricultura .....	27
2.9 Microorganismos fitopatógenos .....	31
<b>3. JUSTIFICACIÓN</b> .....	<b>33</b>
<b>4. HIPÓTESIS</b> .....	<b>35</b>
<b>5. OBJETIVOS</b> .....	<b>35</b>
Objetivo general.....	35
Objetivos particulares: .....	35
<b>6. METODOLOGÍA</b> .....	<b>36</b>
6.1 Obtención del material vegetal .....	36
6.2 Preparación del extracto vegetal. ....	36
6.3 Biosíntesis de nanopartículas de cobre. ....	36
6.4 Caracterización del material biológico .....	37
6.5 Caracterización de las NPs .....	37
6.6 Evaluación de la actividad catalítica de las NPs.....	38
6.7 Actividad antibacteriana de las NPs. ....	39
6.8 Actividad antifúngica de las NPs.....	39

<b>7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....</b>	<b>42</b>
7.1 Análisis por espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).....	42
7.2 Difracción de rayos X.....	46
7.3 Análisis morfológico y elemental.....	48
7.3.1 Microscopía electrónica de barridos y EDS.....	48
7.3.2 Análisis TEM.....	50
7.4 Análisis por espectroscopía de fotoelectrones de rayos X.....	52
7.5 Distribución del tamaño mediante dispersión de luz.....	56
7.6 Actividad catalítica.....	57
7.7 Actividad antibacteriana.....	66
7.8 Actividad antifúngica.....	68
<b>8. CONCLUSIONES.....</b>	<b>76</b>
<b>9. BIBLIOGRAFÍA.....</b>	<b>78</b>

## ÍNDICE DE TABLAS

<b>Tabla 1.</b> Vibraciones IR presentes en el polvo de <i>L. tridentata</i> (LT). .....	<b>43</b>
<b>Tabla 2 .</b> Vibraciones IR de las nanopartículas LTCu (vino) y LTCuO (verde). .....	<b>45</b>
<b>Tabla 3.</b> NPs de cobre biosintetizadas y su degradación de AM en oscuridad. ....	<b>60</b>
<b>Tabla 4.</b> NPs de cobre y su degradación de AM en irradiación UV .....	<b>63</b>
<b>Tabla 5.</b> Degradación de AM en irradiación solar por NPs de cobre biosintetizadas. ....	<b>64</b>
<b>Tabla 6.</b> Comparativo de los porcentajes de degradación a diferentes tipos de irradiación. ....	<b>65</b>
<b>Tabla 7.</b> Actividad antibacteriana de NPs de cobre biosintetizadas. ....	<b>67</b>
<b>Tabla 8.</b> Efecto antagónico sobre el crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> . ....	<b>72</b>
<b>Tabla 9.</b> Efecto antagónico sobre el crecimiento micelial de <i>Colletotrichum gloeosporioides</i> . .....	<b>73</b>
<b>Tabla 10.</b> Efecto antagónico sobre el crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> . ....	<b>75</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

<b>Figura 1. Fragmento pintura mural Bonampak, Mediateca INA.....</b>	<b>2</b>
<b>Figura 2. Clasificación de los nanomateriales manufacturados de acuerdo con ISO / TS 80004-2: 2015. ....</b>	<b>5</b>
<b>Figura 3. Los 12 principios de la química verde. Se resaltan los principios por los cuales la biosíntesis de NPs es un método de síntesis verde. ....</b>	<b>7</b>
<b>Figura 4. Publicaciones relacionadas con la “síntesis verde de nanopartículas” (color azul) y la “síntesis biológica de nanopartículas” (color naranja). Datos obtenidos de la Web of Science en noviembre del 2020. ....</b>	<b>8</b>
<b>Figura 5. Procedimiento general para la biosíntesis de nanopartículas metálicas mediante extractos de plantas. Adaptado de [29].....</b>	<b>11</b>
<b>Figura 6. Compuestos de origen vegetal relevantes en la fitosíntesis de nanopartículas metálicas. Representadas por: A) Tirosina (aminoácido), B) Ácido p-Cumarico (fenólicos), C) Vitamina C (vitaminas), D) Pectina (polisacáridos), E) Quinina (alcaloides), F) Saponina (glucósidos), G) Carotenoide (terpenos). Los principales grupos funcionales responsables de la síntesis están representados por colores: grupo hidroxilo en rojo, grupo carboxilo en azul, grupo carbonilo en naranja y grupo amina en violeta[50]. ....</b>	<b>13</b>
<b>Figura 7. Imagen de L. tridentata (CONABIO) .....</b>	<b>15</b>
<b>Figura 8. Aplicaciones de las nanopartículas para el tratamiento y purificación del agua. ....</b>	<b>17</b>
<b>Figura 9. Mecanismo general de las reacciones fotocatalíticas en medio acuoso. Los Compuestos Orgánicos Sintéticos (COS) pueden mineralizarse.....</b>	<b>21</b>
<b>Figura 10. Modelo de una celda unitaria de (a) óxido cuproso <math>\text{Cu}_2\text{O}</math> y (b) óxido cúprico <math>\text{CuO}</math>. Las esferas rojas representan el oxígeno y las marrones representan el cobre [88]. ....</b>	<b>24</b>
<b>Figura 11. Banda prohibida de diversos fotocatalizadores con respecto al potencial redox de diferentes especies químicas (V vs NHE a pH 7) [89].....</b>	<b>25</b>
<b>Figura 12. Azul de metileno oxidado y reducido. Adaptado de [92].....</b>	<b>26</b>
<b>Figura 13. Intermediarios propuestos para la oxidación del Azul de Metileno. Adaptado de [94]. ....</b>	<b>27</b>

<b>Figura 14. Aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura.....</b>	<b>28</b>
<b>Figura 15. Mecanismos de acción de nanomateriales metálicos. ....</b>	<b>29</b>
<b>Figura 16. Espectro FTIR de <i>L. tridentata</i> (LT). ....</b>	<b>42</b>
<b>Figura 17. Espectro FTIR de las nanopartículas LTCu y LTCuO.....</b>	<b>44</b>
<b>Figura 18. Patrón de difracción de las nanopartículas de cobre (LTCu).....</b>	<b>46</b>
<b>Figura 19. Patrón de difracción de las nanopartículas de óxido de cobre (LTCuO). ....</b>	<b>47</b>
<b>Figura 20. Micrografías de las nanopartículas de cobre (LTCu): a) 50,000x, b) 100,000x, c) Espectro SEM -EDS y d) Mapeo elemental EDS.....</b>	<b>48</b>
<b>Figura 21. Micrografías de las nanopartículas de óxido de cobre (LTCuO): a) 50,000x, b) 100,000x, c) Espectro SEM-EDS y d) Mapeo elemental EDS.....</b>	<b>49</b>
<b>Figura 22. Micrografías HRTEM de LTCu y LTCuO. ....</b>	<b>50</b>
<b>Figura 23. Mapeo elemental de LTCu y LTCuO. ....</b>	<b>51</b>
<b>Figura 24. Análisis XPS de LTCu y LTCuO a) Barrido general de LTCu y b) Barrido general de LTCuO.....</b>	<b>52</b>
<b>Figura 25. Espectros XPS: a) Espectro Cu-2p XPS de LTCu y b) Espectro de Cu-2p XPS de LTCuO.....</b>	<b>53</b>
<b>Figura 26. Espectros XPS de O1s de a) LTCu y b) LTCuO.....</b>	<b>54</b>
<b>Figura 27. Espectros XPS de C1s de a) LTCu y b) LTCuO .....</b>	<b>55</b>
<b>Figura 28. Distribución de tamaño mediante DLS de las NPs obtenidas.....</b>	<b>56</b>
<b>Figura 29. Degradación de AM por LTCu (120 ppm) en oscuridad. ....</b>	<b>57</b>
<b>Figura 30. a) Porcentaje de degradación de AM a diversas concentraciones de LTCu en oscuridad y b) Capacidad de adsorción (<math>Q_t</math>) en mg de AM por g de LTCu en oscuridad. ....</b>	<b>58</b>
<b>Figura 31. Degradación de AM por LTCuO (120 ppm) en oscuridad. ....</b>	<b>59</b>
<b>Figura 32. a) Porcentaje de degradación de AM a diversas concentraciones de LTCuO en condiciones de oscuridad y b) Capacidad de adsorción (<math>Q_t</math>) en mg de AM por g de LTCuO en oscuridad. ....</b>	<b>59</b>
<b>Figura 33. Porcentaje de degradación de AM a 120 y 240 mg/L de LTCu bajo irradiación UV .....</b>	<b>61</b>
<b>Figura 34. Porcentaje de degradación de AM a diversas concentraciones de LTCu bajo irradiación UV. ....</b>	<b>62</b>

<b>Figura 35. Actividad antibacteriana de LTCu y LTCuO .....</b>	<b>66</b>
<b>Figura 36. Crecimiento micelial radial de Fusarium euwallaceae en medio modificado con LTCu y LTCuO respectivamente. ....</b>	<b>68</b>
<b>Figura 37. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de LTCu y LTCuO ante Fusarium euwallaceae. ....</b>	<b>68</b>
<b>Figura 38. Efecto inhibidor de LTCu sobre el crecimiento de a) Fusarium solani y b) Colletotrichum gloeosporioides a 0,0 0.1, 0.25, 0.5. 0.75 y 1 mg/mL. ....</b>	<b>69</b>
<b>Figura 39. Efecto inhibidor de LTCuO sobre el crecimiento de a) Fusarium solani y b) Colletotrichum gloeosporioides a 0,0 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 y 1.0 mg/mL. ....</b>	<b>70</b>
<b>Figura 40. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de LTCu y LTCuO ante Fusarium solani y Colletotrichum gloeosporioides. ....</b>	<b>71</b>
<b>Figura 41. Efecto inhibidor de LTCuO sobre el crecimiento de Fusarium oxysporum a 0,0 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 y 1.0 mg/mL.....</b>	<b>74</b>
<b>Figura 42. Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de LTCuO contra Fusarium oxisporum.....</b>	<b>74</b>



## ACRÓNIMOS

<b>AM</b>	Azul de Metileno
<b>ANDG</b>	Ácido nordihidroguaiarético
<b>COS</b>	Colorantes Orgánicos Sintéticos
<b>CMI</b>	Concentración Mínima Inhibitoria
<b>C<sub>50</sub></b>	Concentración efectiva que causa una reducción del 50% en la tasa del crecimiento del micelio
<b>D</b>	Inoculación por disco
<b>DLS</b>	Dispersión de luz dinámica
<b>DRX</b>	Difracción de Rayos X
<b>ELT</b>	Extracto de <i>Larrea tridentata</i>
<b>EPA</b>	Agencia de protección ambiental de Estados Unidos
<b>ERO</b>	Especies Reactivas de Oxígeno
<b>FTIR</b>	Espectroscopía de infrarrojo con transformada de Fourier
<b>HRTEM</b>	Microscopía electrónica de transmisión de alta resolución
<b>INECOL</b>	Instituto de ecología A.C.
<b>I<sub>pd</sub></b>	Índice de polidispersidad
<b>IRG</b>	Porcentaje de inhibición del crecimiento radial
<b>ISO</b>	Organización internacional de normalización
<b>LT</b>	<i>Larrea tridentata</i>
<b>LTCu</b>	Nanopartículas de cobre mediadas por <i>Larrea tridentata</i>
<b>LTCuO</b>	Nanopartículas de óxido cobre mediadas por <i>Larrea tridentata</i>
<b>MEB</b>	Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo
<b>MNPs</b>	Nanopartículas metálicas
<b>MONPs</b>	Nanopartículas de óxidos metálicos
<b>NNIN</b>	Red nacional de infraestructura de nanotecnología
<b>NPs</b>	Nanopartículas
<b>OMS</b>	Organización Mundial de la Salud
<b>PDA</b>	Agar papa dextrosa
<b>POAs</b>	Procesos de Oxidación Avanzada

<b>SDS</b>	Sin Degradación Significativa
<b>SEI</b>	Sin Efecto Inhibidor
<b>TEM</b>	Microscopía electrónica de transmisión
<b>UNESCO</b>	Organización de las naciones unidas para la educación, la ciencia y la cultura
<b>XPS</b>	Espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X

## GLOSARIO

<b>Citoplasmático</b>	Del citoplasma o relacionado con él. El citoplasma es la parte de la célula que rodea al núcleo y que se encuentra limitada por la membrana exterior.
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Hongo fitopatógen que provoca antracnosis.
<b>Colorante</b>	Formulaciones de pigmentos o tintes.
<b>Complejo ambrosial</b>	Complejo formado por escarabajos ambrosiales que viven en simbiosis con hongos ambrosiales. Colonizan la madera de ramas y troncos produciendo un deterioro progresivo que puede llevar a la muerte del árbol.
<b>Diámetro hidrodinámico</b>	Diámetro de la partícula dinámica hidratada (supone una capa de hidratación que rodea a la partícula).
<b>Escarabajos ambrosiales</b>	Escarabajos en asociación siobiótica con hongos ambrosia.
<b>Espacio periplásmico</b>	Espacio entre la membrana externa y la membrana citoplásmica.
<i>Fusarium euwallaceae</i>	Hongo fitopatógeno que en simbiosis puede ocasionan la muerte regresiva por fusarium.
<i>Fusarium solani</i>	Hongo fitopatógen de diversos cultivos.
<i>Hormesis</i>	Fenómeno de respuesta a una dosis baja de un agente químico o factor ambiental que es dañino a dosis altas. Induce una respuesta adaptativa y/o un efecto benéfico en el ser vivo expuesto.
<i>Larrea tridentata</i>	Arbusto comúnmente conocido como gobernadora.
<b>Lisis celular</b>	Proceso de ruptura de la membrana celular (ruptura de la capa que delimita a la célula).
<b>Lixiviación agrícola</b>	Desplazamiento de sustancias solubles o dispersas causadas por el movimiento del agua en suelos agrícolas.
<b>Pigmento</b>	Agente colorante generalmente sólidos finamente divididos y polvos insolubles en un medio incorporado.

---

<b>Promedio-Z</b>	Media cumulante. Parametro principal de la técnica de Dispersión de Luz Dinámica.
<b>Simbionte</b>	Organismo que se encuentra asociado por simbiosis.
<b>Simbiosis</b>	Asociación íntima de organismos de especies diferentes para beneficiarse mutuamente en su desarrollo vital.
<b>Tinte</b>	Sustancia soluble coloreada con la que se le puede dar color a otra.
<b>Xenobióticos</b>	Compuestos cuya estructura química es poco frecuente o inexistente en la naturaleza.

---

## RESUMEN

La presencia de colorantes orgánicos sintéticos en aguas residuales es remediada de forma deficiente por métodos convencionales. Una de las estrategias más prometedoras para la remediación de agua contaminada por colorantes es el uso de nanopartículas, las cuales pueden remover e incluso degradar colorantes hasta moléculas simples e inocuas como el CO<sub>2</sub> y H<sub>2</sub>O. La síntesis de nanopartículas mediante extractos de plantas es un método rápido, estable, rentable y de fácil escalabilidad, además son prometedoras para su uso como materiales antimicrobianos. Las propiedades físicas y químicas de las nanopartículas de cobre han atraído la atención para aplicaciones biológicas, fotocatalíticas y como antimicrobiano. Este es el primer trabajo sobre la síntesis de nanopartículas de óxidos de cobre mediante extracto de *Larrea tridentata*, una planta ampliamente distribuida en el territorio mexicano con una diversidad fitoquímica atractiva como reactivo ecológico para la biorreducción y como agente de recubrimiento. El proceso de reacción fue asistido por agitación empleando cloruro de cobre como precursor. Las nanopartículas fueron caracterizadas por FTIR, DRX, MEB-EDS, TEM, XPS y DLS. Se obtuvieron los materiales LTCu y LTCuO los cuales presentaron aglomeración. La morfología de LTCu fue cuasi-esférica de tamaño promedio-Z: 590.7 nm y LTCuO mostró una morfología poliédrica con un tamaño de diámetro hidrodinámico de  $378.7 \pm 21$  nm. Para evaluar el desempeño de LTCu y LTCuO en la degradación de colorantes se empleó azul de metileno, LTCu mostró resultados de degradación favorables incluso en oscuridad. No se identificó efecto antibacteriano de ningún material. La evaluación de la actividad antifúngica de LTCuO contra *Fusarium euwallaceae*, *Fusarium solani* y *Colletotrichum gloeosporioides* mostró mayor efecto inhibitorio.

## ABSTRACT

The presence of synthetic organic colorants in wastewater is poorly remedied by conventional methods. One of the most promising strategies for the remediation of water contaminated by dyes is the use of nanoparticles, which can remove and even degrade dyes to simple and innocuous molecules such as CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O. The synthesis of nanoparticles using plant extracts is a fast, stable, cost-effective and easily scalable method, and they are also promising for use as antimicrobial materials. The physical and chemical properties of copper nanoparticles have attracted attention for biological, photocatalytic and antimicrobial applications. This is the first work on the synthesis of copper oxide nanoparticles using an extract of *Larrea tridentata*, a plant widely distributed in the Mexican territory with an attractive phytochemical diversity as an ecological reagent for bioreduction and as a coating agent. The reaction process was assisted by stirring using copper chloride as a precursor. The nanoparticles were characterized by FTIR, XRD, MEB-EDS, TEM, XPS and DLS. The LTCu and LTCuO materials were obtained, which presented agglomeration. The morphology of LTCu was quasi-spherical with Z-average size: 590.7 nm and LTCuO showed a polyhedral morphology with a hydrodynamic diameter size of 378.7 ± 21 nm. Methylene blue was used to evaluate the performance of LTCu and LTCuO in the degradation of dyes. LTCu showed favorable degradation results even in the dark. No antibacterial effect of any of both obtained materials was identified. The analysis of the antifungal activity of LTCuO against *Fusarium euwallaceae*, *Fusarium solani* and *Colletotrichum gloeosporioides* showed a greater inhibitory effect.

## 1. INTRODUCCIÓN

Uno de los desafíos relevantes de la actualidad es el acceso a los recursos hídricos, donde su disponibilidad se encuentra ligada a la calidad del agua, ya que de ésta dependen sus posibles usos. La urbanización acelerada y la actividad industrial demandan un consumo intensivo del recurso, agravando la contaminación. Lo anterior, aunado al vertido de aguas residuales sin tratar junto con la lixiviación agrícolas han deteriorado la calidad del agua en el mundo [1, 2].

Los tintes son una clase compleja de colorantes orgánicos sintéticos como el cloruro de metiltionina [3, 4]. El cloruro de metiltionina comúnmente conocido como azul de metileno es un tinte cuya diseminación ha ocasionado anomalías congénitas y trastornos del desarrollo, así como cáncer. Afectando al medio ambiente y a la salud pública [3]. El AM se introduce al medio ambiente principalmente por medio de efluentes procedentes de industrias textiles, cosméticas, alimentarias, papeleras, peleteras y médicas [4].

Mientras tanto, la producción agrícola y la sostenibilidad económica de diversos cultivos se encuentra severamente afectada por numerosos fitopatógenos [5]. Promoviendo el uso de plaguicidas que tienen efectos adversos en el medio ambiente. Además, puede promover la resistencia de microorganismos patógenos a fármacos [2, 6-9].

El constante progreso en ciencia y tecnología ha permitido el desarrollo y producción de materiales novedosos, con características cada vez más específicas y tamaños más pequeños, como lo son los materiales a escala nanométrica [10]. Entre los nanomateriales, las nanopartículas metálicas se han empleado ampliamente para el tratamiento y purificación de agua. Recientemente se han comenzado a realizar estudios sobre su uso potencial en el sector agrícola, para el control de microorganismos fitopatógenos [2].

En el presente trabajo se planteó y desarrolló la síntesis verde de nanopartículas de Cu y CuO / Cu<sub>2</sub>O mediado por extracto de *Larrea tridentata* como agente reductor y protector. Las nanopartículas se caracterizaron para identificar su composición química, morfología, distribución de tamaño, estructura y cristalinidad. Se empleó azul de metileno como colorante modelo para la evaluación de la actividad catalítica de las nanopartículas. La actividad antifúngica y antibacteriana de las nanopartículas fue realizada contra microorganismos fitopatógenos.

## 2. ANTECEDENTES

### 2.1 Nanociencias y nanotecnología

Se considera al físico teórico Richard Feynman y al químico Richard E. Smalley como padres de la nanotecnología. Feynman fue el primero en expresar públicamente en una conferencia de la Sociedad Estadounidense de Física (1959) la idea del desarrollo de objetos o máquinas ordenando átomos y moléculas, así como sus posibles aplicaciones, aunque la palabra “nanotecnología” nunca fue mencionada. Mientras que Smalley recibió el premio nobel de química en 1996 por el descubrimiento de los fulerenos esféricos y fue reconocido por los estudios que realizó con fulerenos [11].

No obstante, el uso empírico de la nanotecnología se practica desde hace cientos de años. Por ejemplo, los antiguos pobladores de Mesoamérica fabricaron el azul maya, el cual aún se puede apreciar en murales de zonas arqueológicas como Bonampak (Figura 1) y Cacaxtla, México. Las cualidades de tono y resistencia del azul maya se deben a la mezcla de índigo y arcilla de cavidades nanométricas [12, 13]. Otro ejemplo es apreciable en la elaboración de vitrales de iglesias medievales mediante la adición de partículas de oro y plata para dar lugar a sus colores. El primer registro para obtener vitrales empleando partículas de oro es de 1449 a nombre de John Utynam quien patentó dicho proceso. Por lo tanto, el uso de la nanotecnología no es nuevo, sin embargo, la concepción, desarrollo y caracterización de ésta sí lo es [11, 14, 15].



*Figura 1. Fragmento pintura mural Bonampak, Mediateca INA.*

De acuerdo con la NNIN (National Nanotechnology Infrastructure Network) [16] las nanociencias y la nanotecnología comprenden un campo multidisciplinario y emergente que



tiene como objetivo comprender, controlar y manipular la materia a nivel de nanoescala (de 1 a 100 nanómetros) y contempla el nivel supramolecular de las interacciones de estos materiales. Las nanociencias estudian la estructura y propiedades fisicoquímicas de los materiales a escala nanométrica, el desarrollo de nuevos materiales, así como los nuevos fenómenos que surjan a dicha escala. Mientras que la nanotecnología comprende la capacidad de construir y manipular objetos y dispositivos a nivel nanométrico [10, 16].

Los nanomateriales presentan fenómenos únicos confiriendo propiedades específicas que muestran potencial en aplicaciones novedosas. Esto es debido a que la materia que se encuentra en escala nanométrica cuenta con un porcentaje significativo de átomos en la superficie, aumenta la energía superficial, se reducen las imperfecciones y el confinamiento espacial. Los nanomateriales dejan de comportarse de acuerdo con la física clásica, por lo cual, se debe recurrir a la mecánica cuántica para explicar el cambio que experimenta la materia [17, 18].

El desarrollo nanotecnológico ha conducido a su aplicación en diversas áreas, abriendo así nuevos mercados. Existe un constante aumento en la exploración de métodos de síntesis y sus posibles usos. Para lograr la nanoestructura en los nanomateriales se pueden seguir metodologías de “arriba hacia abajo” (top-down) o de “abajo hacia arriba” (bottom-up), partiendo de un material de mayor o menor tamaño hasta la nanoescala, mediante procesos físicos, químicos y biológicos [19].

Las aplicaciones de la nanotecnología se pueden apreciar en el campo de la medicina, el energético, en electrónica y tecnologías de la información, en la industria alimentaria, cosmética, aeroespacial, textil, petrolera, del deporte, agrícola y en remediación ambiental. Se pronostica que las nanotecnologías se encontrarán presentes en todos los ámbitos de la vida [19, 20].

Distintas organizaciones e instituciones han trabajado en el proceso de estandarización y/o normalización de las terminologías empleadas en nanotecnología, tales como la Organización Internacional de Normalización (ISO), la Comisión Electrotécnica Internacional (IEC), el Consejo de Nanotecnología del Instituto de Ingenieros Eléctricos y Electrónicos (IEEE) y el Comité Técnico de Nanotecnologías. Sin embargo, las definiciones varían de acuerdo con las disciplinas y aplicaciones. Además, los comportamientos no predecibles con la física y química

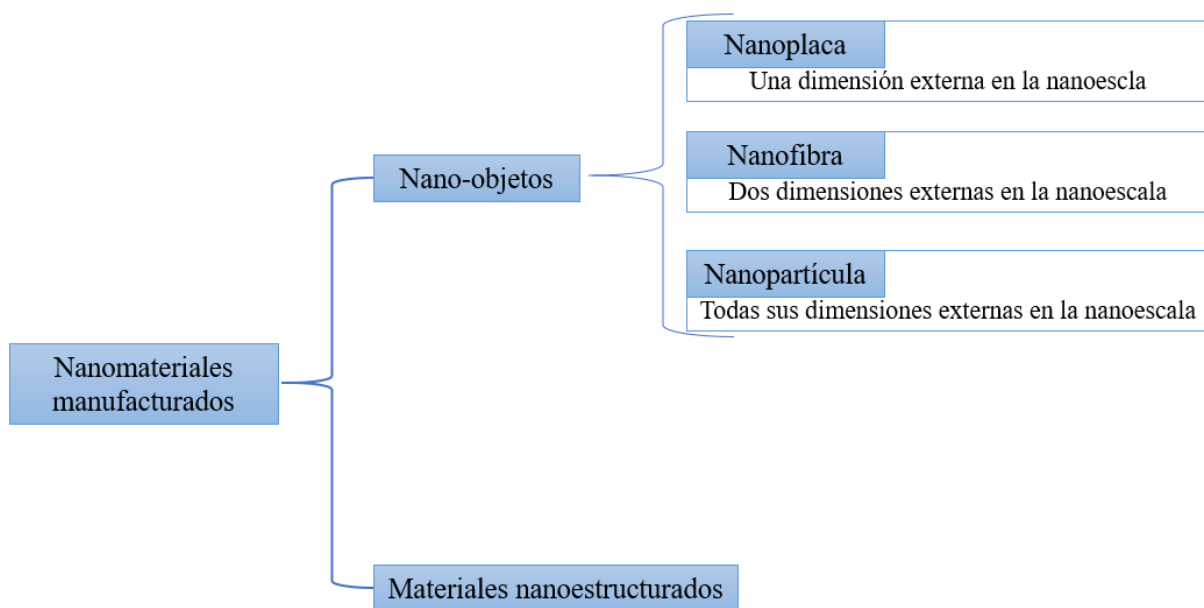
clásica, así como los cambios de las propiedades de los nanomateriales de distinto tamaño, morfología u orientación espacial, conllevaban a que las normalizaciones, estándares o especificaciones técnicas sean anuladas y actualizadas constantemente [21].

Las nanociencias y la nanotecnología resultan ser prometedoras para una mejor calidad de vida, sin embargo, existe la incertidumbre de los posibles riesgos de la exposición a nanomateriales manufacturados [22]. Por ello, es importante realizar estudios de impactos sociales, ecológicos y económicos que permitan responder de una forma ética ante el potencial, tanto positivo como negativo de esta tecnología.

## 2.2 Nanopartículas

La NMX-R-27687-SCFI-2014 trata los términos y definiciones relativas a partículas en el campo de las nanotecnologías, que a su vez se basa en el ISO/TS 27687:2009, el cual se reemplazó por la especificación técnica: ISO / TS 80004-2: 2015. En esta última se define nanopartícula como un nanomaterial con todas las dimensiones externas en la nanoescala (1-100 nm). En donde, las longitudes de los ejes no difieren significativamente (no más de 3 veces). De lo contrario se prefiere el término nanofibra o nano-placa.

Los nanomateriales son aquellos que cuentan con al menos una dimensión externa en la nanoescala, se pueden presentar como: naturales, incidentales y manufacturados. Los nanomateriales nanoestructurados a su vez se dividen en nanoobjetos y materiales nanoestructurados (Figura 2). Las Nanopartículas (NPs) se pueden presentar en forma primaria, es decir, no constituidas por grupos de partículas más pequeñas, o bien por aglomerados. Mientras que al componente integral identificable de una partícula más grande se le conoce como partícula constituyente.



**Figura 2.** Clasificación de los nanomateriales manufacturados de acuerdo con ISO / TS 80004-2: 2015.

La demanda para diversas aplicaciones de las nanopartículas ha promovido la búsqueda de nuevos métodos de síntesis cada vez más económicos, eficientes y respetuosos con el ambiente [19].

Las NPs de metales como platino y oro tienen cualidades como mayor estabilidad y menor citotoxicidad en comparación con las nanopartículas de otros metales. Por lo cual se han desarrollado y aplicado en el campo de la medicina, sin embargo, son metales muy costosos. Los nanomateriales de plata han mostrado actividad antimicrobiana con gran éxito, se emplean en instrumentos quirúrgicos mostrando excelentes resultados, lamentablemente, el factor económico continúa siendo una limitante para su aplicación [23, 24].

En la búsqueda de síntesis de NPs asequibles se han puesto en la mira metales de transición y sus óxidos como el CuO, TiO<sub>2</sub>, Fe<sub>3</sub>O<sub>4</sub>, ZnO y NiO; las cuales se han mostrado efectivas en campos como el energético, médico y en la remediación ambiental. Se han establecido las probables aplicaciones de las nanopartículas de óxido de cobre (CuONP) en sensores de gas, tratamiento de desechos, catálisis, baterías, conservación de alimentos, superconductores de alta temperatura, conversión de energía solar, dispositivos fotovoltaicos, eliminación de tintes, dispositivos de emisión de campo y en agricultura [10, 25].

Los métodos físicos y químicos para la obtención de NPs de metales y óxidos metálicos como la síntesis térmica, sol gel, sonoquímica, por irradiación de microondas y la precipitación rápida requieren rutas intensivas, trabajo técnico prolongado y el uso de productos químicos generalmente costosos y tóxicos. En la búsqueda de métodos más limpios, biocompatibles, menos tóxicos y ecológicos, se han desarrollado métodos biológicos para la obtención de NPs [26].

La síntesis biológica de NPs emplea métodos de síntesis verde. Por consiguiente, este tipo de síntesis se lleva a cabo tomando en cuenta los principios de la química verde (Figura 3). De este modo, se tiene como objetivo una filosofía química dirigida hacia el diseño de productos y procesos para llegar a la sustentabilidad en la química, o bien, a la química sustentable [10, 26, 27].

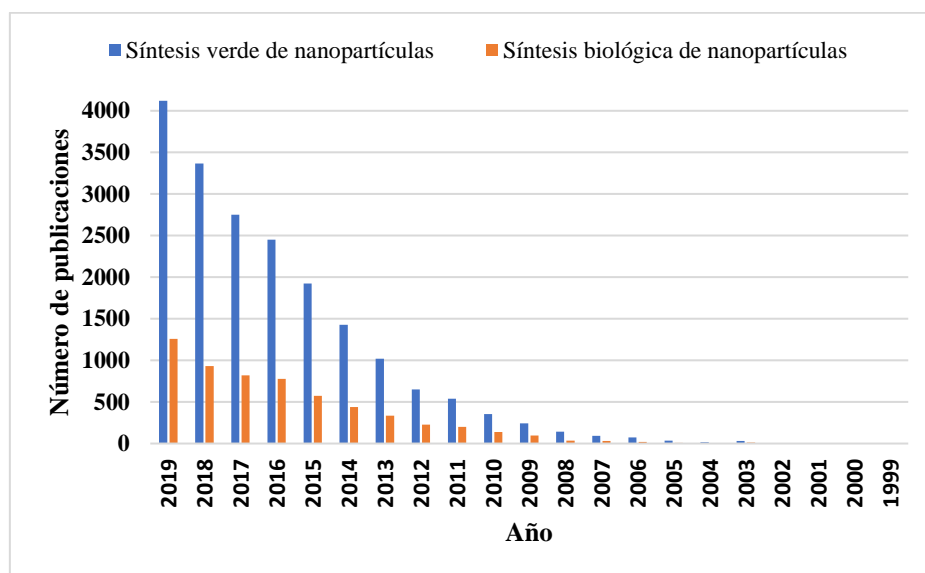


*Figura 3. Los 12 principios de la química verde. Se resaltan los principios por los cuales la biosíntesis de NPs es un método de síntesis verde.*

### 2.3 Biosíntesis de nanopartículas

Los organismos vivos como las bacterias, hongos y plantas se encuentran de manera ubicua en el medio ambiente. Su exposición a condiciones ambientales adversas y tóxicas durante años ha generado como respuesta el desarrollo de mecanismos de defensa naturales ante el estrés. Se han estudiado los mecanismos de respuesta ante la presencia de metales pesados. Las interacciones entre iones metálicos con organismos y materia orgánica han permitido conocer y aplicar procesos biotecnológicos como la bio-lixiviación, bio-oxidación y bio-acumulación en la minería, favoreciendo la extracción y recuperación de metales, así mismo estos procesos biotecnológicos se han empleado en el campo de la biorremediación [28].

Basados en las interacciones entre iones metálicos con sistemas biológicos se propuso emplear microorganismos, plantas y materia orgánica de organismos tolerantes y resistentes a la presencia de metales como fábricas ecológicas para la síntesis de nanopartículas metálicas (Figura 4). La biosíntesis se lleva a cabo empleando organismos vivos, biomasa y extractos de organismos vivos como fuente de reductores de iones metálicos, ya sea intracelular o extracelularmente. La reducción se puede realizar mediante proteínas, azúcares, fenoles y otras biomoléculas [29-31].



**Figura 4.** Publicaciones relacionadas con la “síntesis verde de nanopartículas” (color azul) y la “síntesis biológica de nanopartículas” (color naranja). Datos obtenidos de la Web of Science en noviembre del 2020.

Sin embargo, se ha demostrado que microorganismos como bacterias y hongos, así como plantas, que normalmente no están expuestas a altas concentraciones de iones metálicos, también son útiles para la obtención de nanopartículas metálicas (MNPs). Esto debido a que la nucleación y crecimiento de estructuras inorgánicas en organismos biológicos son en su mayoría controlados por proteínas y otras biomacromoléculas. Los agentes reductores, por ejemplo, enzimas como las reductasas, son responsables de la reducción de metales. Los organismos cuentan con dichos agentes reductores en concentraciones variadas según el organismo o la materia orgánica empleada. La elucidación y mecanismo exacto asociado con la biosíntesis es complejo y aún no se ha entendido completamente [28, 32].

La biosíntesis bacteriana de NPs se puede clasificar en dos tipos: I) Biosorción: en la cual los cationes metálicos presentes en el medio acuoso se unen a la pared celular bacteriana y se basan en procesos de fisisorción, precipitación, intercambio iónico y/o complejación; y II) Biorreducción: donde los iones metálicos se reducen mediante agentes reductores, estos son compuestos presentes en la célula como proteínas, pigmentos, flavononas, terpenoides y alcanoides [33, 34]. Adicionalmente, algunos fitoquímicos pueden actuar como reductores de las células proporcionando un recubrimiento natural que apoya la estabilidad de las NPs biogénicas [35].

La biosíntesis mediada por bacterias exhibe ventajas como: fácil manipulación genética, altas tasas de crecimiento, pueden crecer y llevar a cabo la síntesis de NPs en medios selectivos, así como en aguas residuales. Entre los géneros de bacterias más conocidos para la obtención de NPs biogénicas se encuentran *Bacillus*, *Pseudomonas*, *E. coli*, y *Salmonella* [26, 32, 36, 37]. Se prefiere la síntesis extracelular en bacterias para evitar los pasos que conlleva la recuperación de las NPs como lavados y métodos de lisis celular empleados en la síntesis intracelular. La reducción de iones metálicos a MNPs por bacterias depende de varios parámetros como la presencia de moléculas orgánicas en la pared celular, el pH de operación, la biodisponibilidad de los nutrientes en el medio de cultivo, la concentración de sales metálicas y la temperatura.

La miconanotecnología es un campo que contempla la biosíntesis fúngica de MNPs la cual se puede llevar a cabo tanto intracelular como extracelularmente. La pared celular de los organismos fúngicos está compuesta principalmente por quitina y glucano, se ha identificado que la quitina es el componente principal para llevar a cabo la complejación de metales pesados que posteriormente forman MNPs [38, 39]. Los hongos filamentosos presentan mayor tolerancia y bioacumulación ante metales en comparación con las bacterias, por lo cual tienen mayor productividad de MNPs, son de fácil manejo y bajo costo de producción a nivel laboratorio y a gran escala comparado con el uso de bacterias y virus [35, 40].

Se han propuesto dos mecanismos para explicar la biosíntesis de MNPs mediadas por hongos I) Acción de nitrato reductasa y II) Quinonas transportadoras de electrones. Entre las especies más conocidas para mediar dicha síntesis se encuentran las especies: *Penicillium*, *Fusarium oxysporum*, *Aspergillus*, *Collecotrichum sp* y *Rhizopus oryzae*; también levaduras como *Rhodospiridium*, *Candida utilis* y *Saccharomyces cerevisiae* [34, 40-43].

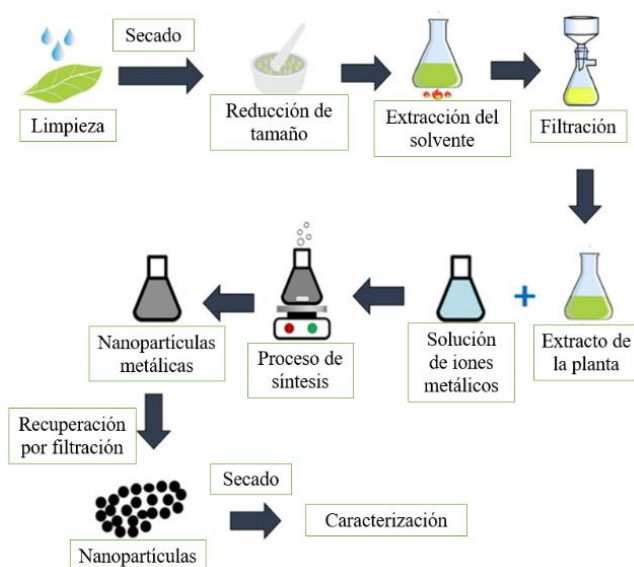
### **2.3.1 Biosíntesis de nanopartículas metálicas (MNPs) mediadas por plantas**

Las plantas son organismos fotosintéticos renovables y accesibles, su naturaleza es adecuada para satisfacer la demanda de NPs menos tóxicas. La biosíntesis mediante plantas representa un método más sencillo y rentable que el uso de hongos y bacterias, los cuales requieren mantenimiento y conservación de sus cultivos celulares en condiciones de laboratorio. Además, es un método adecuado para su escalabilidad. Por otra parte, las sustancias reductoras de interés se pueden obtener mediante extractos acuosos, el proceso de síntesis se realiza a temperatura y presión ambiente y la formación de MNPs se puede apreciar con un cambio de color en el extracto. Dichas ventajas promueven el uso de plantas como materia prima realmente atractiva para la síntesis de MNPs destacando por ser un método verde, simple, rápido, estable y rentable [25, 26, 35].

Se pueden sintetizar MNPs en plantas vivas o inactivas. Suelen emplearse partes de la planta deseada en polvo o extracto. Extractos de partes como hojas, frutos, tallos, raíces, flores, partes de semillas o sustancias producidas por las plantas como el látex se han reportado para la obtención de MNPs [44].



El procedimiento general para la obtención de nanopartículas metálicas mediante extractos de plantas se puede apreciar en la Figura 5. Una vez obtenida la materia orgánica se inicia la limpieza. La biomasa, por ejemplo, de las hojas de la planta deseada, debe ser sometida a un proceso de limpieza que consiste generalmente en varios lavados para eliminar insectos y sustancias no deseadas. Posteriormente, se deja secar ya sea a temperatura ambiente o mediante el uso de calor. Después, suele reducirse el tamaño de la biomasa a través de cortes o molienda con el objetivo centrado en la extracción eficiente de los fitoquímicos [29, 45].



**Figura 5.** Procedimiento general para la biosíntesis de nanopartículas metálicas mediante extractos de plantas. Adaptado de [29].

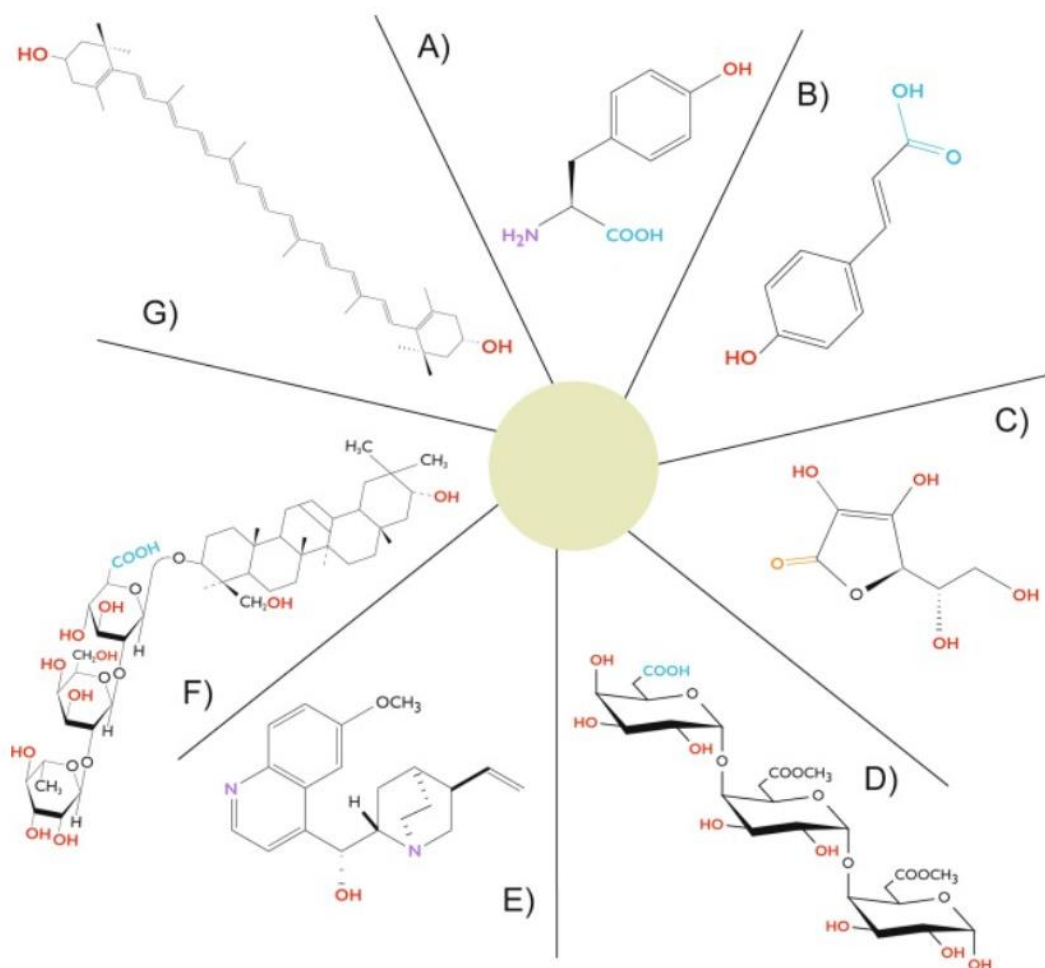
La extracción convencional contempla hervir el material biológico con el solvente, seguido de un proceso de filtración para conservar sólo las moléculas de interés. Para proceder con la etapa de síntesis, al extracto en agitación se le agregan sales del metal precursor de las MNPs. Lo cual, inicia el proceso de síntesis. Una vez terminada la síntesis se procede a la recuperación de las MNPs por filtración o centrifugación y finalmente se secan.

El mecanismo de síntesis de MNPs se puede explicar con las interacciones de las biomoléculas presentes en el extracto como proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos, vitaminas, así como metabolitos secundarios (compuestos bioactivos) como flavonoides, alcaloides, polifenoles, terpenoides, compuestos heterocíclicos y polisacáridos que pueden actuar como ligantes. Dichas biomoléculas en presencia de un metal inician el proceso de nucleación provocando la síntesis de las NPs [46].

Además de la reducción de los iones metálicos, las biomoléculas presentes en la materia orgánica recubren y estabilizan a las nanopartículas biosintetizadas. Por ello, las sustancias bioactivas de las plantas favorecen la síntesis de MNPs y nanopartículas de óxido metálicos (MONPs) [34, 46-49].

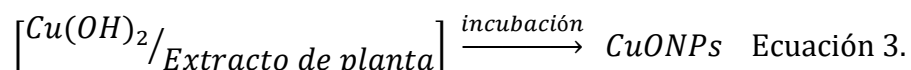
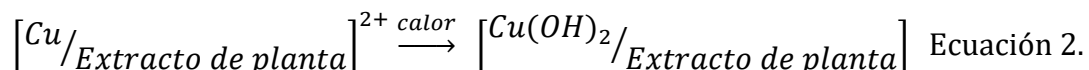
La síntesis de MNPs muestra dos etapas (i) Etapa de nucleación: formación de un quelato entre el metal y los grupos hidroxilo (OH) de los fitocomponentes, seguido de la reducción de los iones metálicos por la oxidación de grupos funcionales como OH y CO de los fitocomponentes. (ii) Etapa de crecimiento, donde el extracto actúa como agente estabilizador. El extracto es una fuente de agentes de recubrimiento que estabilizan los MNPs mediante fuerzas repulsivas, que incluyen interacciones electrostáticas y / o impedimentos estéricos, lo que conduce a una alta estabilidad [50, 51].

Los principales grupos funcionales responsables en la obtención de MNPs son los grupos hidroxilo, carboxílicos, carbonilo y grupos amina (Figura 6). Los grupos hidroxilo participan principalmente en la biorreducción, fungen como ligandos [52]. Los grupos carboxílicos también pueden unirse a los iones metálicos, por lo que pueden actuar como agentes reductores y como tensioactivos que recubren los MNPs al adherirse a su superficie, lo que lleva a su estabilización. Mientras que los grupos amino libres y los carbonilos tienen la capacidad de unirse al metal actuando como agentes reductores.



**Figura 6.** Compuestos de origen vegetal relevantes en la fitosíntesis de nanopartículas metálicas. Representadas por: A) Tirosina (aminoácido), B) Ácido p-Cumarico (fenólicos), C) Vitamina C (vitaminas), D) Pectina (polisacáridos), E) Quinina (alcaloides), F) Saponina (glucósidos), G) Carotenoide (terpenos). Los principales grupos funcionales responsables de la síntesis están representados por colores: grupo hidroxilo en rojo, grupo carboxilo en azul, grupo carbonilo en naranja y grupo amina en violeta[50].

El probable mecanismo de reacción de CuO-NPs se puede representar de las ecuaciones 1-3 [25].



Los parámetros de síntesis son muy variados, por ejemplo, no siempre se reporta la cantidad de material vegetal para la elaboración de extracto. En cuanto al efecto de la temperatura de síntesis de NPs, se encuentra en el rango de los 25 -100°C. Sin embargo, la volatilidad de los metabolitos secundarios ha promovido la síntesis a temperatura ambiente. La metodología del presente trabajo se basa en los parámetros reportados para la obtención de NPs de óxido de cobre mediante jugo de caña y una síntesis química típica para la obtención de NPs de Cu ya aplicada recientemente en la biosíntesis de NPs [53, 54].

#### **2.4 *Larrea tridentata***

En México, las zonas áridas y semiáridas ocupan alrededor del 50% de la superficie del territorio nacional, lo cual brinda una vasta vegetación con morfologías diversas, así como peculiares adaptaciones biológicas desarrolladas ante la aridez [55, 56].

La vegetación común de estas zonas está representada por suculentas (plantas que almacenan agua en tallos, raíces y hojas), plantas áfilas (sin hojas), plantas gregarias (plantas que se acumulan y viven en asociación próxima), plantas provistas de tomento blanco (vello suave que cubre la superficie de los órganos), etc. Sin embargo, existen especies vegetales que carecen de adaptaciones morfológicas notorias en relación con la sequía. Un caso típico de ello es *L. tridentata* la cual no es suculenta, no posee espinas y además es perennifolia [55, 57].

*L. tridentata* es un arbusto xerófilo perteneciente a la familia *zygophyllaceae*, comúnmente conocida en México como “gobernadora”. Nombre que hace referencia a su presencia predominante en grandes extensiones o “hediondilla” debido al olor que despide; en Estados Unidos se le llama “creosote bush” (Figura 7) [55, 57].



**Figura 7.** Imagen de *L. tridentata* (CONABIO)

Las hojas de los arbustos de la planta gobernadora producen una resina como resultado adaptativo a la sequía, la cual ayuda a disminuir la evapotranspiración, así como a reflejar rayos solares para mantener su temperatura. Los metabolitos secundarios que se encuentran en dicha resina resultan ser defensas bioquímicas ante animales herbívoros, insectos y microorganismos. *L. tridentata* se ha empleado en la elaboración de jabones, la producción de grasas para calzado y pegamento. En cuanto a la medicina tradicional, se usa para el tratamiento de más de 50 enfermedades, lamentablemente, su uso por periodos prolongados ha mostrado efectos secundarios. Sin embargo, es reconocida por sus propiedades antibacterianas, antifúngicas y su potencial antioxidante [57, 58].

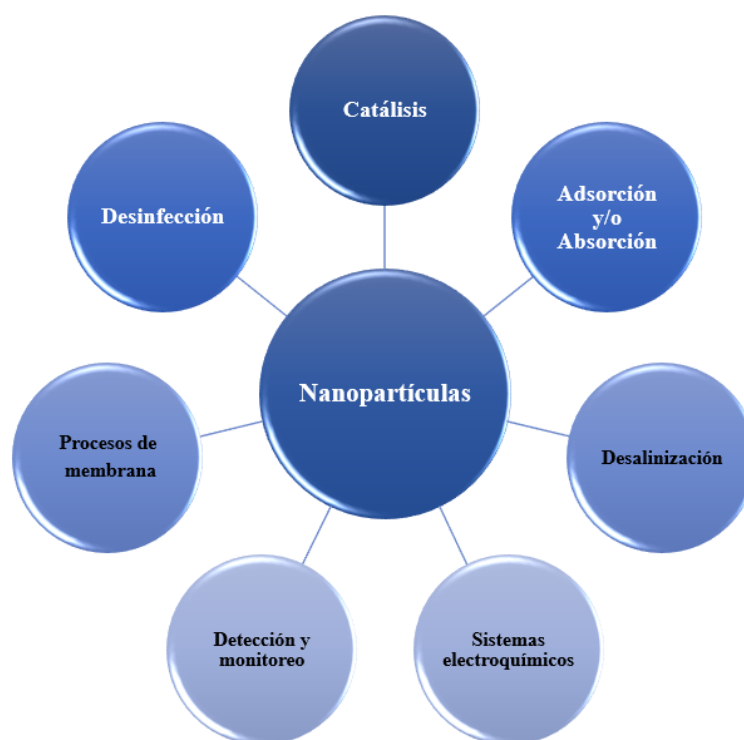
Diferentes estudios han informado sobre la actividad antimicrobiana de los metabolitos secundarios que se encuentran en las plantas. Los metabolitos secundarios que se encuentran en la resina de esta planta son una mezcla compleja de compuestos fenólicos, flavonoides, taninos, saponinas y ésteres. Los extractos líquidos acuosos o alcohólicos de hojas y ramas de gobernadora poseen antioxidantes, inhibidores de enzimas, compuestos antimicrobianos y antitumorales [59-61].

El compuesto más destacado es el ácido nordihidroguaiarético (ANDG), el cual es un lignano fenólico que representa del 5 al 10% del peso seco de las hojas. El ANDG es un potente antioxidante, presenta dos anillos de catecol con efectos tanto citoprotectores como citotóxicos, según la dosis y el contexto [62, 63].

En México, la prolífica gobernadora forma parte de la vegetación predominante en zonas áridas y semiáridas. Se puede encontrar en los estados: Baja California, Baja California Sur, Coahuila, Chihuahua, Durango, Guanajuato, Hidalgo, Nuevo León, Querétaro, San Luis Potosí, Sinaloa, Sonora, Tamaulipas y Zacatecas. Se encuentra regulada bajo la norma oficial mexicana NOM-007-SEMARNAT-1997, la cual establece los procedimientos, criterios y especificaciones para realizar el aprovechamiento, transporte y almacenamiento de ramas, hojas o pencas, flores, frutos y semillas.

## 2.5 La nanotecnología en el tratamiento de agua

El tratamiento y purificación del agua se lleva a cabo mediante diferentes procesos físicos, químicos y biológicos. Las tecnologías convencionales de tratamiento de agua se han combinado con la nanotecnología, aprovechando características de los nanomateriales como la selectividad, estabilidad térmica, durabilidad y reactividad de superficie. A su vez, han surgido interesantes avances en tratamientos alternativos de agua aplicando las propiedades de los nanomateriales (Figura 8) [64-66].



**Figura 8.** Aplicaciones de las nanopartículas para el tratamiento y purificación del agua.

Dentro de la combinación de tratamientos convencionales y la nanotecnología, el uso de nanopartículas o material nanoestructurado impulsó la nanofiltración, la adición de nanomateriales para la mejora de la osmosis inversa y la mejora de propiedades de selectividad y resistencia a membranas permeables [67, 68]. Por ejemplo, el tratamiento convencional para la desalinización se lleva a cabo mediante evaporación y condensación, haciendo uso de calor y presión; o bien, con un mantenimiento químico, mecánico y/o eléctrico de membranas. Actualmente se ha demostrado que las membranas de nano fibras eliminan la sal con un menor

consumo energético, a un mayor flujo y a una menor presión operativa que los métodos convencionales [67-69].

Algunos de los tratamientos avanzados impulsados por los nanomateriales son: los sistemas electroquímicos, en donde la descomposición de contaminantes conlleva una posible obtención de energía, los nanosensores para detectar la contaminación con patógenos o compuestos específicos (promoviendo la desinfección y la reutilización segura de aguas residuales). Las nanopartículas metálicas con Au, Ag, Pt, Rh y Pd han resultado prometedoras en la remoción de contaminantes y en la purificación de agua debido a sus propiedades biocidas contra distintos microorganismos patógenos [23, 24].

Adicionalmente, los nanocatalizadores se han empleado en la degradación de contaminantes orgánicos persistentes; tales como tintes, detergentes, plaguicidas y compuestos halogenados. Mientras que los nano adsorbentes y/o absorbentes son útiles en la remoción de metales pesados, contaminantes orgánicos e inorgánicos [67, 68]. Tanto los nanocatalizadores como los nano adsorbentes y/o absorbentes se han empleado en la degradación/remoción de colorantes como el azul de metileno [70].

## **2.6 Contaminación de agua por colorantes**

Se estima que alrededor de 100,000 Colorantes Orgánicos Sintéticos (COS) se encuentran disponibles para su comercialización en un volumen de producción anual global de más de 1,000,000 de toneladas [71, 72]. Los colorantes tienen una gran variedad de aplicaciones, son comúnmente empleados en las industrias textil, alimentaria, cosmética, peletera, procesadoras de plástico y madera. Algunos de estos colorantes se emplean como sustancias farmacológicamente activas en la medicina humana y veterinaria [73, 74]. Este uso extensivo de colorantes tiene excedentes que son vertidos en aguas residuales y cuerpos de agua, contaminando ecosistemas acuáticos y en consecuencia diseminándose en el medio ambiente.

La presencia de colorantes en cuerpos de agua afecta el equilibrio del ecosistema sedimentándose y acumulándose en el suelo y en la flora acuática. Su concentración llega a impedir la penetración de la luz solar, disminuyendo la fotosíntesis de la vegetación acuática y en consecuencia el oxígeno disuelto [75, 76]. Incluso se ha reportado absorción de colorantes en branquias y piel de peces; donde sufren biotransformaciones. Por ejemplo, cuando un pez



bioacumula colorantes azoicos y estos se encuentran en presencia de enzimas como las azoreductasas se descomponen en aminas aromáticas, en donde algunas aminas subproductos de la descomposición de los colorantes muestran potencial carcinogénico [77, 78]. Así mismo, algunos colorantes tienden a bioacumularse en el tejido graso de la fauna acuática por lo que se consideran sustancias tóxicas bioacumulativas persistentes [78, 79], que siguiendo la cadena trófica pueden llegar hasta los últimos consumidores [78, 80].

Los desechos producidos por asentamientos humanos y la actividad industrial contaminan cuerpos de agua; el agua residual de estas fuentes de contaminación se expulsa sin tratamiento alguno directamente al medio ambiente o después de ser tratada únicamente por un tratamiento primario. Esta situación ocurre en diversos países en desarrollo, se estima que en América Latina y el Caribe solo el 20% del agua residual municipal es tratada [81, 82]. En México, durante el año 2017 se trató solo el 63% de agua residual recolectada del alcantarillado (Estadísticas del Agua en México 2018).

Los COS son compuestos xenobióticos generalmente recalcitrantes. Por lo general están diseñados para presentar estabilidad ante factores físicos como la luz, cambios de temperatura y la presencia de agentes químicos como detergentes. Algunos de estos colorantes son de lenta biodegradación o no biodegradables. La mayoría de las plantas de tratamiento de aguas residuales convencionales no cuentan con la tecnología para degradar los colorantes sintéticos orgánicos (COS). Por lo tanto, estas son consideradas fuente indirecta de contaminantes [83, 84]. Por consiguiente, es importante la investigación y desarrollo de métodos de tratamiento de colorantes en aguas residuales y cuerpos de agua.

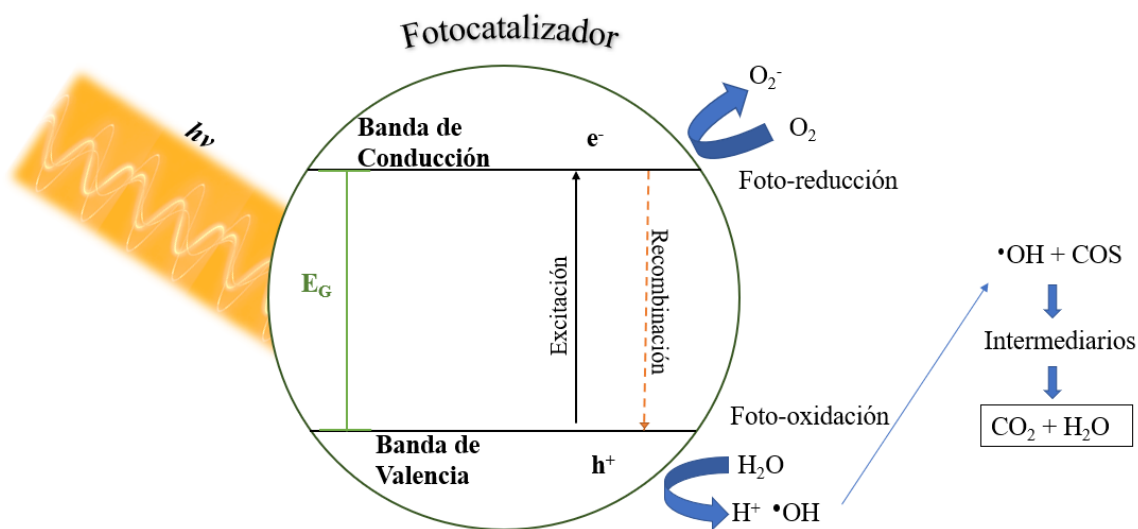
Para lograr la eliminación de COS de aguas residuales se han empleado métodos convencionales en plantas de tratamiento de agua residual como la coagulación-floculación y tratamientos biológicos con lodos activados. Sin embargo, las dos alternativas antes mencionadas han resultado ineficientes. La primera no es efectiva para los constituyentes coloidales y disueltos, mientras que la segunda requiere de la inoculación de cepas específicas para la remoción del colorante deseado. Las mezclas de colorantes presentes en el agua residual no son constantes, por lo cual, los resultados de remoción son diversos y complejos [82-84]. Métodos como la filtración y el uso de membranas pueden ser efectivos en la remoción de COS; aun así, los

prolongados tiempos de operación repercuten en los costos operativos elevados y pueden generar contaminantes secundarios tóxicos [2].

### **2.7 Fotocatálisis heterogénea para el tratamiento de agua**

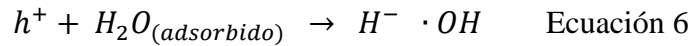
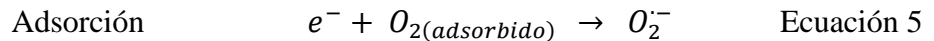
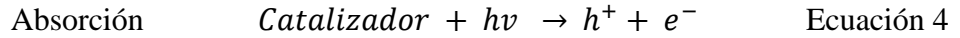
Los Procesos de Oxidación Avanzada (POAs) son un conjunto de métodos fisicoquímicos que comprenden la formación in situ de radicales libres, principalmente el radical hidroxilo ( $\cdot OH$ ). Estas especies son capaces de producir cambios en la estructura química de contaminantes, así como llevar a cabo una desinfección por inactivación de patógenos [2]. La fotocatalisis heterogénea es un proceso fotoquímico prometedor para la eliminación de COS en agua. La fotocatalisis se define como la activación para acelerar una fotorreacción mediante la presencia de un catalizador.

La reacción fotocatalítica ocurre cuando un catalizador semiconductor sólido es irradiado directa o indirectamente con luz de energía  $h\nu$  igual o superior a la energía de la banda prohibida ( $E_G$ ) del catalizador (Figura 9) conocida en inglés como *bandgap* ( $h\nu \geq E_G$ ). La excitación electrónica por absorción (Ecuación 4) promueve la generación de electrones móviles, los cuales saltan de la banda de energía ocupada más alta (Banda de Valencia o BV) a la banda de energía ocupada más baja (Banda de Conducción o BC) generando dos portadores de carga: electrones en la BC y un vacío positivo llamado hueco en la BV. Esto es un fenómeno conocido como par de electrón-hueco ( $e^-$  y  $h^+$ ), dicho fenómeno conduce también a la disipación de energía de entrada como calor [2].

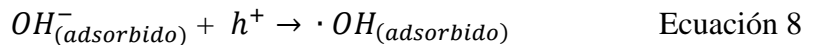
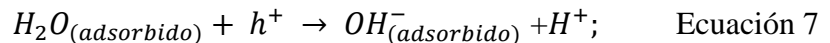


**Figura 9.** Mecanismo general de las reacciones fotocatalíticas en medio acuoso. Los Compuestos Orgánicos Sintéticos (COS) pueden mineralizarse.

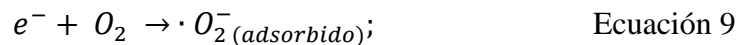
La fotorreacción entre la luz y el fotocatalizador en presencia de la fase fluida (agua para el presente trabajo) exhibe una adsorción espontánea. En donde, de acuerdo con la energía del adsorbato, existe una transferencia de electrones hacia las moléculasceptoras y un fotohueco positivo es transferido a una molécula donadora (ocurre la cesión de un electrón por parte del donador al fotocatalizador). Los productos de la reacción se desorben de la superficie y regresan a la fase fluida (Ecuaciones 5 y 6). La carga de la irradiación será trasladada por los pares de electrón-hueco y las especies adsorbidas (reactivos) en la superficie del fotocatalizador [2]. No hay un proceso fotoquímico en la fase adsorbida sino un verdadero régimen fotocatalítico.



El fotohueco positivo ( $h^+$ ) y el electrón libre ( $e^-$ ) se recombinan o transitan en el catalizador. Los electrones pueden estar presentes en estado libre o ligado, cuando se encuentran en estado libre se mueven alrededor de la red cristalina formando cationes y aniones. Mientras que, en estado ligado los electrones se unen principalmente con iones de la red cristalina y participan en la formación de enlaces químicos. En cuanto al fotohueco positivo, tiende a reaccionar con agua o alguna sustancia orgánica, las sustancias orgánicas se adsorben y reaccionan de acuerdo con las Ecuaciones 7 y 8 respectivamente. Los radicales  $\cdot OH$  y  $\cdot O_2^-$  son Especies Reactivas de Oxígeno (EROs) con potencial de oxidación de 2.7 y -2.3 eV respectivamente, mientras que el potencial de oxidación de compuestos orgánicos varía de -1 a 2 eV. Por lo anterior, los compuestos orgánicos en contacto con ERO ganan o pierden electrones con rapidez [19, 85].



Los electrones pueden reaccionar con el oxígeno como se observa en las ecuaciones 9 y 10. Adicionalmente los iones peróxido pueden reaccionar con los protones y formar peróxido de hidrógeno (Ecuación 11) [19].



Los iones formados reaccionan hasta formar los intermediarios y productos finales. Estas reacciones se llevan a cabo a presión y temperatura ambiente y no se requiere uso de combustibles puesto que la energía necesaria es suministrada por la fuente de irradiación. La luz solar es una fuente de irradiación ecológicamente atractiva para aplicaciones fotocatalíticas, sin embargo, el espectro solar sólo proporciona del 3 al 5 % en el rango de luz UV ( $\lambda < 400$  nm)

[86]. La intensidad de la irradiación solar varía dependiendo de la estación del año y se ve afectada por diversos factores meteorológicos, por ello, suelen hacerse estudios empleando luz artificial UV en condiciones controladas.

La fotocatalisis heterogénea puede apoyarse de reductores químicos para transformar contaminantes tóxicos, la adición de ozono y peróxido de hidrógeno ha sido ampliamente reportada. El ozono es un eficiente bactericida y un poderoso oxidante aplicado en la purificación de agua, sin embargo, no es totalmente miscible en agua, acarreado inconvenientes por procesos de transferencia de masa debidos a la fase gaseosa, suelen emplearse para su operación mezcladores, difusores y diversos tipos de agitación. En contraposición, el peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ) es soluble en agua, es térmicamente estable, no presenta inconvenientes por transferencia de masa como el ozono, además es comercialmente accesible y su fotólisis puede tener un rendimiento cuántico cercano a la unidad ( $\phi_{OH} = 0.98$  a 254 nm) [19].

### **2.7.1 Potencial del cobre y óxidos de cobre como fotocatalizadores**

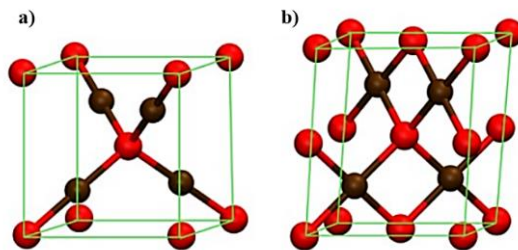
En la fotocatalisis heterogénea se ha empleado una gran variedad de nanomateriales, por ejemplo: metales, óxidos metálicos, semiconductores, nanoestructuras carbonosas, estructuras organometálicas y puntos cuánticos. Los óxidos de metales de transición como  $TiO_2$ ,  $CuO$ ,  $Cu_2O$ ,  $ZnO$ ,  $MnO$ ,  $SnO_2$ ,  $Fe_2O_3$ , etc., han mostrado propiedades físicas y químicas apropiadas para su uso como fotocatalizadores. El fotocatalizador más empleado y estudiado es el dióxido de titanio ( $TiO_2$ ), investigado inicialmente para llevar a cabo la descomposición del agua en el proceso de obtención de hidrógeno, se aplicó posteriormente en la degradación de colorantes en líquidos y gases.

Entre las ventajas del  $TiO_2$  se encuentran su alta estabilidad química y térmica, su naturaleza no tóxica y su fácil manejo. Como desventaja, solo funciona con radiación UV entre 250-350 nm debido a su ancho de banda prohibida (anatasa= 3.2 eV), en consecuencia, no se puede aprovechar eficientemente la irradiación solar. Con el objetivo de mejorar la actividad del  $TiO_2$  se ha combinado con diversos metales y óxidos metálicos, como el cobre y sus óxidos, estos últimos muestran una banda prohibida de alrededor de 2.0 eV lo cual lo vuelve atractivo para su uso como fotocatalizador [19, 87]. Adicionalmente, se realiza continuamente investigación

para el uso fotocatalizadores empleando materiales con bandas prohibidas más estrechas capaces de una absorción robusta de irradiación solar.

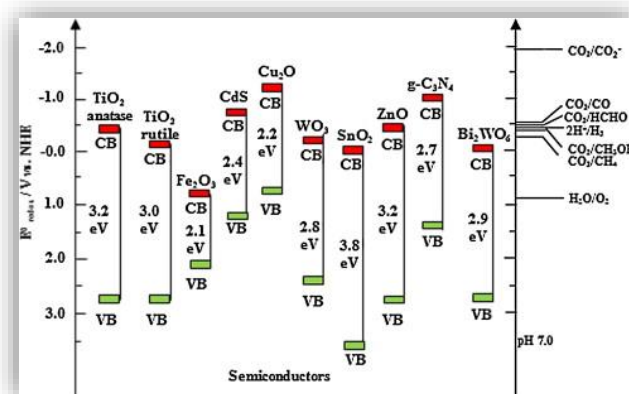
La estructura cristalina del cobre es cúbica centrada en las caras, al unirse con el oxígeno forma óxidos como: el óxido de cobre (I) u óxido cuproso ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ) y el óxido de cobre (II) u óxido cúprico ( $\text{CuO}$ ), principalmente. La cuprita es el óxido obtenido principalmente a baja presión y temperatura ( $\text{Cu}_2\text{O}$ ), por lo cual, es el óxido principal en condiciones ambientales.

En estado cristalino forma una red cúbica simple o dos sub-redes: cúbicas centradas en el cuerpo (fcc) y cúbico centrado en el cuerpo (bcc) de iones Cu y O, respectivamente. La celda unitaria de  $\text{Cu}_2\text{O}$  comprende cuatro átomos de Cu coordinados linealmente con dos átomos de O que ocupan los sitios intersticiales tetraédricos, como se ilustra en su modelo (Figura 10 a) [88]. Las morfologías más comunes del  $\text{Cu}_2\text{O}$  isotrópico son el cúbico, octaédrico y rombododecaédrico.



**Figura 10.** Modelo de una celda unitaria de (a) óxido cuproso  $\text{Cu}_2\text{O}$  y (b) óxido cúprico  $\text{CuO}$ . Las esferas rojas representan el oxígeno y las marrones representan el cobre [88].

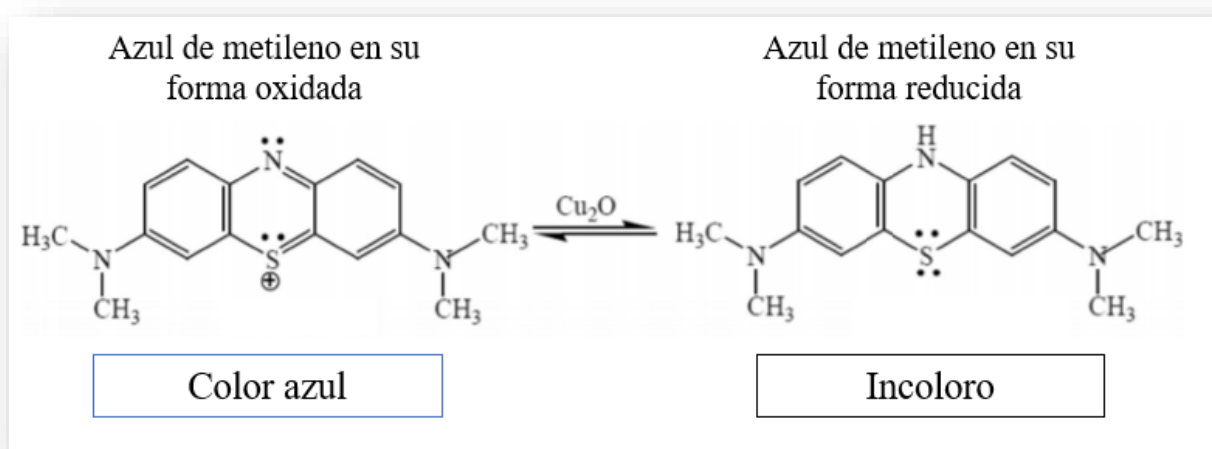
En el  $\text{Cu}_2\text{O}$  el cobre tiene un estado de oxidación  $\text{Cu}^{1+}$ . Asimismo, tiene propiedades de  $p$  y  $n$ , pero en estado natural su comportamiento es del tipo  $p$  semiconductor con una banda prohibida directa de 2.2 a 2.17 eV y una banda óptica de 2.62 eV [88]. Inclusive, su banda prohibida es estrecha en comparación con otros óxidos semiconductores como el  $\text{TiO}_2$  (Figura 11) lo cual permite la recolección de luz visible [89].



**Figura 11.** Banda prohibida de diversos fotocatalizadores con respecto al potencial redox de diferentes especies químicas ( $V$  vs  $NHE$  a  $pH$  7) [89].

La tenorita u óxido cúprico ( $\text{CuO}$ ) es un  $p$  semiconductor, abundante a mayor presión y temperatura que  $\text{Cu}_2\text{O}$  (Figura 10 a). Es la especie de óxido de cobre más estable, ha mostrado conductividad supertérmica y una elevada magnetorresistencia [90]. El cobre presente en  $\text{CuO}$  se encuentra en estado de oxidación  $\text{Cu}^{2+}$  y se caracteriza por tener una celda unitaria con simetría monoclinica conteniendo 4 dímeros de  $\text{CuO}$  (Figura 10 b). Adicionalmente, cada átomo de cobre se encuentra ubicado en el centro de un paralelogramo de oxígeno, a su vez, cada átomo de oxígeno tiene una coordinación de cobre tetraédrica distorsionada [88]. Experimentalmente la banda prohibida de  $\text{CuO}$  es de 1.2 a 2.0 eV y una banda óptica alrededor de los 2.0 eV [88, 91].

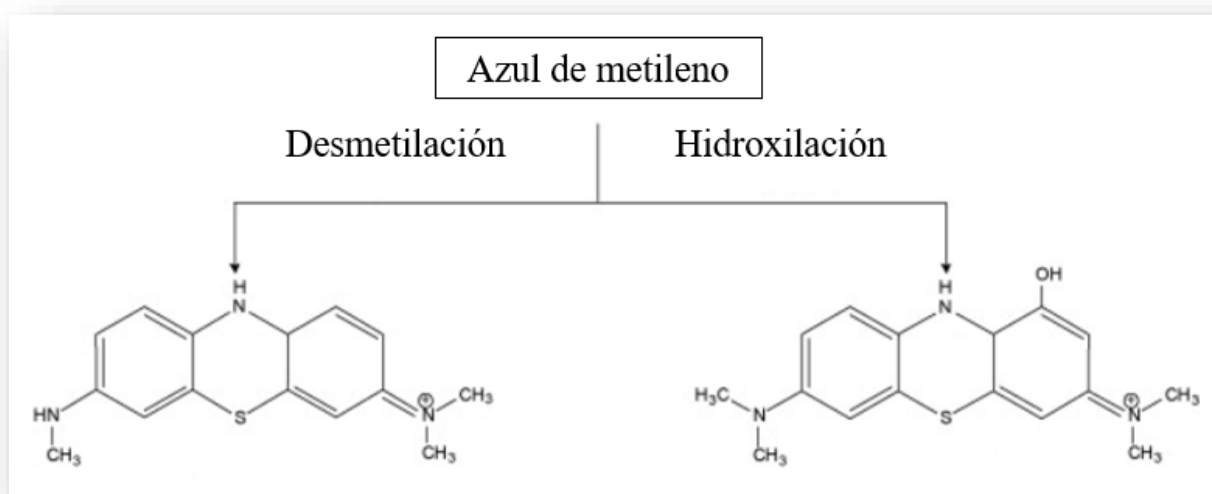
Por otra parte, las nanopartículas de cobre sintetizadas mediante extractos de plantas son una alternativa ecológica para la obtención de fotocatalizadores. Se desconoce el mecanismo de reacción exacto por el cual las NPs biogénicas de cobre y sus óxidos remueven y/o degradan colorantes. Sin embargo, se sabe que inicialmente el azul de metileno (AM) en solución acuosa se aprecia en su estado oxidado. Al adicionar nanopartículas de  $\text{Cu}_2\text{O}$  biogénicas, el AM se transforma a su forma reducida incolora (Figura 12) [92]. Esto se atribuye a la adsorción de átomos de azufre cargados positivamente (del AM oxidado) en la superficie negativa de las NPs de  $\text{Cu}_2\text{O}$ .



**Figura 12.** Azul de metileno oxidado y reducido. Adaptado de [92].



El recubrimiento orgánico de las NPs biogénicas contiene grupos funcionales en la superficie, en donde los grupos carbonilo, hidroxilo y amino tienden a participar en la adsorción y deslocalización de electrones  $\pi$  de varios colorantes. La degradación del AM se puede deber al daño estructural por desmetilación parcial y la hidroxilación sucesiva del anillo aromático (Figura 13) [93, 94].

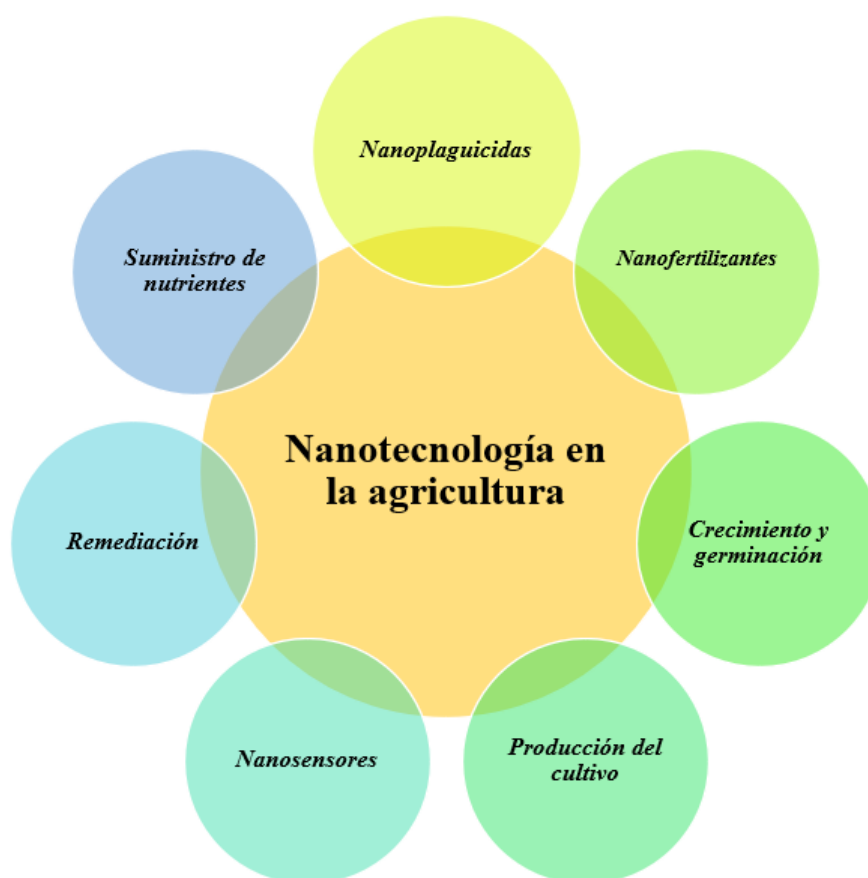


**Figura 13.** Intermediarios propuestos para la oxidación del Azul de Metileno. Adaptado de [94].

## 2.8 La nanotecnología en la agricultura

Para poder garantizar la seguridad alimentaria y el acceso a recursos agrícolas existen diversos aspectos agrícolas que se deben contemplar como desperdicio de cultivos por manejo, tiempo de vida del cultivo, degradación de la calidad del suelo y agua, así como las pérdidas de cultivos por plagas [95]. El uso del agua en la agricultura representa el 70% del total de extracciones directas de agua a nivel mundial, mientras que llega a superar el 90% en algunos países en desarrollo [96, 97]. El agua empleada en la agricultura se mezcla con agroquímicos de uso común como fertilizantes y pesticidas, los cuales, se filtran a través del suelo hasta los mantos acuíferos diseminando la contaminación. Dichos contaminantes se introducen al medio ambiente a través del suelo y el agua por la actividad agrícola [2].

Se espera que la nanotecnología repercuta en todos los aspectos de la vida, la nanotecnología está revolucionando la agricultura convencional, las aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura (Figura 14) pueden lograr su transición hacia una agricultura sostenible, pueden resolver o disminuir inconvenientes asociados con la calidad de los cultivos, disminuir o eliminar el deterioro de la calidad del suelo y agua, así como prevenir y acabar con plagas [22]. Algunas de estas aplicaciones ya se están llevando a cabo actualmente, de manera comercial, en la gestión de la calidad de los productos agrícolas pre cosecha y post cosecha como nanosensores y fertilizantes. Mientras tanto, entre las áreas de investigación en desarrollo se encuentran: la fotocatalisis, biorremediación de plaguicidas resistentes, portadores a nanoescala, materiales nanobiosensores y nanoplaguicidas [98].



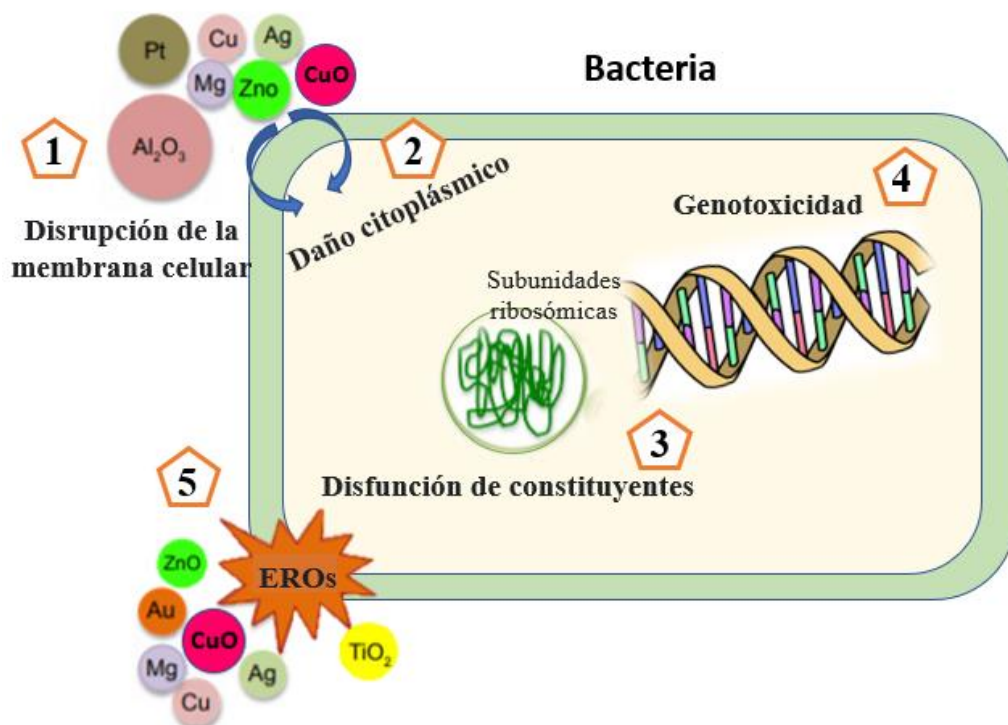
**Figura 14.** Aplicaciones de la nanotecnología en la agricultura.

Los nanoproductos para usos agrícolas desempeñan un papel esencial en la mejora del crecimiento de las plantas, la productividad de los cultivos y la calidad nutricional de los mismos

[22]. Las nanopartículas poseen características funcionales únicas capaces de modular la fisiología y vías bioquímicas en los sistemas vegetales como: la respiración, la fotosíntesis, el transporte de solutos, el metabolismo del nitrógeno y realizar diversas funciones en la membrana celular interactuando con la entrada y salida de micro/macronutrientes [95].

Para hacer frente a hongos, bacterias, virus y protozoos de interés fitopatógeno se han desarrollado diversos tipos de nanomateriales, en donde las nanopartículas metálicas y de óxidos metálicos han demostrado actividad antifúngica y antibacteriana [24, 98]. Entre las nanopartículas metálicas de importancia agrícola se encuentran metales como Au, Ag, Pt, Ti, Ni y Cu. La plata ha mostrado excelentes resultados antimicrobianos, sin embargo, la abundancia y accesibilidad económica del cobre en comparación con los metales antes mencionados lo convierten en un metal atractivo [22].

La actividad antibacteriana que manifiestan las nanopartículas metálicas y de óxidos metálicos se da a través de cinco mecanismos de acción: Los cuales se enlistan, describen y representan esquemáticamente en la Figura 15 [99-101].



*Figura 15. Mecanismos de acción de nanomateriales metálicos.*

*Adaptado de [100].*

- 1) *Daño en la pared y membrana celular de las bacterias por interacción electrostática y acumulación.* La atracción electrostática entre grupos electronegativos de los polisacáridos de la membrana bacteriana y los cationes metálicos conducen a la acumulación en la superficie de la bacteria alterando su estructura y permeabilidad. Factores como los poros a escala nanométrica de la membrana bacteriana y la lisis celular generada por la acumulación facilitan la internalización de las nanopartículas.
- 2) *Daño a nivel citoplasmático.* La internalización en el espacio periplásmico de las nanopartículas inhibe cadenas de transporte celular y provoca un cambio en el pH citoplasmático, lo que resulta en un desequilibrio homeostático.
- 3) *Disfunción de constituyentes celulares.* Las nanopartículas desnaturalizan subunidades ribosómicas, reacción con grupos sulfhidrilo en enzimas y otros constituyentes celulares provocando la incapacidad de realizar sus funciones dentro de la célula.
- 4) *Genotoxicidad.* El ADN genómico y plasmídico es alterado durante su proceso de replicación inhibiendo la división celular y degradando el ADN.
- 5) *Especies reactivas de oxígeno (EROs).* Las distintas EROs generadas por las nanopartículas en el exterior de la célula bacteriana dañan la membrana celular a través de la peroxidación lipídica y las EROs generadas al interior del citoplasma ocasionan estrés oxidativo. Los daños mencionados por todos los mecanismos anteriores (1-4) pueden ser causados de manera conjunta por EROs y las nanopartículas metálicas.

Los mecanismos de la actividad antifúngica no se han dilucidado. Se considera que se asemejan a los mecanismos antibacterianos, salvo que la pared celular de los hongos es muchos más difícil de penetrar que la bacteriana. Mientras que la respiración bacteriana se puede ver afectada por el bloqueo de nanopartículas en la membrana celular, la respiración de la células eucariotas de los hongos se lleva a cabo a través de la membrana mitocondrial [26].

El cobre es un oligoelemento importante para todos los seres vivos y está involucrado en diversas actividades biológicas; por ejemplo, es cofactor de enzimas y portador de electrones en la cadena transportadora de electrones. Se ha demostrado que el cobre posee propiedades antimicrobianas per se, siendo uno de los primeros fungicidas orgánicos reportados para el tratamiento de enfermedades en plantas (1953) [102].

La EPA ha reconocido al cobre como el primer material sólido antimicrobiano [103]. No obstante, presentan inconvenientes de estabilidad, son susceptibles a la agregación y tienden a oxidarse con facilidad. Los métodos de síntesis verde de nanopartículas como el uso de extractos a base de plantas representan una alternativa para la mitigación de estos problemas de una manera ecológica y rentable [104, 105].

Es importante tomar en cuenta que, si bien se espera que las nanopartículas sean empleadas como plaguicidas de bacterias fitopatógenas, también se debe contemplar su actividad biocida ante bacterias benéficas para los cultivos.

## **2.9 Microorganismos fitopatógenos**

Entre los microorganismos patógenos que afectan la salud de las plantas, se encuentran bacterias del género *Erwinia* y *Pseudomonas*. Por ejemplo, la bacteria *Erwinia caratova* afecta hojas, tallos, flores y frutos de cultivos de interés como la zanahoria, pera, aguacate, papaya y tomate [106]. Dentro del género de *Pseudomonas*, la *Pseudomonas costantinii* es responsable de la enfermedad que causa la mancha marrón en hongos [107]. Sin embargo, también en este mismo género se encuentran bacterias benéficas para las plantas, la *Pseudomonas fluorescens*. Esta última bacteria promueve el crecimiento mediante la síntesis de hormonas, y sintetiza compuestos inhibidores de hongos fitopatógenos [108].

Existe poca información de actividad antibacteriana por nanopartículas biosintetizadas, se ha reportado actividad antimicrobiana contra *E. amylovora* empleando NPs de plata y óxido de cobre biosintetizadas a partir de extractos vegetales y del hongo *Penicillium chrysogenum* respectivamente [109, 110]. Para inhibir *P. fluorescens* se han empleado nanopartículas de hierro y óxido de cobre, estas últimas sintetizadas a partir de *Aloe vera* [111, 112]. No se encontraron reportes sobre la actividad antibacteriana contra *P. costantinii*.

Entre los hongos fitopatógenos se encuentran hongos del género *Fusarium* que afectan diferentes cultivos como la soja, alfalfa, chícharo o al árbol de olivo (*Olea europaea*). Los síntomas que se manifiestan en las plantas son: la descomposición cortical, putrefacción de raíces, amarillamiento y marchitamiento de las hojas y, finalmente la muerte prematura de las plantas infectadas [113, 114]. Dentro de las especies que han ocasionado pérdidas de cultivos están: *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, y *F. euwallaceae*. Este último es simbionte del

escarabajo barrenador polífago (*Euwallaceae sp.*) y causa la enfermedad conocida como muerte regresiva del *Fusarium* o “*Fusarium dieback*” [115]. Las enfermedades por hongos simbioses de escarabajos ambrosiales han mermado la producción de aguacate en los Estados Unidos e Israel y enfermado arbustos del Parque Nacional de Circeo en Italia. Su presencia afecta a países como Sudáfrica, Portugal y fueron recientemente detectados en Baja California, México [116]. Por lo que representa una amenaza para la producción de aguacate en México.

Los métodos de control para prevenir la muerte regresiva de *Fusarium* implican el uso de plaguicidas sistémicos, los cuales tienen restricciones para el consumo y exportación de frutos como el aguacate. Por lo cual se ha recurrido a acciones profilácticas y métodos como la remoción total de los árboles infectados. Estas tres prácticas se vuelven rápidamente ineficaces para controlar la plaga debido a que se expanden constantemente y existen riesgos de que surjan cepas resistentes, lo cual plantea serias preocupaciones ecológicas y económicas [114, 117].

Una alternativa en desarrollo para hacer frente a estos hongos es el uso de nanopartículas, las propiedades antimicrobianas de las nanopartículas dependen principalmente del tamaño, la morfología y su composición química.

### 3. JUSTIFICACIÓN

En la búsqueda de métodos de síntesis cada vez más respetuosos con el medio ambiente, económicos y eficientes, se han desarrollado métodos de síntesis verde de nanopartículas metálicas mediante el uso de extractos de plantas los cuales, han mostrado ser métodos simples, rápidos, estables, rentables y de fácil escalabilidad [19]. El extracto es la fuente de reductores de iones metálicos, así como de un revestimiento orgánico el cual puede mitigar inconvenientes de estabilidad y oxidación [118] favoreciendo su uso como fotocatalizador y adsorbente en la remediación de agua. El uso de nanopartículas biogénicas ha mostrado una efectividad comparable o superior a los pesticidas convencionales y una toxicidad menor en el medio ambiente debido al revestimiento orgánico que provee el material biológico durante su síntesis [22].

El cobre es un elemento asequible cuyas propiedades se han aprovechado para la obtención de catalizadores, así como materiales antimicrobianos [88, 102]. Las nanopartículas de cobre y sus óxidos muestran propiedades como elevada área superficial y bandas prohibidas estrechas (alrededor de 2.0 eV) las cuales permiten una amplia absorción de irradiación solar a comparación del  $\text{TiO}_2$  [88]. Por ello, las nanopartículas de cobre resultan atractivas como fotocatalizadores en la remediación de agua. Sin embargo, inconvenientes como la corrosión del cobre han limitado su uso [119]. Una de las estrategias para mitigar inconvenientes por corrosión es el recubrimiento de las nanopartículas metálicas [119].

Por otro lado, la resina producto de la adaptación de la planta *L. tridentata* a condiciones desérticas y como defensa bioquímica cuenta con una amplia diversidad fitoquímica llamativa para su uso como reductor y recubrimiento en la síntesis de nanopartículas metálicas. *L. tridentata* es una planta abundante en el territorio mexicano. Su distintiva adaptación ha logrado el aumento de su presencia, la cual ha sido considerada en algunos casos como plaga [120, 121]. El aprovechamiento adecuado de *L. tridentata* puede coadyuvar en el control de la planta sin representar un riesgo ambiental como lo es el uso de plaguicidas.

Actualmente, no se han realizado reportes acerca del uso de extracto de *L. tridentata* para la síntesis de nanopartículas metálicas, por consiguiente, la síntesis y caracterización de nanopartículas de cobre y óxidos de cobre mediante extracto de *Larea t.* brinda una contribución a la ciencia de bionanomateriales y deja abierta la posibilidad de sus diversas aplicaciones.

Por lo anterior, la síntesis verde de nanopartículas de cobre y óxidos de cobre a temperatura ambiente y empleando extracto acuoso de *L. tridentata* como materia prima renovable, resulta atractiva como método verde, así como el análisis de su potencial para la remediación de agua contaminada con colorantes y como material antimicrobiano.



#### 4. HIPÓTESIS

Los fitoquímicos presentes en el extracto acuoso de *L. tridentata* pueden mediar la síntesis de NPs de cobre y óxidos de cobre además de proporcionarles un recubrimiento. El recubrimiento le dará estabilidad a las NPs para su uso en la remediación de agua contaminada con tinte y aumentará su efecto antimicrobiano.

#### 5. OBJETIVOS

##### Objetivo general

Sintetizar y caracterizar nanopartículas de Cu y CuO/Cu<sub>2</sub>O mediadas por extracto acuoso de *L. tridentata* para evaluar su potencial en el tratamiento de agua y control de microorganismos fitopatógenos mediante la degradación de azul de metileno y cultivos in vitro.

##### Objetivos particulares:

- Sintetizar y caracterizar nanopartículas de Cu y CuO/Cu<sub>2</sub>O mediadas por extracto acuoso de *L. tridentata* para conocer sus propiedades.
- Evaluar el potencial de las nanopartículas de Cu y CuO/Cu<sub>2</sub>O para la degradación del colorante azul de metileno en agua bajo condiciones de oscuridad, en presencia de irradiación UV e irradiación solar.
- Evaluar el potencial antibacteriano de las nanopartículas para inhibir a *Erwinia sp*, *Pseudomonas costantinii* y *Pseudomonas fluorescens*. mediante cultivos in vitro.
- Evaluar el potencial antifúngico de las nanopartículas para inhibir a *Fusarium euwallaceae*, *Fusarium solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium oxysporum* mediante la técnica de crecimiento micelial radial.

## 6. METODOLOGÍA

### 6.1 Obtención del material vegetal

*L. tridentata* silvestre fue muestreada en las instalaciones del Cinvestav-Saltillo durante el mes de octubre de 2019 en la siguiente ubicación: 25 ° 33' 48.6'' latitud norte y 100 ° 56' 20.2'' longitud oeste, a una altura de 1,380 msnm en Ramos Arizpe, Coahuila. El follaje se muestreó según el protocolo establecido por Cornelissen y colaboradores [122]. El material biológico se trasladó al laboratorio en donde se separaron las hojas frescas, posteriormente, estas fueron lavadas con agua corriente e inmediatamente con agua Mili-Q dos veces más, para remover restos de polvo e insectos. El material vegetal limpio se dejó secando a temperatura ambiente dentro del laboratorio durante un periodo de 10 días.

### 6.2 Preparación del extracto vegetal

Las hojas limpias y secas de *L. tridentata* se introdujeron por lotes en un molino planetario provisto de tarros de ágata durante 30 min para reducir su tamaño, el material obtenido se etiquetó como: polvo de *L. tridentata* (LT) y se reservó en un frasco de vidrio hasta su posterior uso. Después, se pesaron 5 g del material vegetal LT los cuales se colocaron en un vaso de precipitado de 200 mL. Posteriormente, se agregaron 100 mL de agua Mili-Q® y se calentó a 90 °C durante 30 min, una vez transcurrido el tiempo se procedió inmediatamente a filtrar al vacío empleando papel filtro Whatman® #1. El extracto obtenido se aforó a 100 mL con agua Mili-Q® y se etiquetó como (ELT).

### 6.3 Biosíntesis de nanopartículas de cobre

Para la síntesis de las NPs de cobre (LTCu) se emplearon 100 mL de extracto de *L. tridentata* (ELT) el cual, fue vertido en un vaso de precipitado y se mantuvo en agitación a temperatura ambiente mientras se añadió 1 g de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  [54]. La mezcla se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 8 h [53]. Pasado el tiempo, se dejó reposar por 2 horas. El precipitado se recolectó mediante filtración al vacío. Una vez recolectado el precipitado en el papel filtró se lavó 2 veces con agua Mili-Q® y se procedió a dejarlo secar dentro de un desecador durante diez días. A continuación, la pastilla seca se trituró en un mortero de ágata obteniendo así las NPs LTCu las cuales se reservaron hasta su posterior uso.

Para la síntesis de las NPs de óxido de cobre (LTCuO), se obtuvo inicialmente 100 mL de ELT y se vertió en un vaso de precipitado manteniendo el extracto en agitación a temperatura ambiente. Se agregaron 1 g de  $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  y 1.5 mL de una solución de NaOH 8M. Posteriormente se mantuvo en agitación a temperatura ambiente durante 8 h. Más tarde se dejó reposar por 2 horas. El precipitado se recolectó mediante filtración al vacío de la misma forma que LTCu. Una vez recolectado el precipitado en el papel filtró se lavó 2 veces con agua Milli-Q® y se procedió a dejarlo secar dentro de un desecador durante diez días. A continuación, la pastilla seca se trituró en un mortero de ágata obteniendo así las NPs LTCuO, las cuales se reservaron hasta su posterior uso.

#### **6.4 Caracterización del material biológico**

La identificación de los enlaces y grupos funcionales del material vegetal (LT) se realizó por Espectroscopía Infrarroja con Transformada de Fourier (FTIR) en un espectrómetro Perkin Elmer® modelo: Frontier, equipado con un ATR de punta de diamante, a  $4 \text{ cm}^{-1}$  de resolución, 20 scans en un intervalo de 500 a  $4000 \text{ cm}^{-1}$ .

#### **6.5 Caracterización de las NPs**

La identificación de los enlaces y grupos funcionales de las NPs LTCu y LTCuO se llevó a cabo por espectroscopía infrarroja como se describió para la caracterización del material biológico.

La identificación de la estructura de los materiales se evaluó mediante difracción de rayos X (DRX). Para ello se usó un difractómetro Empyrean Malvern® Panalytical a 40 kV y 30 mA con una radiación  $\text{Cu K}\alpha$  ( $\lambda=1.54184 \text{ \AA}$ ) en un intervalo angular de  $10\text{-}80^\circ(2\theta)$ . El análisis de patrones se realizó utilizando el software informático de procesamiento de patrones MDI® Jade junto con la base de datos ICDD® PDF-2 2002.

La morfología y la composición elemental de las NPs se caracterizó por Microscopía Electrónica de Barrido de Emisión de Campo (MEBEC). Para lo cual se usó el equipo Jeol® modelo 7800-F a un voltaje de aceleración de 2.0 – 5.0 kV. Adicionalmente, se hizo uso del microscopio electrónico de transmisión (TEM) FEI® modelo Talos 200. Para la observación en SEM las nanopartículas se colocaron sobre un soporte de aluminio recubierto con cinta de carbón. Mientras que por TEM se colocaron en rejillas de soporte Formvar/Carbon de Níquel.

El estado químico y la composición de los elementos presentes en LTCu y LTCuO se examinaron mediante análisis por espectroscopía de fotoelectrones emitidos por rayos X (XPS). Para ello se utilizó el equipo Thermo Scientific® K-Alpha+ XPS. Se empleó una fuente de rayos X monocromática de Al K $\alpha$  (1486.68 eV) y un radio de análisis de 400  $\mu$ m. Las condiciones de análisis para las regiones de alta resolución fueron de: energía de paso de 50 eV, dwell time de 50 ms, 90° de “take-off angle” c/paso de 0.1 eV. Para la región del Survey, se consideró una energía de paso de 150 eV y dwell time de 10 ms c/paso de 1 eV.

La determinación del tamaño promedio de las partículas se analizó mediante la técnica de dispersión dinámica de luz (DLS) en el equipo Malvern®, modelo: zetasizer nano series, en un intervalo de 0.1 – 10,000 nm. Se empleó agua como dispersante a 25 °C.

### **6.6 Degradación de AM por las NPs**

Se llevaron a cabo una serie de experimentos para evaluar la eficiencia de remediación de agua por LTCu y LTCuO mediante la degradación de azul de metileno. Para ello, las NPs fueron dispersadas en 100 mL de una solución (250 ppm de azul de metileno) en concentraciones finales de 120, 240 360 480 y 600 ppm y se mantuvieron en agitación magnética durante 150 min. Durante este tiempo se tomaron muestras de 1 mL cada 30 min hasta llegar a los 150 min. El muestreo inicial fue a los 30 s (0 min).

Cada muestra se centrifugó a 10,000 rpm durante 30 min en una centrífuga Hettich®, modelo: EBA21 para precipitar las NPs y proceder a la determinación de la concentración residual de azul de metileno del sobrenadante. Para lo cual se empleó un espectrofotómetro UV Hach® modelo DR 5000 a un intervalo de 400-800 nm.

Todos los experimentos se realizaron a temperatura ambiente. Las pruebas se efectuaron en condiciones de oscuridad, en irradiación de luz UV, irradiación de luz solar e irradiación de luz solar + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. La eficiencia de la degradación se evaluó mediante la Ecuación 12 a 665 nm.

$$\% \text{ Degradación} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \times 100 \quad \text{Ecuación 12.}$$

donde, A<sub>0</sub> es la absorbancia inicial de la solución de azul de metileno a 250 mg/L y A<sub>t</sub> es la absorbancia residual de la solución de azul de metileno al tiempo t.

La capacidad de adsorción  $Q_t$  (mg/g) por las NPs obtenidas se calculó mediante la Ecuación 13. En donde  $C_0$  y  $C_t$  son las concentraciones de AM inicial y en el tiempo  $t$  respectivamente (mg/L),  $V$  es el volumen de la solución (L) y  $m$  es la masa de NPs (g) [123, 124].

$$Q_t = \frac{(C_0 - C_t)V}{m} \quad \text{Ecuación 13.}$$

También se realizaron pruebas de reutilización de las NPs después del primer ciclo adsorptivo de azul de metileno (60 mg en condiciones de oscuridad), lo cual se realizó mediante centrifugación a 10,000 rpm durante 30 min. En seguida, las NPs se suspendieron en 15 mL de agua destilada mediante sonicación durante 30 min. La suspensión de las NPs se adicionó a 85 mL de solución de azul de metileno obteniendo un volumen final 100mL a 250 mg/L. Dicho proceso se repitió dos veces más para lograr tres ciclos.

### **6.7 Actividad antibacteriana de las NPs**

La evaluación de la actividad antimicrobiana de las NPs se realizó contra tres cepas bacterianas: *Erwinia sp*, *Pseudomonas costantinii* y *Pseudomonas fluorescens* proporcionadas por el Laboratorio de Control Biológico del el Instituto de Ecología A.C., Xalapa, México. El experimento se realizó incorporando diferentes concentraciones de las NPs LTCu y LTCuO (0, 0.1, 0.2, 0.3 0.4 y 0.5 mg/mL) en medio LB por triplicado. Luego, en el medio solidificado, se inoculó cada cepa empleando la técnica de difusión en placa con ayuda de un asa de Digrafsky. Posteriormente, se incubaron durante siete días a 37° C.

### **6.8 Actividad antifúngica de las NPs**

Para la evaluación antifúngica de las NPs se utilizaron cuatro cepas de hongos fitopatógenos en dos experimentos

El primer experimento se realizó haciendo uso de la cepa la cepa *Fusarium euwallaceae* proporcionada por el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria a través del Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria (SENASICA-CNRF). Debido a que el hongo *F. euwallaceae* es altamente patogénico y se encuentra en resguardo del SENASICA-CNRF, este experimento se llevó a cabo en las mismas instalaciones.

La eficiencia antifúngica de LTCu y LTCuO contra *Fusarium euwallaceae* se determinó mediante la inhibición del crecimiento micelial radial en medio agar papa y dextrosa (APD).

Para esto, diferentes concentraciones de las NPs 0.1, 0.2, 0.3, 0.4 y 0.5 mg/mL se incorporaron en el medio de cultivo APD. Adicionalmente se elaboró un control, es decir, medio sin la presencia de NPs.

Una vez solidificado el medio, la inoculación de las esporas [ $1 \times 10^6$  esporas/mL] de cada hongo se realizó por picadura en el centro de las cajas de Petri por triplicado. Posteriormente se incubaron durante 7 días a 26 °C, enseguida, se tomaron mediciones del crecimiento radial y se tomó la evidencia fotográfica correspondiente.

En el segundo experimento se realizó contra tres cepas de hongos proporcionadas por el Laboratorio de Control Biológico del Instituto de Ecología A.C., Xalapa, México (INECOL):

*Fusarium solani* (cepa INECOL\_BM-04).

*Colletotrichum gloeosporioides* (cepa INECOL\_CBF-185).

*Fusarium oxysporum* (cepa INECOL\_CBF-185).

La eficiencia antifúngica de LTCu y LTCuO contra *Colletotrichum gloeosporioides* y *Fusarium solani* se determinó mediante la inhibición del crecimiento micelial radial en medio agar papa y dextrosa (APD). Para esto, diferentes concentraciones de las NPs 0, 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 y 1.0 mg/mL se incorporaron en el medio de cultivo APD. Adicionalmente se elaboró un control, es decir, medio sin la presencia de NPs.

Una vez solidificado el medio, la inoculación de las esporas [ $1 \times 10^6$  esporas/mL] de cada hongo se realizó por picadura en el centro de las cajas de Petri por triplicado. Posteriormente se incubaron durante 7 días a 26 °C, enseguida, se tomaron mediciones del crecimiento radial y se registraron las medidas de crecimiento radial.

Adicionalmente la actividad antifúngica de LTCuO (nanopartícula más prometedora de acuerdo con los resultados) ante la cepa de *Fusarium oxysporum* se evaluó en las mismas condiciones. Se tomaron mediciones del crecimiento radial y se calculó el porcentaje de inhibición fúngica en base al porcentaje de inhibición del crecimiento radial (IRG) como se muestra en la Ecuación 14:

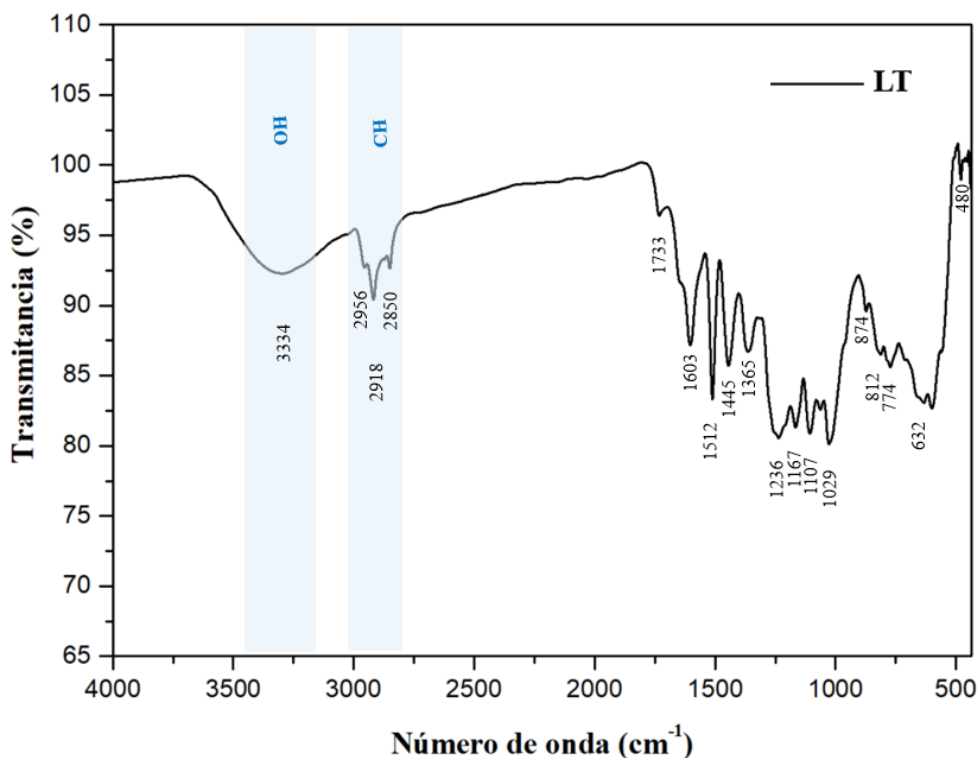
$$IRG(\%) = \left[ \frac{R1 - R2}{R1} \right] \times 100 \quad \text{Ecuación 14.}$$

donde  $R1$  es el crecimiento radial del control sin ningún antifúngico y  $R2$  es el crecimiento radial para cada tratamiento. Los datos del  $IRG$  se analizaron utilizando la desviación estándar media.

## 7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 7.1 Análisis por espectrometría infrarroja con transformada de Fourier (FTIR)

En la Figura 16 se muestra el espectro FTIR del material biológico (LT) con una banda de absorción de grupos hidroxilo a  $3334\text{ cm}^{-1}$ , la cual es propia de los compuestos fenólicos como los lignanos [125]. Así mismo, el hombro a los  $3024\text{ cm}^{-1}$  es característico del estiramiento -CH saturado. Mientras que la vibración de estiramiento asimétrico de  $-\text{CH}_3$  aparece a los  $2956\text{ cm}^{-1}$ , así como la vibración asimétrica y simétrica de  $-\text{CH}_2-$  a los  $2918$  y  $2850\text{ cm}^{-1}$  respectivamente los cuales pueden pertenecer a un anillo aromático y a compuestos fenólicos [126]. También se observa absorción por el grupo carbonilo asociado a un éster (representativo de las saponinas  $\text{C}=\text{O}$ ) a  $1733\text{ cm}^{-1}$  y los enlaces  $\text{C}=\text{C}$  característicos de dienos y trienos se muestran a  $1651$ - $1512\text{ cm}^{-1}$ . Entre los  $1445 - 1365\text{ cm}^{-1}$  aparecen las bandas de  $\text{C}-\text{C}-\text{O}$ ,  $\text{C}=\text{O}$  y  $-\text{CH}_2$  fuera del plano, este último característico del ANDG [127]. Las bandas se identifican en la Tabla 1.



**Figura 16.** Espectro FTIR de *L. tridentata* (LT).

Los fenoles muestran bandas de  $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ , de estiramiento  $\text{C}-\text{N}$  y de flexión de  $-\text{OH}$  de  $1000 - 1300$ , mientras que la vibración de los enlaces en oligosacáridos o saponinas ( $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ ) fueron

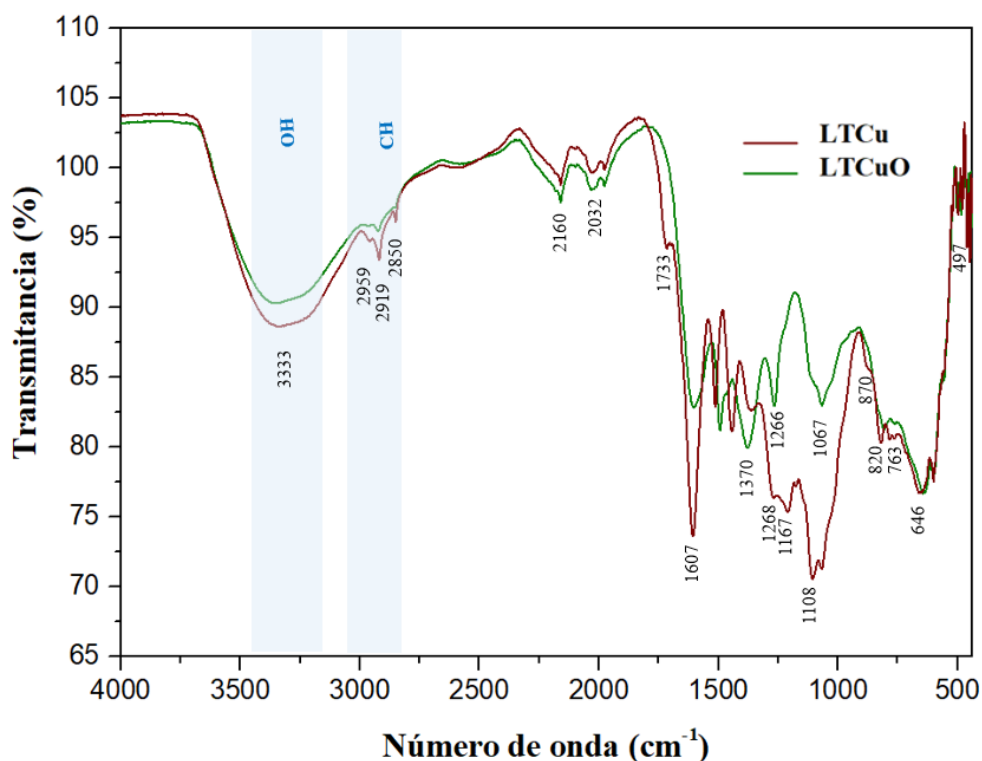


evidentes a los 1064 cm<sup>-1</sup> [125, 128]. Finalmente, en el rango de los 874 – 632 cm<sup>-1</sup> se encuentran las bandas de confirmación pertenecientes a los de grupos aromáticos y alifáticos, como la vibración de flexión del enlace C-H (812 cm<sup>-1</sup>) fuera del plano en los anillos aromáticos (característica de terpenoides), la vibración del enlace C-H disustituido en los (perteneciente a grupos aromáticos) a los 712 cm<sup>-1</sup> y la banda en 480 cm<sup>-1</sup> es característica del grupo CH<sub>3</sub> fuera del plano y CH<sub>2</sub> por deformación del anillo bencénico [127, 129]. Por lo anterior, se puede inferir la presencia de flavonoides como los taninos, también de lignanos, terpenoides y saponinas, así como señales representativas del ANDG en LT.

**Tabla 1.** Vibraciones IR presentes en el polvo de *L. tridentata* (LT).

Banda	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Transmitancia (%)	Tipo de vibración	Referencia
1	3334	92.4	Estiramiento O-H polimérico	[125]
2	2956	92.7	Estiramiento asimétrico -CH <sub>3</sub>	[126, 130]
3	2918	90.4	Estiramiento asimétrico -CH <sub>2</sub> -	[130, 131]
4	2850	92.6	Estiramiento simétrico -CH <sub>2</sub> -	[131, 132]
5	1733	96.4	Estiramiento C=O	[125, 126, 133]
6	1603	87.1	Estiramiento C=C y C=O	[126, 129, 131]
7	1512	83.3	Estiramiento N-O y C-C	[129]
8	1445	85.7	Estiramiento asimétrico C-C-O Flexión fuera del plano -CH <sub>2</sub> Confirmación CH <sub>2</sub> y CH <sub>3</sub>	[127, 130-132]
9	1365	86.7	Flexión C-H y Estiramiento C-O	[127, 130]
10	1236	80.5	Estiramiento C-N, C-O y C-OH fenólico	[128, 131]
11	1167	81.3	Flexión -OH	[127]
12	1107	80.8	Flexión -OH y C-O de alcoholes	[129, 131]
13	1029	80.1	Estiramiento C-O y C-O-C alifáticos y ligninas Estiramiento C-OH	[125, 129-131]
14	874	89.5	Estiramiento C=C Confirmación de C=O	[130, 134]
15	812	86.5	Flexión C-H	[129]
16	789	86.1	Estiramiento simétrico C-O y Flexión C=C-C	[127]
17	774	85.6	Flexión C-H	[127]
18	632	83.0	Flexión C=C-C	[127]
19	480	98.9	Balaceo -CH Flexión fuera del plano -CH	[127]

La Figura 17 muestra los espectros FTIR de las NPs sintetizadas. Se puede apreciar similitud en las características espectrales de las NPs obtenidas y el precursor biológico LT. Los espectros LT y LTCu son los más similares. LTCuO exhibe menor cantidad de señales y menor concentración de compuestos orgánicos como se puede observar en la Tabla 2. Las últimas bandas alrededor  $500 - 419 \text{ cm}^{-1}$  que aparecen en las NPs son reconocidas como vibraciones Cu-O [135-137].



**Figura 17.** Espectro FTIR de las nanopartículas LTCu y LTCuO.

En cuanto a LTCu y LT, las señales que cambian no solo de intensidad sino también de forma son las comprendidas entre  $1200 - 1000 \text{ cm}^{-1}$  en donde se encuentran ubicados los grupos C-O, C-OH y OH de alcoholes y fenoles [128, 129, 131]. Lo cual sugiere la interacción de estos grupos funcionales en la síntesis de las NPs. [138].

Por otro lado, en LTCuO se ve afectada la misma zona comprendida entre  $1200 - 1000 \text{ cm}^{-1}$  las cuales se reducen casi por completo dejando solo las señales a los  $1266 \text{ cm}^{-1}$  del grupo C-N y  $1067 \text{ cm}^{-1}$  que corresponden a los grupos C-O y C-O-C característicos de alifáticos y ligninas. Adicionalmente, desaparece la señal ubicada a los  $1733 \text{ cm}^{-1}$  de los grupos carbonilo C=O. Las

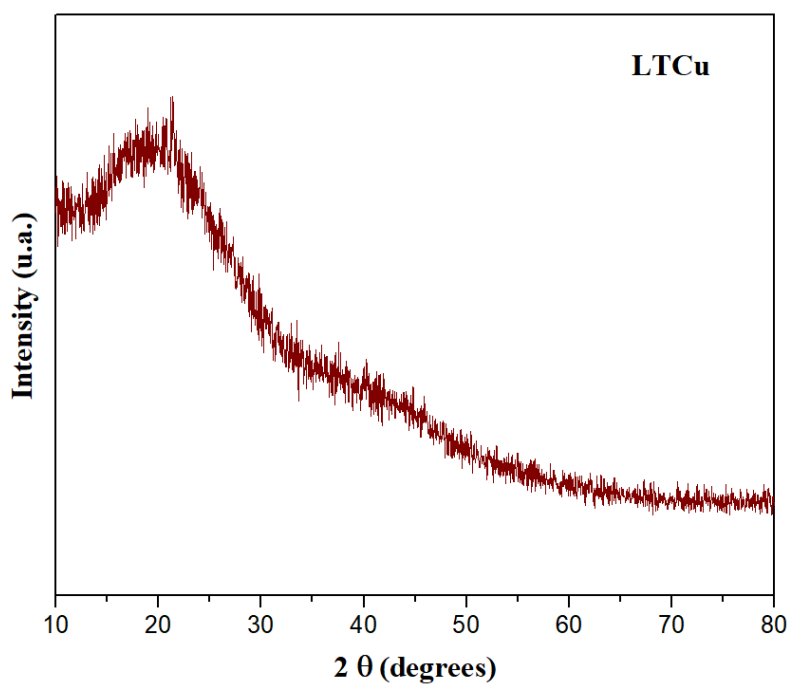
señales que se pierden de LT a LTCuO son las que representan a los grupos funcionales mayormente reportados para recubrimiento y reducción de NPs C=O y –OH.

**Tabla 2.** Vibraciones IR de las nanopartículas LTCu (vino) y LTCuO (verde).

	Número de onda (cm <sup>-1</sup> )	Transmitancia (%)		Tipo de vibración	Referencia
1	3333	88.6	90.3	Estiramiento -OH polimérico	[125]
2	2959	94.7	95.8	Estiramiento asimétrico -CH <sub>3</sub>	[126, 130]
3	2919	93.4	95.5	Estiramiento simétrico -CH <sub>2</sub> -	[130, 131]
4	2850	96.1	97.1	Estiramiento asimétrico -CH <sub>2</sub> -	[131, 132]
5	1715	94.2		Estiramiento C=O	[125, 126, 133]
6	1607	73.6	82.8	Estiramiento C=C y C=O	[126, 129]
7	1513	82.8		Estiramiento N-O y C-C	[129]
	1493		81.2		
8	1444	81.1		Estiramiento asimétrico C-C-O	[127, 130-132]
9	1365	86.7		Flexión C-H y Estiramiento C-O	[127, 130]
	1370		82.6		
10	1268	76.4		Estiramiento C-N	[128]
	1266		83		
11	1211	75.4		Flexión -OH y confirmación C-O	[128, 131]
12	1108	70.6		Flexión -OH y Balanceo C-O-H alcoholes	[127, 129, 131]
13	1067	83.0		Estiramiento C-O y C-O-C alifáticos y ligninas	[125, 129, 130]
14	820	80.3	81.2	Flexión C-H	[129]
15	782	80.5	81.6	Estiramiento simétrico C-O y Flexión C=C-C	[127]
16	763	80.6	81.6	Flexión C-H	[127]
17	646	76.6	76.7	Flexión C=C-C	[127, 139]
18	497	96.6		Balanceo -CH	[127, 135, 136]
	484		96.6	Flexión fuera del plano -CH	[137]
				Estiramiento Cu-O	
19	448	93.2		Estiramiento Cu-O	[135-137]
	438		95.2		
20	419	91.7		Estiramiento Cu-O	[135, 136]
	424		93.0		

## 7.2 Difracción de rayos X

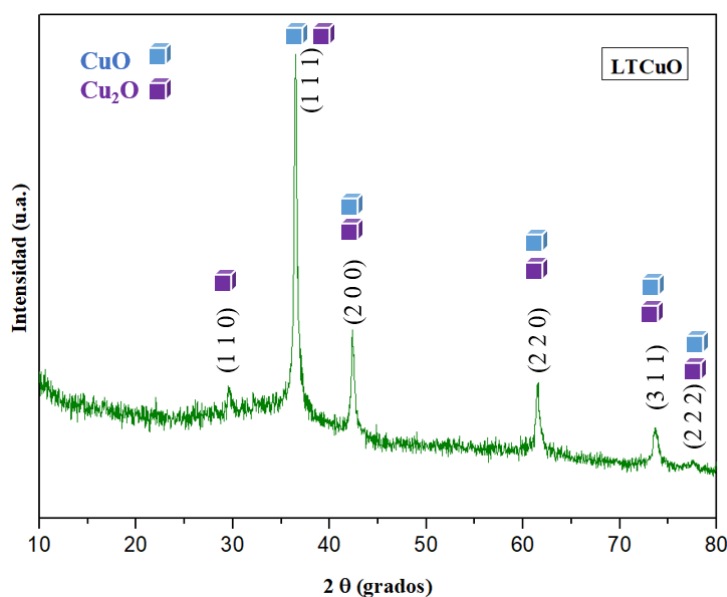
En la Figura 18 se muestra el difractograma de LTCu. Los materiales carbonosos muestran un halo amplio característico alrededor de los  $20^\circ$  [140-142]. No se aprecian fases cristalinas distintivas de cobre metálico. Sin embargo, LTCu muestra un difractograma que concuerda con diversas síntesis de NPs de Cu biosintetizadas a partir de extractos vegetales [143, 144].



*Figura 18. Patrón de difracción de las nanopartículas de cobre (LTCu).*

La naturaleza cristalina de LTCuO se muestra en la Figura 19. Los picos ubicados a los  $36.5^\circ$ ,  $42.3^\circ$ ,  $61.5^\circ$ ,  $73.7^\circ$  y  $77.6^\circ$  correspondientes a la fase principal. Dichas señales corresponden con reflexiones en los planos (111), (200), (220), (311) y (222) respectivamente de la carta JCPDS No. 78-0428. Las señales, son pertenecientes a la estructura cúbica del óxido de cobre (II) (CuO). Por otro lado, la señal a los  $29.5^\circ$  corresponde a el plano (110) perteneciente a la estructura cúbica del óxido de cobre (I) (Cu<sub>2</sub>O) de la carta JCPDS No. 05-0667 y muestra coincidencia con las señales a  $36.4^\circ$ ,  $42.3^\circ$ ,  $61.4^\circ$ ,  $73.5^\circ$  y  $77.4^\circ$  de los planos (110), (111), (200), (220), (311) y (222) [145].

El ruido en los difractogramas de LTCu y LTCuO se debe al recubrimiento orgánico en los materiales. La cristalinidad que solo se aprecia en LTCuO se atribuye a las condiciones alcalinas de pH en la reacción de síntesis al adicionar NaOH [25, 146].

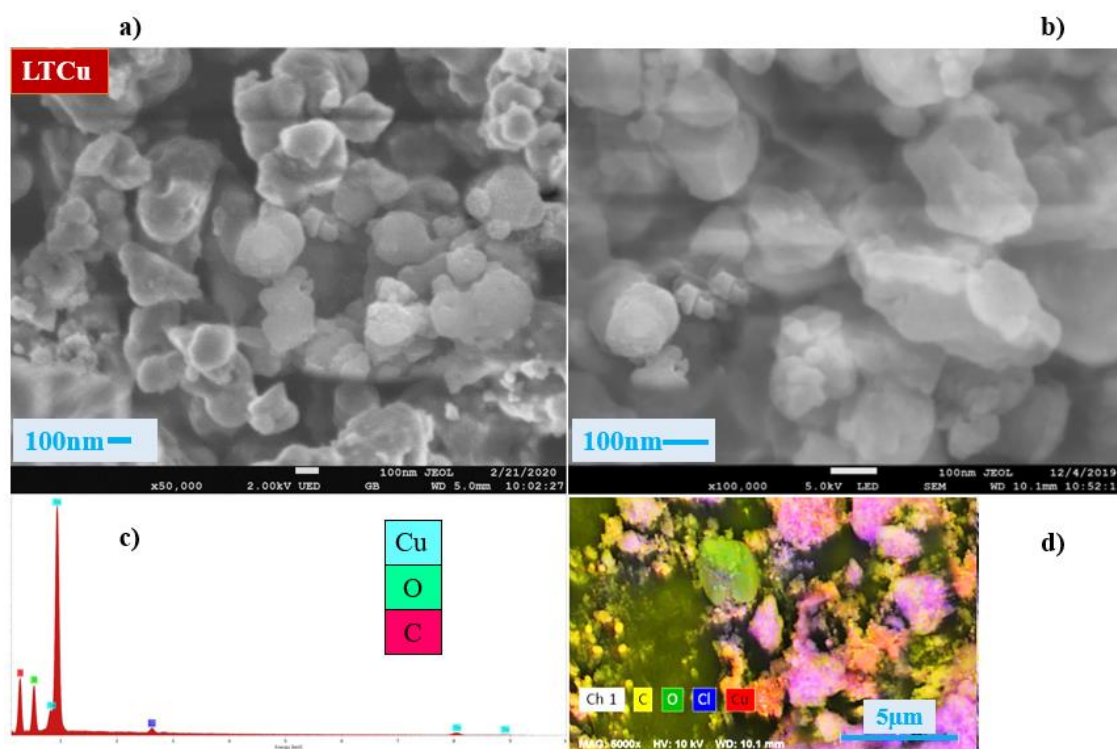


**Figura 19.** Patrón de difracción de las nanopartículas de óxido de cobre (LTCuO).

## 7.3 Análisis morfológico y elemental

### 7.3.1 Microscopía electrónica de barridos y EDS

La morfología de las NPs LTCu se muestra en las Figuras 20a y 20b en donde se pueden observar partículas con morfología cuasi-esférica, dispersas y aglomeradas. Existen nanopartículas, así como micropartículas debidas a la aglomeración. La aglomeración se puede deber a la propiedad intrínseca de energía superficial de las NPs, en tal caso, se denominan partículas secundarias (ISO / TS 80004-2). Sin embargo, la aglomeración de las NPs biogénicas empleando extractos de plantas puede deberse al efecto del tiempo de incubación en la reacción de síntesis [25].



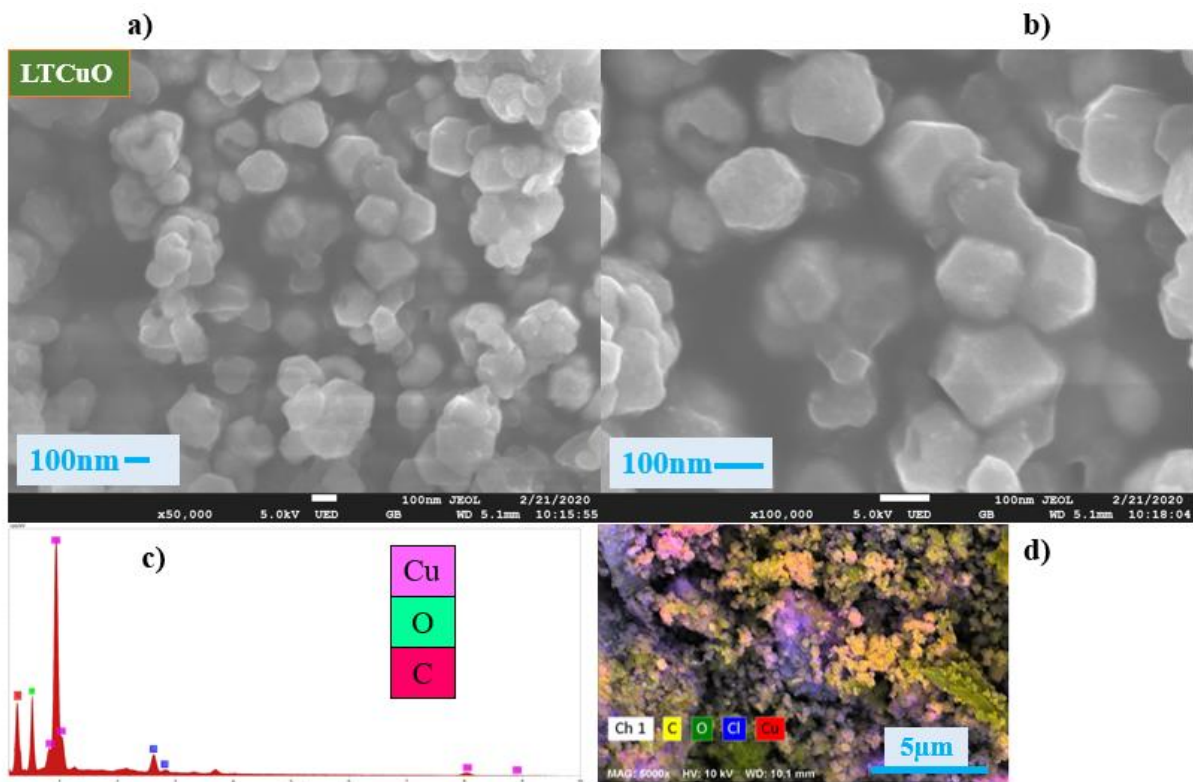
**Figura 20.** Micrografías de las nanopartículas de cobre (LTCu): a) 50,000x, b) 100,000x, c) Espectro SEM-EDS y d) Mapeo elemental EDS.

La morfología cuasi-esférica típica de las NPs de cobre mediadas por plantas puede ser atribuida a la concentración elevada del extracto en la reacción de síntesis [53, 147]. En las Figuras 20c y 20d, el análisis elemental puntual sugiere la presencia en un porcentaje en peso de 87.85 % y 12.15% de Cu y O respectivamente, esta proporción es cercana al  $\text{Cu}_2\text{O}$  (88.6 y 11.18 %

respectivamente). El pico de absorción óptica se encuentra alrededor de 1 y 8 keV, absorción típica de nanocrystalitos de óxidos de cobre [148, 149].

En las Figuras 21a y 21b se observan las micrografías de las NPs LTCuO, cuya morfología es más uniforme que las NPs LTCu (Figura 20 a-b ) con formas poliédricas dispersas y aglomeradas. En contraste con LTCu, las partículas de LTCuO se encuentran aglomeradas en menor medida.

Existen nanopartículas así como sus aglomerados. El análisis elemental EDS (Figuras 21c y 21d) sugiere la presencia de Cu y O en porcentaje en peso de 86.82 % y 13.18% respectivamente, los porcentajes en peso se encuentran entre las proporciones de Cu<sub>2</sub>O y CuO información acorde con el resultado obtenido por DRX [150]. El análisis puntual de LTCuO mostró porcentajes en peso más cercanos al CuO que LTCu. Tanto el análisis puntual como el mapeo elemental de LTCu y LTCuO muestran impurezas.

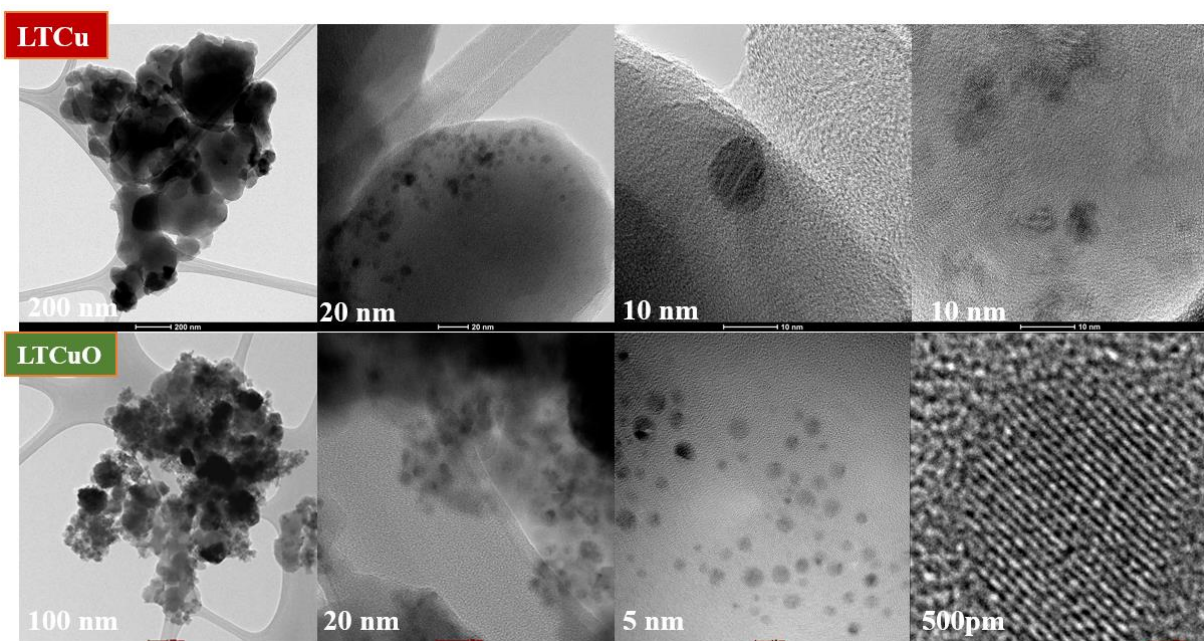


**Figura 21.** Micrografías de las nanopartículas de óxido de cobre (LTCuO): a) 50,000x, b) 100,000x, c) Espectro SEM-EDS y d) Mapeo elemental EDS.

### 7.3.2 Análisis TEM

En la parte superior de la Figura 22 se muestran las micrografías HRTEM de las partículas de LTCu. A 200 nm se observa una morfología cuasi-esférica aglomerada y de diversos tamaños, dicha información concuerda con los datos obtenidos mediante MEB. Sin embargo, esta técnica permite apreciar las NPs cuasi-esféricas con un tamaño alrededor de los 10 nm, así como la presencia de secciones cristalinas. Las NPs se encuentran concentradas en posiciones particulares que muestra su tendencia a agregarse, resultados conocidos por síntesis biológica y por métodos convencionales [151, 152].

Por otro lado, en la parte inferior de la Figura 22 la micrografía a 100 nm de LTCuO muestra formas poliédricas, irregulares y cuasi-esféricas dispersas y aglomeradas, de igual manera que los datos obtenidos por MEB. Adicionalmente muestra NPs en tamaños alrededor de 5 nm concentradas. En contraste con LTCu, LTCuO muestra una distribución con mayor uniformidad. Además, la micrografía a 500 pm muestra ordenamiento cristalino confirmando los datos obtenidos por el patrón de DRX.

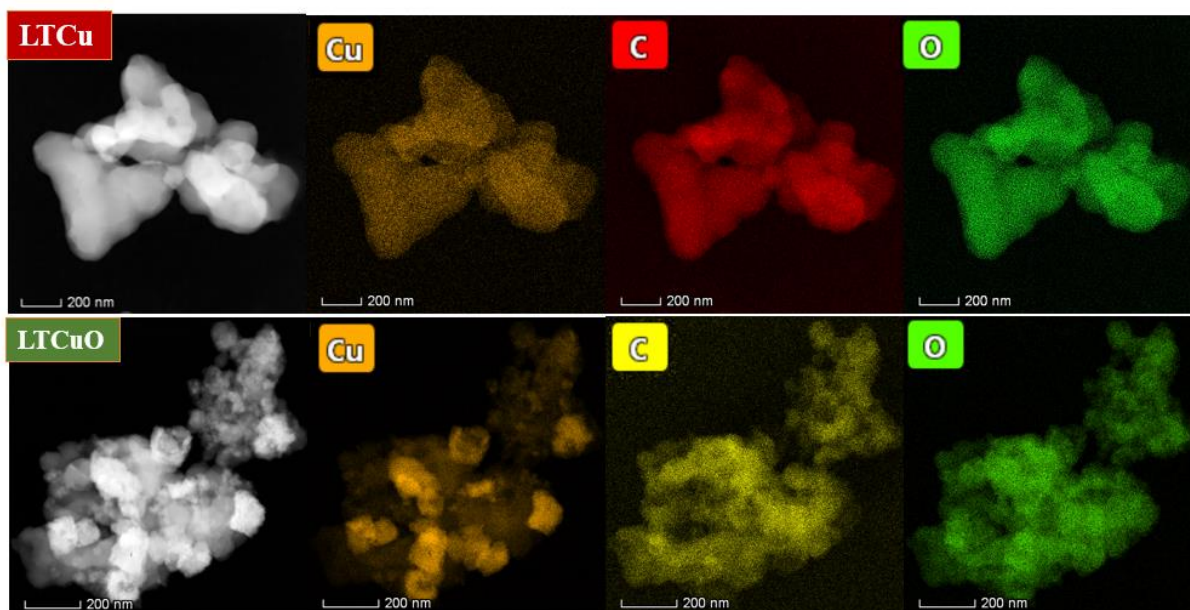


*Figura 22. Micrografías HRTEM de LTCu y LTCuO.*



El mapeo elemental del cobre, carbono y oxígeno se muestran en la Figura 23. En la parte superior las NPs LTCu muestra una dispersión uniforme de los tres elementos. En donde la presencia del cobre es menor a la del carbono y el oxígeno. Mientras que el oxígeno se aprecia en mayor proporción que el carbono.

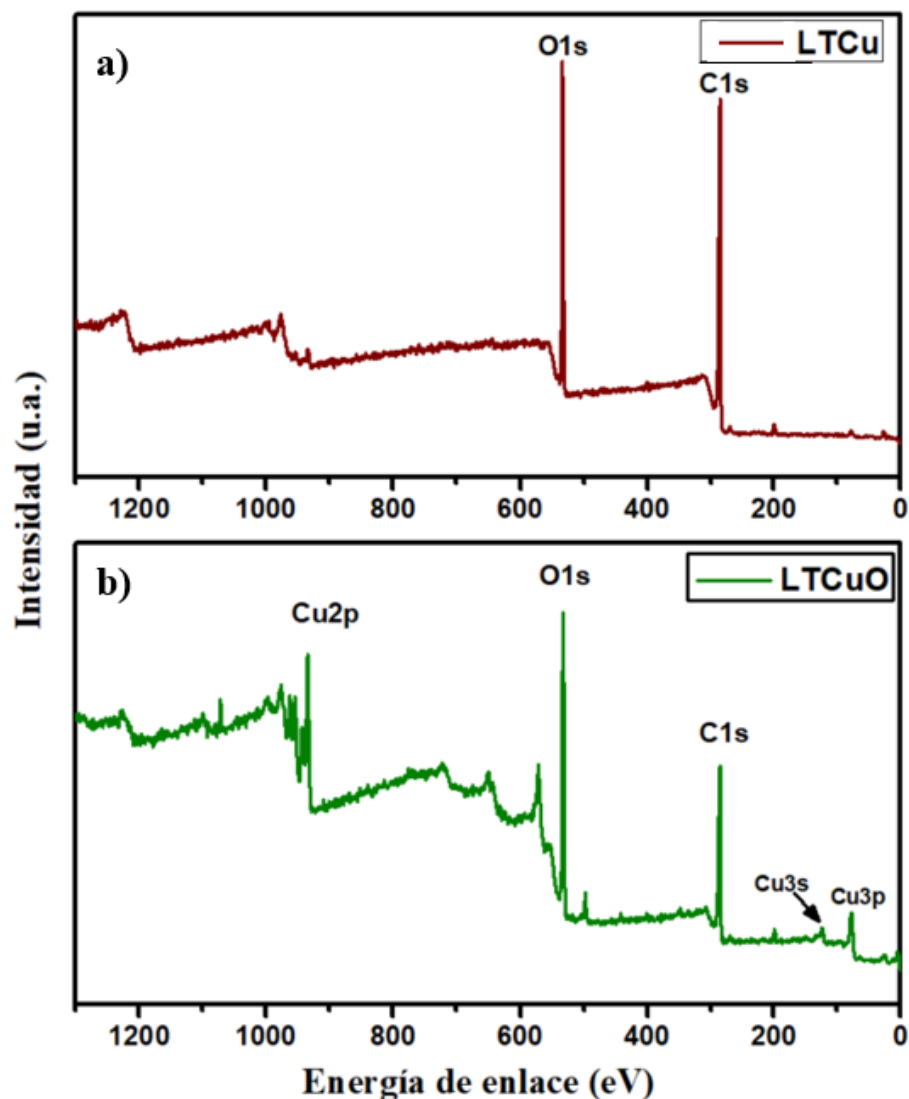
La parte inferior de la Figura 23 LTCuO muestra que el cobre se encuentra presente en toda su estructura. Además, su presencia está concentrada en algunas áreas y en mayor medida comparada con LTCu. El carbono y el oxígeno contenidos en LTCuO se aprecian con mayor homogeneidad. También el oxígeno se muestra en mayor proporción que el carbono. La abundante presencia de oxígeno en LTCuO confirma la oxidación del metal junto con los resultados obtenidos por FTIR DRX y EDS. Así mismo, el espectro FTIR, el mapeo elemental y el análisis puntual EDS de LTCu sugieren la presencia de cobre oxidado en LTCu.



*Figura 23. Mapeo elemental de LTCu y LTCuO.*

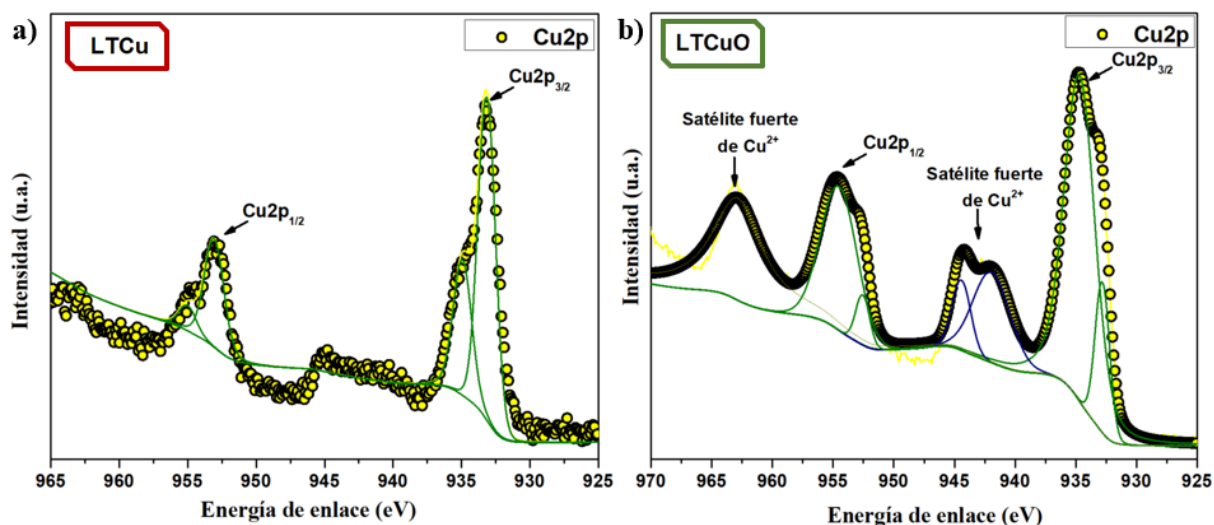
#### 7.4 Análisis por espectroscopía de fotoelectrones de rayos X

La Figura 24a-b muestran la composición química de la superficie de LTCu y LTCuO. En la Figura 24a se observa la presencia de O y C principalmente. Mientras que en la Figura 24b se aprecia la presencia de O, Cu y C principalmente, así como la presencia de impurezas. Estos resultados concuerdan con lo obtenido por EDS y FTIR, confirmando que la materia orgánica forma parte de la cobertura del material.



*Figura 24. Análisis XPS de LTCu y LTCuO a) Barrido general de LTCu y b) Barrido general de LTCuO.*

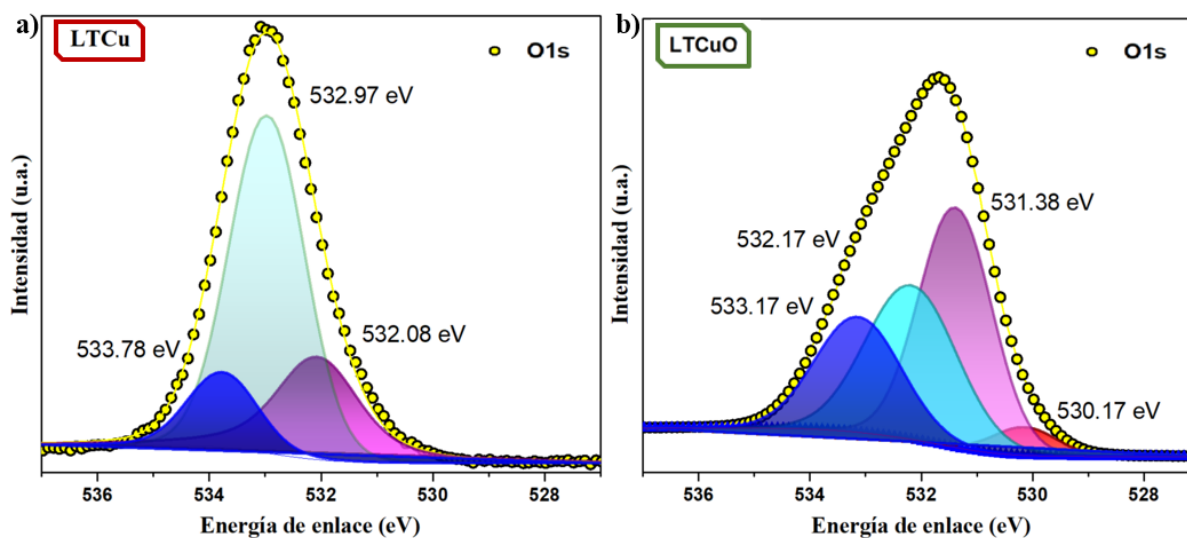
En la Figura 25a se observa que las NPs de LTCu exhibe una banda Cu2p con una energía de enlace de Cu  $2p_{3/2}$  y Cu  $2p_{1/2}$  que corresponde a 933.18 y 953.08 eV respectivamente (par de picos con mayor intensidad), aunado al satélite débil a los 943.08 eV son picos característicos del Cu<sub>2</sub>O. Mientras que los picos de menor intensidad a 934.48 (Cu  $2p_{3/2}$ ) y 954.68 (Cu  $2p_{1/2}$ ) eV se pueden atribuir a señales de CuO [153, 154]. El Cu y el Cu<sub>2</sub>O exhiben señales Cu $2p_{1/2}$  y Cu $2p_{3/2}$  con energías de enlace muy cercanas por lo cual no pueden diferenciarse.



**Figura 25.** Espectros XPS: a) Espectro Cu-2p XPS de LTCu y b) Espectro de Cu-2p XPS de LTCuO.

Por otro lado, LTCuO (Figura 25b) tiene un pico a los 934.7 eV en Cu  $2p_{3/2}$  y 954.5 eV en Cu  $2p_{1/2}$  así como los picos satélite fuertes característico del CuO (Cu<sup>2+</sup>) con una energía de enlace de 943 y 962.9 eV. [92]. También se encuentran los picos característicos de Cu/Cu<sub>2</sub>O de las bandas Cu  $2p_{3/2}$  Cu  $2p_{1/2}$  con una energía de enlace de 933.5 y 953.2 eV respectivamente. Estos resultados sugieren que CuO y Cu<sub>2</sub>O coexisten en la superficie de LTCuO concordando con los resultados obtenidos por DRX. La presencia de átomos y iones de Cu en la superficie de los materiales contribuyen a la reacción de degradación de colorantes y en la inhibición de microorganismos gracias a los sitios activos con el metal, la transferencia de electrones y la capacidad de generar especies reactivas de oxígeno.

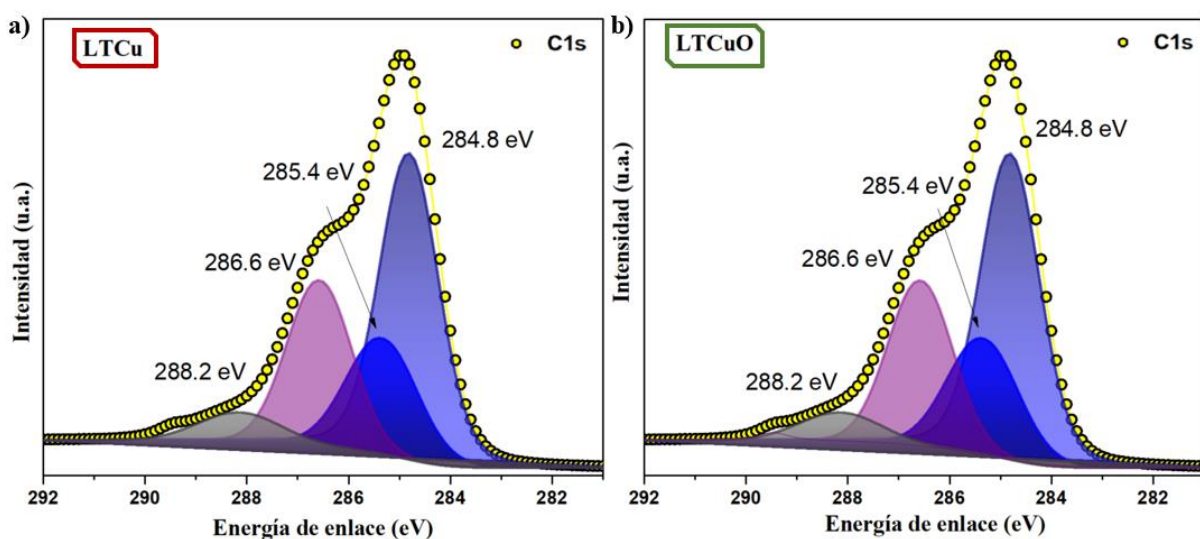
La deconvolución de la región de O1s de LTCu (Figura 26a) tiene un pico a 532.08 eV correspondiente a Cu<sub>2</sub>O y O-H [155, 156]. Mientras que los pico a 532.97 y 533.78 eV son energías de enlace de C=O y C-O respectivamente [157, 158].



**Figura 26.** Espectros XPS de O1s de a) LTCu y b) LTCuO.

La Figura 26b tiene un pico a los 530.17 eV característico de los enlaces metal-oxígeno y en este caso del enlace Cu-O de CuO y Cu<sub>2</sub>O, el pico a 531.38 eV se ha reportado en Cu<sub>2</sub>O y O-H [157, 159]. Mientras que los pico a 532.17 y 533.17 eV son energías de enlace de C=O y C-O respectivamente [158]. La presencia de grupos hidroxilo en la superficie de LTCu y LTCuO es deseable ya que son sitios activos para la generación de radicales, lo que conduce a una mayor actividad catalítica y antimicrobiana [160].

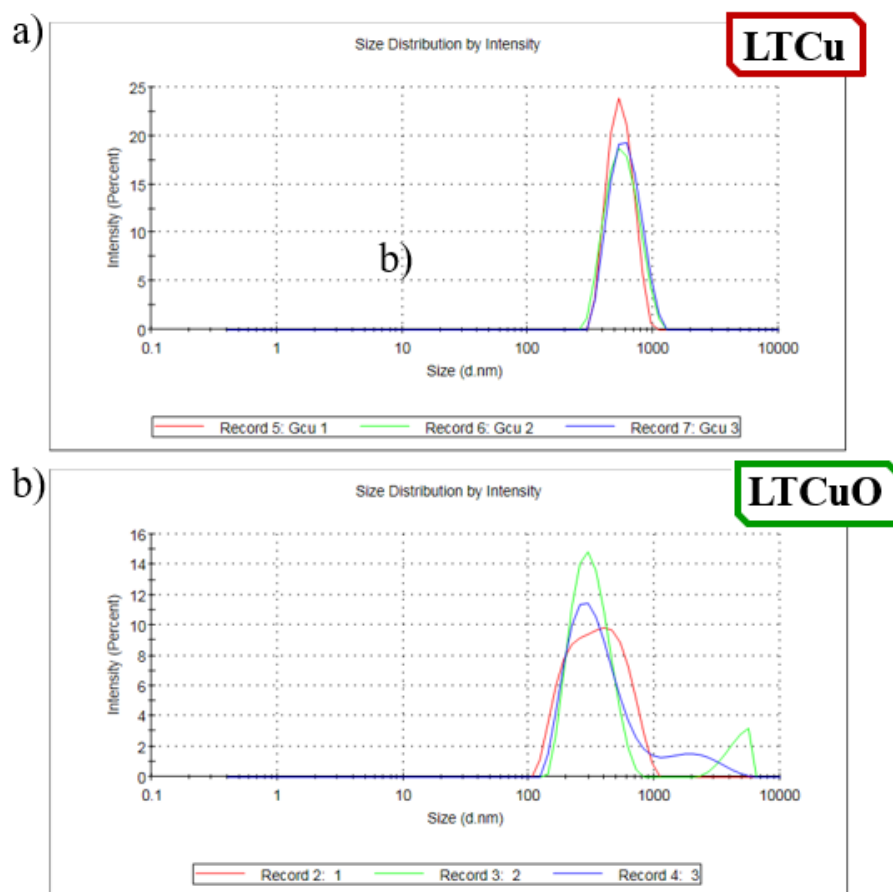
La deconvolución de la región de C1s de LTCu y LTCuO (Figura 27a-b respectivamente) muestran espectros similares. El pico a 284.8 eV es debido al enlace C=C, por lo cual la mayor parte del carbono se encuentra en hibridación  $sp^2$ . Esto concuerda con los resultados obtenidos en el análisis FTIR (Tabla 2). A 285.4, 286.6 y 288.82 eV se encuentran los enlaces C-C  $sp^3$ , C-O y C=O del carbono de los compuestos aromáticos respectivamente [161, 162]. El pico a 288,6 eV indica que la parte carbonosa contienen grupos funcionales carboxilo [154]. Estos resultados coinciden con lo obtenido por FTIR.



**Figura 27.** Espectros XPS de C1s de a) LTCu y b) LTCuO

## 7.5 Distribución del tamaño mediante dispersión de luz

En la Figura 28a se muestra la distribución del tamaño de las partículas LTCu. La estrecha amplitud monomodal indica un tamaño promedio-Z de 590.7 nm y un  $I_{Pd}$  0.25. Los resultados monomodales coinciden con lo reportado para NPs biosintetizadas con morfología cuasi-esférica dispersa y aglomerada [163, 164].

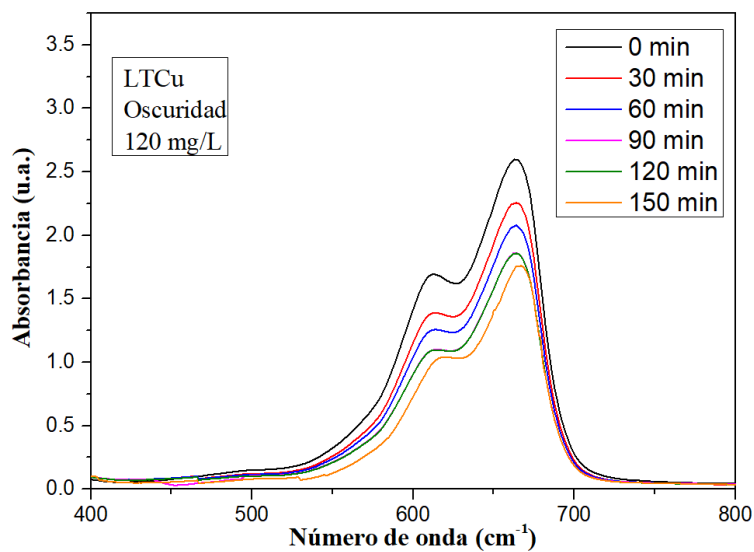


**Figura 28.** Distribución de tamaño mediante DLS de las NPs obtenidas.

Como se muestra en la Figura 28b LTCuO exhibe un diámetro hidrodinámico de  $378.7 \pm 21$  nm y un  $I_{Pd}$  0.36. La distribución bimodal en las mediciones 2 y 3, son derivadas de la gran diferencia entre los diámetros medios de las NPs LTCuO y su posible aglomeración. A pesar de que el método de análisis estadístico que emplea la técnica DSL contempla algoritmos para distintos tamaños, este presupone un único tamaño y forma (esférica o cuasi-esférica) al realizar el ajuste estadístico. Dichos resultados multimodales concuerdan con lo reportado para NPs biosintetizadas con morfologías no esféricas aglomeradas [144, 156, 165].

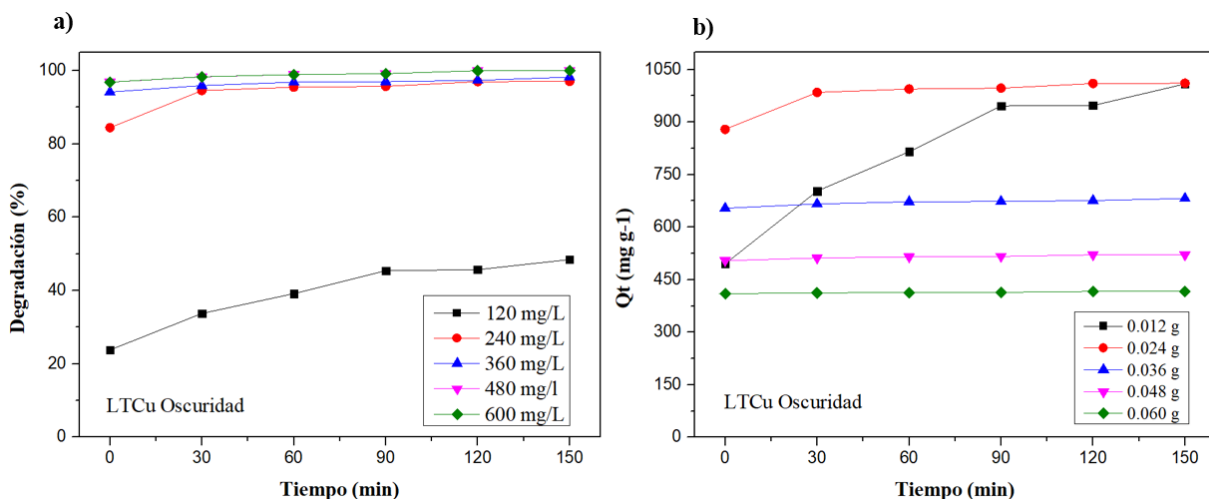
## 7.6 Degradación de Azul de metileno por LTCu y LTCuO

En la Figura 29 se muestra la degradación de AM en condiciones de oscuridad al agregar 120 mg/L de LTCu en una dilución de 250 ppm de AM. La concentración de AM a los 0 min (30 s) disminuye un 23.7%, lo cual puede deberse a la degradación por adsorción del colorante.



*Figura 29. Degradación de AM por LTCu (120 ppm) en oscuridad.*

El porcentaje de degradación de AM por LTCu en oscuridad se calculó empleando la Ecuación 12 (Figura 30a). Al agregar 120 mg de LTCu se logra hasta el 48.4 % de degradación mientras que a los 240 mg se llega al 97 % de degradación a los 150 min. La Figura 30b muestra la capacidad de degradación por adsorción ( $Q_t$ ) en mg de AM degradado por g de LTCu, el cual se calculó empleando la Ecuación 13, obteniendo una  $Q_t$  de hasta 1,011 mg de AM adsorbido por gramo de LTCu a los 150 min en condiciones de oscuridad.

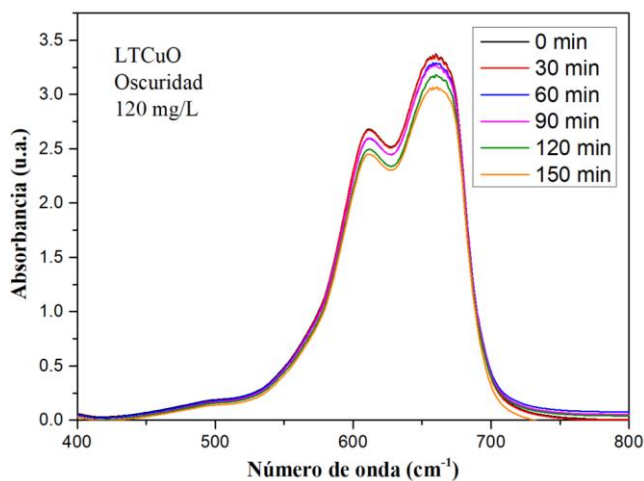


**Figura 30.** a) Porcentaje de degradación de AM a diversas concentraciones de LTCu en oscuridad y b) Capacidad de adsorción ( $Q_t$ ) en mg de AM por g de LTCu en oscuridad.

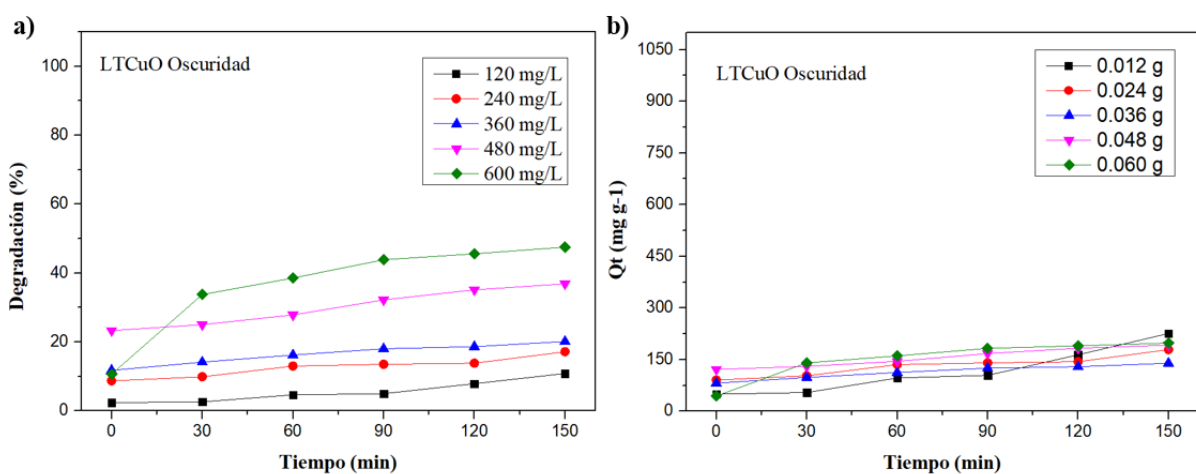
El proceso para una degradación fotocatalítica inicia con la adsorción de las moléculas del AM en la superficie del catalizador (Sección 2.7). En ausencia de luz, el comportamiento de LTCu en la Figura 30a puede deberse a la degradación por adsorción acompañada de la degradación ocasionada por los grupos funcionales de la superficie de LTCu encontrados en el espectro FTIR.



Por otra parte, LTCuO (Figura 31) muestra una degradación de apenas el 10% a una concentración de 120 mg/L a los 150 minutos. El porcentaje de degradación y  $Q_t$  se calcularon empleando las Ecuaciones 12 y 13 respectivamente. Se obtuvo una  $Q_t$  hasta de 225.9 mg·g<sup>-1</sup> (Figura 32b).



**Figura 31.** Degradación de AM por LTCuO (120 ppm) en oscuridad.



**Figura 32.** a) Porcentaje de degradación de AM a diversas concentraciones de LTCuO en condiciones de oscuridad y b) Capacidad de adsorción ( $Q_t$ ) en mg de AM por g de LTCuO en oscuridad.

El desempeño de LTCuO comparado con LTCu es menor. Esto se puede deber a que en ausencia de luz la degradación se lleva a cabo por adsorción y por la interacción con grupos carbonilos e hidroxilos principalmente. Los cuales se encuentran mayormente en LTCu que en LTCuO de acuerdo con los resultados en el análisis FTIR.

En el presente trabajo la capacidad de degradación de AM de las NPs muestra resultados favorables con un porcentaje de degradación de hasta el 99.3% (600 mg/L 150 min) y 47.5% (600 mg/L 150 min) para LTCu y LTCuO respectivamente (Tabla3). Comparado con otros reportes LTCu muestra un mejor desempeño en condiciones de oscuridad. Mientras que LTCuO exhibe un desempeño significativo.

**Tabla 3.** NPs de cobre biosintetizadas y su degradación de AM en oscuridad.

Material	NPs	Catalizador (mg/L)	Concentración AM (ppm)	Tiempo (min)	Degradación (%)	Bibliografía
<i>L. tridentata</i>	<b>LTCu</b> Cu <sub>2</sub> O/ CuO	600	250	150	99.3%	Presente trabajo
<i>L. tridentata</i>	<b>LTCuO</b> CuO/ Cu <sub>2</sub> O	600	250	150	47.5%	Presente trabajo
<i>Celastrus paniculats</i>	Cu	100 <sup>a</sup>	10	120	SDS	[166]
<i>Calotropis gigantea</i>	Cu <sub>2</sub> O	200	20	120 <sup>b</sup>	SDS	[92]

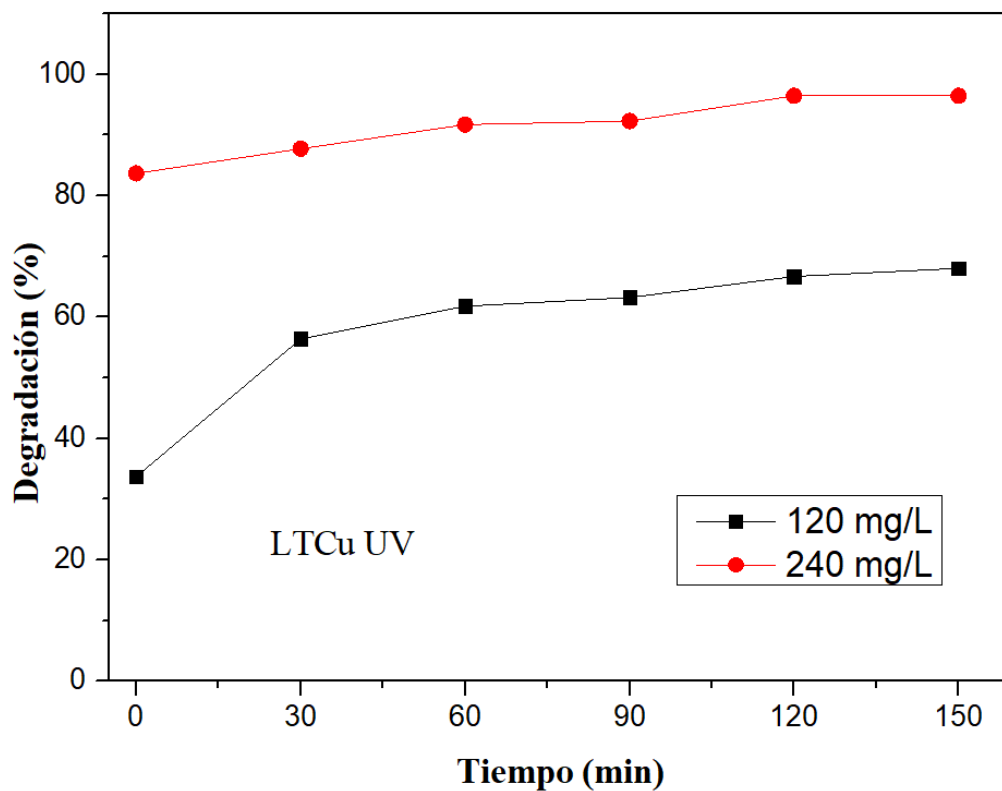
a: pH ajustado a 9;

a1: pH alcalino

b: Hasta 3 h para lograr el equilibrio adsorción-desorción (degradación no significativa).

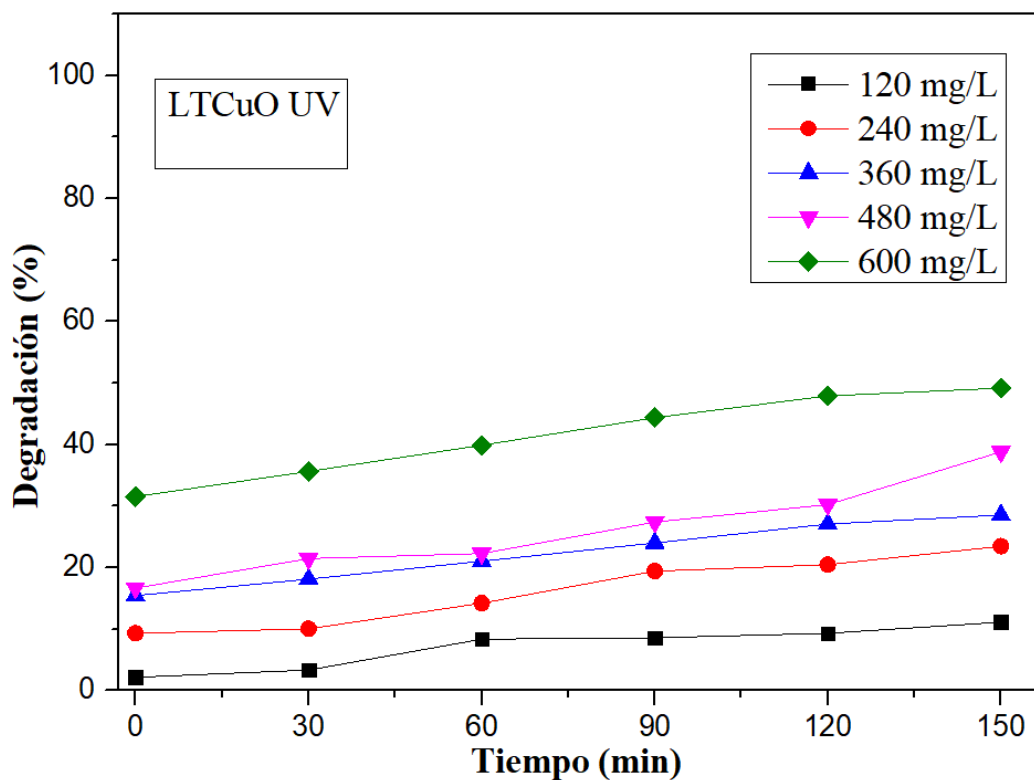
SDS: Sin degradación significativa.

La actividad fotocatalítica de LTCu bajo irradiación UV presenta una degradación inicial de AM del 33.7%, es decir 10% más que en condiciones de oscuridad. En la Figura 33 se puede apreciar el porcentaje de degradación de LTCu bajo irradiación UV. A partir de los 120 min a 240 mg/L del catalizador se logra una degradación del 96.4%.



*Figura 33. Porcentaje de degradación de AM a 120 y 240 mg/L de LTCu bajo irradiación UV*

Mientras que el comportamiento de LTCuO en presencia de irradiación UV llega a degradar hasta un 49.17 % en una concentración de 600 mg/L a los 150 min (Figura 34). El aumento en el porcentaje de la degradación se debe a la fotodegradación.



*Figura 34. Porcentaje de degradación de AM a diversas concentraciones de LTCu bajo irradiación UV.*

En la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos en el presente trabajo comparados con trabajos similares. LTCu muestra el mayor porcentaje de degradación ante una concentración mayor de AM.

**Tabla 4.** NPs de cobre y su degradación de AM en irradiación UV

Material	NPs	Catalizador (mg/L)	Concentración AM (ppm)	Tiempo (min)	Degradación (%)	Bibliografía
<i>L. tridentata</i>	<b>LTCu</b> Cu <sub>2</sub> O/ CuO	240	250	120	96.4%	Presente trabajo
<i>L. tridentata</i>	<b>LTCuO</b> CuO/ Cu <sub>2</sub> O	600	250	150	49.17%	Presente trabajo
<i>Celastrus paniculats</i>	Cu	100 <sup>a</sup>	10	120	90%	[166]
<i>Tinospora cordifolia</i>	CuO	500	5	120	80%	[167]
<i>Psidium</i>	Cu <sub>2</sub> O	-	3.19	3	91.76%	[168]

a: pH ajustado a 9;

Para evaluar la actividad fotocatalítica de LTCu en presencia de luz solar se eligió la concentración 120 mg/L al ser la más alejada al 100% de degradación en irradiación UV. Para LTCuO se seleccionó una concentración de 480 mg/L. Ambos materiales mostraron una notable actividad como se muestra en la siguiente Tabla:

**Tabla 5.** Degradación de AM en irradiación solar por NPs de cobre biosintetizadas.

Material	NPs	Catalizador (mg/L)	Concentración AM (ppm)	Tiempo (min)	Degradación (%)	Bibliografía
<i>L. tridentata</i>	<b>LTCu</b> Cu <sub>2</sub> O/ CuO	120	250	150	92%	Presente trabajo
<i>L. tridentata</i>	<b>LTCuO</b> CuO/ Cu <sub>2</sub> O	480 <sup>b</sup>	250	150	92%	Presente trabajo
<i>Aloe vera</i>	Cu <sub>2</sub> O	-	10	10	100% <sup>c</sup>	[147]
<i>Tinospora cordifolia</i>	CuO	2000	5 <sup>a</sup>	120	>90%	[167]

a: pH ajustado a 7.

b: 0.3 mL de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en 100mL.

c: irradiación de simulador de luz solar.

Para LTCu, el porcentaje de fotodegradación por irradiación UV es 19.6 % mayor que la degradación por adsorción en oscuridad y llega hasta un 92% de fotodegradación bajo irradiación solar. Esto se debe a la estrecha banda prohibida del Cu<sub>2</sub>O y el CuO (~2.2 y ~2.0 eV y respectivamente) que permite la captación de luz visible [88, 89].

Por otro lado, al emplear LTCuO el porcentaje de fotodegradación por irradiación UV es 8.2 % mayor que la degradación por adsorción en oscuridad y llega hasta un 92% de fotodegradación bajo irradiación solar. Adicional a su estrecha banda prohibida la fotodegradación llegó al 92% por la adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> el cual puede actuar como agente oxidante y reductor [19].

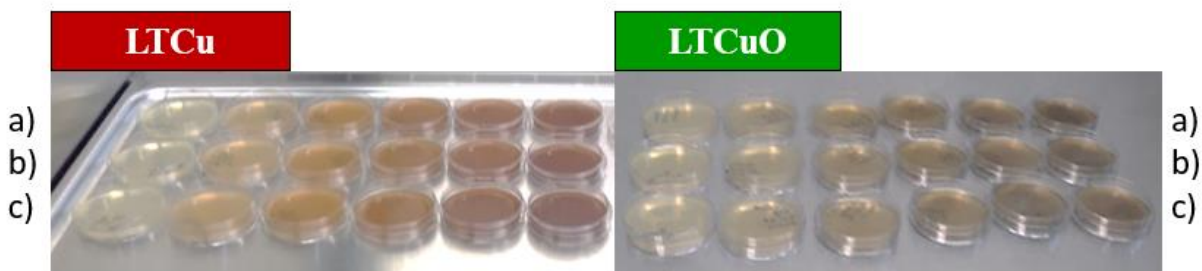
**Tabla 6.** Comparativo de los porcentajes de degradación a diferentes tipos de irradiación.

Material	Irradiación	Catalizador (mg /L)	Tiempo (min)	Degradación (%)
<b>LTCu</b>	Oscuridad	120	150	48.4
	Luz UV	120	150	68
	Luz solar	120	150	92
<b>LTCuO</b>	Oscuridad	480	150	30.6
	Luz UV	480	150	38.8
	Luz solar + H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	480	150	92

Para llevar a cabo la evaluación de la reutilización de LTCu se realizó un primer ciclo (150 min) en presencia de AM a 250 ppm y con una concentración de 600 mg/L de LTCu en oscuridad. LTCu se recuperaron y se reutilizaron dos veces más en condiciones de oscuridad. Al finalizar el segundo ciclo, el porcentaje de degradación de AM disminuyó del 99% al 93 % y, para el tercer ciclo fue del 91%. Lo que confirma una favorable reciclabilidad de LTCu para la degradación del AM. Los porcentajes de degradación al final de cada ciclo no presentan variaciones drásticas, lo cual sugiere una buena estabilidad, la cual se puede atribuir al recubrimiento orgánico encontrado por FTIR, el análisis elemental y por DRX [35].

## 7.7 Actividad antibacteriana

El resultado de la actividad antibacteriana de LTCu y LTCuO se muestran en la Figura 35. Las tres cepas bacterianas *Erwinia sp* (a), *P. costantinii* (b) y *P. fluorescens* (c) crecieron en todas las concentraciones (0.1, 0.2, 0.3, 0.4, y 0.5 mg/mL) para ambas nanopartículas. En las placas creció una película bacteriana homogénea, opaca y translúcida, correspondiente al aspecto tenue de las bacterias. Contrario a lo esperado y reportado con otras NPs biosintetizadas [109, 111].



**Figura 35.** Actividad antibacteriana de LTCu y LTCuO

- a) *Erwinia sp.*
- b) *P. costantinii.*
- c) *P. fluorescens.*

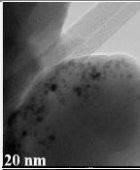
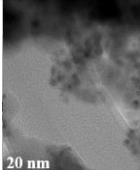
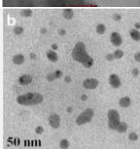
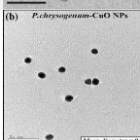


Las propiedades antimicrobianas de las nanopartículas dependen principalmente del tamaño, la morfología y su composición química. En la tabla 7 se compararán las características de NPs de cobre biosintetizadas con actividad antibacteriana y las sintetizadas en el presente trabajo.

El tamaño de las NPs con actividad antibacteriana aun con el recubrimiento no rebasa los 100 nm, a diferencia de LTCu y LTCuO que sobrepasan los 100 nm con un tamaño de 590 y 378 nm respectivamente. La morfología de las NPs con actividad antibacteriana fue esférica aglomerada y monodispersa, LTCu y LTCuO muestran una morfología aglomerada. La composición de las NPs con actividad antibacteriana tienen una distribución de la materia orgánica más homogénea, LTCu y LTCuO tienen una concentración de NPs en zonas específicas y una cobertura orgánica irregular.

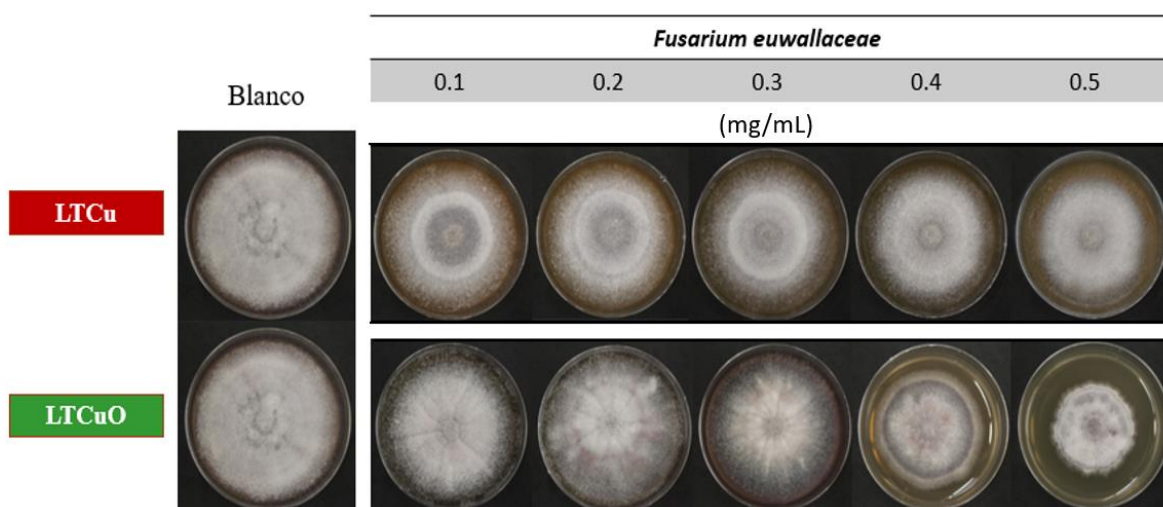
El tamaño de las bacterias se encuentra alrededor de las 2 micras de largo. Como se explicó en el apartado 2.8 (Figura 15) la mayoría de los mecanismos de acción para lograr una actividad antibacteriana dependen de la internalización de las NPs. El tamaño promedio aglomerado LTCu y LTCuO son la principal limitante para la actividad antibacteriana.

**Tabla 7.** Actividad antibacteriana de NPs de cobre biosintetizadas.

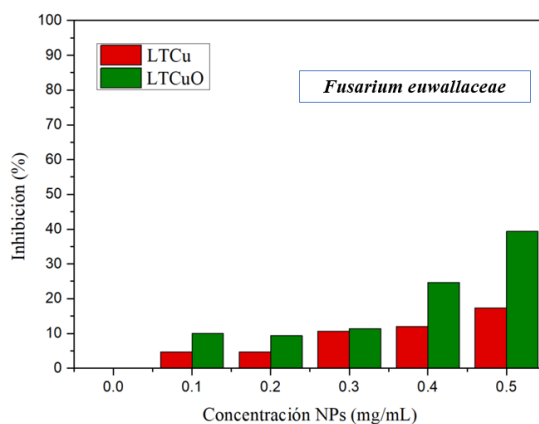
Material	NPs	Tamaño (nm)	Materia orgánica	Morfología	Actividad antibacteriana	Bibliografía
<i>L. tridentata</i>	Cu	590		Cuasi-esférica aglomerada	Sin actividad antibacteriana	Presente trabajo
<i>L. tridentata</i>	CuO/ Cu <sub>2</sub> O	378		poliédrica aglomerada	Sin actividad antibacteriana	Presente trabajo
<i>Aloe vera</i>	CuO	100		Esférica aglomerada	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	[111]
<i>P. chrysogenum</i>	CuO	10		Esférica mono dispersa	<i>Erwinia amylovora</i>	[109]

## 7.8 Actividad antifúngica

Este es el primer reporte del efecto inhibitorio de nanopartículas ante *Fusarium euwallaceae*. En la Figura 36 se muestra el crecimiento del hongo en presencia de las NPs LTCu y LTCuO. Se puede observar crecimiento casi regular de *Fusarium euwallaceae* en todas las concentraciones. Lo que indica que este hongo presenta tolerancia a LTCu. Sin embargo, se aprecia una disminución de la densidad micelial dependiente del aumento de la concentración de NPs LTCu. Así mismo, solo llega a inhibir 17 % del crecimiento radial del hongo a 0.5 mg/mL (Figura 37). El mismo efecto se observó para LTCuO, pero con un ligero aumento de inhibición de crecimiento micelial radial (39%) a 0.5 mg/mL.



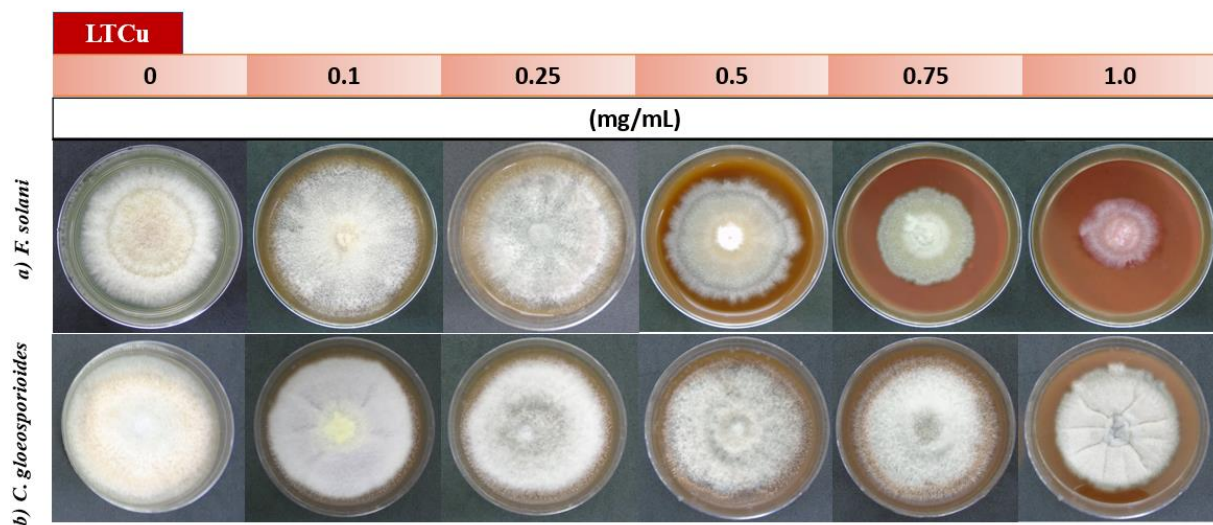
**Figura 36.** Crecimiento micelial radial de *Fusarium euwallaceae* en medio modificado con LTCu y LTCuO respectivamente.



**Figura 37.** Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de LTCu y LTCuO ante *Fusarium euwallaceae*.

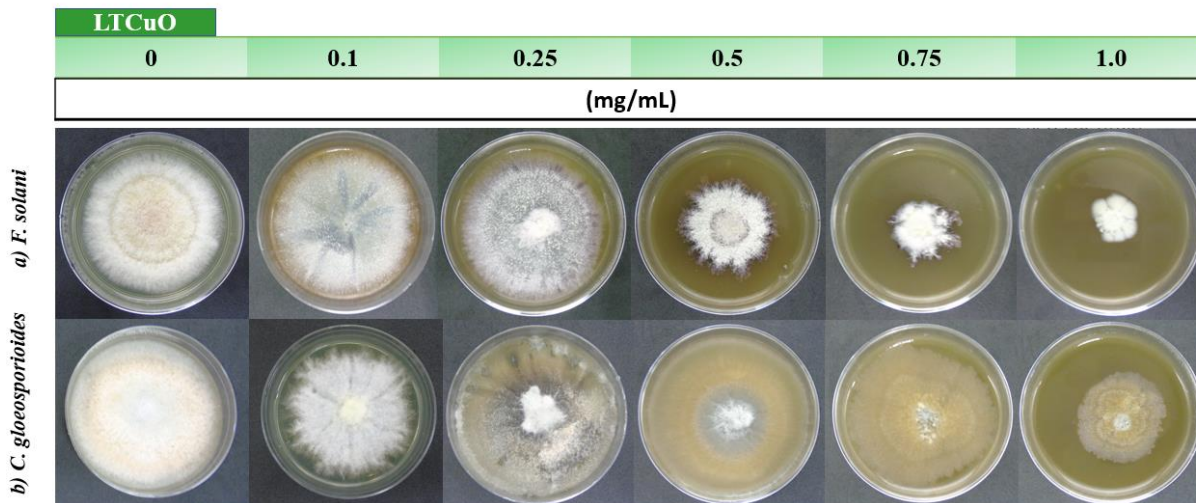
Debido a que las concentraciones de NPs usadas contra *Fusarium euwallaceae* fueron poco efectivas, se incrementó la concentración para los hongos *F. solani*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *F. oxysporum*. La actividad antifúngica de LTCu contra *F. solani* es mostrada en la Figura 38 donde se observa que a una concentración inicial de 0.1 mg/mL de NPs hay un aumento en el crecimiento micelial comparado con el control. En lugar de una respuesta inhibitoria se obtuvo una respuesta hormética. Es decir, la dosis subletal de LTCu tuvo un efecto benéfico que estimuló el crecimiento [169]. Se ha reportado que hongos fitopatógenos han estimulado su metabolismo ante la presencia de extractos vegetales [170].

Se aprecia una disminución significativa del crecimiento micelial radial a partir de 0.5 mg/mL para *F. solani*. En cuanto al efecto inhibitor de LTCu sobre *b) Colletotrichum gloeosporioides* se observa que el crecimiento micelial radial se comporta de una manera dependiente de la concentración.



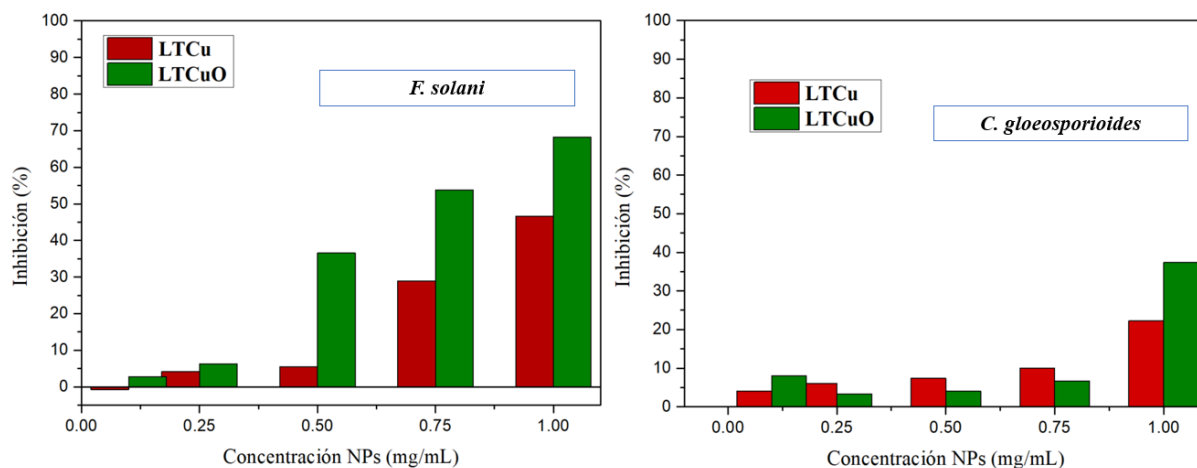
**Figura 38.** Efecto inhibitor de LTCu sobre el crecimiento de a) *Fusarium solani* y b) *Colletotrichum gloeosporioides* a 0,0 0.1, 0.25, 0.5. 0.75 y 1 mg/mL.

Por otro lado, la actividad antifúngica de LTCuO sobre el sobre el crecimiento de *Fusarium solani* (Figura 39) depende de la concentración de NPs. La pigmentación del micelio cambia desde la concentración más baja de NPs (0.1 mg/mL). El mismo efecto se observa para *Colletotrichum gloeosporioides*, a partir de la concentración 0.25 mg/mL la densidad del micelio y la morfología del crecimiento se ve severamente afectada ya que pierde su estructura filamentosa.



**Figura 39.** Efecto inhibitor de LTCuO sobre el crecimiento de a) *Fusarium solani* y b) *Colletotrichum gloeosporioides* a 0,0 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 y 1.0 mg/mL.

La mayor tasa de inhibición para *F. solani* fue del 46% para LTCu y 68% para LTCuO a 1 mg/mL. LTCuO superó el 50% a 0.75 mg/mL, mientras que la tasa de inhibición para *Colletotrichum gloeosporioides* a la mayor concentración de NPs fue del 25% para LTCu y 39% para LTCuO.



**Figura 40.** Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de LTCu y LTCuO ante *Fusarium solani* y *Colletotrichum gloeosporioides*.

La literatura muestra mayor número de reportes del efecto antifúngico de NPs de plata que de cobre contra *F. solani*. También se ha evidenciado que las propiedades antifúngicas de las nanopartículas dependen principalmente del tamaño, la morfología y su composición química. Aunado a que son escasos los trabajos con NPs de cobre biosintetizadas, no reportan todas las características principales de comparación.

Existen reportes de NPs de Ag comerciales que tiene un porcentaje de inhibición del crecimiento micelial radial contra *F. solani* de ~100% a una concentración de 0.01 mg/mL, mientras otras NPs de Ag comerciales se muestran sin efecto inhibitorio a una concentración de 0.1mg/mL. Estos resultados indican que no sólo el tamaño y el metal de las NPs es importante sino también las características morfológicas [171, 172] (Tabla 8).

Al comparar los resultados obtenidos en el presente trabajo con la literatura disponible, se conoce que: Las NPs de Cu y CuO comerciales tienen un efecto inhibitorio a una concentración efectiva que causa una reducción del 50% en la tasa del crecimiento del micelio de  $0.26 \pm 0.12$  y  $>1$  mg/mL respectivamente. Resultados similares con LTCu y LTCuO que llegan a un IRG del 46 y 68% respectivamente a una concentración de 1 mg/mL. Adicionalmente se encontró que NPs de CuO sintetizadas con extracto de *Stachys lavandulifolia* reportan un porcentaje de inhibición  $> 90\%$  a una concentración de 0.05 mg/mL.

La información de los reportes para inhibir a *F. solani* por NPs de cobre y óxidos sugiere que la monodispersidad y la morfología cúbica favorece el efecto antifúngico y que el aumento del tamaño (80 nm a 378 nm) disminuye su efecto inhibitorio (Tabla 8).

**Tabla 8.** Efecto antagónico sobre el crecimiento micelial de *Fusarium solani*.

Material	Metal	Método	Concentración	Tamaño	Bibliografía
			(mg/mL)	morfología	
<i>L. tridentata</i>	LTCu	Crecimiento	1	590.7	Presente trabajo
	Cu <sub>2</sub> O/CuO	micelial radial	46%	Cuasi-esférico	
<i>L. tridentata</i>	LTCuO	Crecimiento	1	378.7	Presente trabajo
	CuO/Cu <sub>2</sub> O	micelial radial	68%	Poliédrica	
Comercial	Cu NPs	Crecimiento	$0.26 \pm 0.12$	25nm	[173]
		micelial radial (D)	CE <sub>50</sub>	-	
Comercial	CuO-NPs	Crecimiento	$> 1.0$	$< 50$ nm	[173]
		micelial radial (D)	EC <sub>50</sub>	-	
Fungicida comercial	Cu (OH) <sub>2</sub>	Crecimiento	$0.76 \pm 0.01$	-	[173]
		micelial radial (D)	EC <sub>50</sub>	-	
<i>Stachys lavandulifolia</i>	CuO	Inoculación por disco	0.05 $> 90\%$	$\leq 80$ nm cúbica	[174]
	Ag	Crecimiento micelial radial	0.1 SEI	10 nm esférico.	[171]
Comercial	Ag	Crecimiento micelial radial	0.01 ~100% CMI	15 nm -	[172]

D: Inoculación por disco.

CE<sub>50</sub>: Concentración efectiva que causa una reducción del 50% en la tasa del crecimiento del micelio.

SEI.: Sin efecto inhibitorio.

CMI: Concentración mínima inhibitoria.

Se encontró solo un trabajo de Cu-NPs mediadas por extractos de planta *Ocimum sanctum* reportando un efecto inhibitorio de *C. gloeosporioides*, sin embargo, no presentan todos los parámetros de comparación [175]. Debido a esto, se optó por comparar los resultados del presente trabajo con NPs de cobre y óxidos de cobre comerciales. El mejor resultado es una CE<sub>50</sub> a una concentración de Cu-NPs de 0.16 mg/mL mientras que le LTCu y LTCuO presentan un IRG 25% y 39% a 1 mg/mL respectivamente. Los resultados sugieren que un tamaño menor a 590 nm y con forma cúbica puede mejorar el efecto inhibitorio (Tabla 9).

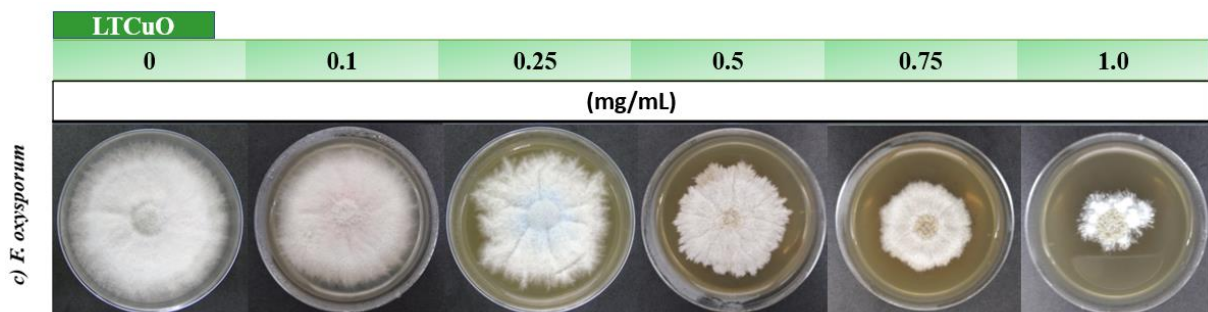
**Tabla 9.** Efecto antagónico sobre el crecimiento micelial de *Colletotrichum gloeosporioides*.

Material	Metal	Método	Concentración	Tamaño	Bibliografía
			(mg/mL)		
<i>L. tridentata</i>	LTCu Cu <sub>2</sub> O/CuO	Crecimiento micelial radial	1	590.7	Presente trabajo
			25%	Cuasi- esférico	
<i>L. tridentata</i>	LTCuO CuO/Cu <sub>2</sub> O	Crecimiento micelial radial	1	378.7	Presente trabajo
			39%	Poliédrica	
Comercial	Cu NPs	Crecimiento micelial radial (D)	0.16 ±0.01 CE <sub>50</sub>	25nm	[173]
Comercial	Cu NPs	Crecimiento micelial radial (D)	- 91.2%	40-60 nm	[176]
Comercial	CuO- NPs	Crecimiento micelial radial (D)	- 89%	<50 nm	[176]
Comercial	CuO- NPs	Crecimiento micelial radial (D)	> 1.0 EC <sub>50</sub>	<50 nm	[173]
Fungicida comercial	Cu (OH) <sub>2</sub>	Crecimiento micelial radial (D)	0.56±0.009 EC <sub>50</sub>	-	[173]
<i>Ocimum sanctum</i>	Cu	Diámetro de zona de inhibición (mm)	- 15. 25 mm -	25 nm Varilla, cilindro y elíptico (mezcla)	[175]

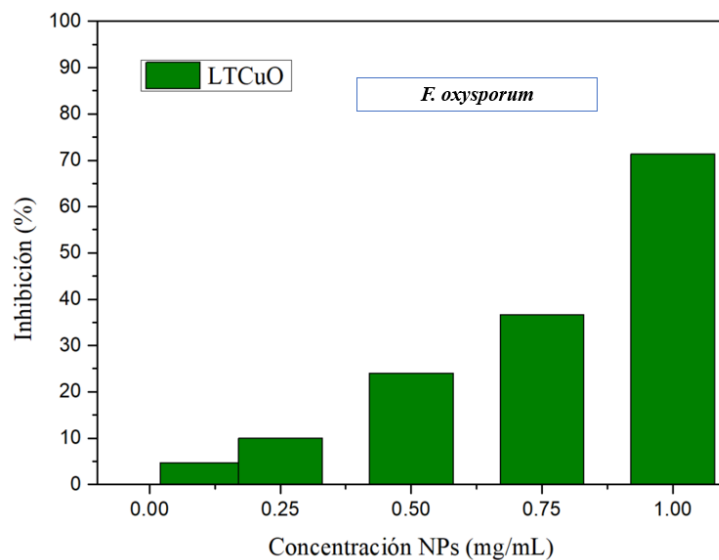
D: Inoculación por disco

CE<sub>50</sub>: Concentración efectiva que causa una reducción del 50% en la tasa del crecimiento del micelio.

El efecto antifúngico de LTCuO contra *F. oxysporum* se observa en la Figura 41. Se evidenció que la pigmentación del micelio es afectada de una manera dependiente de la concentración de las NPs en el medio. Se logró obtener 70 % de IRG a una concentración de 1 mg/mL (Figura 42).



**Figura 41.** Efecto inhibitor de LTCuO sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* a 0,0 0.1, 0.25, 0.5, 0.75 y 1.0 mg/mL.



**Figura 42.** Porcentaje de inhibición de crecimiento radial de LTCuO contra *Fusarium oxysporum*



Los reportes de efectos inhibitorios contra *F. oxysporum* de NPs biogénicas de cobre y óxidos de cobre no son comparables al presente trabajo, por lo cual, se comparó con un artículo de NPs de Cu<sub>2</sub>O químicamente sintetizadas [177]. Se compara con el documento antes mencionado por la morfología cúbica y la presencia del Cu<sub>2</sub>O.

Las NPs obtenidas por síntesis química exhibe un IRG >90% a 0.25 mg/mL y LTCuO tiene un IRG de 70% a 1mg/mL. Lo cual sugiere que una morfología cúbica y un tamaño en la nanoescala favorecen el efecto antagónico.

**Tabla 10.** Efecto antagónico sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum*.

Material	Metal	Método	Concentración (mg/mL)	Tamaño morfología	Bibliografía
<i>L. tridentata</i>	<b>LTCuO</b> CuO/Cu <sub>2</sub> O	Crecimiento	1	378.7	Presente trabajo
		micelial radial	70%	Poliédrica	
<i>Celastrus paniculatus</i>	Cu	Técnica de	2.4	2-20 nm	[166]
		alimentos envenenados	79%	esféricas	
<i>Citrus medica</i>	Cu	Difusión por disco (Kirby-Bauer)	- 30 mm	10-60 nm cúbica	[178]
<i>Botryococcus braunii</i>	CuO	Pocillos en agar	- 12 mm	10-70 nm cúbica	[179]
		Síntesis química	Cu y Cu <sub>2</sub> O NPs	Crecimiento micelial radial	0.25 >90%

## 8. CONCLUSIONES

La síntesis de LTCu y LTCuO utilizando extracto acuoso de *L. tridentata* presenta nanopartículas, sin embargo, se presentan principalmente sus aglomerados observables en el análisis MEB y TEM. EL tamaño de LTCu obtenido por DSL es un tamaño promedio-Z de 590.7 nm y LTCuO muestra un tamaño de diámetro hidrodinámico de  $378.7 \pm 21$  nm. Estos aglomerados también conocidos como partículas secundarias se pueden deber a la propiedad intrínseca de energía superficial de las NPs o bien al efecto del tiempo de incubación en la reacción de síntesis.

Las características espectrales del análisis por FTIR de LTCu y LTCuO corresponden con el espectro de *L. tridentata* confirmando la identidad del precursor biológico. Esto indica que una parte representativa de los compuestos de *L. tridentata* son solubles en agua y forman parte del recubrimiento. LTCu y LTCuO tienen una morfología cuasi-esférica y poliédrica respectivamente corroborado por MEB, TEM y DSL. LTCuO mostró una cristalinidad cúbica característica de CuO y Cu<sub>2</sub>O en el análisis por difracción de rayos X.

LTCu y LTCuO muestran en su superficie las señales características del Cu, CuO y Cu<sub>2</sub>O en el análisis XPS. En LTCu predomina la señal de Cu<sub>2</sub>O coincidiendo con la proporción del porcentaje en peso del C y el O en el análisis elemental EDS. En LTCuO predomina la señal característica del CuO coincidiendo con la fase principal cúbica encontrada por DRX.

LTCu mostró un desempeño favorable de degradación AM. En condiciones de oscuridad se logró la degradación del 48.4% de AM (250 ppm) a los 150 min con una concentración de LTCu de 120mg/L exhibiendo una  $Q_t$  de 1,011 mg/g. En presencia de irradiación UV la fotodegradación de AM fue del 68% a los 150 min con 120 mg/L. En presencia de luz solar llegó al 92% de degradación al mismo tiempo y concentración.

LTCuO mostró una degradación de 30.6% de AM (250 ppm) a los 150 min con una concentración de 480 mg/L del material sintetizado exhibiendo una  $Q_t$  de 192 mg/g. Al mismo tiempo y concentración de LTCuO pero con irradiación UV la degradación aumentó al 38.8% y con presencia de luz solar y la adición de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> llegó al 92% de degradación.

La degradación en condiciones de oscuridad se debe a la adsorción del AM en la superficie de los materiales obtenidos. El desempeño observado en LTCu fue mayor que el de LTCuO, esto se puede atribuir a una mayor cantidad de grupos hidroxilos y carbonilos en la superficie como se corroboró por FTIR y XPS. Estos grupos funcionales se han asociado con la adsorción y deslocalización de electrones  $\pi$  de colorantes seguido de una degradación por desmetilación e hidroxilación.

Ninguna de las NPs presentó actividad antibacteriana ante las cepas *Erwinia sp*, *P.costantinii* y *P. fluorescens* debido a que su tamaño aglomerado supera los 0.3 y 0.5 micras en LTCu y LTCuO respectivamente.

Se identificó el efecto inhibitor de LTCu contra el crecimiento micelial de hongos fitopatógenos con un IRG de hasta del 17.46 y 25% para *F. euwallaceae*, *F. solani* y *C. gloeosporioides* respectivamente. En cuanto a LTCuO mostró un IRG de 39.68, 39 y 70% para *F. euwallaceae*, *F.solani*, *C. gloeosporioides* y *F. oxysporum* respectivamente. Adicionalmente se pudo observar una respuesta hormética a bajas concentraciones de LTCu. El efecto inhibitor LTCuO fue mayor que el de LTCu, esto se puede deber a que en LTCuO los aglomerados tiene menor tamaño. Los resultados proporcionan información valiosa al contribuir con todos los parámetros principales para la actividad antimicrobiana característica de cada cepa.

## 9. BIBLIOGRAFÍA

- [1] D. Zhu, Y.-J. Chang. Urban water security assessment in the context of sustainability and urban water management transitions: An empirical study in Shanghai. *J Clean Prod.* 275(2020) 122968.
- [2] R. Prasad, T. Karchiyappan, *Advanced Research in Nanosciences for Water Technology*, Springer International Publishing 2019.
- [3] S.S. Auerbach, D.W. Bristol, J.C. Peckham, G.S. Travlos, C.D. Hébert, R.S. Chhabra. Toxicity and carcinogenicity studies of methylene blue trihydrate in F344N rats and B6C3F1 mice. *Food and Chemical Toxicology.* 48(1) (2010) 169-177.
- [4] V. Vadivelan, K.V. Kumar. Equilibrium, kinetics, mechanism, and process design for the sorption of methylene blue onto rice husk. *Journal of Colloid and Interface Science.* 286(1) (2005) 90-100.
- [5] J.J.R. Coque, J.M. Álvarez-Pérez, R. Cobos, S. González-García, A.M. Ibáñez, A. Diez Galán, C. Calvo-Peña, in: G.M. Gadd, S. Sariaslani (Eds.), Chapter Four - Advances in the control of phytopathogenic fungi that infect crops through their root system, *Advances in Applied Microbiology*, Academic Press 2020, pp. 123-170.
- [6] B. Adelodun, F.O. Ajibade, J.O. Ighalo, G. Odey, R.G. Ibrahim, K.Y. Kareem, H.O. Bakare, A.O. Tiamiyu, T.F. Ajibade, T.S. Abdulkadir, K.A. Adeniran, K.S. Choi. Assessment of socioeconomic inequality based on virus-contaminated water usage in developing countries: A review. *Environ Res.* 192(2021) 110309.
- [7] N. Pichel, M. Vivar, M. Fuentes. The problem of drinking water access: A review of disinfection technologies with an emphasis on solar treatment methods. *Chemosphere.* 218(2019) 1014-1030.
- [8] C. Quintelas, A. Melo, M. Costa, D.P. Mesquita, E.C. Ferreira, A.L. Amaral. Environmentally-friendly technology for rapid identification and quantification of emerging pollutants from wastewater using infrared spectroscopy. *Environ Toxicol Phar.* 80(2020) 103458.
- [9] B. Petrie, R. Barden, B. Kasprzyk-Hordern. A review on emerging contaminants in wastewaters and the environment: Current knowledge, understudied areas and recommendations for future monitoring. *Water Res.* 72(2015) 3-27.

- [10] M. Loos, in: M. Loos (Ed.), Chapter 1 - Nanoscience and Nanotechnology, Carbon Nanotube Reinforced Composites, William Andrew Publishing, Oxford, 2015, pp. 1-36.
- [11] M. Rafique, M.B. Tahir, M.S. Rafique, M. Hamza, in: M.B. Tahir, M. Rafique, M.S. Rafique (Eds.), Chapter 1 - History and fundamentals of nanoscience and nanotechnology, Nanotechnology and Photocatalysis for Environmental Applications, Elsevier2020, pp. 1-25.
- [12] M. Ortega-Avilés, C.M. San-Germán, D. Mendoza-Anaya, D. Morales, M. José-Yacamán. Characterization of mural paintings from Cacaxtla. *J Mater Sci.* 36(9) (2001) 2227-2236.
- [13] I. Serafini, A. Ciccola, in: G. Lazzara, R. Fakhrullin (Eds.), Chapter 14 - Nanotechnologies and Nanomaterials: An Overview for Cultural Heritage, Nanotechnologies and Nanomaterials for Diagnostic, Conservation and Restoration of Cultural Heritage, Elsevier2019, pp. 325-380.
- [14] M. Rafique, M.B. Tahir, M.S. Rafique, M. Hamza, in: M.B. Tahir, M. Rafique, M.S. Rafique (Eds.), Chapter 1 - History and fundamentals of nanoscience and nanotechnology., Nanotechnology and Photocatalysis for Environmental Applications, Elsevier2020, pp. 1-25.
- [15] A. Gomme. Early British Patent Grants. *Nature.* 119(2996) (1927) 494-494.
- [16] N. Healy, L. Rathbun, in: K. Winkelmann, B. Bhushan (Eds.), Education and Outreach of the National Nanotechnology Infrastructure Network (NNIN) 2004–2015: History and Accomplishments of Undergraduate Programs, Global Perspectives of Nanoscience and Engineering Education, Springer International Publishing, Cham, 2016, pp. 323-349.
- [17] F.C. Adams, C. Barbante. Nanoscience, nanotechnology and spectrometry. *Spectrochim. Acta B.* 86(2013) 3-13.
- [18] J.Q. Wang, H.W. Gu. Novel Metal Nanomaterials and Their Catalytic Applications. *Molecules.* 20(9) (2015) 17070-17092.
- [19] O. Fesenko, L. Yatsenko, Nanochemistry, Biotechnology, Nanomaterials, and Their Applications: Selected Proceedings of the 5th International Conference Nanotechnology and Nanomaterials (NANO2017), August 23-26, 2017, Chernivtsi, Ukraine, Springer International Publishing2018.
- [20] M.T. Maagi, S.D. Lupyana, G. Jun. Nanotechnology in the petroleum industry: Focus on the use of nanosilica in oil-well cementing applications - A review. *J Petrol. Sci. Eng.* 193(2020) 107397.

- [21] L.E. Vidal Correa. Análisis comparativo de la regulación en nanotecnología en estados Unidos y la Unión Europea. *Boletín Mexicano de Derecho Comparado*. 49(147) (2016) 277-301.
- [22] R.P. Singh, R. Handa, G. Manchanda. Nanoparticles in sustainable agriculture: An emerging opportunity. *J. Control Release*. (2020).
- [23] J. Conesa-Egea, A. Moreno-Vázquez, V. Fernández-Moreira, Y. Ballesteros, M. Castellanos, F. Zamora, P. Amo-Ochoa. Micro and Nano Smart Composite Films Based on Copper-Iodine Coordination Polymer as Thermochromic Biocompatible Sensors. *Polymers-Basel*. 11(2019) 1047.
- [24] J.J. Ramsden, *Applied Nanotechnology The Conversion of Research Results to Products*, Second ed. 2014.
- [25] S.A. Akintelu, A.S. Folorunso, F.A. Folorunso, A.K. Oyebamiji. Green synthesis of copper oxide nanoparticles for biomedical application and environmental remediation. *Heliyon*. 6(7) (2020) e04508.
- [26] P. Dauthal, M. Mukhopadhyay. Noble Metal Nanoparticles: Plant-Mediated Synthesis, Mechanistic Aspects of Synthesis, and Applications. *Ind. Eng. Chem. Res.* 55(36) (2016) 9557-9577.
- [27] P. Anastas, N. Eghbali. *Green Chemistry: Principles and Practice*. *Chem. Soc. Rev.* 39(1) (2010) 301-312.
- [28] C.A. Jerez, in: T.M. Schmidt (Ed.), *Metal Extraction and Biomining*☆, *Encyclopedia of Microbiology (Fourth Edition)*, Academic Press, Oxford, 2019, pp. 39-52.
- [29] Y.A.M. Esa, N. Sapawe. A short review on biosynthesis of cobalt metal nanoparticles. *Mater. Today-Proc.* 31(2020) 378-385.
- [30] E. Dujardin, C. Peet, G. Stubbs, J.N. Culver, S. Mann. Organization of Metallic Nanoparticles Using Tobacco Mosaic Virus Templates. *Nano Lett.* 3(3) (2003) 413-417.
- [31] K.T. Nam, B.R. Peelle, S.-W. Lee, A.M. Belcher. Genetically Driven Assembly of Nanorings Based on the M13 Virus. *Nano Lett.* 4(1) (2004) 23-27.
- [32] S.K. Srivastava, R. Yamada, C. Ogino, A. Kondo. Biogenic synthesis and characterization of gold nanoparticles by *Escherichia coli* K12 and its heterogeneous catalysis in degradation of 4-nitrophenol. *Nanoscale Res. Lett.* 8(1) (2013) 70.

- [33] V.-D. Doan, M.-T. Phung, T.L.-H. Nguyen, T.-C. Mai, T.-D. Nguyen. Noble metallic nanoparticles from waste *Nypa fruticans* fruit husk: Biosynthesis, characterization, antibacterial activity and recyclable catalysis. *Arab. J. Chem.* 13(10) (2020) 7490-7503.
- [34] H.M.M. Farrag, F.A.A.M. Mostafa, M.E. Mohamed, E.A.M. Huseein. Green biosynthesis of silver nanoparticles by *Aspergillus niger* and its antiamoebic effect against *Allovalkampa spelaea* trophozoite and cyst. *Exp. Parasitol.* 219(2020) 108031.
- [35] P. Singh, Y.-J. Kim, D. Zhang, D.-C. Yang. Biological Synthesis of Nanoparticles from Plants and Microorganisms. *Trends Biotechnol.* 34(7) (2016) 588-599.
- [36] K. Sneha, M. Sathishkumar, S. Kim, Y.-S. Yun. Counter ions and temperature incorporated tailoring of biogenic gold nanoparticles. *Process Biochem.* 45(9) (2010) 1450-1458.
- [37] K. Kalimuthu, R. Suresh Babu, D. Venkataraman, M. Bilal, S. Gurunathan. Biosynthesis of silver nanocrystals by *Bacillus licheniformis*. *Colloid Surface B.* 65(1) (2008) 150-153.
- [38] F.A. Mostafa. Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Pathogenic and Nonpathogenic Strains of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Egypt. J. Bot.* 57(2) (2017) 345-350.
- [39] L. Wang, X. Liu, D.-J. Lee, J.-H. Tay, Y. Zhang, C.-L. Wan, X.-F. Chen. Recent advances on biosorption by aerobic granular sludge. *J. Hazard. Mater.* 357(2018) 253-270.
- [40] M.A. Alghuthaymi, H. Almoammar, M. Rai, E. Said-Galiev, K.A. Abd-Elsalam. Myconanoparticles: synthesis and their role in phytopathogens management. *Biotechnol. Biotec. Eq.* 29(2) (2015) 221-236.
- [41] K. Kathiresan, S. Manivannan, M.A. Nabeel, B. Dhivya. Studies on silver nanoparticles synthesized by a marine fungus, *Penicillium fellutanum* isolated from coastal mangrove sediment. *Colloid Surface B.* 71(1) (2009) 133-137.
- [42] A.R. Binupriya, M. Sathishkumar, S.-I. Yun. Myco-crystallization of Silver Ions to Nanosized Particles by Live and Dead Cell Filtrates of *Aspergillus oryzae* var. *viridis* and Its Bactericidal Activity toward *Staphylococcus aureus* KCCM 12256. *Ind. Eng. Chem. Res.* 49(2) (2010) 852-858.
- [43] S.R. Waghmare, M.N. Mulla, S.R. Marathe, K.D. Sonawane. Ecofriendly production of silver nanoparticles using *Candida utilis* and its mechanistic action against pathogenic microorganisms. *3 Biotech.* 5(1) (2015) 33-38.

- [44] E.J. Guidelli, A.P. Ramos, M.E.D. Zaniquelli, O. Baffa. Green synthesis of colloidal silver nanoparticles using natural rubber latex extracted from *Hevea brasiliensis*. *Spectrochim Acta A*. 82(1) (2011) 140-145.
- [45] R. Bali, N. Razak, A. Lumb, A.T. Harris, en: The synthesis of metallic nanoparticles inside live plants, INT CONF NANOSCI NAN, 2006, p. 1.
- [46] S. Jadoun, R. Arif, N.K. Jangid, R.K. Meena. Green synthesis of nanoparticles using plant extracts: a review. *Environ. Chem. Lett.* (2020).
- [47] H. Duan, D. Wang, Y. Li. Green chemistry for nanoparticle synthesis. *Chem. Soc. Rev.* 44(16) (2015) 5778-5792.
- [48] S. Ahmed, Annu, S.A. Chaudhry, S. Ikram. A review on biogenic synthesis of ZnO nanoparticles using plant extracts and microbes: A prospect towards green chemistry. *J. Photoch. Photobio. B*. 166(2017) 272-284.
- [49] N.A. Anjum, M. Hasanuzzaman, M.A. Hossain, P. Thangavel, A. Roychoudhury, S.S. Gill, M.A.M. Rodrigo, V. Adam, M. Fujita, R. Kizek, A.C. Duarte, E. Pereira, I. Ahmad. Jacks of metal/metalloid chelation trade in plants—an overview. *Front. Plant Sci.* 6(192) (2015).
- [50] A.C. Paiva-Santos, A.M. Herdade, C. Guerra, D. Peixoto, M. Pereira-Silva, M. Zeinali, F. Mascarenhas-Melo, A. Paranhos, F. Veiga. Plant-mediated green synthesis of metal-based nanoparticles for dermatopharmaceutical and cosmetic applications. *International Journal of Pharmaceutics*. 597(2021) 120311.
- [51] L. Hernández-Morales, H. Espinoza-Gómez, L.Z. Flores-López, E.L. Sotelo-Barrera, A. Núñez-Rivera, R.D. Cadena-Nava, G. Alonso-Núñez, K.A. Espinoza. Study of the green synthesis of silver nanoparticles using a natural extract of dark or white *Salvia hispanica* L. seeds and their antibacterial application. *Applied Surface Science*. 489(2019) 952-961.
- [52] S. Naghdi, M. Sajjadi, M. Nasrollahzadeh, K.Y. Rhee, S.M. Sajadi, B. Jaleh. *Cuscuta reflexa* leaf extract mediated green synthesis of the Cu nanoparticles on graphene oxide/manganese dioxide nanocomposite and its catalytic activity toward reduction of nitroarenes and organic dyes. *J. Taiwan Inst. Chem. E*. 86(2018) 158-173.
- [53] A.P. Angeline Mary, A. Thaminum Ansari, R. Subramanian. Sugarcane juice mediated synthesis of copper oxide nanoparticles, characterization and their antibacterial activity. *Journal of King Saud University - Science*. 31(4) (2019) 1103-1114.



- [54] M. Bordbar, Z. Sharifi-Zarchi, B. Khodadadi. Green synthesis of copper oxide nanoparticles/clinoptilolite using *Rheum palmatum* L. root extract: high catalytic activity for reduction of 4-nitro phenol, rhodamine B, and methylene blue. *J. Sol-Gel Sci. Techn.* 81(3) (2017) 724-733.
- [55] F.G. Medrano, *Las zonas áridas y semiáridas de México y su vegetación*, Instituto Nacional de Ecología, México, 2012.
- [56] T. Garnatje, J. Peñuelas, J. Vallès. Ethnobotany, Phylogeny, and ‘Omics’ for Human Health and Food Security. *Trends Plant Sci.* 22(3) (2017) 187-191.
- [57] J. Rzedowski, L. Huerta, *Vegetación de México*, 1ra. ed., Limusa, México, 2006.
- [58] G. Manda, A.I. Rojo, E. Martínez-Klimova, J. Pedraza-Chaverri, A. Cuadrado. Nordihydroguaiaretic Acid: From Herbal Medicine to Clinical Development for Cancer and Chronic Diseases. *Front. Pharmacol.* 11(151) (2020).
- [59] A. Gonzalez-Coloma, C.S. Wisdom, P.W. Rundel. Ozone impact on the antioxidant nordihydroguaiaretic acid content in the external leaf resin of *Larrea tridentata*. *Biochem. Syst. Ecol.* 16(1) (1988) 59-64.
- [60] J.N. Gnabre, Y. Ito, Y. Ma, R.C. Huang. Isolation of anti-HIV-1 lignans from *Larrea tridentata* by counter-current chromatography. *J. Chromatogr. A.* 719(2) (1996) 353-364.
- [61] W.D. MacRae, G.H.N. Towers. Biological activities of lignans. *Phytochemistry.* 23(6) (1984) 1207-1220.
- [62] A.Y. Smith, R.M. Feddersen, K.D. Gardner, C.J. Davis. Cystic Renal Cell Carcinoma and Acquired Renal Cystic Disease Associated with Consumption of Chaparral Tea: A Case Report. *J. Urology.* 152(6, Part 1) (1994) 2089-2091.
- [63] E. Floriano-Sánchez, E. Floriano-Sánchez, C. Villanueva, E. Floriano-Sánchez, C. Villanueva, O. Noel Medina-Campos, E. Floriano-Sánchez, C. Villanueva, O. Noel Medina-Campos, D. Rocha, E. Floriano-Sánchez, C. Villanueva, O. Noel Medina-Campos, D. Rocha, D. Javier Sánchez-González, E. Floriano-Sánchez, C. Villanueva, O. Noel Medina-Campos, D. Rocha, D. Javier Sánchez-González, N. Cárdenas-Rodríguez, J. Pedraza-Chaverri, E. Floriano-Sánchez, C. Villanueva, O. Noel Medina-Campos, D. Rocha, D. Javier Sánchez-González, N. Cárdenas-Rodríguez, J. Pedraza-Chaverri. Nordihydroguaiaretic acid is a potent in vitro scavenger of peroxy nitrite, singlet oxygen, hydroxyl radical, superoxide anion and

hypochlorous acid and prevents in vivo ozone-induced tyrosine nitration in lungs. *Free Radical Res.* 40(5) (2006) 523-533.

[64] Z. Guangyin, Z. Youcai, in: Z. Guangyin, Z. Youcai (Eds.), Chapter One - Sewage Sludge Generation and Characteristics, Pollution Control and Resource Recovery for Sewage Sludge, Butterworth-Heinemann 2017, pp. 1-11.

[65] I.S. Turovskiy, P.K. Mathai, *Wastewater Sludge Processing*, Wiley 2006.

[66] K. Smith, S. Liu, Y. Liu, S. Guo. Can China reduce energy for water? A review of energy for urban water supply and wastewater treatment and suggestions for change. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 91(2018) 41-58.

[67] W. Zhang, D. Zhang, Y. Liang. Nanotechnology in remediation of water contaminated by poly- and perfluoroalkyl substances: A review. *Environ. Pollut.* 247(2019) 266-276.

[68] M. Anjum, R. Miandad, M. Waqas, F. Gehany, M.A. Barakat. Remediation of wastewater using various nano-materials. *Arab. J. Chem.* 12(8) (2019) 4897-4919.

[69] B.I. Kharisov, H.V.R. Dias, O.V. Kharissova. Nanotechnology-based remediation of petroleum impurities from water. *J Petrol. Sci. Eng.* 122(2014) 705-718.

[70] M.F. Abdel Messih, M.A. Ahmed, A. Soltan, S.S. Anis. Synthesis and characterization of novel Ag/ZnO nanoparticles for photocatalytic degradation of methylene blue under UV and solar irradiation. *Journal of Physics and Chemistry of Solids.* 135(2019) 109086.

[71] H. Ali. Biodegradation of Synthetic Dyes—A Review. *Water Air Soil Poll.* 213(1) (2010) 251-273.

[72] S. Arora. Textile Dyes: It's Impact on Environment and its Treatment. *J. Bioremed. Biodeg.* 05(2014).

[73] E. Errais, J. Duplay, F. Darragi. Textile dye removal by natural clay – case study of Fouchana Tunisian clay. *Environ. Technol.* 31(4) (2010) 373-380.

[74] A.A. Oyekanmi, A. Ahmad, K. Hossain, M. Rafatullah. Adsorption of Rhodamine B dye from aqueous solution onto acid treated banana peel: Response surface methodology, kinetics and isotherm studies. *PLOS ONE.* 14(5) (2019) e0216878.

[75] V. Vaiano, G. Iervolino. Facile method to immobilize ZnO particles on glass spheres for the photocatalytic treatment of tannery wastewater. *J. Colloid Interf. Sci.* 518(2018) 192-199.

[76] G. Saxena, R. Chandra, R.N. Bharagava, in: P. de Voogt (Ed.), *Environmental Pollution, Toxicity Profile and Treatment Approaches for Tannery Wastewater and Its Chemical*

Pollutants, *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology* Volume 240, Springer International Publishing, Cham, 2017, pp. 31-69.

[77] J.H. Franco, B.F. da Silva, E.F.G. Dias, A.A. de Castro, T.C. Ramalho, M.V.B. Zanoni. Influence of auxochrome group in disperse dyes bearing azo groups as chromophore center in the biotransformation and molecular docking prediction by reductase enzyme: Implications and assessment for environmental toxicity of xenobiotics. *Ecotox. Environ. Safe.* 160(2018) 114-126.

[78] P. Hauser, *Advances in Treating Textile Effluent*, IntechOpen2011.

[79] Y. Jiang, P. Xie, G. Liang. Distribution and depuration of the potentially carcinogenic malachite green in tissues of three freshwater farmed Chinese fish with different food habits. *Aquaculture.* 288(1) (2009) 1-6.

[80] M.H.G. Berntssen, R. Hannisdal, L. Buttle, R. Hoogenveen, M. Mengelers, B.G.H. Bokkers, M.J. Zeilmaker. Modelling the long-term feed-to-fillet transfer of leuco crystal violet and leuco malachite green in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Food Addit. Contam. A.* 35(8) (2018) 1484-1496.

[81] P.K. Goel, *Water Pollution: Causes, Effects and Control*, New Age International2006.

[82] F. Hernández-Padilla, M. Margni, A. Noyola, L. Guereca-Hernandez, C. Bulle. Assessing wastewater treatment in Latin America and the Caribbean: Enhancing life cycle assessment interpretation by regionalization and impact assessment sensibility. *J Clean Prod.* 142(2017) 2140-2153.

[83] A.K. Brown, C.S. Wong. Distribution and fate of pharmaceuticals and their metabolite conjugates in a municipal wastewater treatment plant. *Water Res.* 144(2018) 774-783.

[84] A. Göbel, C.S. McArdell, A. Joss, H. Siegrist, W. Giger. Fate of sulfonamides, macrolides, and trimethoprim in different wastewater treatment technologies. *Sci. Total Environ.* 372(2) (2007) 361-371.

[85] N.L. Weinberg, H.R. Weinberg. Electrochemical oxidation of organic compounds. *Chem. Rev.* 68(4) (1968) 449-523.

[86] L.V. Bora, R.K. Mewada. Visible/solar light active photocatalysts for organic effluent treatment: Fundamentals, mechanisms and parametric review. *Renew. Sust. Energ. Rev.* 76(2017) 1393-1421.

- [87] M. Atarod, M. Nasrollahzadeh, S. Mohammad Sajadi. Euphorbia heterophylla leaf extract mediated green synthesis of Ag/TiO<sub>2</sub> nanocomposite and investigation of its excellent catalytic activity for reduction of variety of dyes in water. *J Colloid Interface Sci.* 462(2016) 272-279.
- [88] C. Gattinoni, A. Michaelides. Atomistic details of oxide surfaces and surface oxidation: the example of copper and its oxides. *Surf. Sci. Rep.* 70(3) (2015) 424-447.
- [89] O. Ola, M.M. Maroto-Valer. Review of material design and reactor engineering on TiO<sub>2</sub> photocatalysis for CO<sub>2</sub> reduction. *J. Photoch. Photobio. C.* 24(2015) 16-42.
- [90] P. Raizada, A. Sudhaik, S. Patial, V. Hasija, A.A. Parwaz Khan, P. Singh, S. Gautam, M. Kaur, V.-H. Nguyen. Engineering nanostructures of CuO-based photocatalysts for water treatment: Current progress and future challenges. *Arab. J. Chem.* 13(11) (2020) 8424-8457.
- [91] J.F. Pierson, A. Thobor-Keck, A. Billard. Cuprite, paramelaconite and tenorite films deposited by reactive magnetron sputtering. *Appl. Surf. Sci.* 210(3) (2003) 359-367.
- [92] M. Behera, G. Giri. Inquiring the photocatalytic activity of cuprous oxide nanoparticles synthesized by a green route on methylene blue dye. *Int. J. Ind. Chem.* 7(2) (2016) 157-166.
- [93] E. Lorençon, F.D. Brandão, K. Krambrock, D.C.B. Alves, J.C.C. Silva, A.S. Ferlauto, R.M. Lago. Generation of reactive oxygen species in titanates nanotubes induced by hydrogen peroxide and their application in catalytic degradation of methylene blue dye. *Journal of Molecular Catalysis A: Chemical.* 394(2014) 316-323.
- [94] A.C. Silva, D.Q.L. Oliveira, L.C.A. Oliveira, A.S. Anastácio, T.C. Ramalho, J.H. Lopes, H.W.P. Carvalho, C.E.R. Torres. Nb-containing hematites Fe<sub>2-x</sub>Nb<sub>x</sub>O<sub>3</sub>: The role of Nb<sup>5+</sup> on the reactivity in presence of the H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> or ultraviolet light. *Applied Catalysis A: General.* 357(1) (2009) 79-84.
- [95] A. Surendranath, P.V. Mohanan. Impact of Nanoparticles in Balancing the Ecosystem. *Biointerface Res. Appl. Chem.* 11(3) (2021) 10461-10481.
- [96] T. Russo, K. Alfredo, J. Fisher. Sustainable Water Management in Urban, Agricultural, and Natural Systems. *Water.* 6(12) (2014) 3934-3956.
- [97] V. Novoa, R. Ahumada-Rudolph, O. Rojas, J. Munizaga, K. Sáez, J.L. Arumí. Sustainability assessment of the agricultural water footprint in the Cachapoal River basin, Chile. *ECOL INDIC.* 98(2019) 19-28.
- [98] M. Singh, M. Srivastava, A. Kumar, K.D. Pandey, in: A. Kumar, A.K. Singh, K.K. Choudhary (Eds.), 12 - Biosynthesis of nanoparticles and applications in agriculture, Role of

Plant Growth Promoting Microorganisms in Sustainable Agriculture and Nanotechnology, Woodhead Publishing 2019, pp. 199-217.

[99] J.A. Lemire, J.J. Harrison, R.J. Turner. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications. *Nat. Rev. Microbio.* 11(6) (2013) 371-384.

[100] H.A. Hemeg. Nanomaterials for alternative antibacterial therapy. *Int. J. Nanomed.* 12(2017) 8211-8225.

[101] A. Raghunath, E. Perumal. Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a promise for the future. *Int. J. Antimicrob. Ag.* 49(2) (2017) 137-152.

[102] G.F. Johnson. The Early History of Copper Fungicides. *Agr. Hist.* 9(2) (1935) 67-79.

[103] S. Meghana, P. Kabra, S. Chakraborty, N. Padmavathy. Understanding the pathway of antibacterial activity of copper oxide nanoparticles. *RSC Adv.* 5(16) (2015) 12293-12299.

[104] D. Rehana, D. Mahendiran, R.S. Kumar, A.K. Rahiman. Evaluation of antioxidant and anticancer activity of copper oxide nanoparticles synthesized using medicinally important plant extracts. *Biomed. Pharmacother.* 89(2017) 1067-1077.

[105] A. Waris, M. Din, A. Ali, M. Ali, S. Afridi, A. Baset, A. Ullah Khan. A comprehensive review of green synthesis of copper oxide nanoparticles and their diverse biomedical applications. *Inorg. Chem. Commun.* 123(2021) 108369.

[106] R.A. Andersson, A.R. Eriksson, R. Heikinheimo, A. Mäe, M. Pirhonen, V. Kõiv, H. Hyytiäinen, A. Tuikkala, E.T. Palva. Quorum sensing in the plant pathogen *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*: the role of *expR(Ecc)*. *Mol. Plant Microbe In.* 13(4) (2000) 384-93.

[107] P. Munsch, T. Alatossava, N. Marttinen, J.-M. Meyer, R. Christen, L.J.I.J.o.S. Gardan, E. Microbiology. *Pseudomonas costantinii* sp. nov., another causal agent of brown blotch disease, isolated from cultivated mushroom sporophores in Finland. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 52(6) (2002) 1973-1983.

[108] R. Hernández-León, D. Rojas-Solís, M. Contreras-Pérez, M.d.C. Orozco-Mosqueda, L.I. Macías-Rodríguez, H. Reyes-de la Cruz, E. Valencia-Cantero, G. Santoyo. Characterization of the antifungal and plant growth-promoting effects of diffusible and volatile organic compounds produced by *Pseudomonas fluorescens* strains. *Biol. Control.* 81(2015) 83-92.

[109] A.I. El-Batal, G.S. El-Sayyad, F.M. Mosallam, R.M. Fathy. *Penicillium chrysogenum*-Mediated Mycogenic Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using Gamma Rays for In Vitro Antimicrobial Activity Against Some Plant Pathogens. *J. Clust. Sci.* 31(1) (2020) 79-90.

- [110] K. Paulkumar, G. Gnanajobitha, M. Vanaja, S. Rajeshkumar, C. Malarkodi, K. Pandian, G.J.T.S.W.J. Annadurai. Piper nigrum leaf and stem assisted green synthesis of silver nanoparticles and evaluation of its antibacterial activity against agricultural plant pathogens. *Sci. World J.* 2014(2014).
- [111] P.P.N.V. Kumar, U. Shameem, P. Kollu, R.L. Kalyani, S.V.N. Pammi. Green Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using Aloe vera Leaf Extract and Its Antibacterial Activity Against Fish Bacterial Pathogens. *BioNanoScience.* 5(3) (2015) 135-139.
- [112] G. Jagathesan, P. Rajiv. Biosynthesis and characterization of iron oxide nanoparticles using Eichhornia crassipes leaf extract and assessing their antibacterial activity. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology.* 13(2018) 90-94.
- [113] J.J.J.M.p.p. Coleman. The *Fusarium solani* species complex: ubiquitous pathogens of agricultural importance. *Mol. PLANT Pathol.* 17(2) (2016) 146-158.
- [114] M. Ben Amira, D. Lopez, A. Triki Mohamed, A. Khouaja, H. Chaar, B. Fumanal, A. Gousset-Dupont, L. Bonhomme, P. Label, P. Goupil, S. Ribeiro, V. Pujade-Renaud, J.-L. Julien, D. Auguin, J.-S. Venisse. Beneficial effect of *Trichoderma harzianum* strain Ths97 in biocontrolling *Fusarium solani* causal agent of root rot disease in olive trees. *Biol. Control.* 110(2017) 70-78.
- [115] E. Guevara-Avendano, K.R. Bravo-Castillo, J.L. Monribot-Villanueva, A.L. Kiel-Martinez, M. Ramirez-Vazquez, J.A. Guerrero-Analco, F. Reverchon. Diffusible and volatile organic compounds produced by avocado rhizobacteria exhibit antifungal effects against *Fusarium kuroshium*. *Braz. J. Microbiol.* 51(3) (2020) 861-873.
- [116] C.D.J. García-Avila, F.J. Trujillo-Arriaga, J.A. López-Buenfil, R. González-Gómez, D. Carrillo, L.F. Cruz, I. Ruiz-Galván, A. Quezada-Salinas, N.J.F.E. Acevedo-Reyes. First report of *Euwallacea nr. fornicatus* (Coleoptera: Curculionidae) in Mexico. *Fla. Entomol.* 99(3) (2016) 555-556.
- [117] S. Chandel, R.J.J.o.F. Deepika, O.P. Research. Recent advances in management and control of *Fusarium* yellows in *Gladiolus* species. *J. Fruit Ornam. Plant Res.* 18(2) (2010) 361-380.
- [118] C.Y. Toe, J. Scott, R. Amal, Y.H. Ng. Recent advances in suppressing the photocorrosion of cuprous oxide for photocatalytic and photoelectrochemical energy conversion. *J. Photoch. Photobio. C.* 40(2019) 191-211.

- [119] A. Kumar, A. Thakur, in: S. Rajendran, T.A.N.H. Nguyen, S. Kakooei, M. Yeganeh, Y. Li (Eds.), Chapter 18 - Encapsulated nanoparticles in organic polymers for corrosion inhibition, *Corrosion Protection at the Nanoscale*, Elsevier2020, pp. 345-362.
- [120] J.L. Schafer, E.L. Mudrak, C.E. Haines, H.A. Parag, K.A. Moloney, C. Holzapfel. The association of native and non-native annual plants with *Larrea tridentata* (creosote bush) in the Mojave and Sonoran Deserts. *J. Arid Environ.* 87(2012) 129-135.
- [121] S. Arteaga, A. Andrade-Cetto, R. Cárdenas. *Larrea tridentata* (Creosote bush), an abundant plant of Mexican and US-American deserts and its metabolite nordihydroguaiaretic acid. *J. Ethnopharmacol.* 98(3) (2005) 231-239.
- [122] J.H.C. Cornelissen, S. Lavorel, E. Garnier, S. Díaz, N. Buchmann, D.E. Gurvich, P.B. Reich, H.t. Steege, H.D. Morgan, M.G.A.v.d. Heijden, J.G. Pausas, H. Poorter, A handbook of protocols for standardised and easy measurement of plant functional traits worldwide %J *Australian Journal of Botany*, 2003, pp. 335-380.
- [123] T. He, J.-q. Hua, R.-p. Chen, L. Yu. Adsorption characteristics of methylene blue by a dye-degrading and extracellular polymeric substance -producing strain. *Journal of Environmental Management.* 288(2021) 112446.
- [124] R. Wu, C. Bi, L. Wang, J. Wang, C. Fan, N. Li, M. Wang, F. Shao, G. Chen, Y. Fan. Five functional Cd/Zn-based MOFs constructed from V-shaped tricarboxylate ligand for rapidly selective adsorption and efficiently photocatalytic degradation of hazardous aromatic dyes. *Synthetic Metals.* 277(2021) 116786.
- [125] M.S. Almutairi, M. Ali. Direct detection of saponins in crude extracts of soapnuts by FTIR. *Nat. Prod. Res.* 29(13) (2015) 1271-1275.
- [126] S. Agatonovic-Kustrin, E. Doyle, V. Gegechkori, D.W. Morton. High-performance thin-layer chromatography linked with (bio)assays and FTIR-ATR spectroscopy as a method for discovery and quantification of bioactive components in native Australian plants. *J. Pharmaceut. Biomed.* 184(2020) 113208.
- [127] F.S. Manciu, J. Guerrero, D. Rivera, S.Y. Chang, K.E. Bennet. Combined Theoretical and Experimental Study of Nordihydroguaiaretic Acid - From Traditional Medicine to Modern Spectroscopic Research. *Biointerface Res. Appl. Chem.* 10(6) (2020) 6728-6743.

- [128] S. Javan bakht Dalir, H. Djahaniani, F. Nabati, M. Hekmati. Characterization and the evaluation of antimicrobial activities of silver nanoparticles biosynthesized from *Carya illinoensis* leaf extract. *Heliyon*. 6(3) (2020) e03624.
- [129] J. Johnson, J. Mani, N. Ashwath, M. Naiker. Potential for Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy toward predicting antioxidant and phenolic contents in powdered plant matrices. *Spectrochim. Acta A*. 233(2020) 118228.
- [130] R. Bañuelos-Valenzuela, L. Delgadillo-Ruiz, F. Echavarría-Cháirez, O. Delgadillo-Ruiz, C. Meza-López. Composición química y FTIR de extractos etanólicos de *Larrea tridentata*, *Origanum vulgare*, *Artemisa ludoviciana* y *Ruta graveolens*. *Agrociencia*. 52(2018) 309-321.
- [131] T.K. Patle, K. Shrivastava, R. Kurrey, S. Upadhyay, R. Jangde, R. Chauhan. Phytochemical screening and determination of phenolics and flavonoids in *Dillenia pentagyna* using UV–vis and FTIR spectroscopy. *Spectrochim Acta A*. 242(2020) 118717.
- [132] J. Hayat, M. Akodad, A. Moumen, M. Baghour, A. Skalli, S. Ezrari, S. Belmalha. Phytochemical screening, polyphenols, flavonoids and tannin content, antioxidant activities and FTIR characterization of *Marrubium vulgare* L. from 2 different localities of Northeast of Morocco. *Heliyon*. 6(11) (2020) e05609.
- [133] P.G. Kareru, J.M. Keriko, A.N. Gachanja, G.M. Kenji. Direct detection of triterpenoid saponins in medicinal plants. *AFR. J. Tradit Complement*. 5(1) (2008) 56-60.
- [134] G. Baranović, S. Šegota. Infrared spectroscopy of flavones and flavonols. Reexamination of the hydroxyl and carbonyl vibrations in relation to the interactions of flavonoids with membrane lipids. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*. 192(2018) 473-486.
- [135] S. Kumar. Influence of synthesis strategy on the formation of microspheres of self-assembled CuO rectangular nanorods and hierarchical structures of self-assembled Cu<sub>2</sub>O nanospheres from single precursor (copper (II) acetate monohydrate) and their structural, optical, thermal and magnetic properties. *Mater Chem. Phys*. 258(2021) 123929.
- [136] S. Vasantharaj, S. Sathiyavimal, M. Saravanan, P. Senthilkumar, K. Gnanasekaran, M. Shanmugavel, E. Manikandan, A. Pugazhendhi. Synthesis of ecofriendly copper oxide nanoparticles for fabrication over textile fabrics: Characterization of antibacterial activity and dye degradation potential. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*. 191(2019) 143-149.



- [137] J. Xia, H. Li, Z. Luo, K. Wang, S. Yin, Y. Yan. Ionic liquid-assisted hydrothermal synthesis of three-dimensional hierarchical CuO peachstone-like architectures. *Applied Surface Science*. 256(6) (2010) 1871-1877.
- [138] V.K. Mrunal, A.K. Vishnu, N. Momin, J. Manjanna. Cu<sub>2</sub>O nanoparticles for adsorption and photocatalytic degradation of methylene blue dye from aqueous medium. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*. 12(2019) 100265.
- [139] A.H.B. Dourado, A.G.M. da Silva, F.A.C. Pastroián, R.L. Munhos, A.P. de Lima Batista, A.G.S. de Oliveira-Filho, J. Quiroz, D.C. de Oliveira, P.H.C. Camargo, S.I. Córdoba de Torresi. In situ FTIR insights into the electrooxidation mechanism of glucose as a function of the surface facets of Cu<sub>2</sub>O-based electrocatalytic sensors. *J. Catal.* 375(2019) 95-103.
- [140] A. Lelong, A. Sakli, A. Zeinert, M. Lejeune. Carbon copper thin films for discoloration of indigo carmine. Effect of carbon support on the catalytic activity of copper-based catalyst in CO<sub>2</sub> electror. 148(2018) 136-139.
- [141] C. Jiménez, M.I. Cerrillo, F. Martínez, R. Camarillo, J. Rincón. Effect of carbon support on the catalytic activity of copper-based catalyst in CO<sub>2</sub> electroreduction. *Sep. Purif. Technol.* 248(2020) 117083.
- [142] S. Sadjadi, M.M. Heravi, M. Raja. Combination of carbon nanotube and cyclodextrin nanosponge chemistry to develop a heterogeneous Pd-based catalyst for ligand and copper free C-C coupling reactions. *Carbohyd. Polym.* 185(2018) 48-55.
- [143] S. Rajeshkumar, S. Menon, S. Venkat Kumar, M.M. Tambuwala, H.A. Bakshi, M. Mehta, S. Satija, G. Gupta, D.K. Chellappan, L. Thangavelu, K. Dua. Antibacterial and antioxidant potential of biosynthesized copper nanoparticles mediated through *Cissus arnotiana* plant extract. *J. Photoch. Photobio. B.* 197(2019) 111531.
- [144] R. Sankar, P. Manikandan, V. Malarvizhi, T. Fathima, K.S. Shivashangari, V. Ravikumar. Green synthesis of colloidal copper oxide nanoparticles using *Carica papaya* and its application in photocatalytic dye degradation. *Spectrochim. Acta A.* 121(2014) 746-750.
- [145] S.V. Ramos, P. Cisquini, A.R. Franco, R.C. Nascimento, E.A. Vieira. Morphological changes and kinetic assessment of Cu<sub>2</sub>O powder reduction by non-thermal hydrogen plasma. *Journal of Materials Research and Technology*. (2020).

- [146] F.H. Abdullah, N.H.H. Abu Bakar, M. Abu Bakar. Low temperature biosynthesis of crystalline zinc oxide nanoparticles from *Musa acuminata* peel extract for visible-light degradation of methylene blue. *Optik*. 206(2020) 164279.
- [147] A. Kerour, S. Boudjadar, R. Bourzami, B. Allouche. Eco-friendly synthesis of cuprous oxide (Cu<sub>2</sub>O) nanoparticles and improvement of their solar photocatalytic activities. *Journal of Solid State Chemistry*. 263(2018) 79-83.
- [148] K.N.D. Bandara, K.M.D.C. Jayathilaka, D.P. Dissanayake, J.K.D.S. Jayanetti. Surface engineering of electrodeposited cuprous oxide (Cu<sub>2</sub>O) thin films: Effect on hydrophobicity and LP gas sensing. *Applied Surface Science*. 561(2021) 150020.
- [149] L. Praburaman, J.-S. Jang, G. Muthusamy, S. Arumugam, K. Manoharan, K.-M. Cho, C. Min, S. Kamala-Kannan, O. Byung-Taek. Piper betle-mediated synthesis, characterization, antibacterial and rat splenocyte cytotoxic effects of copper oxide nanoparticles. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*. 44(6) (2016) 1400-1405.
- [150] J. Sackey, A.C. Nwanya, A.K.H. Bashir, N. Matinise, J.B. Ngilirabanga, A.E. Ameh, E. Coetsee, M. Maaza. Electrochemical properties of *Euphorbia pulcherrima* mediated copper oxide nanoparticles. *Materials Chemistry and Physics*. 244(2020) 122714.
- [151] S. Dagher, Y. Haik, A.I. Ayesh, N. Tit. Synthesis and optical properties of colloidal CuO nanoparticles. *Journal of Luminescence*. 151(2014) 149-154.
- [152] K. Vishveshvar, M.V.A. Krishnan, K. Haribabu, S. Vishnuprasad. Green Synthesis of Copper Oxide Nanoparticles Using *Ixiro coccinea* Plant Leaves and its Characterization. *Bionanoscience*. 8(2) (2018) 554-558.
- [153] X. Xu, K. Jia, S. Chen, D. Lang, C. Yang, L. Wang, R. Wu, W. Wang, J. Wang. Ultra-fast degradation of phenolics and dyes by Cu<sub>2</sub>O/Cu catalysts: Synthesis and degradation kinetics. *Journal of Environmental Chemical Engineering*. 9(4) (2021) 105505.
- [154] Z. Li, G. Xie, C. Wang, Z. Liu, J. Chen, S. Zhong. Binder free Cu<sub>2</sub>O/CuO/Cu/Carbon-polymer composite fibers derived from metal/organic hybrid materials through electrodeposition method as high performance anode materials for lithium-ion batteries. *Journal of Alloys and Compounds*. 864(2021) 158585.
- [155] L. Yang, J. Yang, Q. Dong, F. Zhou, Q. Wang, Z. Wang, K. Huang, H. Yu, X. Xiong. One-step synthesis of CuO nanoparticles based on flame synthesis: As a highly effective non-

enzymatic sensor for glucose, hydrogen peroxide and formaldehyde. *Journal of Electroanalytical Chemistry*. 881(2021) 114965.

[156] P.C. Nagajyothi, P. Muthuraman, T.V.M. Sreekanth, D.H. Kim, J. Shim. Green synthesis: In-vitro anticancer activity of copper oxide nanoparticles against human cervical carcinoma cells. *Arab. J. Chem.* 10(2) (2017) 215-225.

[157] X. Zhang, Y. Chu, H. Zhang, J. Hu, F. Wu, X. Wu, G. Shen, Y. Yang, B. Wang, X. Wang. A mechanistic study on removal efficiency of four antibiotics by animal and plant origin precursors-derived biochars. *Science of The Total Environment*. 772(2021) 145468.

[158] S. Gao, Y. Zhang, Z. Yang, T. Fei, S. Liu, T. Zhang. Electrochemical chloramphenicol sensors-based on trace MoS<sub>2</sub> modified carbon nanomaterials: Insight into carbon supports. *Journal of Alloys and Compounds*. 872(2021) 159687.

[159] C. Yu, J. Cui, Y. Wang, H. Zheng, J. Zhang, X. Shu, J. Liu, Y. Zhang, Y. Wu. Porous HKUST-1 derived CuO/Cu<sub>2</sub>O shell wrapped Cu(OH)<sub>2</sub> derived CuO/Cu<sub>2</sub>O core nanowire arrays for electrochemical nonenzymatic glucose sensors with ultrahigh sensitivity. *Applied Surface Science*. 439(2018) 11-17.

[160] D.S.D. Lima, J.C. Cruz, V.A. Luciano, M.A. Nascimento, A.P.C. Teixeira, R.P. Lopes. Enhanced photocatalytic activity of cobalt-doped titanate nanotube heterostructures decorated with Cu<sub>2</sub>O-CuO nanoparticles for organic pollutant degradation under UV and visible irradiation. *Applied Surface Science*. 563(2021) 150313.

[161] P.G. Bhavyasree, T.S. Xavier. Green synthesis of Copper Oxide/Carbon nanocomposites using the leaf extract of *Adhatoda vasica* Nees, their characterization and antimicrobial activity. *Heliyon*. 6(2) (2020) e03323.

[162] J.H. Bang, A. Mirzaei, M.S. Choi, S. Han, H.Y. Lee, S.S. Kim, H.W. Kim. Decoration of multi-walled carbon nanotubes with CuO/Cu<sub>2</sub>O nanoparticles for selective sensing of H<sub>2</sub>S gas. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 344(2021) 130176.

[163] D. Bharathi, M. Diviya Josebin, S. Vasantharaj, V. Bhuvaneshwari. Biosynthesis of silver nanoparticles using stem bark extracts of *Diospyros montana* and their antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Nanostructure in Chemistry*. 8(1) (2018) 83-92.

[164] P. Yugandhar, T. Vasavi, P. Uma Maheswari Devi, N. Savithramma. Bioinspired green synthesis of copper oxide nanoparticles from *Syzygium alternifolium* (Wt.) Walp:

characterization and evaluation of its synergistic antimicrobial and anticancer activity. *Appl. Nanosci.* 7(7) (2017) 417-427.

[165] S. Vasantharaj, S. Sathiyavimal, P. Senthilkumar, F. LewisOscar, A. Pugazhendhi. Biosynthesis of iron oxide nanoparticles using leaf extract of *Ruellia tuberosa*: Antimicrobial properties and their applications in photocatalytic degradation. *J. Photoch. Photobio. B.* 192(2019) 74-82.

[166] S.C. Mali, A. Dhaka, C.K. Githala, R. Trivedi. photocatalytic activity of cuprous oxide *Biotechnology Reports.* 27(2020) e00518.

[167] Udayabhanu, P.C. Nethravathi, M.A. Pavan Kumar, D. Suresh, K. Lingaraju, H. Rajanaika, H. Nagabhushana, S.C. Sharma. *Tinospora cordifolia* mediated facile green synthesis of cupric oxide nanoparticles and their photocatalytic, antioxidant and antibacterial properties. *Mat. Sci. Semicon. Proc.* 33(2015) 81-88.

[168] M. Muthukumar, S. Niranjani, K.S. Barnabas, V. Narayanan, T. Raju, K. Venkatachalam. Green Route Synthesis and Characterization of Cuprous Oxide (Cu<sub>2</sub>O): Visible light Irradiation photocatalytic activity of MB Dye. *Mater. Today-Proc.* 14(2019) 563-568.

[169] S. Banik, A. Pérez-de-Luque. In vitro effects of copper nanoparticles on plant pathogens, beneficial microbes and crop plants. *Span. J. Agric Res.* 15(2) (2017).

[170] I. Morkunas, A. Woźniak, V.C. Mai, R. Rucińska-Sobkowiak, P. Jeandet. The Role of Heavy Metals in Plant Response to Biotic Stress. *Molecules (Basel, Switzerland).* 23(9) (2018) 2320.

[171] R. Villamizar-Gallardo, J.F.O. Cruz, O.O.J.P.A.B. Ortíz-Rodríguez. Fungicidal effect of silver nanoparticles on toxigenic fungi in cocoa. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 51(12) (2016) 1929-1936.

[172] T. Shen, Q. Wang, C. Li, B. Zhou, Y. Li, Y. Liu. Transcriptome sequencing analysis reveals silver nanoparticles antifungal molecular mechanism of the soil fungi *Fusarium solani* species complex. *J. Hazard. Mater.* 388(2020) 122063.

[173] A.A. Malandrakis, N. Kavroulakis, C.V. Chrysikopoulos. Use of copper, silver and zinc nanoparticles against foliar and soil-borne plant pathogens. *Sci. Total Environ.* 670(2019) 292-299.

[174] M. Khatami, R.S. Varma, M. Heydari, M. Peydayesh, A. Sedighi, H. Agha Askari, M. Rohani, M. Baniasadi, S. Arkia, F.J.G.J. Seyedi. Copper oxide nanoparticles greener synthesis

using tea and its antifungal efficiency on *Fusarium solani*. *Geomicrobiol J.* 36(9) (2019) 777-781.

[175] S. Shende, N. Gaikwad, S. Bansod. Synthesis and evaluation of antimicrobial potential of copper nanoparticle against agriculturally important phytopathogens. *Synthesis.* 1(4) (2016) 41-47.

[176] A.F. Oussou-Azo, T. Nakama, M. Nakamura, T. Futagami, M.d.C.M. Vestergaard. Antifungal Potential of Nanostructured Crystalline Copper and Its Oxide Forms. *NANOMATERIALS-BASEL.* 10(5) (2020) 1003.

[177] L.A. Hermida-Montero, N. Pariona, A.I. Mtz-Enriquez, G. Carrión, F. Paraguay-Delgado, G. Rosas-Saito. Aqueous-phase synthesis of nanoparticles of copper/copper oxides and their antifungal effect against *Fusarium oxysporum*. *J. Hazard. Mater.* 380(2019) 120850.

[178] S. Shende, A.P. Ingle, A. Gade, M. Rai. Green synthesis of copper nanoparticles by *Citrus medica* Linn. (Idilimbu) juice and its antimicrobial activity. *World J. Microb. Biot.* 31(6) (2015) 865-873.

[179] A. Arya, K. Gupta, T.S. Chundawat, D. Vaya. Biogenic Synthesis of Copper and Silver Nanoparticles Using Green Alga *Botryococcus braunii* and Its Antimicrobial Activity. *Bioinorg. Chem. Appl.* 2018(2018) 7879403.