

**Mundo Nano**  
**Revista Interdisciplinaria en**  
**Nanociencias y Nanotecnología**

# **Nanomateriales avanzados: desde la síntesis hasta la innovación tecnológica**

Universidad Nacional Autónoma de México





# Mundo Nano Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología

---

Vol. 16, Núm. 31, julio–diciembre 2023

[www.mundonano.unam.mx](http://www.mundonano.unam.mx)

# DIRECTORIO

## UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

Enrique Graue Wiechers  
Rector  
Leonardo Lomelí Vanegas  
Secretario General

Guadalupe Valencia García  
Coordinadora de Humanidades  
William Henry Lee Alardín  
Coordinador de la Investigación Científica  
Jorge Vázquez Ramos  
Coordinador de Vinculación y Transferencia  
Tecnológica

Ma. Herlinda Montiel Sánchez  
Directora ICAT  
Mauricio Sánchez Menchero  
Director CEIICH  
Fernando Rojas Íñiguez  
Director CNYN

Mundo Nano • <http://www.mundonano.unam.mx>

### Editor en jefe

Rodolfo Zanella Specia • <https://orcid.org/0000-0002-2118-5898> • [rodolfo.zanella@icat.unam.mx](mailto:rodolfo.zanella@icat.unam.mx)

### Editores

Gian Carlo Delgado Ramos • <https://orcid.org/0000-0001-6851-9309> • [giandelgado@unam.mx](mailto:giandelgado@unam.mx)

Leonel Cota Araiza • [leonel@ens.cnyunam.mx](mailto:leonel@ens.cnyunam.mx)

### Editor asociado

Mario Rogelio López Torres • [mrlt@unam.mx](mailto:mrlt@unam.mx)

### Editores invitados

Gonzalo Ramírez García • [gonzalo.ramirez@fata.unam.mx](mailto:gonzalo.ramirez@fata.unam.mx) / Karla Oyuky Juárez Moreno • [kjuarez@fata.unam.mx](mailto:kjuarez@fata.unam.mx)

## COMITÉ CIENTÍFICO

María Elena Álvarez-Buyllá  
<https://orcid.org/0000-0002-7938-6473>  
• [eabuylla@gmail.com](mailto:eabuylla@gmail.com)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
Rodolfo Omar Arellano Aguilar  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
Simone Arnaldi  
• [simonearnaldi@gmail.com](mailto:simonearnaldi@gmail.com)  
Universidad de Padova. Italia  
Sergio Fuentes Moyado  
• [fuentes@ens.cnyunam.mx](mailto:fuentes@ens.cnyunam.mx)  
<https://orcid.org/0000-0002-9843-408X>  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
Jesús González Hernández  
• [jesus.gonzalez@cidesi.edu.mx](mailto:jesus.gonzalez@cidesi.edu.mx)  
<https://orcid.org/0000-0002-6906-5465>  
Centro de Ingeniería y Desarrollo Industrial,  
México  
Emmanuel Haro Poniatowski  
• [haro@xanum.uam.mx](mailto:haro@xanum.uam.mx)  
Universidad Autónoma Metropolitana. México

Isaac Hernández Calderón  
<https://orcid.org/0000-0002-7606-4807>  
• [Isaac.Hernandez@fis.cinvestav.mx](mailto:Isaac.Hernandez@fis.cinvestav.mx)  
Centro de Investigación y de Estudios  
Avanzados. México  
Catherine Louis  
Sorbonne Université, UPMC Univ Paris 06.  
Francia  
Eugenio R. Méndez Méndez  
<https://orcid.org/0000-0002-7042-8622>  
• [emendez@cicese.mx](mailto:emendez@cicese.mx)  
Centro de Investigación Científica y de  
Educación Superior de Ensenada. México  
Luis Mochán Backal  
<https://orcid.org/0000-0003-0418-5375>  
• [mochan@em.fis.unam.mx](mailto:mochan@em.fis.unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
José Saniger Blesa  
<https://orcid.org/0000-0001-8024-2541>  
• [jose.saniger@icat.unam.mx](mailto:jose.saniger@icat.unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
Pedro Serena Domingo  
Consejo Superior de Investigaciones

Científicas. España  
Roger Strand  
<https://orcid.org/0000-0001-6159-1586>  
• [roger.strand@svt.uib.no](mailto:roger.strand@svt.uib.no)  
Universidad de Bergen. Noruega  
Julia Tagüeña Parga  
• [jtp@ier.unam.mx](mailto:jtp@ier.unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
Sergio Ulloa  
<https://orcid.org/0000-0002-3091-4984>  
• [ulloa@ohio.edu](mailto:ulloa@ohio.edu)  
Universidad de Ohio. Estados Unidos  
Fern Wickson  
<https://orcid.org/0000-0002-2841-4155>  
GenØk Center for Biosafety. Noruega  
Miguel José Yacamán  
<https://orcid.org/0000-0001-5124-7116>  
• [miguel.yacaman@utsa.edu](mailto:miguel.yacaman@utsa.edu)  
Universidad de Texas en Austin. Estados  
Unidos  
José Roberto Vega-Baudrit  
<https://orcid.org/0000-0002-2002-1744>  
• [jvegab@gmail.com](mailto:jvegab@gmail.com)  
Universidad Nacional Heredia, Costa Rica

## COMITÉ EDITORIAL

Norma Blazquez Graf  
• [blazquez@unam.mx](mailto:blazquez@unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
Ricardo Castaño  
Universidad Distrital Francisco José de  
Caldas, Colombia  
Gabriela Alicia Díaz Guerrero  
<https://orcid.org/0000-0003-2160-2732>  
• [diaz@fisica.unam.mx](mailto:diaz@fisica.unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
Roberto Escudero Derat  
• [escu@unam.mx](mailto:escu@unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Ruben J. Lazos Martínez  
• [rlazos@cenam.mx](mailto:rlazos@cenam.mx)  
Centro Nacional de Metrología. México  
Louis Lemkow  
• [Louis.Lemkow@uab.es](mailto:Louis.Lemkow@uab.es)  
Universidad Autónoma de Barcelona.  
España  
Sofía Liberman Shkolnikoff  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
Paulo Martins  
• [marpaulo@ipt.br](mailto:marpaulo@ipt.br)  
Instituto de Pesquisas Tecnológicas do  
Estado de São Paulo. Brasil  
Aquiñes Negrete Yankelevich  
• [aqny@unam.mx](mailto:aqny@unam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México

Gerko Oskam  
Instituto Politécnico Nacional. México  
Fernando Rojas Íñiguez  
• [frojas@ens.cnyunam.mx](mailto:frojas@ens.cnyunam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
Noboru Takeuchi Tan  
• [takeuchi@ens.cnyunam.mx](mailto:takeuchi@ens.cnyunam.mx)  
Universidad Nacional Autónoma de México.  
México  
Joaquín Tutor Sánchez  
Universidad Pontificia Comillas. España

Isauro Uribe Pineda • [isauribe@unam.mx](mailto:isauribe@unam.mx)  
Editor técnico  
Concepción Alida Casale Núñez  
Cuidado de la edición



Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología, Vol. 16, Núm. 31, julio-diciembre 2023, es una publicación semestral, en versión electrónica, editada por la Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, México, a través del Instituto de Ciencias Aplicadas y Tecnología (ICAT), el Centro de Nanociencias y Nanotecnología (CNYN) y el Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades (CEIICH), Torre II de Humanidades 52 piso, Circuito Escolar, Ciudad Universitaria, Coyoacán, C.P. 04510, Ciudad de México, <http://www.mundonano.unam.mx>, mundonano@unam.mx. Editores responsables: Gian Carlo Delgado Ramos y Mario Rogelio López Torres. Editores invitados: Gonzalo Ramírez García y Karla Oyuky Juárez Moreno. Reserva de Derechos al Uso Exclusivo Núm. 04-2015-062512122500-203, otorgado por el Instituto Nacional del Derecho de Autor, ISSN 2448-5691. Responsable de la última actualización de este número: Isauro Uribe Pineda. Fecha de la última actualización: 30 de junio de 2023. Servicios que indexan a Mundo Nano: Latindex, Periódica, Biblat, DOAJ, REDIB, Conacyt, Scielo-México, Dialnet.

Las opiniones expresadas por los autores no necesariamente reflejan la postura de los editores. Prohibida la reproducción total o parcial de los contenidos e imágenes de la publicación sin la previa autorización por escrito de los editores responsables.



Atribución-NoComercial (CC BY-NC 4.0 Internacional)

# CONTENIDO / CONTENTS

Vol. 16, Núm. 31, julio–diciembre 2023

doi: <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2023.31>

## Nanomateriales avanzados: desde la síntesis hasta la innovación tecnológica

Gonzalo Ramírez García y Karla Oyuki Juárez Moreno  
editores invitados

1e-2e **PRESENTACIÓN / PRESENTATION**  
Karla Oyuky Juárez Moreno y Gonzalo Ramírez García  
*Editores invitados*

1e-2e **EDITORIAL / EDITORIAL**

### ARTÍCULOS DE INVESTIGACIÓN / RESEARCH ARTICLES

1e-20e **Síntesis de nanocompuestos oro-grafeno para la cuantificación electroquímica de peróxido de hidrógeno y glucosa**  
Salvador Fernández, Edgar Cuara, Maiby Valle Orta, Uriel Sierra

1e-23e **Interacciones de nanoestructuras sobre óxido de grafeno**  
C. Rodríguez-González, L. A. Ayala-Fonseca, P. Salas Castillo

1e-17e **Desarrollo y evaluación de un sensor portátil para la detección de  $Hg^{2+}$ , a través de la síntesis verde de AuNP utilizando extracto acuoso de *Sargassum* spp.**  
Gustavo A. Molina Labastida, José Luis López-Miranda,  
Marlen González-Reyna, Rodrigo Esparza Muñoz, Miriam Estevez

1e-19e **Extracción de quitina de *Aspergillus niger* asistida por ondas de choque: caracterización fisicoquímica y eléctrica**  
Blanca E. Millán-Chiu, Eduardo A. Alarcón Flores, Eduardo Ortiz-Olan,  
Francisco Fernández, Achim M. Loske

1e-15e **Lipid bilayer-coated nanoparticles: mimetism for biomedical applications**  
Alejandro Magallanes-Puebla, Luz M. López-Marín

### ARTÍCULOS DE REVISIÓN / REVIEW ARTICLES

1e-14e **Convergencia de la inteligencia artificial y la nanotecnología**  
César Alberto Torres-Solís, Mario Alan Quiroz-Juárez

1e-20e **Estudio de los efectos toxicológicos de los nanoplasticos en células de colon**  
Emmanuel Cortes Roos, Karla Oyuky Juárez Moreno

1e-26e **Los liposomas en nanomedicina: del concepto a sus aplicaciones clínicas y tendencias actuales en investigación**  
Ana Saret Ortega-Galindo, Lucero Díaz-Peralta, Arturo Galván-Hernández,  
Iván Ortega-Blake, Alejandro Pérez-Riascos, Yareli Rojas-Aguirre

- 1e-24e **Breve revisión sobre la síntesis de los nanomateriales más usados como soportes y catalizadores en diversas aplicaciones**  
C. E. Soto-Arteaga, E. D. Gutiérrez-López, Y. Esqueda-Barrón, J. N. Díaz de León
- 1e-14e **Nanopartículas metálicas: una alternativa para combatir la resistencia de especies causantes de la candidiasis**  
Luis Enrique García-Marín, Ernestina Castro-Longoria
- 1e-12e **A biosensing platform based on graphene oxide and photoluminescent probes: advantages and perspectives**  
Diana L. Mancera Zapata, Eden Morales Narváez
- 1e-6e **POLÍTICA EDITORIAL / EDITORIAL POLICY**

---

*Diseño de portada:* Martha Laura Martínez Cuevas  
con base en la representación de una textura de nanomaterial  
realizada por Renat Hismatulina / Adobe Stock.



---

**Correspondencia:** Revista *Mundo Nano*,  
Centro de Investigaciones Interdisciplinarias en Ciencias y Humanidades,  
Torre II de Humanidades 5º piso, Circuito Escolar, Ciudad Universitaria,  
Coyoacán, 04510, Ciudad de México, México.  
Correo-e: [mundonano@unam.mx](mailto:mundonano@unam.mx)

# Presentación

Esta edición de *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* se da en el marco de la celebración del vigésimo aniversario del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la UNAM, y, por lo mismo, se decidió abordar el tema “nanomateriales avanzados: desde la síntesis hasta la innovación tecnológica”.

El número ofrece once artículos agrupados en dos grandes bloques: síntesis de nuevos materiales y sus aplicaciones, así como, estudios fundamentales e innovación tecnológica. En el primer bloque se describen modernos procesos de extracción y preparación de materiales con propiedades fisicoquímicas avanzadas, mismos que han permitido la construcción de dispositivos optoelectrónicos con aplicaciones como nanosensores o soportes catalíticos, celdas solares, almacenadores de energía y estrategias terapéuticas alternativas. Son de gran relevancia los nuevos materiales enfocados al desarrollo de nanosensores para la cuantificación de analitos de interés biomédico y ambiental. Se presentan tres prototipos con interfases electroquímicas u ópticas. Dichos dispositivos fueron contruidos principalmente a partir de materiales nanocarbonosos como el grafeno o los nanotubos de carbono, nanopartículas plasmónicas, de óxidos metálicos, o sus híbridos. Considerando la gran complejidad de los padecimientos clínicos actuales, se han explorado diversas configuraciones de nanomateriales como herramientas terapéuticas o acarreadores de fármacos con capacidad dirigida, sin perder de vista la biocompatibilidad. Estos materiales han alcanzado, a nivel clínico, aplicaciones en el tratamiento de diferentes tipos de cáncer, y se están investigando sus efectos en infecciones patológicas y otros padecimientos. Se destaca su capacidad para superar las limitaciones de las terapias convencionales, haciendo ya vigente la era de la nanomedicina.

Las nuevas configuraciones de los nanomateriales, así como la rápida evolución de sus aplicaciones, hacen necesarios estudios minuciosos sobre los efectos que los nanomateriales sintéticos e incidentales tienen sobre la salud y el medio ambiente. Por ello, en este número se presenta una revisión de diversos estudios toxicológicos que abordan los efectos que los nanoplasticos tienen en la absorción intestinal, en particular, en células de colon. En este mismo contexto, se dan a conocer nuevas estrategias para el biomimetismo, a través de la funcionalización y recubrimiento de nanomateriales utilizando arreglos moleculares complejos como las bicapas lipídicas, lo cual ofrece la oportunidad de generar nuevas estrategias para la entrega de fármacos y vacunas.

Por último, la intersección entre la nanotecnología y la inteligencia artificial pone de manifiesto una ola de innovación que permitirá la sustentabi-

lidad tecnológica basada en el conocimiento de frontera. Es evidente que el autoaprendizaje, los algoritmos y los atributos de la inteligencia artificial ya impulsan no solo el entendimiento de las propiedades de la materia en la escala nanométrica, sino la generación de nanomateriales innovadores mediante la aceleración del proceso de estandarización de parámetros durante la síntesis, además de la implementación en nuevos dispositivos en sistemas complejos.

A manera de reflexión, los trabajos encontrados en este número especial discuten de manera consistente la interrelación de los métodos de síntesis con la estructura y la actividad, resultando en una triada estratégica para el desarrollo de nuevos nanomateriales funcionales. Los nanomateriales referidos se distinguen por su alto rendimiento, potenciado mediante la generación de sitios superficiales estables y activos a escala atómica.

A pesar de lo anterior, los trabajos presentados en esta edición permiten visualizar que la ciencia de nanomateriales en nuestro país tiene algunos retos como el desarrollo de nuevas alternativas sintéticas que no requieran agentes directores de estructura ni tiempos prolongados de reacción, el uso de materias primas renovables, de origen natural, mediante protocolos sustentables o basados en los principios de química verde, y posibilitar la obtención de estos materiales en gran escala. Los nanomateriales avanzados de este tipo se perfilan como pilares de innovaciones tecnológicas que permitirán no solamente afrontar los problemas nacionales emergentes, sino también contribuir a resolver problemas e incógnitas de relevancia internacional.

Queremos agradecer a *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* la oportunidad de coordinar la edición de este número como editores invitados; del mismo modo, a los autores y autoras, así como a los dictaminadores, quienes amablemente participaron y que, con sus comentarios y sugerencias, garantizaron la calidad de las contribuciones publicadas en este número.

Karla Oyuky Juárez Moreno y Gonzalo Ramírez García  
*Editores invitados*

# Editorial

*Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* celebra el vigésimo aniversario del Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada (CFATA) de la UNAM, creado el primero de abril del 2002. Nos complace contar con los doctores Karla Oyuky Juárez Moreno y Gonzalo Ramírez García como editores invitados de este número de la revista, a quienes agradecemos su excepcional trabajo, fundamental para mantener la continuidad y calidad de nuestra publicación.

El CFATA se ha destacado como un centro de investigación multidisciplinario que integra la ciencia básica y aplicada y las orienta al desarrollo tecnológico. Sus directrices exitosas abarcan la ingeniería molecular de materiales, la nanotecnología, la simulación numérica, la inteligencia artificial, la óptica y la fotónica. Estas disciplinas han permitido integrar aplicaciones en nanomedicina, nanosensores, herramientas de diagnóstico, nanotoxicología, autotransporte, física de alimentos, entre otras.

En concordancia con estas líneas de investigación, han sido de especial interés los trabajos dedicados al estudio de nanomateriales emergentes, al desarrollo de procesos sustentables para su producción, que estudien o exploren nuevos fenómenos físicos y químicos, o que proyecten una aplicación específica o innovación tecnológica de frontera.

En *Mundo Nano*, nos esforzamos constantemente por mejorar la calidad editorial de la revista, lo cual ha permitido mantenernos como revista indexada. En 2022, se incorporó a *Dialnet*, el portal de difusión de la producción científica en español, fundado y administrado por la Universidad de la Rioja, España. Recientemente, hemos solicitado la evaluación de la revista para su inclusión en el *Índice de Revistas Certificadas Redalyc*.

Además, muy pronto lanzaremos en el sitio de la revista *Numeralia de NyN en México*, un repositorio vivo de *Mundo Nano* que almacenará información relevante sobre las nanociencias y la nanotecnología en México.

Invitamos a nuestros lectores a consultar el número 32 de la revista (enero-junio de 2024), que ya cuenta con 9 artículos en la sección de publicación continua. En él encontrarán temas que abarcan desde la biosíntesis de nanopartículas de plata, la formación de nanoestructuras luminiscentes, las nanopartículas de óxido de grafeno y las películas a base de quitosano incorporadas con nanopartículas de plata, hasta cuestiones relacionadas con las aplicaciones de nanodiamantes fluorescentes, el papel de las plantas en la síntesis de nanopartículas, la incorporación de nanopartículas de dióxido de titanio en materiales de construcción, las aplicaciones de los nanomateriales utilizados en la agricultura, y los retos y perspectivas para la enseñanza de



las nanociencias y la nanotecnología. Estamos a punto de integrar el contenido definitivo de este número.

Como siempre, nos encontramos atentos a las sugerencias temáticas que nuestros autores(as) y lectores(as) puedan ofrecer para los próximos números de *Mundo Nano*. Y, como es nuestra costumbre, damos la bienvenida a sus comentarios y expectativas para continuar brindando contenidos relevantes y de calidad.

# Síntesis de nanocompuestos oro-grafeno para la cuantificación electroquímica de peróxido de hidrógeno y glucosa<sup>◇</sup>

## Synthesis of gold-graphene nanocomposites for the electrochemical quantification of hydrogen peroxide and glucose

Salvador Fernández,\* Edgar Cuara,\* Maiby Valle Orta,\* Uriel Sierra\*,<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** Electrochemical quantification of biomarkers in fluids frequently employs metallic nanoparticles as detection substrates. The development of quantification materials has evolved in recent decades with the incorporation of graphene materials into measurement systems, generating variants of graphene-nanometal composites. Composite materials take advantage of the great electronic conductivity of graphene and the increase in sensitivity and selectivity that it confers. Graphene oxide and its reduced products have traditionally been used in the manufacture of graphene-metal nanoparticle composites. The trend is explained by the relative ease of synthesis of graphene oxidized materials, however, this ease has as a drawback the loss of electrical properties of the synthesized materials and the possible decrease in their detection characteristics. To avoid these restrictions, ideally, non-oxidized graphene materials should be used as substrates, however their manufacture is not easy. This work reports a method of preparing pristine graphene nanoplatelets and their easy conversion to gold nanoparticle-decorated composites. We describe the use of the compounds as useful substrates for the electrochemical quantification of glucose and hydrogen peroxide in fluids.

**KEYWORDS:** gold nanoparticles, graphene, sensor, hydrogen peroxide, glucose.

**RESUMEN:** La cuantificación electroquímica de biomarcadores en fluidos frecuentemente emplea nanopartículas metálicas como sustratos de detección. El desarrollo de materiales de cuantificación ha evolucionado en las últimas décadas con la incorporación de materiales de grafeno a los sistemas de medición, generando variantes de compuestos de grafeno-nanometales. Los materiales compuestos aprovechan la gran conductividad electrónica del grafeno y el aumento en la sensibilidad y selectividad que les confiere. El óxido de grafeno y productos reducidos de este se han usado tradicionalmente en la manufactura de compuestos de grafeno-nanopartículas metálicas. La tendencia se explica por la relativa facilidad de síntesis de los materiales oxidados de grafeno, sin embargo, esta facilidad tiene como inconveniente la pérdida de propiedades eléctricas de los materiales sintetizados y la posible disminución de sus características de detección. Para evitar estas restricciones, idealmente se deberían de usar como sustratos materiales de grafeno no oxidados, sin embargo, su manufactura no es sencilla. Reportamos

Recibido: 30 de septiembre, 2022. Aceptado: 12 de diciembre, 2022. Publicado: 20 de febrero, 2023.

<sup>◇</sup> Agradecemos al laboratorio Nacional de Materiales Grafénicos-2022, al Dr. Enrique Díaz Barriga Castro por el estudio de imágenes TEM y al Ing. Jesús Alfonso Mercado Silva por el apoyo en el soporte técnico de este trabajo.

\* Centro de Investigación en Química Aplicada, Laboratorio Nacional de Materiales Grafénicos, Saltillo, Coahuila, México.

<sup>†</sup> Autor de correspondencia: uriel.sierra@ciqa.edu.mx



aquí un método de preparación de nanoplaquetas de grafeno prístino y su fácil conversión a compuestos decorados con nanopartículas de oro. Describimos el uso de los compuestos como sustratos útiles para la cuantificación electroquímica de glucosa y peróxido de hidrógeno en fluidos.

**PALABRAS CLAVE:** nanopartículas de oro, grafeno, sensor, peróxido de hidrógeno, glucosa.

## Introducción

La cuantificación de moléculas de interés médico es de utilidad porque permite determinar la presencia de enfermedades o la propensión a estas, posibilitando así su control. En la actualidad, la diabetes mellitus es una enfermedad que afecta a un alto porcentaje de la población mundial y muestra una alarmante tendencia a incrementar en el futuro próximo. Es común que las personas que padecen esta enfermedad recurran al monitoreo continuo de niveles de glucosa presentes en el torrente sanguíneo, el que típicamente se realiza por la medición diaria del metabolito en muestras de sangre extraídas por medio de punciones con lancetas diseñadas para ese fin; usualmente, la muestra extraída se coloca sobre cintillas de detección que contienen materiales capaces de oxidar la glucosa y generar peróxido de hidrógeno ( $H_2O_2$ ), cuya concentración se mide electroquímicamente.

El oro se utiliza con frecuencia en la elaboración de materiales que mimetizan la actividad de enzimas (biozimas) y en diferentes métodos de cuantificación electroquímica en los que históricamente se emplean enzimas como sustratos de detección. Uno de los primeros reportes de uso de nanopartículas de oro (NPsAu) como biozimas para la determinación amperométrica de contenidos de glucosa se debe a Jena y Retna quienes, en el año 2006, describieron la fabricación de una red tridimensional de silicato obtenida por una reacción de hidrólisis y condensación del (3-Mercaptopropil) trimetoxisilano depositada sobre un electrodo de oro (Au) y el autoensamble de nanopartículas de oro sobre los tioles terminales presentes en la red de silicato (Kumar y Raj 2006). El material mostró capacidad de medición de glucosa con una sensibilidad de  $0.179 \text{ nAcm}^{-2}\text{nm}^{-1}$ . Cheng y colaboradores reportaron un método de depósito electroquímico de oro sobre electrodos de carbón vítreo (ECV) a través del cual sintetizaron diferentes nanoestructuras del metal (Cheng *et al.*, 2010); los electrodos con depósitos de estructuras de nano coral de oro mostraron la mayor sensibilidad, alcanzando valores de  $22.6 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$  en solución búfer de PBS a pH 7.4. También, se ha reportado el electrodeposición directa de NPsAu sobre electrodos de carbón vítreo para la determinación de glucosa (Chang *et al.*, 2014). Los investigadores mostraron una sensibilidad de medición de contenidos de glucosa de  $87.5 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ , con un límite de detección de 0.05 mM. En un estudio similar publicado por Shu y colaboradores, en el que se describe el electrodeposición de nanoestructuras dendríticas de oro obtenidas por electrodeposición del metal sobre ECV, se demuestra la capacidad de medición electroquímica de contenidos de glucosa con una sensibilidad reportada de  $190.7 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ , utilizando una solución

búfer de PBS a pH 7.4 (Shu *et al.*, 2014). En el año 2016, Hebié y colaboradores publicaron un artículo donde señalan la influencia del tamaño de nanopartículas (NPs) esféricas de oro (4 – 15 nm) depositadas sobre un ECV; las determinaciones electroquímicas de contenidos de glucosa fueron hechas usando un electrolito de hidróxido de sodio 0.1 M, demostrando que las NPs de menor tamaño, 4.2 nm, tenían mayor capacidad electrocatalítica (Hebié *et al.*, 2016). El depósito sobre ECV de nanotubos o nanoalambres de oro fabricados por depósito galvanostático de sales de oro sobre una plantilla de óxido de aluminio fue descrito por (Tian *et al.*, 2016); el electrodo mostró una sensibilidad de medición de contenidos de glucosa de  $44.2 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$  a un pH de 7.2. En un trabajo publicado por Felix y colaboradores se describe el depósito de híbridos de Au-CuO sobre electrodos de carbón vítreo utilizando la generación *in situ* de nanopartículas de oro en presencia de láminas de óxido cúprico (Felix *et al.*, 2018). Los electrodos modificados se utilizaron para la determinación electroquímica de glucosa en una solución 0.1 M de NaOH; los electrodos revelaron tener una sensibilidad de medición de glucosa de  $3,126.76 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ . Así como se ha demostrado el uso de nanomateriales de oro en la cuantificación electroquímica de glucosa, del mismo modo han sido utilizados en la medición de contenidos de peróxido de hidrógeno. Uno de los primeros artículos sobre el tema es el de Li y colaboradores quienes, en el 2010, reportaron la preparación de compuestos de oro con dióxido de manganeso (Li *et al.*, 2010); los materiales, depositados sobre ECV, mostraron una sensibilidad de medición de contenidos de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de  $5.35 \times 10^{-5} \text{AM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ . El grupo de Won publicó la manufactura de electrodos impresos sobre los que se depositaron nanoesferas o nanocilindros de oro con los que midieron contenidos de  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Won *et al.*, 2011), reportando sensibilidades de medición de 11.13, 54.53, y  $58.51 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$  para los materiales de nanoesferas y de nanocilindros con relaciones de aspecto 1:3 y 1:5, respectivamente. El uso de nanocajas de oro para la cuantificación electroquímica de  $\text{H}_2\text{O}_2$  fue reportado por Zhang y colaboradores (Zhang *et al.*, 2011), los autores mostraron una sensibilidad de medición de peróxido de  $273.83 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ . La utilización de nanoestrellas de oro, sintetizadas por un método de crecimiento auxiliado con semillas de oro en presencia de cloruro de poli(dialildimetil amonio) como estabilizador, fue descrito por Li y colaboradores en la medición de peróxido de hidrógeno, en un búfer neutro de PBS (Li *et al.*, 2013). La preparación y uso de nanocristales bimetalicos de AuM (M = Pd, Rh, Pt) fue descrita por el grupo de Han; la mayor sensibilidad reportada fue de  $195.3 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$  a un potencial de 0.25 V vs SCE (Han *et al.*, 2015). La fabricación de ECV con depósitos de nanocompuestos de varillas de  $\text{SiO}_2$  decoradas con oro, platino o compuestos bimetalicos de ambos fue descrita por Liu y colaboradores (Liu *et al.*, 2018); la sensibilidad de medición de los compuestos de Pt mostró ser de  $110.3 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ , mientras que la de los compuestos de PtAu fue de  $46.7 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ . La preparación de nanocubos de oro, funcionalizados con la proteína citocromo c y depositados sobre un hidrogel entrecruzado de quito-

sano-  $\beta$ -ciclodextrina fue publicada por Manickam y colaboradores (Manickam *et al.*, 2019), la determinación electroquímica de peróxido utilizando este material mostró una sensibilidad de  $1.2 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$  ( $1,200 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ ).

De acuerdo con lo anterior, se puede inferir que existe una relación de la morfología de las NPsAu (nanoesferas, nanocilindros, nanocajas, nanoestrellas, nanocubos, nanopartículas bimetalicas) en la determinación de contenidos de glucosa y  $\text{H}_2\text{O}_2$ , indicando que los resultados de detección son variables, dependiendo del método utilizado en la manufactura de las nanopartículas de oro y su morfología. Los anteriores ejemplos destacan el uso de las nanopartículas de oro en ausencia de sustratos adicionales que intensifiquen su respuesta o sensibilidad de detección. En el año 2004, se inicia el estudio como plataforma de detección electroquímica (Novoselov *et al.*, 2004) del aislamiento del grafeno y de la demostración de sus propiedades de conducción eléctrica. Debido a su gran conductividad eléctrica, el material se ha convertido en uno de los principales componentes de los modernos sistemas y materiales de detección electroquímica. Como es de esperarse, los sustratos de compuestos de nanopartículas de oro con grafeno empezaron a ser de interés, con la expectativa de mejorar la respuesta de los sistemas de cuantificación de glucosa y  $\text{H}_2\text{O}_2$  (Narang *et al.* 2011). Dada la dificultad de obtener grafeno monolaminar o de bajo número de capas, en las investigaciones iniciales se utilizó el óxido de grafeno (GO) o el óxido de grafeno reducido (rGO). Entre los primeros reportes de uso se encuentra el artículo de Yuan y colaboradores, en el que se describe la fabricación de ECV cubierto con óxido de grafeno (GO) y su funcionalización con polietilenimina (PEI) vía la formación de enlaces amídicos y la decoración subsecuente de los materiales por electrodeposición de NPs de oro (Yuan *et al.*, 2014); los electrodos desplegaron una sensibilidad de medición de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de  $460 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ . En un estudio publicado por Pogacean y colaboradores (2015) se comparan las propiedades electrocatalíticas de grafeno dopado con nitrógeno y de compuestos de grafeno reducido decorado con NPs de oro, demostrando la mayor actividad electrocatalítica del grafeno dopado con átomos de nitrógeno. La manufactura de un material tridimensional fabricado por tratamiento de GO con cisteína decorado con nanocilindros de oro fue descrito por Xue y colaboradores (Xue *et al.*, 2015), quienes demostraron que los electrodos hechos con el compuesto presentaban buena sensibilidad de medición de  $\text{H}_2\text{O}_2$ . El grupo de Lv divulgó un sensor no enzimático preparado por electrodeposición de NPs de oro sobre un ECV recubierto con óxido de grafeno reducido (rGO); los electrodos mostraron actividad electrocatalítica y una buena sensibilidad de medición de  $\text{H}_2\text{O}_2$  de  $574.8 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$  (Lv *et al.*, 2016). Así como una variedad de nanocompuestos de oro con materiales de grafeno han sido evaluados en la medición electroquímica de contenidos de peróxido de hidrógeno, materiales parecidos han sido utilizados para determinar contenidos de glucosa en fluidos. Un método de depósito de nanoestructuras de oro generadas por medio de pulsos láser, para depositarlas sobre nanotubos de carbono, fue publicado por Gougis y colaboradores en el año 2014 (Gougis *et al.*, 2014); electrodos fabri-

cados con los materiales fueron utilizados para determinar contenidos de glucosa en un búfer de PBS con un pH de 7.2. La respuesta voltamétrica a la oxidación de glucosa pudo detectar sus contenidos con una sensibilidad de  $25 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ . La decoración de NPs de oro sobre nanolistones de GO fue revelada por el grupo de Ismail (Ismail *et al.*, 2014); los investigadores describieron la fabricación de electrodos de medición colocando los nanolistones oxidados sobre una hoja de carbón seguido del depósito de una suspensión de NPs de oro y el tratamiento térmico a  $400 \text{ }^\circ\text{C}$  de las hojas decoradas. Los electrodos mostraron una sensibilidad de medición de contenidos de glucosa de  $59.1 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ . Via la reacción de GO con pirrol en medio ácido, Xue y colaboradores prepararon un material de rGO funcionalizado con un polímero de pirrol (Xue *et al.*, 2014); el material de PPy/rGO fue posteriormente decorado por reducción *in situ* de  $\text{HAuCl}_4$  con borohidruro de sodio. Los electrodos de medición de glucosa se elaboraron colocando suspensiones de AuNPs/PPy/RGO sobre ECV, con los que lograron determinaciones de glucosa con una sensibilidad de  $123.8 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ . La elaboración de un hidrogel fabricado con un nanohíbrido de rGO-Au fue reportada por Ruiyi y colaboradores (2015); el hidrogel se preparó por mezcla de NPs de oro con GO, reducción con ácido ascórbico y congelamiento unidireccional de la mezcla para obtener un hidrogel después de liofilizar la mezcla. Jeong y colaboradores han reportado la manufactura de un sensor no enzimático de glucosa constituido por una red tridimensional de láminas de grafeno dopado con nitrógeno y nanotubos de carbono. El material se sintetizó por tratamiento hidrotermal ( $180 \text{ }^\circ\text{C}$ , 12 horas) de mezclas de GO con los nanotubos oxidados en presencia de urea; el producto se decoró con NPs de oro preparadas por reducción de  $\text{HAuCl}_4$  con citrato de sodio. La medición de glucosa, con una sensibilidad de  $0.9824 \mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ , se logró empleando electrodos de carbón vítreo sobre los que se colocaron suspensiones de los nanocompuestos preparados (Jeong, 2018).

En lo general, los ejemplos citados describen métodos preparativos relativamente complejos para obtener los nanomateriales de cuantificación electroquímica y/o procedimientos de fabricación complicados que no facilitan la elaboración de los electrodos de medición. Considerando lo anterior, es deseable contar con materiales compuestos capaces de cuantificar electroquímicamente tanto  $\text{H}_2\text{O}_2$  como glucosa y tener métodos simples para prepararlos y utilizarlos.

En este trabajo, presentamos un método eficiente de fabricación de materiales compuestos de nanoplaquetas de grafeno prístino decoradas con nanopartículas de oro. El sencillo procedimiento evita el uso de derivados oxidados de grafeno y la necesidad de prepararlos utilizando mezclas oxidantes que no son medioambientalmente aceptables; el método permite la conversión cuantitativa de grafito a nanoplaquetas de grafeno prístino que pueden ser decoradas con facilidad y alto rendimiento con nanopartículas de oro preparadas *in situ*. La evaluación de los compuestos demostró su utilidad como sustratos de cuantificación electroquímica de contenidos de glucosa y peróxido de hidrógeno en fluidos.

## Metodología

Para realizar la cuantificación de glucosa o  $\text{H}_2\text{O}_2$  se utilizaron nanoplaquetas de grafeno prístino (NPG) producidas por exfoliación de grafito en agua, decorándolas con NPs de oro. Las NPG se obtuvieron por tratamiento de mezclado de alto esfuerzo de corte de suspensiones acuosas de grafito sintético polvo, sin emplear tensoactivos como ayudas de exfoliación. Los nanocompuestos NPG-NPsAu se obtuvieron tratando con agitación magnética una suspensión de nanoplaquetas en etilenglicol con ácido cloroáurico trihidratado; la formación *in situ* de nanopartículas de oro se genera al agregar sosa cáustica a la suspensión (Kurihara *et al.*, 1995).

En el proceso de exfoliación en medio acuoso se emplearon mezclas de grafito sintético polvo y agua, la deslaminación del grafito se logró al someterlo a un tratamiento de mezclado de alto esfuerzo de corte a 8,000 rpm durante una hora. Terminado el tratamiento, la suspensión se filtró y el sólido (NPG) se secó durante 12 horas a 70 °C en un horno eléctrico.

Para preparar las nanopartículas de oro se utilizó el método de reducción de polioles de baja temperatura sin adición de oxidante adicional (Fievet *et al.*, 1989).

Las suspensiones de NPG se prepararon en etilenglicol (EG), mezclándolas con ácido cloroáurico trihidratado. La mezcla se trató por medio de agitación magnética por 60 minutos y, posteriormente, se le agregó una solución de hidróxido de sodio disuelto en EG, permitiendo que la reducción se llevara a cabo durante 60 minutos. Terminada la reducción, la suspensión se filtró al vacío y el sólido se lavó repetidamente (agua, etanol, acetona) para, finalmente, secarlo varias horas a 70 °C en un horno eléctrico.

Las caracterizaciones electroquímicas de los materiales, así como sus respuestas ante la presencia de peróxido fueron realizadas mediante la técnica de voltamperometría cíclica a una velocidad de 50  $\text{mV s}^{-1}$  y un intervalo de medición de 478 – 1,120 mV *vs* SHE, incorporando alícuotas de 200  $\mu\text{L}$  de peróxido de hidrógeno 174 mMol en 200 mL de electrolito. Las respuestas a la presencia de glucosa fueron realizadas mediante la técnica de voltamperometría cíclica a una velocidad de 50  $\text{mV s}^{-1}$  y un intervalo de medición de 478 – 1,120 mV *vs* SHE, incorporando alícuotas de 200  $\mu\text{L}$  de glucosa 200 mMol en 200 mL de electrolito. La determinación de la capacidad de cuantificación de los materiales fue obtenida mediante la regresión lineal de la corriente con respecto a la concentración de glucosa o de peróxido de hidrógeno en disolución, utilizando la técnica de cronoamperometría a un potencial de 810 mV *vs* SHE y un sistema de disco rotatorio a 400 rpm.

La medición de la concentración de peróxido de hidrógeno o glucosa se hizo utilizando un potencióstato “Biologic” SP-50, una celda electroquímica con capacidad de 200 mL equipada con tres electrodos, un contraelectrodo de platino, uno de referencia de Ag/AgCl 3.5 Mol y un electrodo de carbón vítreo a modo de sustrato para la fabricación del electrodo de trabajo. Para medir los

contenidos de  $H_2O_2$ , en la celda electroquímica se introduce un electrolito de PBS 0.1 M ajustado a pH 7; para las determinaciones de contenidos de glucosa a pH 12 se usa una disolución de NaOH 0.05 M.

Los electrodos de trabajo se elaboraron depositando sobre el sustrato de carbón vítreo 5  $\mu$ L de las suspensiones preparadas; el contenido de sólidos de las suspensiones fue de 5 mg/mL usando soluciones de PEDOT-PSS en agua (0.1 mg/mL); a un mililitro de esas mezclas se agregaron volúmenes variables de solución de Nafion. La tinta se trató 10 minutos por inmersión en un baño de limpieza de ultrasonido para, inmediatamente después, colocar volúmenes variables de tinta sobre el ECV. Los electrodos se sometieron a un tratamiento térmico de 60 °C durante 20 min para después ser enfriados hasta temperatura ambiente.

## Reactivos

Se utilizó grafito sintético en polvo (< 20  $\mu$ m),  $H AuCl_4$ , Nafion de Sigma Aldrich; el hidróxido de sodio, acetona, etanol y etilenglicol se adquirieron de Fermont. El PBS (fosfato de potasio dibásico y fosfato de potasio monobásico) por FAGALab. El PEDOT fue preparado por el Laboratorio Nacional de Materiales Gráficos.

## Síntesis de nanoplaquetas de grafeno (NPG) utilizando tratamiento de alto esfuerzo de corte

En un vaso de precipitado de 2 L se colocan 10 g de grafito sintético polvo (Aldrich < 20  $\mu$ m) con 1 L de agua destilada. La mezcla se trata por mezclado de alto esfuerzo de corte utilizando un equipo Ross operado a 8,000 rpm. Después de agitar durante una hora, la suspensión se filtra por gravedad y el sólido se seca a 70 °C durante 12 horas en un horno eléctrico, generando cuantitativamente las NPG.

## Dopado de NPG con NPsAu utilizando reducción *in situ* de suspensiones de NPG y $H AuCl_4$ en etilenglicol utilizando NaOH por agitación magnética

En un matraz de 125 mL se colocan 200 mg de NPG y 35 mg de  $H AuCl_4$  (para formar 0.1 mMol, relación en peso 1:0.05); se añaden 50 mL de etilenglicol (EG) y se agita magnéticamente (300 rpm) durante una hora. Se prepara una solución de 200 mg de NaOH en 10 mL en etilenglicol (EG), agregando 500  $\mu$ L de esta a la suspensión de NPG previamente preparada. Se continúa el mezclado durante 60 minutos adicionales; la suspensión se filtra al vacío y el sólido se lava secuencialmente con agua caliente, etanol y acetona. El sólido se seca 12 horas a 70 °C en horno eléctrico.

## Caracterización

*Difracción de rayos X (XRD)*: los estudios de difracción de rayos X (XRD) de los materiales fueron realizados usando un equipo Bruker D8Advance



ECO. La frecuencia de radiación seleccionada fue de  $k\alpha_1$  de Cu (1.5418 Å), utilizando una fuente de poder de 40 kV y 25 mA.

*Espectroscopía Raman*: los análisis Raman se realizaron en un equipo Xplora (Horiba Scientific) usando un el láser argón-ion de 532 nm.

*Microscopía electrónica de transmisión (TEM)*: los estudios por TEM fueron llevados a cabo en un microscopio de emisión de campo FEI-TITAN-80-300 kV.

*Cuantificación electroquímica*: las caracterizaciones electroquímicas de los materiales, así como sus respuestas ante la presencia de peróxido fueron realizadas mediante la técnica de voltamperometría cíclica a una velocidad de 50 mV s<sup>-1</sup> y un intervalo de medición de 478 – 1,120 mV vs SHE, incorporando alícuotas de 200 µL de peróxido de hidrógeno 174 mMol en 200 mL de electrolito. Las respuestas a la presencia de glucosa fueron adquiridas mediante la técnica de voltamperometría cíclica a una velocidad de 50 mV s<sup>-1</sup> y un intervalo de medición de 478 – 1,120 mV vs SHE, incorporando alícuotas de 200 µL de glucosa 200 mMol en 200 mL de electrolito. La medición de la concentración de peróxido de hidrógeno o glucosa se hizo utilizando un potencióstato “Biologic” SP-50, una celda electroquímica con capacidad de 200 mL equipada con tres electrodos, un contraelectrodo de platino, uno de referencia de Ag/AgCl 3.5 Mol y un electrodo de carbón vítreo (ECV) a modo de sustrato para la fabricación del electrodo de trabajo. Para medir los contenidos de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, en la celda electroquímica se introduce un electrolito de PBS 0.1 M ajustado a pH 7; para las determinaciones de contenidos de glucosa a pH 12 se usa una disolución de NaOH 0.05 M.

Los electrodos de trabajo se elaboraron depositando sobre el sustrato de carbón vítreo 5 µL suspensiones acuosas de los nanocompuestos; el contenido de sólidos de las suspensiones es de 10 mg/mL usando agua destilada como medio de dispersión o soluciones de PEDOT-PSS en agua (0.1 mg/mL). A un mililitro de esas mezclas se agregaron volúmenes variables de solución de Nafion a diferentes porcentajes en peso. La tinta se trató 10 minutos por inmersión en un baño de limpieza de ultrasonido para inmediatamente después colocar volúmenes variables de tinta sobre el ECV. Los electrodos se sometieron a un tratamiento térmico de 60 °C durante 20 min para después ser enfriados hasta temperatura ambiente.

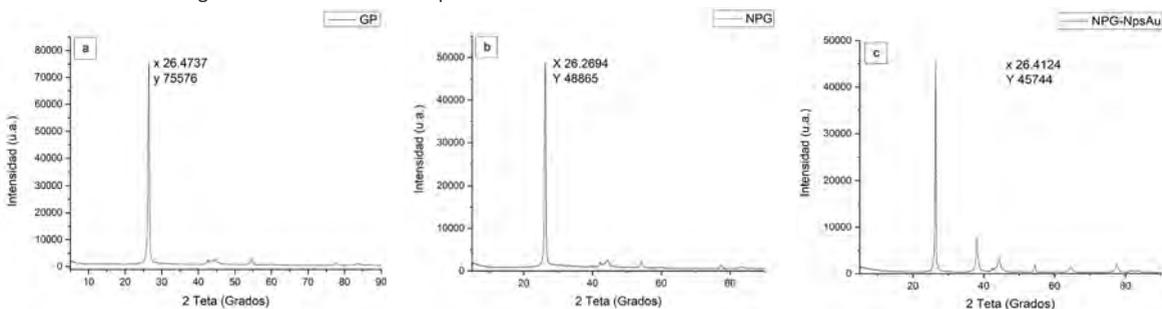
## Resultados

### Difracción de rayos X (XRD)

En la figura 1 se muestran los difractogramas de rayos X (XRD) del grafito de partida polvo (GP), las nanoplaquetas de grafeno (NPG) y el grafito polvo exfoliado por alto esfuerzo de corte decorado con nanopartículas de oro (NPG-NP-sAu). En XRD del GP (figura 1a) se observa una señal en 26.4° 2θ, característica del plano (002) de la estructura cristalina del grafito, que nos indica que su fase cristalina corresponde a la fase 2H (hexagonal). Las NPG (figura 1b) muestran una señal similar en 26.2° 2θ (002), señalando que el material sigue conservando su fase cristalina, sin embargo, su intensidad disminuye en un 60% por el

tratamiento de alto esfuerzo de corte. Esta disminución puede explicarse por la deslaminación parcial del material y su posible reducción de tamaño. Los materiales NPG-NPsAu (figura 1c) muestran picos característicos de reflexión tanto para las NPG  $24.4^\circ$   $2\theta$  (002),  $44.4^\circ$   $2\theta$  (101),  $54.5^\circ$   $2\theta$  (004),  $77.4^\circ$   $2\theta$  (110) (carta 41-1487) y para las NPs-Au en  $38.2^\circ$   $2\theta$  (111),  $64.68^\circ$   $2\theta$  (220),  $77.55^\circ$   $2\theta$  (311) y a  $44.6^\circ$   $2\theta$  (200) (carta 00-001-1172), es de notar que esta última señal del oro se solapa con la señal de las NPG del plano (101). Los resultados obtenidos indican que la estructura cristalina de las NPs-Au corresponde a una estructura cúbica. Comparando los tres difractogramas de rayos X, puede observarse una disminución en la intensidad del plano grafitico (002) de las NPG al compararla con la intensidad de la señal grafitica adquirida del grafito polvo precursor; la intensidad es de 75,57 u.a. para el precursor y de 48,86 u.a. para las NPG, resultado atribuible a la exfoliación parcial del material de partida. El proceso de dopado de las NPG por depósito de las NPsAu bajo las condiciones de formación *in situ* ocasiona un corrimiento del pico (002) de las NPG de  $26.2^\circ$  a  $26.4^\circ$ . El producto obtenido muestra las señales características de las NPsAu, lo cual corrobora la formación del compuesto NPG-NPsAu esperado. Igualmente, se observa una disminución de la intensidad de las NPG de 48,865 u.a. a 45,744 u.a. en el material compuesto con las NPsAu; aunque es una disminución modesta de la intensidad, esta puede deberse a que, durante el proceso de formación de las nanopartículas de oro, los núcleos metálicos precursores de las partículas pudieron intercalarse entre las láminas de grafito que fueron parcialmente separadas durante el tratamiento de exfoliación, seguidamente, los núcleos dieron lugar a la formación de nanopartículas cuyo mayor tamaño separó las láminas sobre las que se formaron.

**FIGURA 1.** Difractogramas de rayos X de: a) grafito polvo; b) nanoplacas de grafito, y, c) nanoplacas de grafito decoradas con nanopartículas de oro.



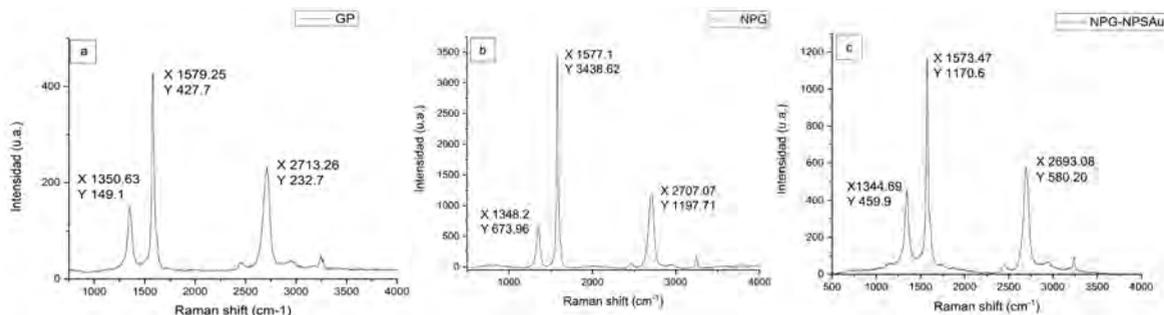
Fuente: Elaboración de los autores.

## Spectroscopía Raman

En la figura 2 se muestran los resultados de la caracterización de los materiales por medio de espectroscopía Raman. Las bandas D ( $1350\text{ cm}^{-1}$ ), G ( $1579\text{ cm}^{-1}$ ) y 2D ( $2713\text{ cm}^{-1}$ ) son características de los materiales de grafito; la señal D de-

termina los defectos presentes en las láminas de los materiales grafénicos, la señal G se atribuye al estiramiento de los enlaces  $Csp^2$  de la estructura grafitica. La señal 2D corresponde a un proceso de alta energía de segundo orden, su posición, forma y la relación de la intensidad con la señal de G, usualmente se utiliza para identificar el número de capas de los materiales de grafeno (Ferrari *et al.*, 2006, Malard *et al.*, 2009, Ferrari 2007, Tang *et al.*, 2010). En términos generales, se conoce que al reducirse el número de capas de los materiales de grafeno, esta señal se desplaza al rojo y adquiere una forma cónica simétrica. Comparando la posición de la señal 2D en los espectros Raman del grafito precursor y el material deslaminado mostrados en la figura 2a y 2b, se puede observar que el primero muestra la señal 2D en  $2713\text{ cm}^{-1}$ , mientras que la posición en el segundo se encuentra en  $2707\text{ cm}^{-1}$ . Este desplazamiento es indicativo del menor número de hojas apiladas en el segundo material, lo cual sugiere la utilidad del tratamiento de mezclado de alto esfuerzo de corte como método de exfoliación. Al comparar la posición de las señales Raman de las nanoplaquetas de grafeno y el compuesto con nanopartículas de oro (NPG-NPsAu) (figuras 2 b y 2c) se observa un desplazamiento de  $14\text{ cm}^{-1}$  al rojo de la señal 2D del material compuesto. La posición de la señal G muestra también un desplazamiento al rojo de  $4\text{ cm}^{-1}$  al comparar los espectros de las nanoplaquetas y el material compuesto. Los resultados son consistentes con las observaciones reportadas en artículos sobre materiales compuestos grafeno-oro. Por ejemplo, los desplazamientos de las señales 2D y G de Raman de materiales compuestos de grafeno-oro han sido documentados por Zheng y colaboradores quienes observan un desplazamiento modesto al rojo en la posición de la banda G y un bastante mayor desplazamiento de la posición de la banda 2D; los cambios observados los atribuyen a la tensión generada sobre la lámina de grafeno por las nanopartículas (Zheng *et al.*, 2015). Por su parte, Wu y colaboradores han reportado que las nanopartículas de oro sobre grafeno dan lugar a un dopaje n y al desplazamiento batocrómico de la señal 2D (Yaping *et al.*, 2012).

**FIGURA 2.** Espectros Raman de: a) grafito polvo; b) nanoplaquetas de grafeno, y, c) nanoplaquetas de grafeno decoradas con nanopartículas de oro.

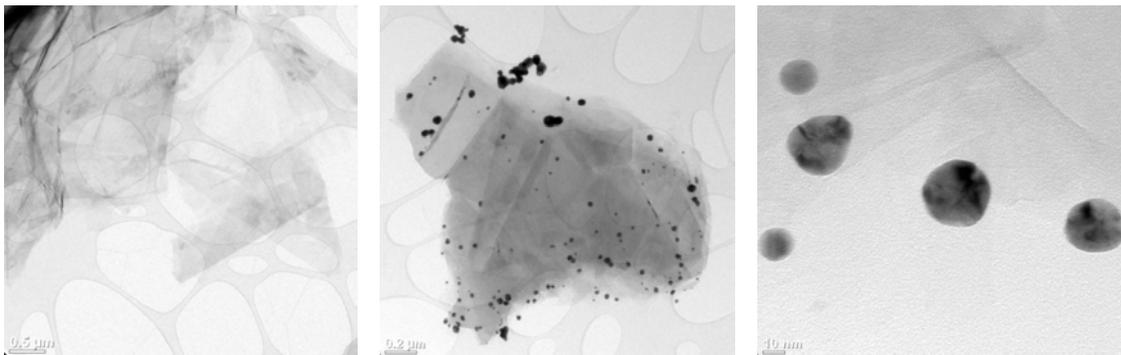


Fuente: Elaboración de los autores.

## Microscopía electrónica de transmisión (TEM)

Las microfotografías adquiridas por microscopía electrónica de transmisión en un equipo FEI TITAN se muestran en la figura 3. En la imagen 3a puede observarse que las NPG obtenidas por el proceso de exfoliación de alto esfuerzo de corte están formadas por materiales de bajo número de capas, con tamaño lateral mayor a  $1\mu\text{m}$  y una clara estructura gráfitica; en la estructura no se observan daños en los bordes de plano ni el plano basal. En la microfotografía mostrada en la figura 3b puede observarse que las NPG-NPsAu tienen NPsAu con tamaños variables, que van desde los 12 hasta los 60 nm. También puede verse que las nanopartículas de oro se encuentran distribuidas sobre el plano basal de la lámina, teniendo mayor población de estas hacia las orillas. Sin embargo, también se observan aglomeraciones de las NPsAu en los bordes del plano, lo cual puede deberse a que las nanopartículas no están lo suficientemente protegidas por los derivados de ácido glicólico formados por reacción de EG con el NaOH. Por último, en la microfotografía mostrada en la figura 3c, se observa que las NPsAu sobre la lámina de NPG presentan una morfología circular; no obstante, una observación cuidadosa de las NPs muestra que en su superficie se encuentran estructuras cúbicas, en concordancia con la fase cristalina detectada por difracción de rayos X, pudiendo concluir que las NPs depositadas están formadas por aglomerados de cristales cúbicos de oro.

**FIGURA 3.** Microscopía electrónica de transmisión (TEM) de: a) nanoplacas de grafeno; b) nanoplacas de grafeno decoradas con nanopartículas de oro, y, c) nanopartículas de oro sobre nanoplacas de grafeno.



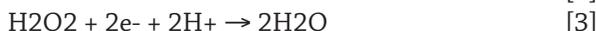
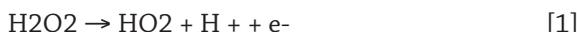
Fuente: Elaboración de los autores.

## Determinación electroquímica de glucosa y peróxido de hidrógeno

La determinación electroquímica del peróxido de hidrógeno se realiza analizando el comportamiento electroquímico para NPG-NPsAu ante la presencia de  $\text{H}_2\text{O}_2$  en diferentes intervalos de concentración. En la gráfica de la figura 4a se muestra la presencia de cuatro señales, en donde la señal I, ubicada a  $706\text{mV}$  vs SHE en dirección catódica, corresponde a la oxidación del  $\text{H}_2\text{O}_2$  mediante un

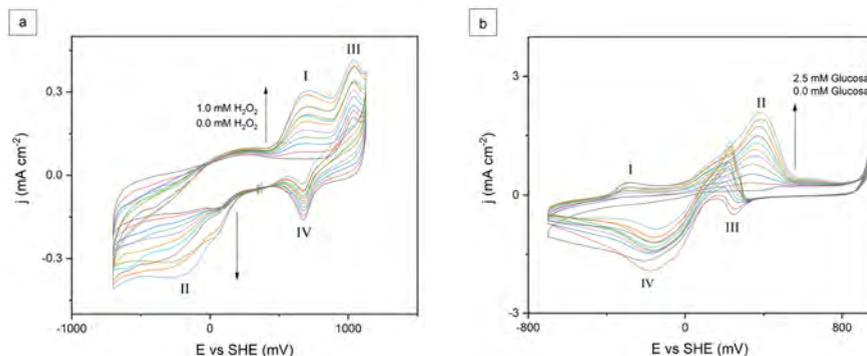
mecanismo de dos pasos [Reacciones [1] y [2]] (Bockris y Oldfield, 1955). De acuerdo con Bockris y Oldfield, dicho mecanismo no se lleva a cabo de manera espontánea lo cual requiere de la aplicación de un sobrepotencial, así como de la participación de partículas metálicas que reduzcan la energía libre a valores negativos durante la reacción de descomposición del peróxido de hidrógeno. La señal II, ubicada alrededor de los -200mV vs SHE, corresponde a la reducción de los productos de oxidación del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en un solo paso [reacción 3] (Bockris y Oldfield 1955, Huq y Makrides 1965) cuyo ancho pico denota un mecanismo complejo durante la reducción de reducción.

Reacciones que ocurren en la cuantificación de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>:



Las señales III y IV ubicadas a 1040 y 675mV vs SHE, respectivamente, corresponden a reacciones intrínsecas del material analizado. Asimismo, la intensidad de la corriente de la señal IV disminuye con respecto a la concentración del H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> lo cual sugiere un aislamiento de los sitios activos donde se lleva a cabo la reacción de reducción de material sintetizado, con respecto a la concentración del analito.

**FIGURA 4.** Serie de voltamperometría cíclica de determinación de: a) peróxido de hidrógeno de 0 a 1mM, y, b) glucosa de 0 a 2.5mM.



Fuente: Elaboración de los autores.

En la figura 4b se muestra el comportamiento electroquímico de NPG-NPsAu ante la presencia de glucosa a diferentes intervalos de concentración. La reacción de oxidación de la glucosa denota un comportamiento complejo, presentando dos señales en sentido anódico, el pico I, ubicado -297mV vs SHE, indica que el proceso de descomposición de la glucosa adopta un mecanismo en donde se genera principalmente ácido glucurónico. No obstante,

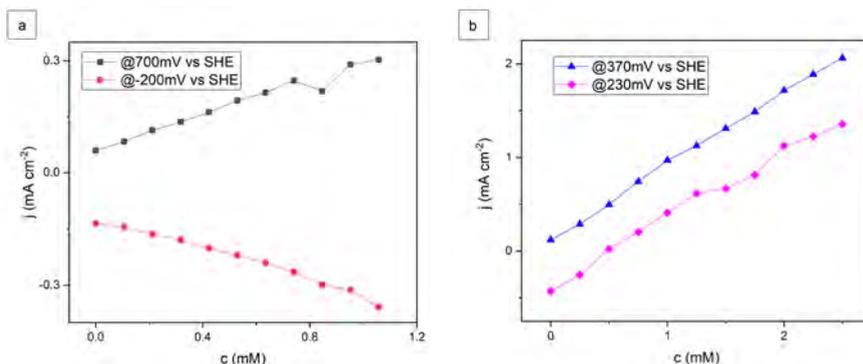
dicha ruta de reacción puede coexistir con otros mecanismos como lo son la producción del ácido glucónico, la 2-desoxi-D-glucosa y el ácido glucárico (Larew y Johnson 1989, Ocón *et al.*, 1986). El pico II, cuyo máximo se encuentra en un potencial de 388 mV vs SHE, comprende procesos de deshidrogenación de los radicales hidroxilos para los carbonos 2 y 3 de la molécula de glucosa, dicho proceso se lleva a cabo mediante la oxidación vía un electrón (Larew y Johnson 1989). Estas reacciones son catalizadas por la presencia de  $\text{Au}(\text{OH})_3$  electroactivo el cual es generado mediante reacciones netamente químicas a partir de las nanopartículas de  $\text{Au}^0$  en medio alcalino (Larew y Johnson 1989, Ocón *et al.*, 1986).

La señal III, ubicada a 227mV en sentido catódico, posee un comportamiento de oxidación atípico conforme a la dirección de barrido. Este tipo de comportamientos se presenta en reacciones de oxidación incompletas durante los incrementos de potencial en dirección anódica. La señal IV, ubicada a -157mV vs SHE, corresponde a la caracterización del sustrato cuya intensidad disminuye con respecto al incremento de la concentración de glucosa, infiriéndose que los sitios de reacción se ven bloqueados ya sea por el analito o por el aumento de los productos de descomposición de este último.

### Curvas de calibración para determinar cuantificación de glucosa y peróxido de hidrógeno

La figura 5a muestra el incremento de las densidades de corriente tanto catódicas (■) como anódicas (●) obtenidas a partir de la descomposición del peróxido de hidrógeno al utilizar NPG-NPsAu como material electro catalítico en una solución 0.1M PBS (Phosphate Buffer Solution) con pH de 7. La grafica muestra que, al incorporar alícuotas de 200 mL y 5 mM de peróxido de hidrógeno, las densidades de corriente asociadas con las reacciones de descomposi-

**FIGURA 5.** a) Regresión lineal correspondiente a las densidades de corriente pico de (■) oxidación del peróxido de hidrógeno y (●) reducción para el peróxido de hidrógeno al incorporar alícuotas de 200uL, y, b) regresión lineal correspondiente a las densidades de corriente pico para la (▲) oxidación de la glucosa y (◆) descomposición de subproductos de la glucosa al incorporar alícuotas de 200uL.



Fuente: Elaboración de los autores.

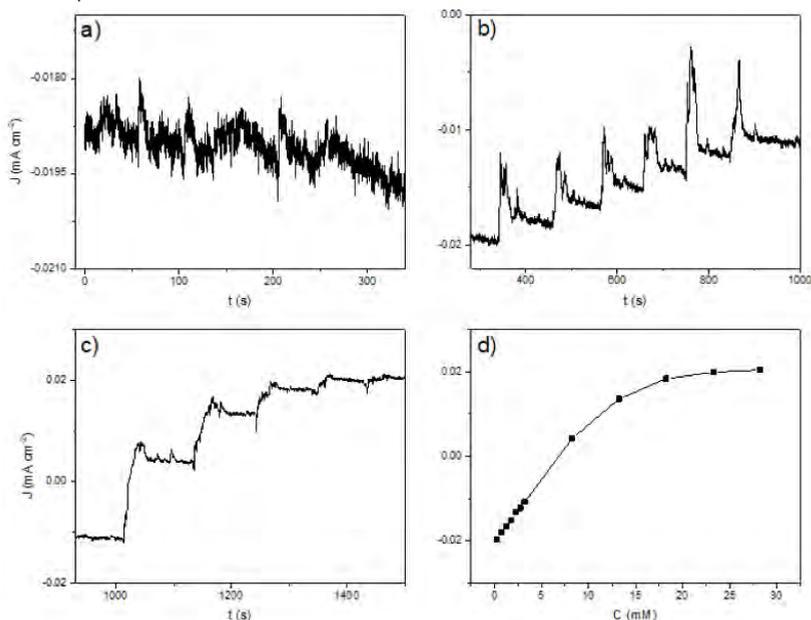
ción del peróxido de hidrógeno incrementan en proporción a la cantidad de analito añadido. Este comportamiento fue aprovechado para la obtención de líneas de calibración a partir de la generación de regresiones lineales, cuyas pendientes definen la sensibilidad de las NPG-NPsAu ante la presencia del peróxido de hidrógeno. Los potenciales utilizados para la generación de estas regresiones lineales fueron de 700mV vs SHE para la oxidación del peróxido (■), obteniendo una sensibilidad de 225.92  $\mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ ; mientras que los procesos de reducción (●), ante la presencia del peróxido de hidrógeno, denotan una sensibilidad de 207.64  $\mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ .

Así como la gráfica anterior, la figura 5b muestra las densidades de corriente del pico anódico (▲) para la descomposición de glucosa, utilizando NPG-NPsAu como sustrato de electrodo y una disolución alcalina de 0.1M NaOH a un pH de 12. Al igual que en el caso anterior se muestra cómo, al incorporar alícuotas de glucosa, la densidad de corriente asociada a la descomposición del analito también incrementa de manera lineal, de forma directamente proporcional a la concentración de glucosa en el medio, a razón de 785.75  $\mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ . Por otro lado, la señal asociada con la oxidación incompleta de la glucosa (◆), la cual se observa a un potencial de 230 mV vs SHE en sentido catódico, tiene una sensibilidad de 714.01  $\mu\text{A}/\text{mMcm}^2$ .

Con el fin de definir los límites de detección para los materiales analizados, se hizo uso de la técnica de cronoamperometría en donde, luego de dejar estabilizar el material por 120 min en una solución de 0.1M NaOH y un potencial de 387 mV vs SHE, se incorporaron de manera intermitente alícuotas de 200  $\mu\text{L}$  con un intervalo de concentración que parte desde  $5 \times 10^{-5}$  y hasta  $5 \times 10^0$  mM. Para este trabajo, el límite inferior de detección (LDI) fue definido como aquella señal cuya intensidad de corriente fuese al menos 3 veces mayor que la señal de ruido, mientras que el límite de detección superior (LDS) fue establecido cuando la intensidad de corriente obtenida decaería en un 5% con respecto a la proyección de linealidad de las mediciones. La figura 6 (cronoamperometría) muestra el incremento de la corriente al incorporar alícuotas de diferentes concentraciones de glucosa comenzando a observar incrementos importantes de corriente a partir de  $5 \times 10^{-1}$  mM, estableciendo dicho valor como el LDI. De igual forma, la gráfica 6d muestra que a partir de la incorporación de la segunda alícuota de  $5 \times 10^0$  mM la corriente resultante se desvía del comportamiento lineal esperado definiendo el LDS en  $2.05 \times 10^{-2}$  M.

En la tabla 1 se hace una comparativa de algunos ejemplos publicados en la literatura científica y se comparan con los resultados de este trabajo. Teniendo en cuenta que el proceso de obtención de estos materiales es más sencillo que los reportados, la sensibilidad obtenida resulta ser competitiva y de interés para la cuantificación de glucosa y peróxido de hidrógeno.

**FIGURA 6.** Cronoamperometría de NPG-NPsAu a 387mV vs SHE en una disolución 0.1M NaOH con incorporación de alícuotas de glucosa de 200uL: a)  $5 \times 10^{-2}$ mM; b)  $5 \times 10^{-1}$  mM; c)  $5 \times 10^0$  mM, y, d) curva de calibración para NPG-NPsAu.



Fuente: Elaboración de los autores.

**TABLA 1.** Ejemplos comparativos de sensibilidad de diferentes metodologías para la determinación de glucosa y peróxido de hidrogeno.

| Electrodo  | Analito                             | Potencial aplicado (vs Ag/AgCl) | Sensibilidad $\mu\text{A mM}^{-1} \text{cm}^{-2}$ | Electrolito | Referencia                       |
|--|-------------------------------------|---------------------------------|---|-------------|----------------------------------|
| NPs-Pt-CNT@Carbón vítreo   | Oxidación de $\text{H}_2\text{O}_2$ | 0.55 V                          | 1,850   | PBS, pH 7.2 | Hrapovic <i>et al.</i> (2004)    |
| Lámina de cobre decorada con AuPd seguido de depósito químico de vapor G. Depósito sobre ITO | Reducción de $\text{H}_2\text{O}_2$ | -0.6 V                          | 186.86  | PBS, pH 7.4 | Thanh <i>et al.</i> (2016)       |
| rGO-Au electrodo serigrafiado  | Reducción de $\text{H}_2\text{O}_2$ | -0.4 V                          | 1,238   | 0.1M PBS    | Dhara <i>et al.</i> (2016)       |
| NPs-Au@Gr/espuma níquel  | Reducción de $\text{H}_2\text{O}_2$ | -0.2 V                          | 47.4  | PBS, pH 7.4 | Wang <i>et al.</i> (2017)        |
| Fibra GO lámina Au   | Reducción de $\text{H}_2\text{O}_2$ | -0.25 V                         | 378.1   | 0.05M PBS   | Peng <i>et al.</i> (2018)        |
| Fibra GO lámina Au   | Oxidación de glucosa                | 0.2 V                           | 1045.9  | 0.1M NaOH   | Peng <i>et al.</i> (2018)        |
| Electrodepósito de NPs-Au en forma de mora sobre espuma de Ni recubierta de rGO              | Reducción de $\text{H}_2\text{O}_2$ | -0.36                           | 51.28   | 0.1M PBS    | Thi <i>et al.</i> (2020)         |
| Película de $\text{TiO}_2$ -NPs-Au-KI@Carbón vítreo  | Oxidación de $\text{H}_2\text{O}_2$ | 0.5 V                           | 19.4  | PBS, pH 7.0 | Thiagarajan <i>et al.</i> (2009) |
| NGP-NPs-Au@Carbón vítreo   | Oxidación de glucosa                | 0.17 V                          | 785.8   | 0.1M NaOH   | Método propuesto                 |
| NGP-NPs-Au@Carbón vítreo   | Oxidación de $\text{H}_2\text{O}_2$ | 0.5 V                           | 225.9   | 0.1M PBS    | Método propuesto                 |
| NGP-NPs-Au@Carbón vítreo   | Reducción de $\text{H}_2\text{O}$   | -0.4 V                          | 207.6   | 0.1M PBS    | Método propuesto                 |

Fuente: Elaboración de los autores.

## Conclusiones

Se ha demostrado que los compuestos de nanoplaquetas de grafeno prístino-nanopartículas de oro tienen respuestas de alta sensibilidad en la medición electroquímica de contenidos de peróxido de hidrógeno y glucosa en fluidos. Las sensibilidades encontradas compiten con las reportadas en artículos en los que se preparan los materiales de medición a través de métodos complejos, utilizando óxido de grafeno como sustrato conductor. En contraste, mostramos un método simple de manufactura de los compuestos con evidentes ventajas preparativas. En el procedimiento se utiliza un método de exfoliación de grafito en agua por medio de mezclado de alto esfuerzo de corte con el que se preparan cuantitativamente nanoplaquetas de grafeno prístino, seguido por el depósito de nanopartículas de oro generadas en presencia de las nanoplaquetas. El procedimiento es medioambientalmente amigable al utilizar solo agua como medio de tratamiento; tiene la ventaja adicional de posibilitar el uso del total del material de grafito tratado, evitando los procedimientos de conversión a óxido de grafeno usados tradicionalmente. Tras la modificación de electrodos de carbón vítreo por depósito de suspensiones de los materiales compuestos, comprobamos que los electrodos modificados muestran buena sensibilidad en la determinación electroquímica de contenidos de peróxido de hidrógeno y glucosa en fluidos.

## Referencias

- Bockris, J. O'M. y Oldfield, L. (1955). The oxidation-reduction reactions of hydrogen peroxide at inert metal electrodes and mercury cathodes. *Transactions of the faraday society*, 51: 249 <https://doi.org/10.1039/TF9555100249>.
- Chang, Gang, Honghui Shu, Kai Ji, Munetaka Oyama, Xiong Liu, Yunbin He. (2014). Gold nanoparticles directly modified glassy carbon electrode for non-enzymatic detection of glucose. *Applied Surface Science*, 288: 524-529. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2013.10.064>.
- Cheng, Ta-Ming, Ting-Kai Huang, Huang-Kai Lin, Sze-Ping Tung, Yu-Liang Chen, Chi-Young Lee y Hsin-Tien Chiu. (2010). (110)-Exposed gold nanocoral electrode as low onset potential selective glucose sensor. *Applied Materials Interfaces*, 2(10): 2773-2780. <https://doi.org/10.1021/am100432a>.
- Dhara, Keerthy, T. Ramachandran, Bipin G. Nair, T.G. (2016). Satheesh Babu Au nanoparticles decorated reduced graphene oxide for the fabrication of disposable nonenzymatic hydrogen peroxide sensor. *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 764: 64-70. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.01.011>.
- Felix, Sathiyathan, Andrews Nirmala Grace, Ramasamy Jayavel. (2018). Sensitive electrochemical detection of glucose based on Au-CuO nanocomposites. *Journal of Physics and Chemistry of Solids*, 122: 255-260. <https://doi.org/10.1016/j.jpics.2018.06.038>.
- Ferrari, A. C. (2007). Raman spectroscopy of graphene and graphite: Disorder, elec-

- tron-phonon coupling, doping and nonadiabatic effects. *Solid State Communications*, 143(1-2): 47-57. <https://doi.org/10.1016/j.ssc.2007.03.052>.
- Ferrari, A. C., Meyer, J. C., Scardaci, V., Casiraghi, C., Lazzeri, M., Mauri, F., Geim, A. K. (2006). Raman spectrum of graphene and graphene layers. *Physical Review Letters*, 97(18). <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.97.187401>.
- Fievet, F., Lagier, J. P., Figlarz, M. (1989). Preparing monodisperse metal powders in micrometer and submicrometer sizes by the polyol process. *MRS Bulletin*, 14(12): 29-34. <https://doi.org/10.1557/S0883769400060930>.
- Gougis, Maxime, Amel Tabet-Aoul, Dongling Ma, Mohamed Mohamedi. (2014). Laser synthesis and tailor-design of nanosized gold onto carbon nanotubes for non-enzymatic electrochemical glucose sensor. *Sensors and Actuators B*. 193: 363-369. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2013.12.008>.
- Han, Tingting, Yuan Zhang, Jiaqiang Xu, Junping Dong, Liu, Chung-Chiun. (2015). Monodisperse AuM (M = Pd, Rh, Pt) bimetallic nanocrystals for enhanced electrochemical detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Sensors and Actuators B*, 207: 404-412. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.10.028>.
- Hebié, Seydou, Teko W. Napporn, Claudia Morais y K. Boniface Kokoh. (2016). Size-dependent electrocatalytic activity of free gold nanoparticles for the glucose oxidation reaction. *Chem Phys. Chem.*, 17: 1454-1462. <https://doi.org/10.1002/cphc.201600065>.
- Hrapovic, Sabahudin, Yali Liu, Keith B. Male y John H. T. Luong. (2004). Electrochemical biosensing platforms using platinum nanoparticles and carbon nanotubes. *Analytical Chemistry*, 76: 1083-1088 <https://doi.org/10.1021/ac035143t>.
- Huq, A. K. M. S., A. C., Makrides. (1965). Hydrogen peroxide reactions on gold electrodes. *Journal of the Electrochemical Society*, 112(7): 756. <https://doi.org/10.1149/1.2423684>.
- Ismail, Nur Syakimah, Quynh Hoa Le, Hiroyuki Yoshikawa, Masato Saito. (2014). Development of non-enzymatic electrochemical glucose sensor based on graphene oxide nanoribbon – gold nanoparticle hybrid. *Electrochimica Acta*, 146: 98-105. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.08.123>.
- Jeong, Hun, Dang Mao Nguyen, Min Sang Lee, Hong Gun Kim, Sang Cheol Ko, Lee Ku Kwac. (2018). N-doped graphene-carbon nanotube hybrid networks attaching with gold nanoparticles for glucose non-enzymatic sensor. *Materials Science and Engineering: C*, 90(1): 38-45. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2018.04.039>.
- Kurihara, L., G. Chow y P. Schoen. (1995). Nanocrystalline metallic powders and films produced by the polyol method. *Nanostructured Materials*, 5(6): 607-613. [https://doi.org/10.1016/0965-9773\(95\)00275-J](https://doi.org/10.1016/0965-9773(95)00275-J).
- Larew, Larry A., Johnson, Dennis C. (1989). Concentration dependence of the mechanism of glucose oxidation at gold electrodes in alkaline media. *Interfacial Electrochemistry*, 262(1-2): 167-182. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(89\)80020-8](https://doi.org/10.1016/0022-0728(89)80020-8).
- Li, Yali, Jia Zhang, Hui Zhu, Fan Yang, Xiurong Yang. (2010). Gold nanoparticles mediate the assembly of manganese dioxide nanoparticles for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> amperometric sensing. *Electrochimica Acta*, 55: 5123-5128. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2010.04.017>.

- Li, Yanxiao, Jie Ma, Zhanfang Ma. (2013). Synthesis of gold nanostars with tunable morphology and their electrochemical application for hydrogen peroxide sensing. *Electrochimica Acta*, 108: 435-440. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2013.06.141>.
- Liu, Wei, Karl Hiekel, René Hübner, Hanjun Sun, Adriana Ferancova, Mika Sillanpää. (2018). Pt and Au bimetallic and monometallic nanostructured amperometric sensors for direct detection of hydrogen peroxide: Influences of bimetallic effect and silica support. *Sensors and Actuators B.*, 255: 1325-1334. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2017.08.123>.
- Lv, Yajie, Fang Wang, Hui Zhu, Xiaorong Zou, Cheng-an Tao y Jianfang Wang. (2016). Electrochemically reduced graphene oxide-nafion/Au nanoparticle modified electrode for hydrogen peroxide sensing. *Nanomater Nanotechnol.*, 6: 30. <https://doi.org/10.5772/63519>.
- Malard, L. M., Pimenta, M. A., Dresselhaus, G. y Dresselhaus, M. S. (2009). Raman spectroscopy in graphene. *Physics Reports*, 473(5-6): 51-87. <https://doi.org/10.1016/j.physrep.2009.02.003>.
- Manickam, Pandiaraj, Arti Vashist, Sekar Madhu, Mohanraj Sadasivam, Arunkumar Sakthivel, Ajeet Kaushik, Madhavan Nair. (2020). Gold nanocubes embedded biocompatible hybrid hydrogels for electrochemical detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Bioelectrochemistry*, 131: 107373. <https://doi.org/10.1016/j.bioelechem.2019.107373>.
- Narang, Jagriti, Nidhi Chauhan y C. S. Pundir. (2011). A non-enzymatic sensor for hydrogen peroxide based on polyaniline, multiwalled carbon nanotubes and gold nanoparticles modified Au electrode. *Analyst*, 136: 4460. <https://doi.org/10.1039/C1AN15543A>.
- Novoselov, K. S., A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva y A. A. Firsov. (2004). Electric field effect in atomically thin carbon films. *Science*, 306(5696): 666-669. <https://doi.org/10.1126/science.1102896>.
- Ocón, P., C. Alonso, R. Celdrán, J. González Velasco. (1986). Study of the electrooxidation of n-propanol on an Au electrode in basic medium. *Interfacial Electrochemistry*, 206(1-2): 179-196. [https://doi.org/10.1016/0022-0728\(86\)90267-6](https://doi.org/10.1016/0022-0728(86)90267-6).
- Peng, Yu, Deqing Lin, J. Justin Gooding, Yuhua Xue, Liming Dai. (2018). Flexible fiber-shaped non-enzymatic sensors with a graphene-metal heterostructure based on graphene fibres decorated with gold nanosheets. *Carbon*, 136: 329-336. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2018.05.004>.
- Pogacean, Florina, Crina Socaci, Stela Pruneanu, Alexandru R. Biris, Maria Coros, Lidia Magerusan, Gabriel Katona, Rodica Turcu, Gheorghe Borodi. (2015). Graphene based nanomaterials as chemical sensors for hydrogen peroxide – A comparison study of their intrinsic peroxidase catalytic behavior. *Sensors and Actuators B.*, 213: 474-483. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.02.124>.
- Ruiyi, Li, Zhang Juanjuan, Wang Zhouping, Li Zaijun, Liu Junkang, Gu Zhiguo, Wang Guanglia. (2015). Novel graphene-gold nanohybrid with excellent electrocatalytic performance for the electrochemical detection of glucose. *Sensors and Actuators B.*, 208: 421-428. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.11.004>.
- Shu, Honghui, Leilei Cao, Gang Chang, Hanping He, Yuting Zhang, Yunbin He. (2014). Direct electrodeposition of gold nanostructures onto glassy carbon

- electrodes for non-enzymatic detection of glucose. *Electrochimica Acta*, 132: 524-532. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2014.04.031>.
- Tang, B., Guoxin, H. y Gao, H. (2010). Raman spectroscopic characterization of graphene. *Applied Spectroscopy Reviews*, 45(5): 369-407. <https://doi.org/10.1080/05704928.2010.483886>.
- Thanh, Tran Duy, Jayaraman Balamurugan, Seung Hee Lee, Nam Hoon Kim, Joong Hee Lee. (2016). Novel porous gold-palladium nanoalloy network-supported graphene as an advanced catalyst for non-enzymatic hydrogen peroxide sensing. *Biosensors and Bioelectronics*, 85: 669-678. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.05.075>.
- Thi, M.L.N., V.T. Pham, Q.B. Bui, P.H. Ai-Le, H.-T. Nhac-Vu. (2020). Novel nanohybrid of blackberry-like gold structures deposited graphene as a free-standing sensor for effective hydrogen peroxide detection. *Journal of Solid State Chemistry*, 286: 121299. <https://doi.org/10.1016/j.jssc.2020.121299>.
- Thiagarajan, Soundappan, Buo Wei Su, Shen Ming Chen. Nano TiO<sub>2</sub>-Au-KI film sensor for the electrocatalytic oxidation of hydrogen peroxide. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 136(2): 464-471. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2008.11.009>.
- Tian, Taolei, Junping Dong, Jiaqiang Xu. (2016). Direct electrodeposition of highly ordered gold nanotube arrays for use in non-enzymatic amperometric sensing of glucose. *Microchimica Acta*, 183: 1925-1932. <https://doi.org/10.1007/s00604-016-1835-2>.
- Wang, Xiaojuan, Xinli Guo, Jian Chen, Chuang Ge, Hongyi Zhang, Yuanyuan Liu, Li Zhao, Yao Zhang, Zengmei Wang, Litao Sun. (2017). Au nanoparticles decorated graphene/nickel foam nanocomposite for sensitive detection of hydrogen peroxide. *Journal of Materials Science and Technology*, 33: 246-250. <https://doi.org/10.1016/j.jmst.2016.11.029>.
- Won, Yu-Ho, Keon Huh, Lia A. Stanciu. (2011). Au nanospheres and nanorods for enzyme-free electrochemical biosensor applications. *Biosensors and Bioelectronics*, 26: 4514-4519. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.05.012>.
- Xue, Chenming, Chih-Chien Kung, Min Gao, Chung-Chiun Liu, Liming Dai, Augustine Urbas, Quan Li. (2015). Facile fabrication of 3D layer-by-layer graphene-gold nanorod hybrid architecture for hydrogen peroxide based electrochemical biosensor. *Sensing and Bio-Sensing Research*, 3: 7-11. <https://doi.org/10.1016/j.sbsr.2014.10.008>.
- Xue, Kaiwen, Shenghai Zhou, Hongyan Shi, Xun Feng, Hua Xin, Wenbo Song. (2014). A novel amperometric glucose biosensor based on ternary gold nanoparticles/polypyrrole/reduced graphene oxide nanocomposite. *Sensors and Actuators B*, 203: 412-416. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.07.018>.
- Yaping Wu; Wei Jiang; Yujie Ren; Weiwei Cai; Wi Hyoung Lee; Huifeng Li; Richard D. Piner; Cody W. Pope; Yufeng Hao; Hengxing Ji; Junyong Kang; Rodney S. Ruoff (2012). *Tuning the doping type and level of graphene with different gold configurations*. <https://doi.org/10.1002/sml.201200520>.
- Yuan, Baiqing, Chunying Xu, Lin Liu, Yunfeng Shi, Sujuan Li, Renchun Zhang, Daojun Zhang. (2014). Polyethylenimine-bridged graphene oxide-gold film on glassy carbon electrode and its electrocatalytic activity toward nitrite and hydrogen

peroxide. *Sensors and Actuators B.*, 198: 55-61. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2014.03.014>.

Zhang, Yue, Yujing Sun, Zhelin Liu, Fugang Xu, Kang Cui, Yan Shi, Zhiwei Wen, Zhuang Li. (2011). Au nanocages for highly sensitive and selective detection of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. *Journal of Electroanalytical Chemistry* 656: 23-28. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2011.01.037>.

Zheng, Xiaoming; Chen, Wei; Wang, Guang; Yu, Yayun; Qin, Shiqiao; Fang, Jingyue; Wang, Fei; Zhang, Xue-Ao (2015). The Raman redshift of graphene impacted by gold nanoparticles. *AIPA Advances*, 5(5): 057133. <https://doi.org/10.1063/1.4921316>.

# Interacciones de nanoestructuras sobre óxido de grafeno

## Interactions of nanostructures on graphene oxide

Rodríguez-González, C.,\* Ayala-Fonseca, A.,\*\* Salas, P.\*\*,<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** In the early history of graphene, graphene oxide represented only an intermediate step in the methodology for obtaining graphene sheets. However, subsequent results of the investigation of this material showed that graphene oxide exhibits a structure with defects and functional groups that give it unique properties. Given the versatility of its surface, different functionalization routes have been proposed that have resulted in obtaining a wide variety of hybrid materials. In this work, we present the obtaining and characterization of three functionalized materials based on graphene oxide sheets decorated with nanoparticles of silver, titanium dioxide and hydroxyapatite. These nanostructures were characterized by X-ray diffraction, Raman spectroscopy and transmission electron microscopy. In particular, the improvement in the thermal properties of oxidized graphene-silver nanoparticles was studied through thermogravimetric analysis (TGA), the improvement of Raman signals through the chemical mechanism of SERS in the material decorated with titanium dioxide and a MTT cell viability assay, in which it was observed that the oxidized graphene decorated with hydroxyapatite obtained using urea did not present cytotoxicity.

**KEYWORDS:** graphene oxide, nanoparticles, titanium dioxide, cytotoxicity, SERS.

**RESUMEN:** En el comienzo de la historia del grafeno, el óxido de grafeno representaba únicamente un paso intermedio en la metodología para la obtención de láminas de grafeno. Sin embargo, resultados posteriores en la investigación de este material mostraron que el óxido de grafeno exhibe una estructura con defectos y grupos funcionales que le confieren propiedades únicas. Dada la versatilidad de su superficie, se han propuesto distintas vías de funcionalización que han resultado en la obtención de gran variedad de materiales híbridos. En este trabajo, presentamos la obtención y caracterización de tres materiales funcionalizados basados en láminas de óxido de grafeno decoradas con nanopartículas de plata, dióxido de titanio e hidroxiapatita. Estas nanoestructuras fueron caracterizadas mediante difracción de rayos X, espectroscopía Raman y microscopía electrónica de transmisión. De forma particular se estudió la mejora en las propiedades térmicas del grafeno oxidado-nanopartículas de plata mediante análisis termogravimétrico (TGA), la mejora de las señales Raman mediante el mecanismo químico de SERS en el material decorado con dióxido de titanio y se realizó un ensayo de viabilidad celular MTT, en el que se observó que no presentaba citotoxicidad el grafeno oxidado decorado con hidroxiapatita obtenido al usar urea para la precipitación del biocerámico.

**PALABRAS CLAVE:** grafeno oxidado, nanopartículas, dióxido de titanio, citotoxicidad, SERS.

## Introducción

El carbono es un elemento cautivador. Presenta propiedades únicas que le permiten formar distintos tipos de enlaces y con ello una gran variedad de compuestos

---

Recibido: 27 de septiembre, 2022. Aceptado: 9 de enero, 2023. Publicado: 21 de febrero, 2023.

\* Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica, Querétaro, México.

\*\* Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Querétaro, México.

<sup>†</sup> Autor de correspondencia: psalas@fata.unam.mx

consigo mismo y con otros elementos. Adicionalmente, el carbono puede existir en distintas formas o estructuras conocidas como alótropos. Los alótropos más comunes son el grafito y el diamante. Sin embargo, en las últimas décadas el inventario de estos alótropos se ha enriquecido con distintos descubrimientos. La lista agregó, en 1985, la agrupación de 60 átomos de carbono en forma de balón de fútbol conocidos como fullerenos; posteriormente, en 1991, se incorporó la forma alargada de estos balones conocida como nanotubos de carbono. Finalmente, en 2004, logró aislarse una única hoja de grafito que permaneció estable bajo condiciones ambientales conocida como grafeno. Es, precisamente, esta última forma alotrópica la que sustenta la materia de este documento.

## Grafeno

El grafeno, además de ser famoso, es un material bastante elegante, compuesto por un único elemento: el carbono, el cual se localiza en cada uno de los vértices de anillos fusionados con arreglo hexagonal que dan lugar a una estructura tipo panal de abejas. Este tejido hexagonal extendido, con grosor de un solo átomo, es el que permite que se le identifique como una lámina bidimensional, plana, aunque con ligeras ondulaciones. Sin embargo, la existencia de una capa individual de grafito, que además poseyera un solo átomo de espesor, se antojaba, más bien, imposible, puesto que se creía que una estructura con estas características se plegaría de forma espontánea. Sorprendentemente, en 2004, Andre Geim y Konstantin Novoselov lograron obtener, en lo que ellos mismos denominaron “el experimento del viernes por la noche”, muestras reproducibles de hojuelas de grafeno (Draghi, 2022). La obtención de este material esquivo permitió corroborar las propiedades que le habían sido predichas teóricamente, las cuales se asocian, esencialmente, con su bidimensionalidad y entramado hexagonal.

Entre estas propiedades se encuentra una impresionante conductividad eléctrica, una elevada fortaleza mecánica y flexibilidad, la capacidad de propagar el calor dos veces mejor que el diamante (Berger, 2022). Siendo la fuerza de los enlaces covalentes entre los átomos de carbono que conforman la estructura del grafeno lo que proporciona en gran medida las inusuales propiedades térmicas y mecánicas de este material (Pop *et al.*, 2012). Adicionalmente, dado el hecho de que la red cristalina del grafeno se extiende de forma tal que cada átomo de carbono se encuentra en la superficie y está expuesto al medio circundante, este material presenta una elevada área superficial específica, lo cual significa que ambas caras son susceptibles de interactuar con su alrededor (Sanchez *et al.*, 2012). La comprobación de estas propiedades despertó un profundo interés que rápidamente se volcó en la búsqueda de estrategias de síntesis que permitieran obtener láminas de grafeno en mayores cantidades. Un método atractivo para tal fin fue la obtención de derivados de grafeno a partir de la oxidación química y exfoliación del grafito. Uno de estos derivados, el óxido de grafeno, es considerado la ruta más prometedora pues, mediante su reducción química o térmica, se obtienen cantidades importantes (aunque con algunos defectos estructurales) de láminas de grafeno. Es interesante observar que el óxido de grafeno es un ma-

terial con propiedades y características estructurales haciéndolo por sí mismo atractivo y del cual hablaremos en la siguiente sección.

### Grafeno oxidado

El grafeno oxidado es una variante del grafeno y, en términos generales, puede visualizarse como una lámina que contiene tanto regiones conjugadas como regiones oxidadas. Las regiones conjugadas son áreas en las que la red de carbono se mantiene intacta mientras que las regiones oxidadas presentan abundantes grupos funcionales covalentemente unidos a los átomos de carbono. Entre los que se encuentran grupos carboxilo, lactona y carbonilo distribuidos en el borde de la lámina, mientras que abundantes grupos epóxido e hidroxilo adornan los planos basales de la hoja (A. Zhou *et al.*, 2022).

La presencia de grupos oxigenados interrumpe la red altamente ordenada de hexágonos, siendo esto la causa de que el grafeno oxidado exhiba una baja conductividad eléctrica y térmica (Ajala *et al.*, 2022). Más allá de estos inconvenientes, este nanomaterial conserva una elevada área superficial y una notable fortaleza mecánica y es la presencia de funcionalidades oxigenadas la que le confiere nuevas e interesantes propiedades fisicoquímicas (PA *et al.*, 2022); siendo las zonas que conservan intacta la conjugación aromática en el grafeno oxidado las facilitadoras de los contactos hidrofóbicos y las proveedoras de estabilidad mecánica (Dhamodharan *et al.*, 2022). Entre estas propiedades podemos mencionar una mejor dispersión del óxido de grafeno en agua y en otros solventes. La reactividad química también se ve beneficiada al aprovechar los grupos funcionales de las regiones oxidadas como sitios de anclaje para otras especies químicas, permitiendo que sus propiedades puedan ser ajustadas a la medida y facilitando el desarrollo de nanocompositos los cuales implican la integración de dos o más componentes distintos resultando en un material con propiedades mejoradas. Para que las características de los componentes puedan ser aprovechadas, se requiere de una buena dispersión y de un adecuado contacto entre los materiales (Amir *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2018). Adicionalmente, para aplicaciones biológicas la presencia de grupos funcionales en el grafeno oxidado puede facilitar la internalización celular, además, presenta propiedades antibacterianas específicas las cuales están asociadas con la capacidad de este material para actuar como aceptor de electrones gracias a dichas funcionalidades (Seifalian y Alexander, 2022).

Con estos antecedentes, propusimos utilizar las láminas de grafeno oxidado como plataforma de anclaje químico, aprovechando los grupos funcionales en su superficie como sitios de nucleación para nanopartículas plata y de dióxido de titanio y para la decoración con nanoestructuras de hidroxipatita.

### Plata

Las nanopartículas metálicas, en especial las de plata, exhiben interesantes propiedades asociadas con su dimensionalidad y con su elevada área superficial. La notoriedad de estas nanopartículas está vinculada con la actividad antibacteriana bien documentada de la plata iónica, con su excelente con-

ductividad eléctrica y térmica, con sus propiedades ópticas y con la dispersión Raman mejorada (Calderón-Jiménez *et al.*, 2017). Sin embargo, estas nanopartículas tienen la tendencia a agregarse cuando se encuentran en dispersión, resultando en una disminución de sus propiedades y en la pérdida de estabilidad. Dada su particular configuración, el óxido de grafeno es utilizado como una plataforma para depositar las nanopartículas de plata permitiendo que estas se distribuyan a lo largo de la hoja, conservando, con ello, las propiedades asociadas con el nivel nanométrico.

## TiO<sub>2</sub>

El dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>) es un material semiconductor y fotocatalítico que ha recibido mucha atención debido a su estabilidad química, baja toxicidad, abundancia y asequibilidad (Luo *et al.*, 2018). Entre sus áreas de aplicación se encuentra el desarrollo de tecnologías como las celdas solares de tipo Graetzel gracias a su capacidad de ser excitado a partir de la luz solar. Sin embargo, este material presenta una rápida recombinación de los pares electrón-hueco fotogenerados, lo cual reduce su eficiencia cuántica y limita su implementación. Para superar esta dificultad, el acoplamiento de TiO<sub>2</sub> con otros materiales ha demostrado ser una estrategia eficaz para reducir las tasas de recombinación de pares electrón-hueco y mejorar su desempeño. En este sentido, la alta área superficial y la movilidad de los transportadores electrónicos que presenta el grafeno ha resultado en una mejora de las propiedades electrónicas y fotocatalíticas del TiO<sub>2</sub> (Ayala-Fonseca *et al.*, 2020; Kusiak-Nejman *et al.*, 2017; Tayel *et al.*, 2018; Q. Zhou *et al.*, 2016).

## Hidroxiapatita

Los huesos están formados por un mineral, la apatita, y un componente orgánico, el colágeno. La apatita biológica se caracteriza por ser deficiente en hidroxilo y rica en carbonatos y por presentar una relación Ca/P menor a 1.67. Interesantemente, la hidroxiapatita sintética presenta similitud química y cristalográfica con la apatita de los huesos por lo cual se le ha empleado como cubierta dental bioactiva, en implantes ortopédicos, en la reparación o sustitución de tejidos duros, para facilitar la adhesión y proliferación celular en la cubierta de prótesis, y otras aplicaciones biomédicas. No obstante, una de las limitaciones de la hidroxiapatita radica en sus propiedades mecánicas al presentar una baja resistencia a la fractura y ser difícil de moldear. Una estrategia para afrontar esta deficiencia es el uso de materiales de refuerzo. En este sentido, los grupos funcionales y la superficie del grafeno oxidado facilita la distribución de la hidroxiapatita nanométrica y mejora sus propiedades mecánicas (Li *et al.*, 2018; Szczeń *et al.*, 2017).

## Métodos de síntesis

Distintas estrategias han sido exploradas para la síntesis y el anclaje simultáneo de nanopartículas en la superficie del óxido de grafeno. En este traba-

jo se abordaron, principalmente, la reducción química *in situ* y las estrategias hidrotérmal y solvotérmal.

### Método de reducción química *in situ*

Las nanopartículas de plata usualmente se sintetizan mediante la técnica de reducción química empleando distintos agentes reductores orgánicos e inorgánicos. En términos generales, estos agentes reducen las sales de plata ( $\text{Ag}^+$ ) y conducen a la formación de plata metálica  $\text{Ag}^0$ . La plata metálica se agrupa en racimos y, durante la etapa de crecimiento, estos se ordenan y forman las nanopartículas. Esta técnica también suele requiere de un agente estabilizador para proteger las nanopartículas de su aglomeración (Irvani *et al.*, 2014; Vega-Baudrit *et al.*, 2019).

El método de reducción *in situ* facilita que las nanopartículas de plata se formen directamente en la superficie del grafeno oxidado. La reducción *in situ* puede ser química o biológica; al utilizar reactivos químicos como agentes reductores o estabilizadores hablamos de reducción química *in situ* y cuando se usan derivados de plantas, microorganismos o enzimas nos referimos a la reducción biológica *in situ* (Bao *et al.*, 2022). Dentro de la reducción biológica *in situ*, el uso de extractos de plantas tiene por ventajas la presencia de una variabilidad de metabolitos que pueden promover la reducción de los iones de plata, la disponibilidad y el manejo seguro de estos extractos (Chung *et al.*, 2016). Entonces, propusimos el uso del extracto de las hojas de geranio como reductor en la síntesis de nanopartículas de plata sobre grafeno oxidado, buscando mejorar la dispersión y estabilidad de estas nanoestructuras.

### Método hidrotérmal/solvotérmal

El proceso hidrotérmal consiste en una reacción química efectuada en una mezcla acuosa de precursores que se coloca en un recipiente sellado, casi siempre de acero inoxidable revestido con teflón, conocido como autoclave. Este recipiente se calienta a una temperatura por encima del punto de ebullición del agua provocando que la presión dentro de la autoclave sea mayor que la presión atmosférica. Esta combinación simultánea de presión y temperatura permite generar materiales altamente cristalinos (Huang *et al.*, 2019) y ofrece una vía de síntesis de un solo paso. Aprovechando estas ventajas, decoramos la superficie del óxido de grafeno con nanopartículas de hidroxiapatita altamente cristalinas y, mediante el ajuste de las condiciones de reacción, controlamos su morfología.

El fundamento del método solvotérmal es el mismo que el hidrotérmal con la particularidad de que en el primero se puede lograr un control más fino sobre la síntesis al modificar las características del medio utilizando distintos disolventes (Mamaghani *et al.*, 2019; Walton, 2011). En el caso de los óxidos metálicos, como el dióxido de titanio, esta ruta resulta particularmente interesante pues permite la preparación de nanopartículas de elevada área superfi-

cial, de alta pureza y buena cristalinidad. Mediante esta estrategia se logró la funcionalización y reducción *in situ* de óxido de grafeno con nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  utilizando una solución de metanol/agua al 50% v/v y una temperatura relativamente baja de 90 °C.

## Procedimiento experimental

### Síntesis de grafeno oxidado

Para la obtención de grafeno oxidado fue necesario preparar, en primer lugar, grafito oxidado mediante el método de Hummers modificado, el cual se ha reportado ampliamente (Stankovich *et al.*, 2006).

*GO/AgNPs*: Para esta síntesis se utilizaron dos relaciones en peso: 1:1 y 1:3. La primera corresponde a 30 mg de GO, 30 mg de Ag y 20 ml de extracto de geranio. La segunda, a 15 mg de GO, 45 mg de Ag y 30 ml de extracto de geranio. Previamente, 12.5 g de hojas frescas de geranio lavadas fueron hervidas en 100 ml de agua desionizada durante 15 minutos. El extracto fue filtrado y almacenado hasta su uso. Después, el GO fue dispersado en 15 ml de agua con ultrasonido. La dispersión se colocó en un matraz de tres bocas con 40 ml de EtOH a 60 °C bajo agitación. Posteriormente, el extracto de geranio fue añadido cuidadosamente a  $\text{AgNO}_3$  27mM bajo agitación. Por último, los productos fueron lavados y secados a 60 °C durante 24 h. Las muestras se etiquetaron como rGO/AgNPs 1:1 y rGO/AgNPs 1:3, respectivamente.

*GO/TiO<sub>2</sub>*: Para optimizar la funcionalización de GO con nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  se utilizaron 3 condiciones de temperatura (60 °C, 90 °C y 120 °C) y se comparó el efecto de la mezcla metanol/agua (50% v/v) como medio solvente, contra el solvente (99.8%) en tratamientos a 60 y 90 °C y en medio acuoso (100%  $\text{H}_2\text{O}$ ) a 120 °C. Manteniendo una relación ponderal entre GO y  $\text{TiO}_2$  de 1:4 y una concentración final de 25 mg/ml. La síntesis consistió en dispersar 100 mg de óxido de grafito en 30 ml del medio correspondiente y sonicar 3 horas; luego, agregar 10 ml de  $\text{TiO}_2$  coloidal (40 mg/ml) y sonicar 3 horas más. Más adelante, las mezclas se sometieron a 18 horas de tratamiento solvotermal. Finalmente, se secaron a 65 °C durante 18 horas y se etiquetaron haciendo referencia a la temperatura y al medio utilizado en el tratamiento (metanol/agua: MW, metanol: M y agua: W).

*GO/Hidroxiapatita*: En este caso se obtuvieron tres especímenes utilizando tiourea, urea e hidróxido de amonio como agentes precipitantes, respectivamente.

Inicialmente, 135 mg de GO fueron dispersados en agua desionizada durante 3h. A la dispersión se añadió 13.43 ml de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  (0.1M) y 8.065 ml de  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  (0.1M) bajo agitación. Enseguida, una solución de 2.184g de tiourea en 23 ml de agua fue añadida a la solución anterior. La mezcla resultante se transfirió a una autoclave y se mantuvo a 120 °C durante 24h. Tras el

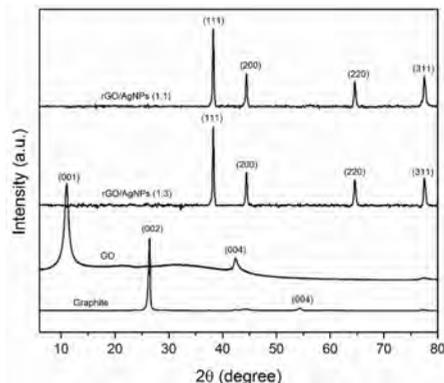
proceso hidrotérmico, la muestra se lavó y secó a temperatura ambiente durante 24 h. La muestra fue etiquetada como GO/HApT. Las muestras que utilizaron urea e hidróxido de amonio siguieron el mismo procedimiento señalado arriba, con algunas particularidades. El producto etiquetado como GO/HApU requirió una solución de 1.13g de urea disueltos en 23 ml de agua desionizada y un proceso hidrotérmico de 150 °C por 24 h. El producto etiquetado como GO/HApA requirió un goteo en exceso de  $\text{NH}_4\text{OH}$  y un proceso hidrotérmico de 100 °C por 24 h.

## Resultados y discusión

### GO/AgNPs

La figura 1 muestra los patrones de difracción del grafito, del grafeno oxidado y de los materiales modificados con plata. El grafito tiene un pico de difracción intenso a  $2\theta=26.6^\circ$  correspondiente al plano (200), asociado con la alta cristalinidad del material. Por otra parte, el GO muestra un pico a  $2\theta=10.7^\circ$  correspondiente al plano (001) asociado con un espacio intercapa de 8.3 Å, el cual es mayor comparado con el espaciado del grafito (3.34 Å) debido a los grupos funcionales oxigenados de sus hojas. En los materiales decorados con plata rGO/AgNPs 1:1 y 1:3, los picos a  $38.1^\circ$ ,  $44.3^\circ$ ,  $64.5^\circ$  y  $77.5^\circ$  se asignan a los planos (111), (200), (220) y (311) de la estructura cristalina cúbica centrada en la cara (FCC) de las nanopartículas de plata, con lo cual se confirma su presencia. El tamaño de los cristalitas de plata, calculado mediante la fórmula de Scherrer, es de 3.66 nm y 5.32 nm para rGO/AgNPs 1:1 y 1:3, respectivamente. Adicionalmente, en los patrones de difracción correspondientes a los materiales modificados la ausencia del pico asociado con el GO indica la funcionalización de las láminas con las nanopartículas.

**FIGURA 1.** Patrones de difracción del grafito, grafeno oxidado (GO) y grafeno oxidado decorado con nanopartículas de plata en las dos proporciones en peso utilizadas (rGO/AgNPs 1:1 y rGO/AgNPs 1:3).



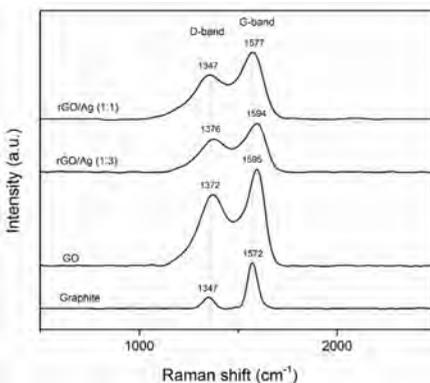
Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González et al. (2016). Copyright © 2016 WILEY.

En la figura 2 se aprecian los espectros Raman del grafito, GO y rGO/AgNPs 1:1 y 1:3. El grafito presenta un pico débil situado en aproximadamente  $1347\text{ cm}^{-1}$  llamado banda D, y un pico agudo y bien definido a  $1572\text{ cm}^{-1}$  llamado banda G. La banda D se atribuye a los defectos de los átomos de carbono, mientras que la banda G se asocia con la vibración en el plano de los átomos de carbono  $\text{sp}^2$ . Tras la oxidación, la intensidad de la banda D aumenta significativamente y se desplaza a un número de onda mayor ( $1372\text{ cm}^{-1}$ ), y la banda G se ensancha y se desplaza a  $\sim 1595\text{ cm}^{-1}$ . El aumento de la intensidad de la banda D podría deberse a la importante reducción de tamaño de los dominios  $\text{sp}^2$  y a la presencia de defectos asociados con los grupos funcionales adheridos a las láminas de carbono.

Cuando las láminas de grafeno se decoran con nanopartículas de plata concretamente en el material híbrido rGO/AgNPs 1:1, las bandas D y G sufren un desplazamiento hacia números de onda menores en comparación con las observadas en el GO localizadas en  $1347$  y  $1577\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. Este comportamiento puede asociarse con la fuerte interacción de las AgNP con las láminas de GO. En el caso del material híbrido rGO/AgNPs 1:3, las bandas D y G están ligeramente desplazadas, lo que indica una funcionalización menos eficaz (lo cual está en concordancia con las micrografías TEM). La relación de intensidad de las bandas D y G se utiliza para determinar el grado de desorden grafítico. Así, el GO presenta una relación ID/IG de 1.03, mientras que para el rGO/AgNPs 1:1 y 1:3 es de 0.83 y 0.84, respectivamente. La disminución de la relación de intensidades D/G sugiere la restauración parcial de la red grafítica en el GO atribuida probablemente al proceso de reducción realizado a través de la decoración con AgNPs. Se ha informado de resultados similares para diversas nanopartículas y óxidos metálicos.

La microscopía electrónica de transmisión fue empleada para estudiar la morfología del GO y de los materiales modificados con plata, tal como se muestra

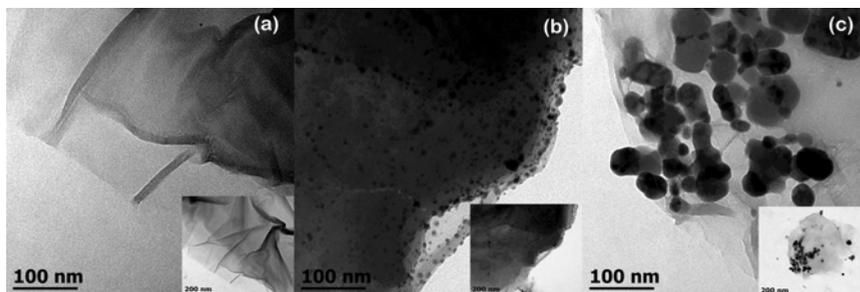
**FIGURA 2.** Espectros Raman del grafito, grafeno oxidado (GO) y grafeno oxidado decorado con nanopartículas de plata en las dos proporciones en peso utilizadas (rGO/AgNPs 1:1 y rGO/AgNPs 1:3).



Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2016). Copyright © 2016 WILEY.

en la figura 3. Las láminas de GO se aprecian en la figura 3a, las cuales presentan grandes dimensiones laterales y un aspecto traslúcido, arrugado y con ondulaciones. La micrografía TEM de la muestra rGO/AgNPs 1:1 (figura 3b) muestra una distribución uniforme de las AgNPs en la superficie de las láminas de GO. El tamaño de las nanoparticulas, sin embargo, muestra una distribución relativamente amplia, indicando que la reducción se ve afectada por la interacción con las láminas de GO. Las AgNP tienen una forma predominantemente esférica. La ausencia de nanoparticulas fuera de la superficie del GO indica una buena interacción con el soporte. Por el contrario, en la muestra rGO/AgNPs 1:3 (figura 3c) las AgNPs forman grandes aglomerados, compuestos por pequeñas nanoparticulas. Esto podría deberse al mayor contenido de plata en esta muestra, favoreciendo su acumulación.

**FIGURA 3.** Imágenes TEM de: a) láminas de grafeno oxidado; b) grafeno oxidado decorado con nanoparticulas de plata rGO/AgNPs 1:1, y, c) rGO/AgNPs 1:3.

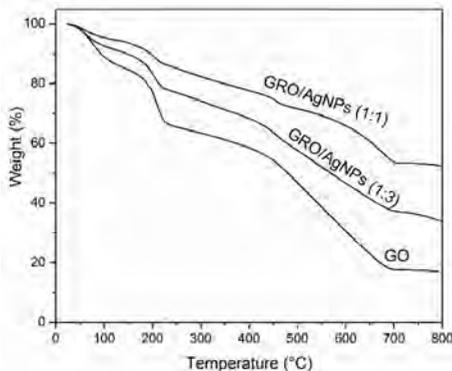


Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González et al. (2016). Copyright © 2016 WILEY.

Las curvas TGA del GO y de los materiales decorados se muestran en la figura 4. El primer paso de la degradación del GO se produjo alrededor de 160 °C y 240 °C con una pérdida de peso del 15%, correspondiente a la pérdida de grupos polares en las hojas de GO mientras que en los materiales decorados se produjo en torno a los 190 °C.

La pérdida de peso del 37%, entre 440 °C y 690 °C, es el resultado de pirólisis del esqueleto de carbono. En consecuencia, la pérdida de peso total en el GO es de alrededor del 66% (entre 150 °C y 690 °C). La muestra rGO/AgNPs presenta una pérdida de peso evidente del 4% (rGO/AgNPs 1:1) y 6% (rGO/AgNPs 1:3) entre 190 °C y 240 °C debido a pirólisis de los grupos funcionales lábiles que contienen oxígeno grupos funcionales lábiles. Además, la pérdida de peso entre 440 °C y 690 °C tiene una importante disminución en los materiales rGO/AgNPs 1:1 y 1:3 de 20 y 25%, respectivamente. En el rGO/AgNPs 1:1 la pérdida de peso total fue del 37% entre 190 °C y 690 °C, mientras que en rGO/AgNPs 1:3 fue del 46%. Los diferentes valores en la pérdida de peso total podrían deberse a una mejor distribución de las AgNPs en las láminas de GO. La disminución de la pérdida de peso total en los materiales decorados en comparación con el GO confirma el éxito en la formación del material modificado rGO/AgNPs.

**FIGURA 4.** Curvas TGA de grafeno oxidado (GO) y grafeno oxidado decorado con nanopartículas de plata en las dos proporciones en peso utilizadas (rGO/AgNPs 1:1 y rGO/AgNPs 1:3).



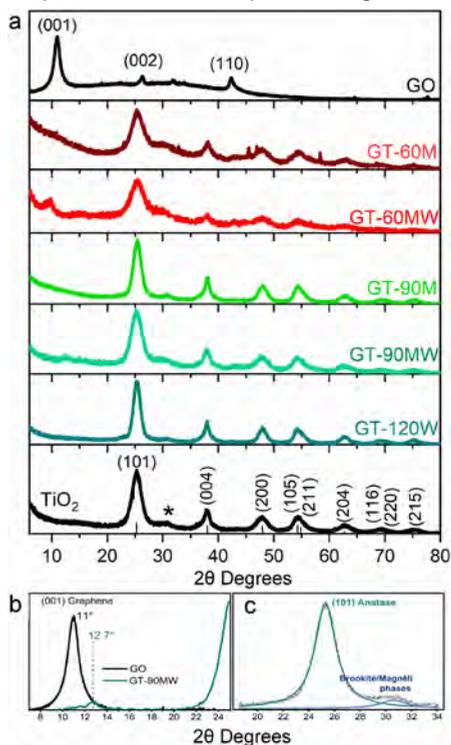
Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2016). Copyright © 2016 WILEY.

## GO/TiO<sub>2</sub>

En la figura 5 se presentan los patrones XRD de los materiales precursores y los compuestos GO/TiO<sub>2</sub> obtenidos. En el caso del grafito oxidado (figura 5a), el pico de difracción característico principal (001) de este material se observa en  $2\theta \approx 12.3^\circ$  lo que representa una distancia interplanar de las láminas de 0.718 nm (Stobinski *et al.*, 2014; Warren, 1941). La figura 5b muestra un cambio del pico de difracción (100) entre el precursor GO ( $11.0^\circ$ ) y el compuesto GT-90 MW ( $12.7^\circ$ ) asociado con una disminución en la distancia entre capas debido a la reducción *in situ* y disminución de grupos oxigenados presentes en la superficie de las hojas GO.

Para los compuestos rGO/TiO<sub>2</sub>, los difractogramas revelan que los cristales de TiO<sub>2</sub> corresponden principalmente a la fase anatasa (JCPDS 89–4921), mostrando picos característicos en  $2\theta \approx 25.5^\circ, 38^\circ, 48^\circ, 54^\circ, 55^\circ, 63^\circ, 68^\circ, 69^\circ$  y  $75^\circ$ . Sin embargo, un pico adicional a  $2\theta \approx 30^\circ$  también sugiere la presencia de brookita o fases reducidas no estequiométricas (Magnéli) (Arif *et al.*, 2017; Borges *et al.*, 2016). La figura 5c muestra una deconvolución del patrón de difracción del precursor TiO<sub>2</sub> que permite observar mejor la contribución de la fase extra cuya intensidad es unas veinte veces menor que el pico principal de la fase anatasa. A partir de los patrones de difracción se determinó el tamaño de cristalito mediante la ecuación de Scherrer. En todos los casos se observó que el tamaño medio de los cristalitos se mantiene por debajo de los 10 nm, así como una relación directa entre la temperatura de los tratamientos y el crecimiento de los cristalitos. En el caso de los composites, también se observa un efecto significativo de la temperatura sobre la cristalinidad en los tratamientos con metanol puro, lo cual se puede observar por la disminución de FWHM entre las muestras tratadas a  $60^\circ\text{C}$  y  $90^\circ\text{C}$ , y está asociado con la diferencia de presión de vapor y al efecto reductor del alcohol que también representa un mayor crecimiento de los cristalitos.

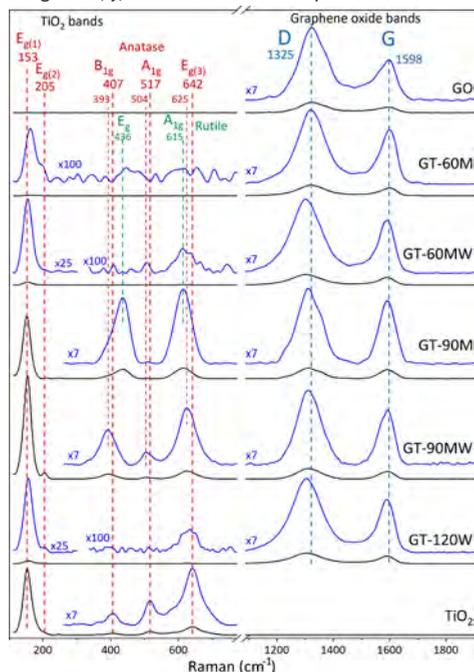
**FIGURA 5.** Patrones XRD de compuestos GO/TiO<sub>2</sub> y sus precursores: a) desplazamiento del pico de difracción (001) en el tratamiento solvotérmico GT-90 MW; b) deconvolución de la curva del precursor de TiO<sub>2</sub>, y, c) deconvolución del patrón de difracción del precursor TiO<sub>2</sub>.



Fuente: Reimpreso con permiso de Ayala-Fonseca *et al.* (2020). Copyright © 2020 WILEY.

La espectroscopía Raman es una técnica capaz de brindar gran cantidad de información acerca de la estructura del grafeno y de su grado de oxidación/funcionalización (Rajender *et al.*, 2018). Varios reportes indican que esta técnica ha demostrado ser más sensible que XRD para la detección e identificación de fases cristalinas en TiO<sub>2</sub> (Cho *et al.*, 2018; Zhang *et al.*, 2016). La figura 6 muestra los espectros Raman de los materiales precursores GO y TiO<sub>2</sub>, así como los materiales híbridos. En el caso del espectro del óxido de grafeno, este presenta las dos bandas características del material antes mencionadas y cuyos cambios pueden asociarse con el grado de restauración grafitica de las láminas de grafeno, así como de manera indirecta a su grado de funcionalización (Ferrari, 2007; Rajender *et al.*, 2018; Stankovich *et al.*, 2007). Por otro lado, el espectro del TiO<sub>2</sub> presenta cinco bandas características de la fase anatasa, E<sub>g(1)</sub>, E<sub>g(2)</sub>, B<sub>1g</sub> asociadas con un modo de vibración δ(O-Ti-O), así como las bandas A<sub>1g</sub> y E<sub>g(3)</sub> asociadas con ν(Ti-O) (Hardwick *et al.*, 2007).

**FIGURA 6.** Espectros Raman de GO, TiO<sub>2</sub> y sus nanocompuestos en diferentes condiciones solvotermales; de negro: espectros originales, y, de azul: secciones ampliadas al factor indicado.

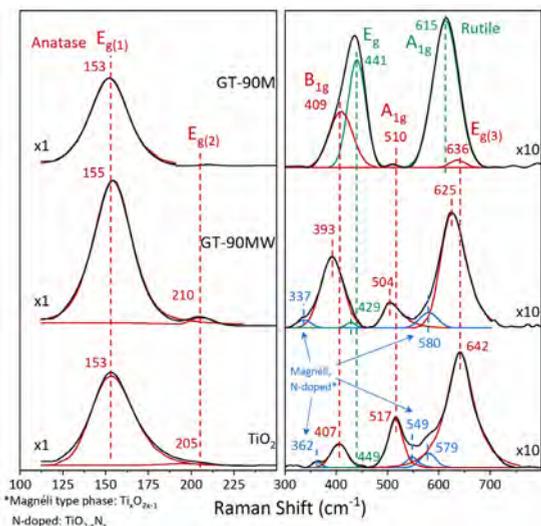


Fuente: Reimpreso con permiso de Ayala-Fonseca *et al.* (2020). Copyright © 2020 WILEY.

En la figura 7 se presenta un análisis más detallado de los cambios en las bandas asociadas con el TiO<sub>2</sub>, basado en la deconvolución de las señales entre 100 y 800 cm<sup>-1</sup> para el precursor y las muestras híbridas sintetizadas a 90 °C, con una ampliación de la intensidad por un factor x10 para la región entre 300 y 800 cm<sup>-1</sup>. En el caso del precursor, observamos que, en la región ampliada, los tres componentes principales en 407, 517 y 642 cm<sup>-1</sup> corresponden a los reportados para fase anatasa, mientras que las bandas alrededor de 362, 449, 549 y 579 cm<sup>-1</sup> podrían atribuirse a fases reducidas o no estequiométricas, ya sea las reportadas como tipo Magnéli (Ti<sub>x</sub>O<sub>2-x</sub>) o fases dopadas con N (TiO<sub>2-x</sub>N<sub>x</sub>) (Pougin *et al.*, 2017; Ye Cong *et al.*, 2007). La muestra GT-90 MW presenta las mismas tres bandas de anatasa características, aunque con un corrimiento hacia el rojo de aproximadamente 14 cm<sup>-1</sup>, probablemente debido a la formación de enlaces Ti-O-C entre el TiO<sub>2</sub> y el óxido de grafeno. Este tipo de unión también podría influir en el cambio en la relación de intensidades entre las bandas (A<sub>1g</sub>) y (B<sub>1g</sub>), donde una disminución en el modo de estiramiento Ti-O (A<sub>1g</sub>), y un aumento en la intensidad de la flexión O-Ti-O modo (B<sub>1g</sub>) tienen lugar, y podría asociarse con la inmovilización del TiO<sub>2</sub> sobre grafeno. Las bandas situadas a 337 y 580 cm<sup>-1</sup>, pueden corresponder nuevamente a las fases no estequiométricas mencionadas anteriormente. Por otro lado, la

muestra GT-90 M exhibe un comportamiento considerablemente distinto en esta región. Aunque GT-90 M presenta una banda  $E_{g(1)}$  intensa en  $153\text{ cm}^{-1}$  asociada con la fase anatasa, los componentes principales en la región entre  $300$  y  $800\text{ cm}^{-1}$  ubicados a  $441$  y  $615\text{ cm}^{-1}$  corresponden mejor a la fase rutilo (Yan *et al.*, 2013), y los componentes secundarios o menos intensos ( $409$ ,  $510$  y  $636\text{ cm}^{-1}$ ) a anatasa. El mismo comportamiento, aunque más difícil de observar debido a su baja intensidad, se contempla en la muestra GT-60 M (figura 7). Consideramos que las nanopartículas de  $\text{TiO}_2$  mantuvieron en mayor medida la estructura cristalina de la fase anatasa, como lo muestran los resultados de DRX, pero en la interfase rGO/ $\text{TiO}_2$  es probable que una transformación de fase hacia el rutilo tenga lugar y que esta se vea favorecida en los procesos de metanol puro como medio solvente. Se ha reportado antes que el metanol, entre otros medios, puede llegar tener un efecto significativo sobre la fase cristalina del  $\text{TiO}_2$  en síntesis solvotermales, promoviendo la formación de otras fases distintas a la anatasa (Nam *et al.*, 2013; Yin *et al.*, 2003).

**FIGURA 7.** Espectros Raman y curvas de ajuste para  $\text{TiO}_2$  y muestras sintetizadas a  $90\text{ }^\circ\text{C}$ . (\*Fase tipo Magnéli:  $\text{Ti}_x\text{O}_{2x-1}$ . N-dopado:  $\text{TiO}_{2-x}\text{N}_x$ ).

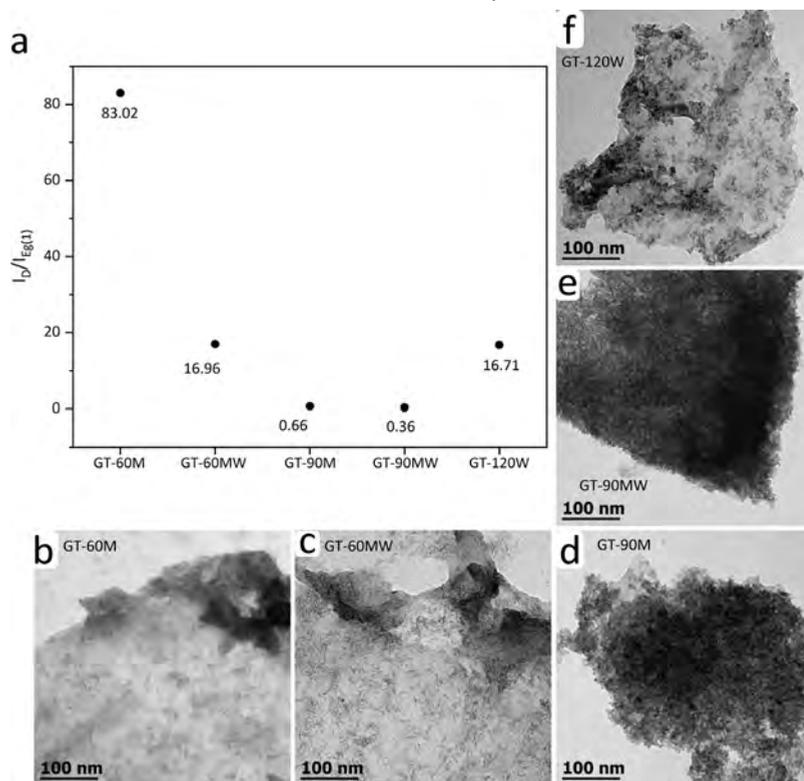


Fuente: Reimpreso con permiso de Ayala-Fonseca *et al.* (2020). Copyright © 2020 WILEY.

Consideramos que una posible mejora en la dispersión Raman mediante el mecanismo químico de SERS, producida en la interfaz entre las nanopartículas del  $\text{TiO}_2$  y el óxido de grafeno reducido, podría ser responsable de la alta intensidad de las bandas de rutilo en estas muestras (GT-90M y GT-60M) al formarse principalmente en la superficie de las nanopartículas y, por lo tanto, cerca de la interfaz con el GO. Este mismo incremento a partir del mecanismo químico de SERS explicaría el aumento en la intensidad de la banda  $E_{g(1)}$  de la

fase anatasa en relación con el grado de incorporación o funcionalización del grafeno observado en TEM (figura 8). Las muestras sintetizadas a 90 °C cuyas imágenes de TEM muestran una alta inmovilización del TiO<sub>2</sub> sobre la superficie de las láminas de grafeno, presentan también una banda E<sub>g(1)</sub> particularmente intensa en comparación con la intensidad del resto de las muestras en hasta 2 órdenes de magnitud (figura 7). Para analizar esta hipótesis decidimos evaluar el grado relativo de funcionalización a partir de contrastar las imágenes de TEM obtenidas de los materiales compuestos y la relación de intensidades entre la banda D de GO y la banda E<sub>g(1)</sub> de TiO<sub>2</sub>. En este sentido, como se observa en la gráfica de la figura 4a, el menor grado de funcionalización se asociaría con la muestra GT-60 M; mientras que las muestras GT-60 MW y GT-120 W presentarían un grado de funcionalización intermedio. Por último, las muestras GT-90 M y GT-90 MW exhiben la menor relación (D/E<sub>g(1)</sub>) lo cual se puede asociar con un grado más alto de inmovilización e interacción de las nanopartículas con la superficie del GO.

**FIGURA 8.** a) Relación D y E<sub>g(1)</sub> de rGO y TiO<sub>2</sub>, respectivamente. Imágenes TEM de los materiales compuestos; b) GT-60-M; c) GT-60-MW; d) GT-90-M; e) GT-90-MW, y, f) GT-120 W.



Fuente: Reimpreso con permiso de Ayala-Fonseca et al. (2020). Copyright © 2020 WILEY.

## GO/Hidroxiapatita

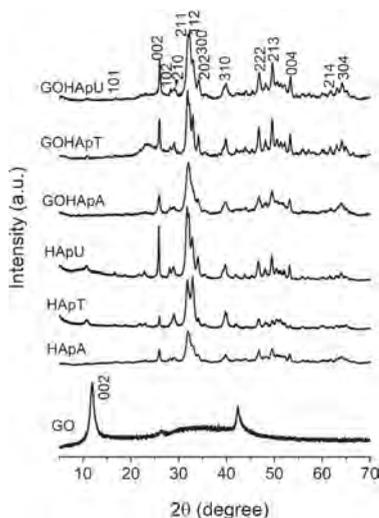
En la figura 9 se muestra los patrones de DRX del GO, las muestras de HAp puro y las muestras de grafeno oxidado decoradas con hidroxiapatita (GO/HAp).

El difractograma del GO mostró un pico dominante a  $2\theta = 11,9^\circ$ , que corresponde al plano de reflexión (001). El espacio entre capas calculado fue de 7,9 Å, lo que indica una oxidación completa del grafito.

Los patrones de DRX de los nanocompuestos de GO/HAp son similares a los del HAp puro con estructura hexagonal (JCPDS: 09-0432). Los principales picos se observaron en los valores  $2\theta$  de  $16.75^\circ$ ,  $25.99^\circ$ ,  $28.30^\circ$ ,  $29.06^\circ$ ,  $31.86^\circ$ ,  $32.16^\circ$ ,  $32.9^\circ$ ,  $34.12^\circ$ ,  $39.85^\circ$ ,  $46.81^\circ$ ,  $49.56^\circ$ ,  $53.28^\circ$ ,  $61.83^\circ$  y  $64.09^\circ$ . Los tamaños medios de los cristalitas, calculados mediante la fórmula de Sherrer, de la HAp en los nanocompuestos GOHApA, GOHApT y GOHApU fueron de 18.03 nm, 23.26 nm y 23.58nm, respectivamente. Cabe destacar que no se observó el ángulo de difracción característico del GO, lo cual puede estar asociado con la pérdida de regularidad en el apilamiento de las láminas por el crecimiento de las nanopartículas de HAp en su superficie.

Adicionalmente, se calculó la relación de intensidad entre los planos  $I_{(211)}/I_{(002)}$  a partir de los patrones de rayos X de los nanocompositos GO/HAp. La relación de intensidad entre los planos  $I_{(211)}/I_{(002)}$ , para los nanocompuestos GO/HApA, GO/HApT y GO/HApU fue de 2.1, 1.6 y 1.5, respectivamente. Esto sugiere que el crecimiento preferente es a lo largo del plano (002) para la estructura en forma de varilla y cinta en el caso de los nanocompuestos GO/HApT y GO/HApU.

**FIGURA 9.** Patrones de difracción de rayos X de óxido de grafeno (GO), muestras de hidroxiapatita pura sintetizadas utilizando amoniaco, tiourea y urea como agentes precipitantes (HApA, HApT y HApU) y nanocompuestos de GO/HAp.

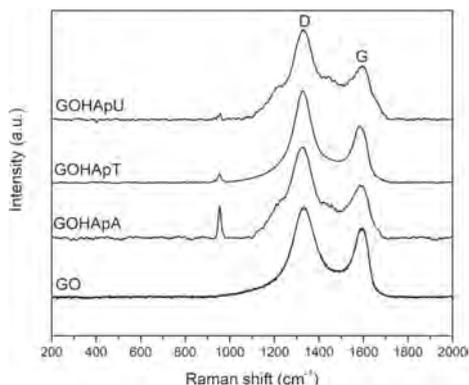


Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González et al. (2018). Copyright © 2018 IOP Publishing.

Otros cambios estructurales se investigaron mediante la espectroscopía Raman. La figura 10 muestra el espectro Raman del GO y de los nanocompuestos GO/HAp. En el caso del GO, se observaron las bandas D y G características en  $1333\text{ cm}^{-1}$  y  $1588\text{ cm}^{-1}$ , respectivamente. La banda D está asociada con la presencia de defectos estructurales relacionados con la formación de enlaces  $sp^3$  en la disposición atómica, mientras que la banda G se atribuye a la vibración plana de los átomos de carbono  $sp^2$ . Los espectros Raman de los nanocompuestos de GO/HAp combinan las bandas D y G del GO con un nuevo pico situado en  $\sim 957\text{ cm}^{-1}$  asignado a la vibración de estiramiento simétrica de  $PO_4^{3-}$  que evidencia la presencia de HAp. Además, la relación de intensidad  $I_D/I_G$  está asociada con el grado de desorden en los materiales de grafeno. Como se puede ver en la tabla 1, la relación  $I_D/I_G$  de los nanocompuestos de GO/HAp aumentó en comparación con la del GO, lo que sugiere la introducción de defectos en la superficie del GO después de la funcionalización. Además, la posición de las bandas D y G está ligeramente desplazada a un número de onda más bajo, lo que confirma la formación de los materiales modificados.

Las morfologías de las muestras obtenidas se observaron mediante análisis TEM. La figura 11(a) muestra la imagen TEM de las láminas de óxido de grafeno prístinas. Como se puede apreciar, el GO tiene el aspecto de una escama transparente, con algunos pliegues en la superficie. Las micrografías TEM de

**FIGURA 10.** Espectros Raman del grafeno oxidado (GO) y de los nanocompositos GO/HAp sintetizados utilizando amoníaco (GO/HApA), tiourea (GO/HApT) y urea (GO/HApU) como agentes precipitantes.



Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2018). Copyright © 2018 IOP Publishing.

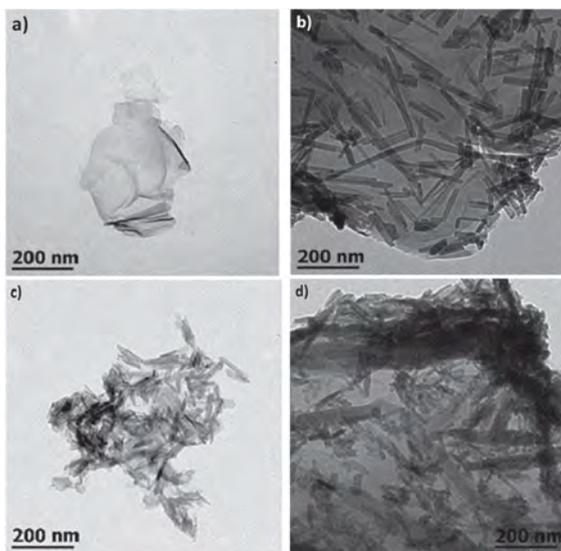
**TABLA 1.** Posiciones y proporciones entre las intensidades de las bandas D y G en los espectros Raman.

| Muestra                      | GO   | GO/HApA | GO/HApT | GO/HApU |
|------------------------------|------|---------|---------|---------|
| Banda D ( $\text{cm}^{-1}$ ) | 1333 | 1322    | 1328    | 1331    |
| Banda G ( $\text{cm}^{-1}$ ) | 1588 | 1581    | 1581    | 1581    |
| $I_D/I_G$                    | 1,37 | 1.77    | 1.61    | 1.76    |

Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2018). Copyright © 2018 IOP Publishing.

los nanocompuestos de GO/HAp se muestran en figuras 11(b-d). Como se muestra en la figura 3(b), el nanocompuesto GO/HApT muestra *nanorods* de HAp depositados sobre láminas de óxido de grafeno. Los nanocristales de HAp están bien dispersos y separados entre sí. El nanocompuesto GO/HApU mostró una capa uniforme y densa de nanopartículas de HAp en forma de cinta (figura 11c). Finalmente, el análisis ultraestructural del nanocompuesto GO/HApA mostró pequeñas nanopartículas de HAp en forma de rodillos depositadas en la superficie de la hoja de GO (figura 11d). Estas imágenes confirmaron la formación exitosa de nanocompuestos de GO/Hap mediante el uso de diferentes agentes precipitantes y revelaron, como se esperaba, que se produjeran formas de nanocristales muy diferentes.

**FIGURA 11.** Imágenes TEM de: a) óxido de grafeno (GO) y nanocompositos de GO/HAp sintetizados usando: b) tiourea (GO/HApT), c) urea (GO/HApU), y, d) amoniacio (GO/HApA).



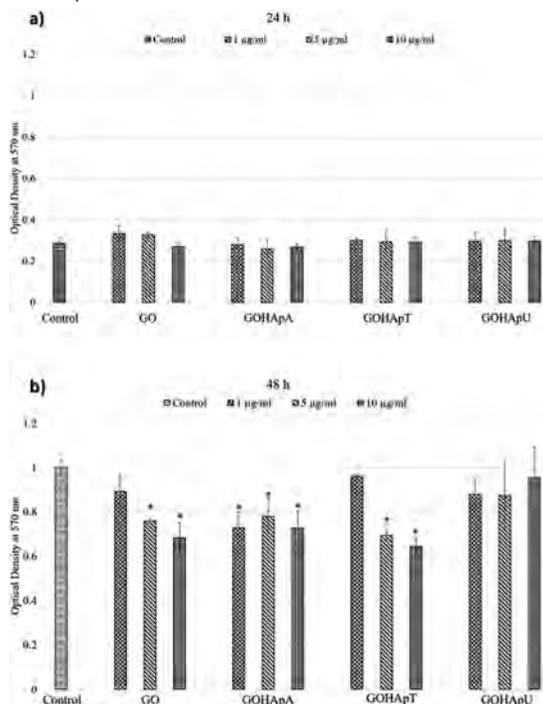
Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2018). Copyright © 2018 IOP Publishing.

Al haberse demostrado que las características ultraestructurales de los biomateriales son cruciales para la biocompatibilidad, han sido evaluados los tres nanocompuestos de GO/HAp para comprobar sus posibles efectos sobre la viabilidad de las células de mamífero. Se cultivaron células NIH 3T3 en presencia de cantidades crecientes de nanocompuestos (1, 5 y 10  $\mu\text{g}$  por ml de medio de cultivo).

En la figura 12a es posible apreciar que no hay cambios en la supervivencia celular tras la incubación de las células con los nanocompuestos de GO/HAp después de 24 h. Sin embargo, el número de células viables tras 48 h de exposición disminuyó en presencia de algunos tipos y dosis de nanocompuestos (figura

12b). Cabe destacar que las nanoestructuras de GO/HApA que presentan pequeñas nanopartículas en forma de rodillo, indujeron una pronunciada disminución de la viabilidad celular. Las tasas de supervivencia fueron tan bajas como el 73.16% y el 68.24%, en comparación con las células de control, cuando se probaron a 5 y 10  $\mu\text{g}/\text{pozo}$ , respectivamente, lo cual indica una severa citotoxicidad del compuesto. Por su parte, los nanocompuestos GO/HApT también indujeron un efecto citotóxico dependiente de la dosis, con una supervivencia celular del 90.22% (a una dosis de 1  $\mu\text{g ml}^{-1}$ ), al 65.08% y 60.45% tras 48 h de exposición a 5 y 10  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , respectivamente. Como se esperaba, se encontraron efectos tóxicos similares sobre la supervivencia celular con el GO solo, induciendo una disminución de la supervivencia celular del 83.80%, al 71.25% y al 64.17% a dosis de 1, 5 y 10  $\mu\text{g ml}^{-1}$ , respectivamente. Por el contrario, no se encontró citotoxicidad tras la exposición de las células a los nanocompuestos GO/HApU (figura 12b). Por lo tanto, estos resultados mostraron que la biocompatibilidad de los nanocompuestos de GO/HAp está determinada por la morfología de la ultraestructura de los cristales de HAp en el material compuesto.

**FIGURA 12.** Supervivencia de las células NIH 3T3 tras la exposición al GO y a los nanocompositos GO/HAp: a) a las 24 h, y, b) a las 48 h, según el ensayo colorimétrico MTT. Se utilizaron como control cultivos celulares idénticos sin nanopartículas.



Nota: \* representa una diferencia estadísticamente significativa ( $p < 0.05$ ) entre los grupos tratados con nanocompuestos y el control e indica la toxicidad.

Fuente: Reimpreso con permiso de Rodríguez-González *et al.* (2018). Copyright © 2018 IOP Publishing.

## Conclusiones

### GO/AgNPs

Este material funcionalizado se sintetizó mediante un método sostenible y respetuoso con el medio ambiente utilizando extracto de geranio (*P. graveolens*) como agente reductor ecológico en condiciones de reacción media, generando nanopartículas de plata con una sola fase cristalina.

Los grupos funcionales ricos en oxígeno permitieron el anclaje químico de las nanopartículas y su adecuada distribución en las láminas de GO. Los resultados indicaron que las condiciones óptimas para la síntesis de GO/AgNPs se lograron con una relación de peso de 1:1 de GO/Ag, en donde las láminas de GO muestran una distribución homogénea de AgNPs. Este método, respetuoso con el medio ambiente, evita el uso de cualesquiera químicos adicionales. Por lo tanto, teniendo en cuenta las propiedades de la Ag y el GO, el nanocompuesto rGO/AgNPs tiene importante potencial para ser explotado en aplicaciones biomédicas (Rodríguez-González *et al.*, 2016).

### GO/TiO<sub>2</sub>

Se logró obtener de forma simultánea una alta y homogénea funcionalización de GO con nanopartículas de TiO<sub>2</sub>, junto a una significativa reducción química de las láminas de GO. Las NPs de TiO<sub>2</sub> crecidas sobre el GO mostraron ser monocristalinas, con un tamaño máximo de 6 nm y una fase cristalina anatasa predominante en todos los nanocompositos.

Como resultado del anclaje sobre la superficie del GO a partir de la funcionalización solvotermal, se observó una mejora en la señal de la dispersión Raman por parte del TiO<sub>2</sub>. Los resultados obtenidos mediante espectroscopía Raman sugieren también que un cambio de fase del TiO<sub>2</sub> de anatasa a rutilo tiene lugar en la interfase rGO/TiO<sub>2</sub>, el cual probablemente es inducido por el uso de metanol como medio solvente. El sistema metanol-agua mostró una mayor eficiencia en el proceso de incorporación de las NPs de TiO<sub>2</sub> en la superficie del GO, favoreciendo la funcionalización sobre el proceso de reducción, probablemente debido a la disminución en la concentración y movilidad de los aniones o radicales metoxilos (-O-CH<sub>3</sub>) en el medio (Ayala-Fonseca *et al.*, 2020). Estos nanocompuestos rGO/TiO<sub>2</sub> pueden encontrar uso en células solares, dispositivos de almacenamiento de energía y aplicaciones fotocatalíticas, además del potencial que han presentado en investigaciones recientes en el desarrollo de sensores a partir de propiedades emergentes derivadas de un mayor control de sus características morfológicas, tales como fotoluminiscencia en el caso de puntos cuánticos de GO (Ayala-Fonseca *et al.*, 2022).

### GO/Hidroxiapatita

Los nanocompuestos de GO/HAp se sintetizaron con éxito mediante un método hidrotérmico sencillo utilizando condiciones de reacción moderadamente suaves. La morfología de las nanopartículas de HAp se ha controlado mediante la va-

riación de los agentes precipitantes. Se comprobó que las características ultraestructurales de los compuestos de GO/HAp son fundamentales para los efectos citotóxicos hacia las células de mamíferos, subrayando la importancia de describir procedimientos altamente reproducibles y bien controlados para la síntesis de nanocompuestos de GO/HAp destinados a usos biomédicos. En este trabajo, un método sintético basado en la urea, como agente precipitante, condujo a estructuras de nanocristales de HAp en forma de cinta (GO/HApU) de muy alta biocompatibilidad. Los compuestos mostraron un carácter de biocompatibilidad muy superior al de las láminas de GO prístinas, y similar al de los compuestos tradicionales de HAp (Rodríguez-González *et al.*, 2018). Ahora se anima a seguir investigando para evaluar si la presencia de GO en esta estructura de HAp altamente biocompatible puede dar lugar también a características mecánicas mejoradas, permitiendo así aplicaciones en el campo de los biomateriales para implantes.

## Referencias

- Ajala, O. J., Tijani, J. O., Bankole, M. T. y Abdulkareem, A. S. (2022). A critical review on graphene oxide nanostructured material: properties, synthesis, characterization and application in water and wastewater treatment. *Environmental Nanotechnology, Monitoring & Management*, 18, 100673. <https://doi.org/10.1016/j.enmm.2022.100673>.
- Amir, M. N. I., Halilu, A., Julkapli, N. M. y Ma'amor, A. (2020). Gold-graphene oxide nanohybrids: a review on their chemical catalysis. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 83: 1-13. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2019.11.029>.
- Arif, A. F., Balgjs, R., Ogi, T., Iskandar, F., Kinoshita, A., Nakamura, K. y Okuyama, K. (2017). Highly conductive nano-sized Magnéli phases titanium oxide (TiO<sub>x</sub>). *Scientific Reports*, 7(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-017-03509-y>.
- Ayala-Fonseca, A., Amieva, E. J. C., Rodríguez-González, C., Loske, A. M., Fernández, F., De Luna Bugallo, A., Romero, V. H. y Salas, P. (2022). Highly dispersible and fluorescent graphene-based materials obtained by underwater shock wave-induced oxidative cleavage. *FlatChem*, 32, 100338. <https://doi.org/10.1016/j.flatc.2022.100338>.
- Ayala-Fonseca, L. A., Amieva, E. J. -C., Rodriguez-Gonzalez, C., Angeles-Chavez, C., De la Rosa, E., Castaño, V. M. y Salas, P. (2020). Enhanced Raman effect of solvothermal synthesized reduced graphene oxide/titanium dioxide nanocomposites. *ChemistrySelect*, 5(13): 3789-3797. <https://doi.org/10.1002/slct.202000335>.
- Bao, Y., Tian, C., Yu, H., He, J., Song, K., Guo, J., Zhou, X., Zhuo, O. y Liu, S. (2022). *In situ* green synthesis of graphene oxide-silver nanoparticles composite with using gallic acid. *Frontiers in Chemistry*, 10. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.905781>.
- Berger, M. (2022). *Graphene – all you need to know*. [https://www.nanowerk.com/what\\_is\\_graphene.php](https://www.nanowerk.com/what_is_graphene.php).
- Borges, K. A., Santos, L. M., Paniago, R. M., Barbosa Neto, N. M., Schneider, J., Bahnmann, D. W., Patrocínio, A. O. T. y Machado, A. E. H. (2016). Characterization of a highly efficient N-doped TiO<sub>2</sub> photocatalyst prepared: Via factorial design.

- New Journal of Chemistry*, 40(9): 7846-7855. <https://doi.org/10.1039/c6nj00704j>.
- Calderón-Jiménez, B., Johnson, M. E., Montoro Bustos, A. R., Murphy, K. E., Winchester, M. R. y Vega Baudrit, J. R. (2017). Silver nanoparticles: technological advances, societal impacts, and metrological challenges. *Frontiers in Chemistry*, 5. <https://doi.org/10.3389/fchem.2017.00006>.
- Chen, J., Liu, B., Gao, X. y Xu, D. (2018). A review of the interfacial characteristics of polymer nanocomposites containing carbon nanotubes. *RSC Advances*, 8(49): 28048-28085. <https://doi.org/10.1039/C8RA04205E>.
- Cho, H.-W., Liao, K.-L., Yang, J.-S. y Wu, J.-J. (2018). Revelation of rutile phase by Raman scattering for enhanced photoelectrochemical performance of hydrothermally-grown anatase TiO<sub>2</sub> film. *Applied Surface Science*, 440: 125-132. <https://doi.org/10.1016/J.APSUSC.2018.01.139>.
- Chung, I.-M., Park, I., Seung-Hyun, K., Thiruvengadam, M. y Rajakumar, G. (2016). Plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: their characteristic properties and therapeutic applications. *Nanoscale Research Letters*, 11(1): 40. <https://doi.org/10.1186/s11671-016-1257-4>.
- Dhamodharan, D., Ghoderao, P. P., Dhinakaran, V., Mubarak, S., Divakaran, N. y Byun, H.-S. (2022). A review on graphene oxide effect in energy storage devices. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 106: 20-36. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2021.10.033>.
- Draghi, C. (2022). *Los rusos del grafeno*. <https://exactas.uba.ar/los-rusos-del-grafeno/>.
- Ferrari, A. C. (2007). Raman spectroscopy of graphene and graphite: Disorder, electron-phonon coupling, doping and nonadiabatic effects. *Solid State Communications*, 143(1-2): 47-57. <https://doi.org/10.1016/J.SSC.2007.03.052>.
- Hardwick, L. J., Holzapfel, M., Novák, P., Dupont, L. y Baudrin, E. (2007). Electrochemical lithium insertion into anatase-type TiO<sub>2</sub>: An *in situ* Raman microscopy investigation. *Electrochimica Acta*, 52(17): 5357-5367. <https://doi.org/10.1016/J.ELECTACTA.2007.02.050>.
- Huang, G., Lu, C.-H. y Yang, H.-H. (2019). Magnetic nanomaterials for magnetic bioanalysis. En *Novel nanomaterials for biomedical, environmental and energy applications*, 89-109. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814497-8.00003-5>.
- Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V y Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in Pharmaceutical Sciences*, 9(6): 385-406. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/26339255>.
- Kusiak-Nejman, E., Wanag, A., Kowalczyk, Ł., Kapica-Kozar, J., Colbeau-Justin, C., Mendez Medrano, M. G., y Morawski, A. W. (2017). Graphene oxide-TiO<sub>2</sub> and reduced graphene oxide-TiO<sub>2</sub> nanocomposites: Insight in charge-carrier lifetime measurements. *Catalysis Today*, 287: 189-195. <https://doi.org/10.1016/J.CATTOD.2016.11.008>.
- Li, M., Xiong, P., Yan, F., Li, S., Ren, C., Yin, Z., Li, A., Li, H., Ji, X., Zheng, Y. y Cheng, Y. (2018). An overview of graphene-based hydroxyapatite composites for orthopedic applications. *Bioactive Materials*, 3(1): 1-18. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2018.01.001>.

- Luo, Y., Li, M., Hu, G., Tang, T., Wen, J., Li, X., y Wang, L. (2018). Enhanced photocatalytic activity of sulfur-doped graphene quantum dots decorated with TiO<sub>2</sub> nanocomposites. *Materials Research Bulletin*, 97: 428-435. <https://doi.org/10.1016/J.MATERRESBULL.2017.09.038>.
- Mamaghani, A. H., Haghghat, F. y Lee, C.-S. (2019). Hydrothermal/solvothermal synthesis and treatment of TiO<sub>2</sub> for photocatalytic degradation of air pollutants: Preparation, characterization, properties, and performance. *Chemosphere*, 219: 804-825. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2018.12.029>.
- Nam, C. T., Yang, W.-D. y Duc, L. M. (2013). Study on photocatalysis of TiO<sub>2</sub> nanotubes prepared by methanol-thermal synthesis at low temperature. *Bulletin of Materials Science*, 36(5): 779-788. <https://doi.org/10.1007/s12034-013-0546-0>.
- PA, Naina Mohamed, S., Singaravelu, D. L., Brindhadevi, K., y Pugazhendhi, A. (2022). A review on graphene / graphene oxide supported electrodes for microbial fuel cell applications: Challenges and prospects. *Chemosphere*, 296, 133983. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.133983>.
- Pop, E., Varshney, V. y Roy, A. K. (2012). Thermal properties of graphene: fundamentals and applications. *MRS Bulletin*, 37(12): 1273-1281. <https://doi.org/10.1557/mrs.2012.203>.
- Pougin, A., Lüken, A., Klinkhammer, C., Hiltrop, D., Kauer, M., Tölle, K., Havenith-Newen, M., Morgenstern, K., Grünert, W., Muhler, M. y Strunk, J. (2017). Probing oxide reduction and phase transformations at the Au-TiO<sub>2</sub> interface by vibrational spectroscopy. *Topics in Catalysis*, 60(19-20): 1744-1753. <https://doi.org/10.1007/s11244-017-0851-8>.
- Rajender, G., Kumar, J. y Giri, P. K. (2018). Interfacial charge transfer in oxygen deficient TiO<sub>2</sub>-graphene quantum dot hybrid and its influence on the enhanced visible light photocatalysis. *Applied Catalysis B: Environmental*, 224: 960-972. <https://doi.org/10.1016/J.APCATB.2017.11.042>.
- Rodríguez-González, C., Salas, P., López-Marín, L. M., Millán-Chiu, B. y De la Rosa, E. (2018). Hydrothermal synthesis of graphene oxide/multiform hydroxyapatite nanocomposite: its influence on cell cytotoxicity. *Materials Research Express*, 5(12), 125023. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aae29c>.
- Rodríguez-González, C., Velázquez-Villalba, P., Salas, P., y Castaño, V. M. (2016). Green synthesis of nanosilver-decorated graphene oxide sheets. *IET Nanobiotechnology*, 10(5): 301-307. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2015.0043>.
- Sanchez, V. C., Jachak, A., Hurt, R. H. y Kane, A. B. (2012). Biological interactions of graphene-family nanomaterials: an interdisciplinary review. *Chemical Research in Toxicology*, 25(1): 15-34. <https://doi.org/10.1021/tx200339h>.
- Seifalian, A. y Alexander, B. (2022). *Graphene oxide and biological properties*. <https://encyclopedia.pub/entry/history/show/22459>.
- Stankovich, S., Dikin, D. A., Piner, R. D., Kohlhaas, K. A., Kleinhammes, A., Jia, Y., Wu, Y., Nguyen, S. T. y Ruoff, R. S. (2007). Synthesis of graphene-based nanosheets via chemical reduction of exfoliated graphite oxide. *Carbon*, 45(7): 1558-1565. <https://doi.org/10.1016/J.CARBON.2007.02.034>.
- Stankovich, S., Piner, R. D., Nguyen, S. B. T. y Ruoff, R. S. (2006). Synthesis and ex-

- foliation of isocyanate-treated graphene oxide nanoplatelets. *Carbon*, 44(15): 3342-3347. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2006.06.004>.
- Stobinski, L., Lesiak, B., Malolepszy, A., Mazurkiewicz, M., Mierzwa, B., Zemek, J., Jiricek, P. y Bieloshapka, I. (2014). Graphene oxide and reduced graphene oxide studied by the XRD, TEM and electron spectroscopy methods. *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 195: 145-154. <https://doi.org/10.1016/j.elspec.2014.07.003>.
- Szczęś, A., Hołysz, L. y Chibowski, E. (2017). Synthesis of hydroxyapatite for biomedical applications. *Advances in Colloid and Interface Science*, 249: 321-330. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.04.007>.
- Tayel, A., Ramadan, A., El Seoud, O., Tayel, A., Ramadan, A. R. y El Seoud, O. A. (2018). Titanium dioxide/graphene and titanium dioxide/graphene oxide nanocomposites: synthesis, characterization and photocatalytic applications for water decontamination. *Catalysts*, 8(11): 491. <https://doi.org/10.3390/catal8110491>.
- Vega-Baudrit, J., Gamboa, S. M., Rojas, E. R. y Martinez, V. V. (2019). Synthesis and characterization of silver nanoparticles and their application as an antibacterial agent. *International Journal of Biosensors & Bioelectronics*, 5(5). <https://doi.org/10.15406/ijbsbe.2019.05.00172>.
- Walton, R. I. (2011). Solvothermal synthesis of cerium oxides. *Progress in Crystal Growth and Characterization of Materials*, 57(4): 93-108. <https://doi.org/10.1016/j.pcrysgrow.2011.10.002>.
- Warren, B. E. (1941). X-ray diffraction in random layer lattices. *Physical Review*, 59(9): 693-698. <https://doi.org/10.1103/PhysRev.59.693>.
- Yan, J., Wu, G., Guan, N., Li, L., Li, Z. y Cao, X. (2013). Understanding the effect of surface/bulk defects on the photocatalytic activity of TiO<sub>2</sub>: anatase versus rutile. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(26), 10978. <https://doi.org/10.1039/c3cp50927c>.
- Ye Cong, Jinlong Zhang, Feng Chen y Masakazu Anpo. (2007). *Synthesis and characterization of nitrogen-doped TiO<sub>2</sub> nanophotocatalyst with high visible light activity*. <https://doi.org/10.1021/JP0685030>.
- Yin, S., Fujishiro, Y., Wu, J., Aki, M. y Sato, T. (2003). Synthesis and photocatalytic properties of fibrous titania by solvothermal reactions. *Journal of Materials Processing Technology*, 137(1-3): 45-48. [https://doi.org/10.1016/S0924-0136\(02\)01065-8](https://doi.org/10.1016/S0924-0136(02)01065-8).
- Zhang, Y., Wu, W., Zhang, K., Liu, C., Yu, A., Peng, M. y Zhai, J. (2016). Raman study of 2D anatase TiO<sub>2</sub> nanosheets. *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 18(47): 32178-32184. <https://doi.org/10.1039/C6CP05496J>.
- Zhou, A., Bai, J., Hong, W. y Bai, H. (2022). Electrochemically reduced graphene oxide: preparation, composites, and applications. *Carbon*, 191: 301-332. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2022.01.056>.
- Zhou, Q., Zhong, Y.-H., Chen, X., Wang, Y., Huang, X.-J. y Wu, Y.-C. (2016). Graphene-TiO<sub>2</sub> functional nanocomposite: from synthesis to applications. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 16(9): 9327-9345. <https://doi.org/10.1166/jnn.2016.12454>.



# Desarrollo y evaluación de un sensor portátil para la detección de $\text{Hg}^{2+}$ , a través de la síntesis verde de AuNP utilizando extracto acuoso de *Sargassum spp*<sup>◇</sup>

## Development and evaluation of a portable sensor for $\text{Hg}^{2+}$ detection by AuNP green synthesis using *Sargassum spp* aqueous extract

Gustavo A. Molina,<sup>\*</sup> José Luis López-Miranda,<sup>\*\*</sup> Marlen González-Reyna,<sup>\*\*</sup> Rodrigo Esparza<sup>\*\*</sup> y Miriam Estevez<sup>\*\*</sup>,<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** The present manuscript's objective is to develop a sensor prototype for measuring mercury ( $\text{Hg}^{2+}$ ) in an aqueous solution. An electrochemical platform based on screen-printed carbon nanotube electrodes (CNT-SPE) and gold nanoparticles (NPs-Au) synthesized using a green synthesis method with an aqueous extract of *Sargassum spp*. For this, the characterization of the NPs-Au was carried out by ultraviolet-visible (UV-Vis), infrared (TF-IR), X-ray diffraction (XRD) and scanning electron microscopy (SEM) spectroscopy. The nanoparticles have sizes between 80-100 nm and an organic coating that allows them a synergy when conjugated with oxidized/activated CNT-SPE. Subsequently, the NPs-Au were used to modify the CNT-SPE through the drop-casting method and thus assemble a novel electrochemical sensor for the measurement of  $\text{Hg}^{2+}$ , whose validation and ability to measure was demonstrated using differential pulse voltammetry (DPV). Detection limits of 2.38  $\mu\text{M}$  and quantification of 3  $\mu\text{M}$  were obtained. The results show that the developed platform is a fast, efficient and portable alternative for the measurement of  $\text{Hg}^{2+}$ .

**KEYWORDS:** electrochemical sensor, gold nanoparticles, mercury, sargassum, screen-printed electrodes.

**RESUMEN:** El presente trabajo tiene la finalidad de dar a conocer el desarrollo de un prototipo de sensor para la medición de mercurio ( $\text{Hg}^{2+}$ ) en solución acuosa sobre una plataforma electroquímica basada en electrodos serigrafiados de nanotubos de carbonos (CNT-SPE) en conjunto con nanopartículas de oro (NPs-Au) realizadas a través de síntesis verde, utilizando extracto acuoso de *Sargassum spp*. Para esto, se realizó la caracterización de las NPs-Au por espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis), infrarrojo (TF-IR), difracción de rayos X (DRX) y microscopía electrónica de barrido (SEM); obteniendo nanopartículas entre 80-100 nm las cuales poseen un recubrimiento

Recibido: 2 de noviembre, 2022. Aceptado: 17 de abril, 2023. Publicado: 14 de mayo, 2023.

<sup>◇</sup> Los autores agradecemos la participación de la Dra. Fanny Jacqueline González Fuentes, del M. en I. Gerardo Fonseca Hernández y el Dr. Ángel Luis Rodríguez Morales por todo su apoyo técnico en el desarrollo, mediciones y operación requeridas para la caracterización del sensor electroquímico. Además, se agradece a la Mtra. Alicia del Real por su apoyo en la obtención de las micrografías y al Laboratorio Nacional de Caracterización de Materiales (LaNCaM) por sus instalaciones para la caracterización de los materiales presentados.

<sup>\*</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales. Querétaro, México.

<sup>\*\*</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Querétaro, México.

<sup>†</sup> Autora de correspondencia: miries@fata.unam.mx



orgánico que les confiere una sinergia al momento de ser conjugadas con CNT-SPE oxidadas/activadas. Posteriormente, las NPs-Au se utilizaron para modificar el CNT-SPE a través del método *drop-casting* y así ensamblar un novedoso sensor electroquímico para la medición de  $Hg^{2+}$ , cuya validación y habilidad para medir fue demostrada utilizando voltametría diferencial de pulso (DPV). Se obtuvieron límites de detección de  $2.38 \mu M$  y cuantificación de  $3 \mu M$ . Los resultados demuestran que la plataforma desarrollada es una alternativa, rápida, eficiente y portátil para la medición de  $Hg^{2+}$ .

**PALABRAS CLAVE:** sensor electroquímico, nanopartículas de oro, mercurio, sargazo, electrodos serigrafados.

## Introducción

En América Latina y el Caribe, la minería aurífera artesanal y en pequeña escala representa la principal fuente de emisiones, liberaciones y consumo de mercurio. Sin embargo, otra fuente de preocupación es la producción primaria de mercurio. A nivel mundial, México es el segundo mayor productor de mercurio, después de China (U. S. Geological Survey, 2020); no obstante, el 100% de la extracción de mercurio en México se realiza con tecnologías artesanales primitivas, las cuales están impactando los ecosistemas de la zona. De acuerdo con Camacho-de la Cruz *et al.* (2021) en Pinal de de Amoles, Querétaro, México, derivado de la minería artesanal de mercurio, se encontró que el mercurio total en muestras ambientales y biológicas excedió sus respectivos valores de referencia. El mercurio se puede encontrar en diversas estructuras químicas, ya sean inorgánicas como en sales iónicas mercuriosas o mercuricas, u orgánicas como con grupo metilo, etilo, fenilo, etc. (Bernhoft, 2012). Por lo tanto, se hace necesario producir una metodología simple y económica que permita cuantificar la cantidad de mercurio en estas zonas, en comparación con las técnicas tradicionales (Guo, Yuan y Wang, 2009; Karthika *et al.*, 2019).

En la búsqueda de nuevas alternativas, las técnicas electroquímicas han despertado gran interés debido a su sencillez, fácil operación, bajos tiempos de análisis y capacidad de identificar el estado de oxidación del o de los elementos de interés de forma individual o simultánea con bajos volúmenes de muestra. Sin embargo, la composición del electrodo de trabajo resulta ser un factor crítico durante el desarrollo de una técnica electroquímica. Los electrodos convencionales son elementos metálicos como Ag, Au y Pt, así como electrodos compuestos por elementos carbonosos (carbón vítreo, grafito o polvo de grafito); asimismo, en términos generales tienen baja sensibilidad y selectividad. Esta desventaja se puede contrarrestar utilizando nanopartículas metálicas (Cho, Kim y Park, 2020). En este contexto, la química verde ofrece una nueva perspectiva para el futuro de los nanomateriales al desarrollar nanopartículas (NPs) mediante el uso de fuentes orgánicas naturales y no tóxicas, tales como plantas, frutas, hierbas y hongos; mediante un proceso simple, escalable y no tóxico (Abdoli *et al.*, 2021; Muniyappan, Pandeewaran y Amalraj, 2021). De este modo, solventes y agentes reductores permiten la obtención de nanoestructuras metálicas recubiertas con una película orgá-

nica que hereda algunas propiedades de los compuestos activos de la fuente utilizada que les otorga una funcionalidad adicional como se ha demostrado para otras nanoestructuras (Gonzalez-Reyna *et al.*, 2022). Además, tienen un gran efecto en la morfología de las partículas sintetizadas como su tamaño y propiedades fisicoquímicas permitiendo una síntesis verde.

En el presente trabajo, se hizo uso de un extracto acuoso de *Sargassum* spp. debido a la alta concentración de compuestos fenólicos (ácidos fenólicos, florotaninos, flavonoides, etc.) y al contenido total de azúcares reductores que posee (Polo y Chow, 2022; Lee *et al.*, 2020; Prasedya *et al.*, 2021). Esta composición química, le otorga al sargazo altas propiedades antioxidantes útiles para producir nanopartículas de oro (NPs-Au) con un recubrimiento orgánico rico en compuestos y grupos funcionales. Se seleccionaron nanopartículas de oro (NPs-Au) pues poseen interesantes cualidades fisicoquímicas como excelente relación superficie volumen, propiedades optoelectrónicas en relación con su forma y tamaño, gran biocompatibilidad y muy baja toxicidad, lo que las hace tener un gran potencial para su uso en biomedicina, catalítica y fotónica (Al-Radadi, 2021; Asnag, Oraby y Abdelghany, 2019; Chen *et al.*, 2020; Hammami *et al.*, 2021; Yeh, Creran y Rotello, 2012). Las NPs-Au sintetizadas fueron utilizadas como elemento activo de un electrodo de trabajo con nanotubos de carbono serigrafados (CNT-SPE). Dicho electrodo permitió la detección de mercurio mediante técnicas electroquímicas.

## Metodología

### Materiales y reactivos

En todos los experimentos reportados se utilizó *Sargassum* spp. (sargazo) recolectado en Puerto Morelos, Quintana Roo (20° 50' 44.1" N, 18 86' 52' 35.5" O), en junio de 2020. El sargazo se lavó varias veces con agua destilada para eliminar la arena y otras impurezas; se secó en un horno de convección a 50 °C durante 6 horas y después se almacenó a 4 °C, en bolsas oscuras de plástico para protegerlo de la luz, hasta su posterior uso.

La sal precursora fue ácido cloroaurico de grado analítico ( $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ , 99, 995% de base metálica) adquirida de Sigma-Aldrich. Para la preparación del *buffer* de Sorensen, se mezcló una proporción adecuada para obtener una solución de pH 7 de dihidrógeno fosfato de sodio ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ , reactivo ACS, < 99%) y fosfato de sodio ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ , reactivo ACS) 0.2 M. Los reactivos se adquirieron de Macron Fine Chemicals TM. Además, para la determinación electroquímica, se adquirió cloruro de mercurio (II) (reactivo ACS, > 99.5%) de Sigma Aldrich. Todos los extractos, soluciones y diluciones fueron preparados con agua desionizada.

### Preparación del extracto de *Sargassum* spp. y síntesis verde de nanopartículas

El extracto de *Sargassum* spp. se preparó mediante un método de infusión. El sargazo previamente almacenado se molió utilizando una licuadora de uso

doméstico, hasta obtener un polvo fino, el cual fue homogeneizado utilizando un tamiz de malla 40.

Para la preparación del extracto se colocaron dos gramos del polvo de sargazo en un vaso de precipitados y se agregaron 50 mL de agua destilada. La mezcla se homogeneizó mediante agitación magnética a 80 °C durante 90 minutos y, posteriormente, se dejó enfriar a temperatura ambiente. La fase líquida se separó por filtración utilizando papel filtro Whatman #41. El extracto obtenido se almacenó a 4 °C en un vial ámbar hasta su posterior uso.

La síntesis de nanopartículas de oro (NPs-Au) consistió en mezclar la solución precursora ( $\text{HAuCl}_4$ ) con el extracto de sargazo (figura 1). La concentración de la solución precursora y el volumen de extracto fueron los parámetros experimentales evaluados. En primer lugar, se varió la concentración de la solución de  $\text{HAuCl}_4$  en 3 mM, 5 mM y 7 mM; el volumen de extracto y precursor utilizado inicialmente fue de 1 mL para los tres experimentos. En el segundo parámetro evaluado, el volumen de extracto se varió en 0.25 mL, 0.5 mL y 0.75 mL contra 1 mL de solución de  $\text{HAuCl}_4$  a 7 mM.

**Figura 1.** Esquema de preparación de las NPs-Au utilizando extracto de sargazo como agente reductor.



Fuente: Elaboración de los autores.

### Caracterización de NPs-Au

Las NPs-Au se caracterizaron por diferentes técnicas. El análisis de espectroscopía ultravioleta-visible (UV-Vis) se realizó utilizando un espectrofotómetro UV-6000 (METASH Instruments Co. Ltd., Shanghai, China) para determinar la presencia de nanopartículas. Los espectros se registraron desde 300 nm hasta 800 nm usando celdas de cuarzo. La naturaleza cristalina y el tamaño del cristal se evaluaron por difracción de rayos X empleando un difractor Ultima IV (Rigaku Corporation, Tokio, Japón). La radiación utilizada fue  $\text{Cu K}\alpha$ , y el rango de  $2\theta$  grados fue desde 20 hasta 80°. La morfología y el tamaño de partícula se analizaron en un microscopio electrónico de barrido de emisión de campo frío SU8230 (Hitachi Ltd., Tokio, Japón) con un voltaje de aceleración de 1 kV. Finalmente, se sintetizaron los compuestos orgánicos invo-

lucrados en la reducción y estabilización de NPs-Au con base en los enlaces determinados por la técnica de espectroscopía FT IR utilizando un espectrómetro Spectrum Two FT-IR (Perkin Elmer, Waltham, MA, EUA).

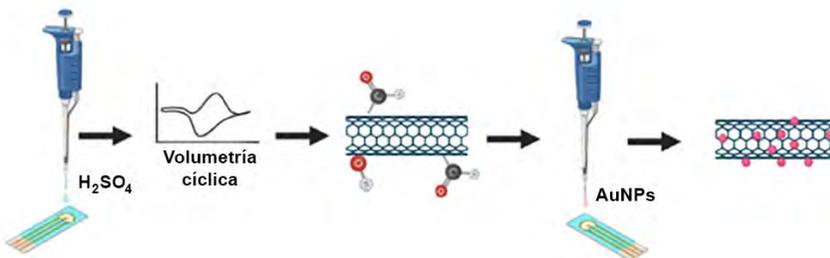
### Desarrollo y caracterización del sensor de Hg<sup>2+</sup> base CNT-SPE + NPs-Au

Las mediciones electroquímicas se realizaron utilizando un conector boxeer como interfaz entre los electrodos serigrafiados (SPE) y el potencióstato Bio-Logic VP-50 (Bio-Logic Science Instruments, Seyssinet-Pariset, Francia) utilizando ECLab como *software* de adquisición. Los electrodos de carbono serigrafiados (CNT-SPE, Tipo: 110-CNT), se compraron de DropSens (Oviedo, Asturias, España) y están constituidos por nanotubos de carbono de pared múltiple funcionalizados con grupos carboxilo (MWCNT-COOH). La celda electroquímica consta de MWCNT-COOH / Carbón, Carbón y Plata, como electrodo auxiliar y de referencia, respectivamente.

La superficie del electrodo de trabajo serigrafiada CNT-SPE se modificó primero mediante una activación/oxidación electroquímica (CNT-SPE/Ox) mediante voltamperometría cíclica de -1.0 V a +1.0 V a 100 mV/s durante 100 ciclos sobre una gota (50  $\mu$ M) de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0.5M). Para agregar las NPs-Au, se realizó una modificación adicional utilizando el método de vaciado por gota (*drop casting*). Se colocó una gota de 20 microlitros de NPs-Au, con una concentración equivalente de 15  $\mu$ g/ $\mu$ L (previamente dispersos por sonicación por 5 minutos) en el electrodo de trabajo, luego se protegió para evitar la contaminación por contacto con el aire, hasta secarse por 24 horas. El procedimiento tiene como objetivo generar en primera instancia fracciones hidroxilo, carbonilo y carboxilo los cuales se unen a los compuestos orgánicos que recubren las NPs-Au a través de enlaces de hidrógeno y/o enlaces covalentes. Un esquema del sensor descrito se muestra en la figura 2.

Para el análisis de detección de mercurio, se colocó una gota de 50 microlitros del *buffer* de Sorensen (pH = 7) en la superficie CNT-SPE con y sin NPs-Au para registrar las respuestas de voltametría de pulso diferencial (DPV) y cí-

**Figura 2.** Esquema de oxidación y posterior modificación de electrodos con nanotubos de carbono-electrodos serigrafiados (CNT-SPE) mediante la técnica *drop-casting* utilizando las NPs-Au obtenidas por síntesis verde usando extracto de sargazo para el montaje de un sensor para la detección y cuantificación de Hg<sup>2+</sup>.



Fuente: Elaboración de los autores.

clica (CV). Los experimentos de DPV se realizaron a una velocidad de exploración de 5 mV/s y una amplitud de pulso de 70 mV en el rango de -0.2 a 0.4 V, para CV se usó una ventana de potencial de -1V a +1V por dos ciclos y 50 mV/s como velocidad de barrido, luego de eso, una muestra de  $\text{Hg}^{2+}$  disuelta en el *buffer* fue analizada. Se aplicaron estas condiciones para analizar las siguientes concentraciones de mercurio: 20, 25, 30, 35 y 40  $\mu\text{M}$ ; diluido en el *buffer* para crear la curva de calibración. Como muestra real, una cantidad conocida de agua destilada fue contaminada con mercurio y posteriormente diluida en el *buffer* de Sorensen para su análisis; se colocó una gota de 50  $\mu\text{L}$  de esta muestra sobre el sensor electroquímico y fue examinada bajo las mismas condiciones experimentales previamente descritas.

## Resultados

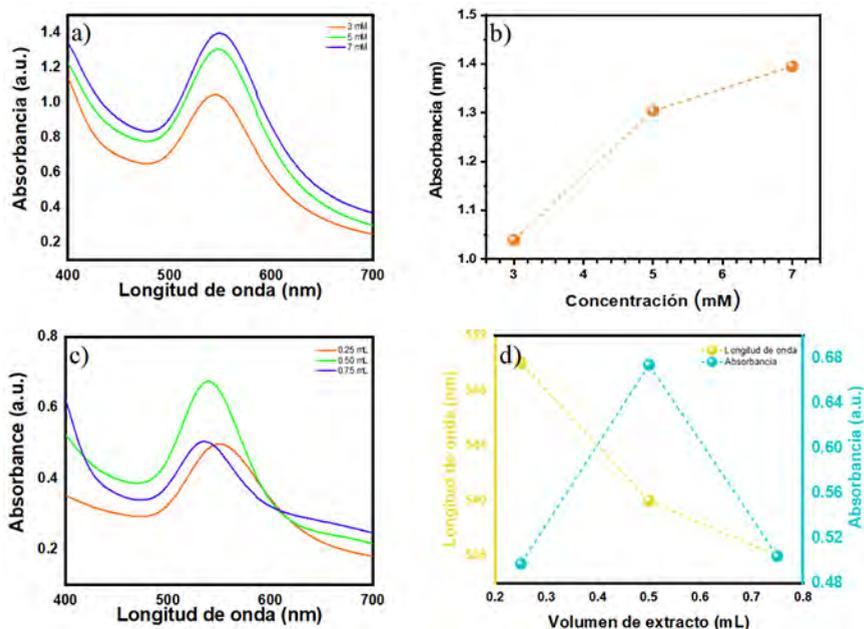
### Caracterización de NPs-Au

Las nanopartículas de oro (NPs-Au) sintetizadas se caracterizaron mediante espectroscopía UV-Vis al exhibir una banda de absorción causada por el fenómeno de resonancia de plasmón superficial. Para NPs-Au, dicha banda está entre 500 y 600 nm. La posición, intensidad y forma de la banda se relacionan con el tamaño, la morfología y la concentración de las nanopartículas. La figura 3a muestra los espectros UV-Vis de las NPs-Au sintetizadas con variaciones de la sal precursora (3, 5 y 7 mM). El tamaño promedio de las nanopartículas es similar en las tres muestras debido a que no se observan cambios significativos en la posición de las bandas. La figura 3b muestra la relación existente entre el valor de absorbancia y la concentración de la sal precursora. Como se puede observar, a medida que aumenta la concentración de sal, también aumenta la intensidad de la banda de absorción, lo cual significa un aumento de la concentración de nanopartículas.

Otro parámetro experimental importante, es la cantidad o volumen de extracto de sargazo usado para la síntesis. Los resultados dependen directamente del tipo y composición del extracto. Hay algunos reportes en los que el aumento del volumen de extracto mejora las características de las nanopartículas (Singh *et al.* 2019). Sin embargo, en muchos estudios se ha reportado un comportamiento contrario (Satpathy *et al.*, 2020; Usman, Aziz y Noqta, 2019). Es decir, el aumento en el volumen del extracto conduce a la síntesis de nanopartículas con varias morfologías y tamaños debido al mal control de la reacción. La figura 3c muestra los espectros de las NPs-Au obtenidos variando el volumen de extracto de sargazo, donde se observan cambios en intensidad, pero más importante, cambios en longitud de onda. La figura 3d muestra la relación que existe entre la variación de longitud de onda, absorbancia, y volumen de sargazo. Lo primero que se observa es que conforme se aumenta el volumen se presenta un corrimiento hipsocrómico, implicando que el tamaño de las partículas disminuye. Además, cuando el extracto de volumen se aumentó a 0.5 mL, la banda de absorción muestra un incremento significativo en

la intensidad, el cual vuelve a disminuir cuando se utilizaron 0.75 mL, esto implica que 0.5 mL corresponde al volumen óptimo de síntesis; logrando así, a este volumen, la mayor eficiencia de la síntesis. Por tanto, se seleccionó la muestra correspondiente a las nanopartículas sintetizadas con 0.5 mL de extracto de sargazo para su posterior caracterización y análisis electroquímico.

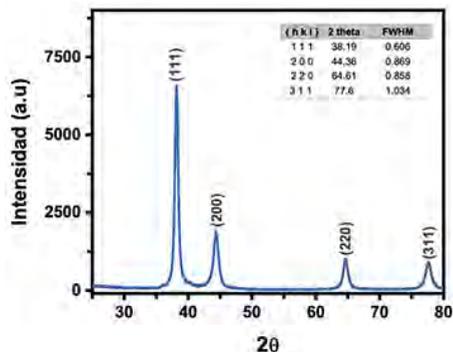
**Figura 3.** a) Análisis por espectroscopía UV-Vis de las variaciones de la sal precursora y b) el cambio en la absorbancia al variar la sal precursora a una longitud de onda de 554 nm. c) Análisis por espectroscopía UV-Vis de las variaciones de volumen sal : extracto a 7 mM y d) cambio en la longitud de onda y absorbancia de acuerdo con las variaciones de volumen sal : extracto.



Fuente: Elaboración de los autores.

La figura 4 muestra el patrón de difracción de rayos X de las NPs-Au sintetizadas con extracto de sargazo. El difractograma muestra cuatro reflexiones ubicadas a  $38.19^\circ$ ,  $44.36^\circ$ ,  $64.61^\circ$  y  $77.60^\circ$  correspondientes a los planos (111), (200), (220) y (311), respectivamente. Estos picos fueron indexados con la tarjeta JCPDF 04-0784 y pertenecen al oro con una estructura cúbica centrada y el parámetro de red estimado fue de 4.07 nm, lo cual, está de acuerdo con los datos de estructura de oro reportados en la literatura. Se usó el diagrama de Williamson-Hall para estimar el tamaño de los cristallitos usando el FWHM de todos los picos de difracción. El tamaño medio de los cristales se estimó en  $13.80 \pm 1.79$  nm. Estos resultados confirman la presencia de oro como única fase cristalina y el papel de los compuestos orgánicos del extracto de sargazo en las nanopartículas sintetizadas.

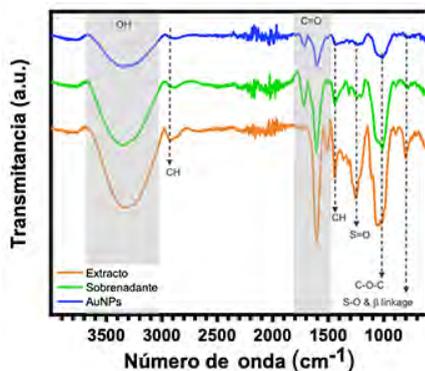
Figura 4. Análisis por difracción de rayos X de las NPs-Au sintetizadas utilizando extracto de sargazo.



Fuente: Elaboración de los autores.

El análisis FT-IR se llevó a cabo para determinar los compuestos orgánicos involucrados en la síntesis de NPs-Au. Los espectros del extracto (línea naranja), el sobrenadante obtenido después del lavado (línea verde) y de las NPs-Au sintetizadas (línea azul) se muestran en la figura 5. A pesar de que las 3 señales son muy similares, las bandas muestran un claro cambio en intensidad.

Figura 5. Análisis FT-IR de NPs-Au y extracto de sargazo antes y después de la síntesis de estas.



Fuente: Elaboración de los autores.

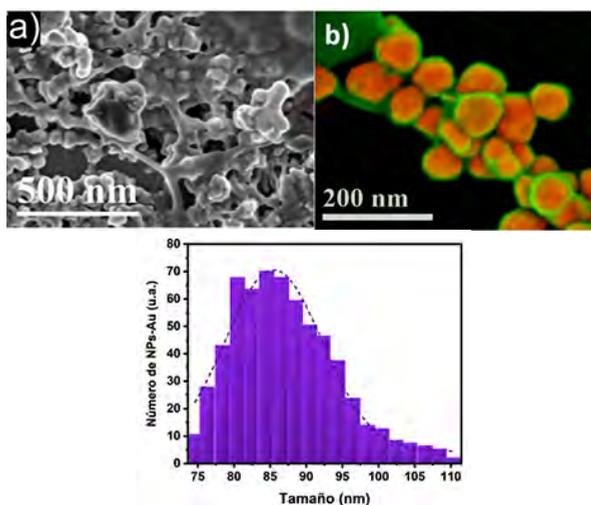
El extracto de sargazo muestra varias bandas características relacionadas con compuestos fenólicos. La señal ubicada en  $3240\text{ cm}^{-1}$  corresponde al estiramiento O-H. Las bandas de  $2920\text{ cm}^{-1}$  y  $1440\text{ cm}^{-1}$  corresponden al estiramiento C-H y a la flexión C-H, respectivamente. Las bandas ubicadas en  $1604\text{ cm}^{-1}$  y  $1498\text{ cm}^{-1}$  corresponden a enlaces aromáticos C = O. Las bandas de  $1360\text{ cm}^{-1}$  y  $1319\text{ cm}^{-1}$  están relacionadas con la flexión O-H, en los grupos alcohólico y fenólico, respectivamente. La banda alrededor de  $1250\text{ cm}^{-1}$  corres-

ponde al estiramiento C-O en anillos aromáticos. La banda alrededor de  $1035\text{ cm}^{-1}$  está relacionada con el estiramiento CO-O-CO. Finalmente, las bandas de  $894\text{ cm}^{-1}$  y  $800\text{ cm}^{-1}$  se atribuyen a la flexión C = C.

El sobrenadante y las NPs-Au mostraron espectros relativamente similares, aunque presentan menos bandas y también diferentes intensidades entre ellos. Por ejemplo, la banda de  $1182\text{ cm}^{-1}$  es más clara en este espectro y corresponde a un estiramiento C-O. Asimismo, la intensidad de la banda presentada en  $1706\text{ cm}^{-1}$  aparece mientras la banda en  $1604\text{ cm}^{-1}$  tiene menor intensidad, ambas correspondientes al estiramiento C = O, debido a la interacción de un grupo aceptor de electrones como el oro o mediante enlaces intramoleculares de hidrógeno entre moléculas del extracto después de la reacción con la sal de oro, lo cual explica el porqué esta frecuencia es de mayor intensidad en el sobrenadante que en las NPs-Au. Por otro lado, la banda en  $1498\text{ cm}^{-1}$  correspondiente al enlace aromático C = O desapareció. Estos cambios confirman que los compuestos fenólicos del sargazo están involucrados en la reducción del oro y su estabilización, resultando en la formación de nanopartículas con un recubrimiento orgánico.

La figura 6a muestra las micrografías SE-SEM del electrodo serigrafado comercial de nanotubos de carbono (CNT-SPE) después de ser modificado y funcionalizado con las NPs-Au. La imagen muestra CNT entrelazados, cubiertos por una clase de película y en zonas específicas algunos aglomerados. Dichos aglomerados corresponden a cúmulos de NPs-Au. La figura 6b muestra una imagen de colores formada por la mezcla de micrografías de electrones secundarios (SE-SEM) y electrones retrodispersados (BSE-SEM) realizadas sobre

**Figura 6.** Micrografías de: a) electrones secundarios (SE); b) electrones retro dispersados más secundarios (BSE+SE) que muestran el tamaño y la morfología de las NPs-Au sintetizadas con extracto de sargazo, y, c) distribución del tamaño de las NPs-Au.



Fuente: Elaboración de los autores.

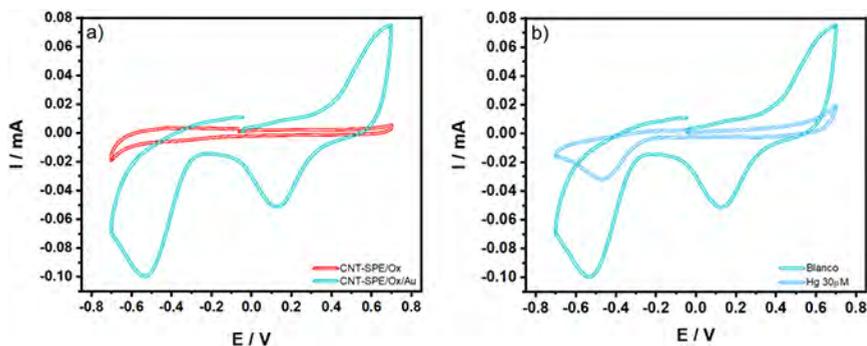
una muestra de NPs-Au. Es claro dentro de la micrografía que todas las nanopartículas están recubiertas por un compuesto orgánico (color verde) del extracto de sargazo, y las formas poliédricas de las nanopartículas (color rojo) se exhiben con mayor detalle, así como sus rangos de tamaño (entre 80 y 100 nm), como se muestra en el histograma de la figura 6c.

### Análisis para la detección de mercurio utilizando CNT-SPE/Ox+NPs-Au

En primera instancia se realizó una comparación entre el electrodo previamente oxidado/activado (CNT-SPE/Ox) y su modificación utilizando las NPs-Au (CNT-SPE/Ox/Au). En la figura 7a se puede observar la comparación de una solución de 30  $\mu\text{M}$  de mercurio en ambos electrodos, CNT-SPE/Ox y CNT-SPE/Ox/Au, donde se muestra una diferencia notoria entre ambos análisis, al no existir ningún tipo de señal de oxidación o reducción cuando se utiliza el electrodo CNT-SPE/Ox; mientras que cuando se utiliza la modificación con NPs-Au (CNT-SPE/Ox/Au) se puede observar en el análisis claramente una señal de reducción, que corresponde a la presencia del oro.

En la figura 7b se muestra el análisis voltamperométrico por medio de voltametría cíclica (CV) de una solución de mercurio 30  $\mu\text{M}$  y el blanco correspondiente a una solución del *buffer* de Sorensen. Se puede observar que en la solución de mercurio existe la ausencia de algunas señales de oxidación y reducción que se encontraban en el blanco, esto permite corroborar que las señales de reducción que se tienen en el análisis de mercurio corresponden a la reducción de la superficie de las NPs-Au que se encuentran en la modificación del electrodo CNT-SPE/Ox/Au.

**Figura 7.** a) Voltamograma cíclico superpuesto a 30  $\mu\text{M}$  de  $\text{Hg}^{2+}$  en CNT-SPE/Ox y CNT-SPE/Ox/Au; b) voltamograma cíclico superpuesto de 30  $\mu\text{M}$  de  $\text{Hg}^{2+}$  y de electrolito (*buffer* de Sorensen) en CNT-SPE/Ox/Au.



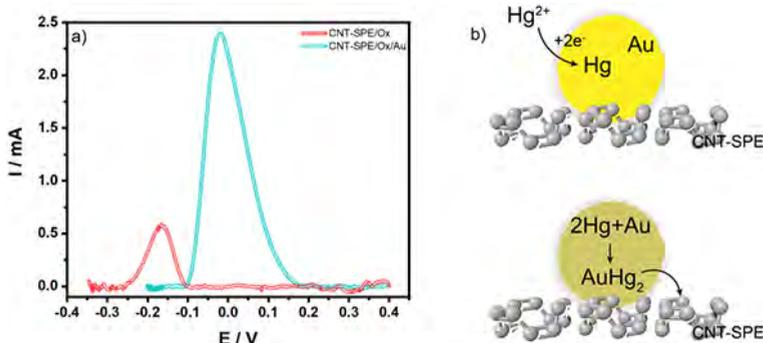
Fuente: Elaboración de los autores.

Para corroborar las últimas observaciones, se realizó un análisis adicional por medio de la técnica de voltametría de pulso diferencial (DPV) a los elec-

trodos CNT-SPE/Ox y CNT-SPE/Ox/Au utilizando la solución de 30  $\mu\text{M}$  de mercurio como se puede observar en la figura 8a.

De la misma manera en que se podía observar en la gráfica de CV, existe una diferencia en el análisis de la solución de mercurio 30  $\mu\text{M}$  debido a que, cuando el electrodo de nanotubos de carbono es únicamente oxidado (CNT-SPE/Ox), tiene una señal ubicada en -167 mV y en el momento en que es modificado con las NPs-Au (CNT-SPE/Ox/Au), la señal descrita desaparece y se puede observar una nueva, en potenciales más positivos, con una mayor corriente, en -36 mV; esta señal, como se podrá observar más adelante, es proporcional a la concentración de la solución de mercurio; esto refuerza la idea de que la detección del mercurio se da, principalmente, a través de su interacción con la superficie de las NPs-Au reducidas, ya que el  $\text{Hg}^{2+}$  se transfiere desde la solución en bulto hacia el electrodo modificado (CNT-SPE/Ox/Au) difundándose en él y formando una amalgama como se puede ver en la figura 8b.

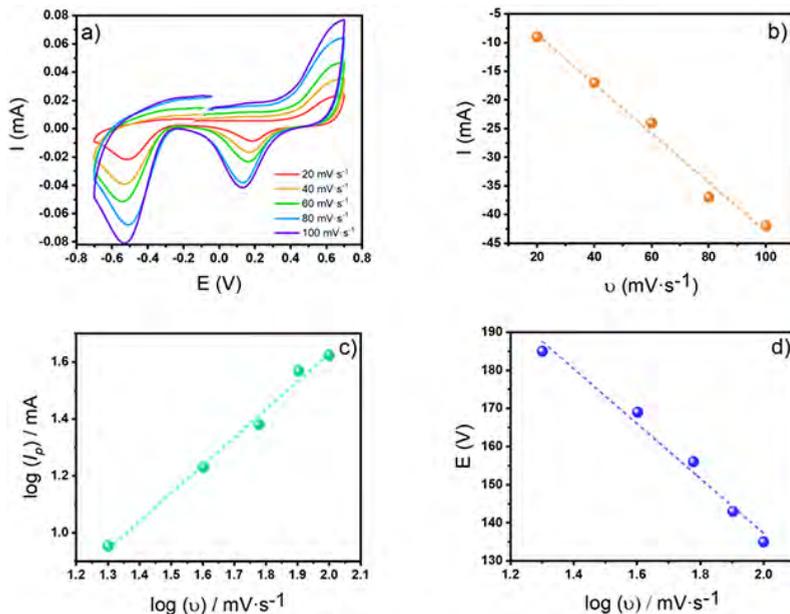
**Figura 8.** a) Voltamograma de pulso diferencial (DPV) superpuesto a 30  $\mu\text{M}$  de  $\text{Hg}^{2+}$  en CNTSPE/Ox y CNT-SPE/Ox/Au, y, b) mecanismo propuesto para la formación de la amalgama.



Fuente: Elaboración de los autores.

Además, se realizó un análisis adicional de los procesos de superficie que ocurren en el electrodo mediante el estudio de exploración del efecto de la velocidad potencial. La figura 9a muestra el voltamograma cíclico superpuesto a diferentes velocidades de barrido, en presencia de mercurio 30  $\mu\text{M}$ ; la figura 9b presenta la dependencia de la corriente de pico catódico, a diferentes velocidades de barrido (hasta 100  $\text{mV}\cdot\text{s}^{-1}$ ), donde se observa un comportamiento linealmente proporcional, característico de un sistema para sustancias adsorbidas superficialmente en el electrodo. Como se mencionó anteriormente, el mercurio se adsorbe en la superficie de CNTSPE/Ox/Au, esto se refuerza al observar la relación lineal entre  $\log(I_p)$  y  $\log(v)$  en la figura 9c, dado un valor de pendiente de 0.9785 y un coeficiente de correlación de  $r^2 = 0.992$ , el valor de la pendiente confirma que el proceso de adsorción del electrodo se controla ya que se acerca al valor teórico de 1 (Karthika *et al.*, 2019).

**Figura 9.** a) Voltamogramas cíclicos de una solución de  $\text{Hg}^{2+}$  a  $30 \mu\text{M}$  a diferentes velocidades de barrido; b) gráfica de la corriente máxima de reducción frente a la velocidad de barrido potencial; c) gráfica del logaritmo de la señal potencial de reducción contra el logaritmo de la velocidad de barrido, y, d) potencial del pico anódico frente a logaritmo de la velocidad de barrido.



Nota: Todas las gráficas se realizaron en CNT-SPE/Ox/Au utilizando el buffer de Sorensen.  
 Fuente: Elaboración de los autores.

Además, es posible determinar la irreversibilidad del sistema observando la respuesta voltamperométrica del mercurio con solo presentar la regresión lineal entre  $E_p$  y  $\log(v)$  la cual muestra una buena linealidad dada una pendiente de 80 y un coeficiente de correlación de  $r^2 = 0.90$  y concuerda con lo expresado en la ecuación de la teoría de Laviron:

$$E_p = E^0 + \left( \frac{2.303RT}{\alpha nF} \right) \log \left( \frac{RTk^0}{\alpha nF} \right) + \left( \frac{2.303RT}{\alpha nF} \right) \log(v) \dots (1)$$

donde  $\alpha$  es el coeficiente de transferencia,  $k^0$  es la constante de velocidad heterogénea estándar para la reacción,  $n$  el número de electrones,  $v$  la velocidad de barrido y  $E^0$  el potencial redox estándar y el resto de los símbolos tienen su significado habitual.

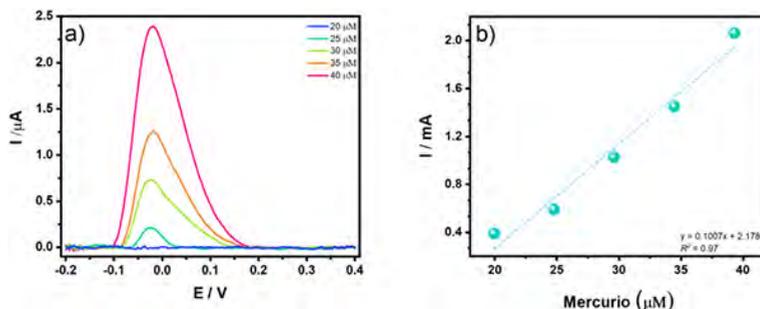
Por la expresión de Bard-Faulkner (ecuación 2), donde  $E_p$  es el pico de potencial y  $E_p/2$  es el pico de ancho en el medio de la corriente; y el hecho de que la reducción de mercurio implica la transferencia de un electrón ( $n = 1$ ), el coeficiente de transferencia se puede calcular como  $\alpha = 0,4$ , que es cercano

a 0.5, lo cual significa que el porcentaje de energía empleada en la reacción electroquímica de reducción y oxidación es equitativa.

$$\Delta E_p = E_p - E_{p/2} = \frac{47.7}{\alpha n} \dots (2)$$

Finalmente, se realizaron las mediciones analíticas para la detección de mercurio en el CNT-SPE/Ox/Au y la figura 10a muestra la respuesta de voltametría de pulso diferencial superpuesta de  $\text{Hg}^{2+}$  en diferentes concentraciones, donde se puede observar la señal anteriormente descrita de oxidación alrededor de -36 mV que aumenta su corriente con respecto a la concentración, este pico se utilizó para la detección y cuantificación de  $\text{Hg}^{2+}$  en muestras reales. Además, se puede notar que, en la concentración más baja, aparece otro pico de oxidación alrededor de -110 mV, que va desapareciendo a medida que aumenta la concentración, esta señal pertenece al *buffer* utilizado para el experimento. El límite de detección (LOD) para  $\text{Hg}^{2+}$  se estimó en 2.38  $\mu\text{M}$  (0.477 ppm), aunque no se ha alcanzado el LOD para un ensayo de  $\text{Hg}^{2+}$  de la regulación de la Organización Mundial de la Salud (OMS) en agua potable (30 nM) (Poulin, Gibb y Prüss-Üstüm, 2013), esta técnica permite detectar mercurio en solución acuosa con una técnica portátil y de bajo costo sin utilizar materiales costosos o procesos de preparación complicados; por ejemplo, el máximo permitido de  $\text{Hg}^{2+}$  para el consumo humano dictado por la Comunidad Europea 93/351/EEC, establece un límite promedio de 500  $\mu\text{g}/\text{kg}$  peso húmedo de  $\text{Hg}^{2+}$  en pescado (Ebdon *et al.*, 2002), en cambio, el LOQ fue de 3  $\mu\text{M}$ . La importancia de detectar las concentraciones de mercurio a las que están expuestos los seres vivos radica en que plantas y animales absorben con gran facilidad compuestos orgánicos/inorgánicos de mercurio, ocasionando bioacumulación en la cadena alimenticia, esto se puede ver reflejado en que los seres humanos pueden absorber y acumular mercurio en sus tejidos debido a la dieta y ocasionar problemas como sordera, dolor de cabeza, hipertensión, desórdenes neurológicos, daños irreversibles en el cerebro e incluso la muerte (Lim, Kim y Woo, 2021). Cuando se analizó la muestra real de agua corriente contaminada con una cantidad conocida de mercurio (5  $\mu\text{M}$ ), se obtuvo una corriente de 2.7 mA, que se detectó por DPV, y remplazando en la ecuación de la curva de calibración, resultó en una concentración de 5.26  $\mu\text{M}$ ; por lo que estuvo bien correlacionada con la contaminación realizada. Se han propuesto otros sensores electroquímicos con valores de LOD y LOQ bajos, pero con algunas desventajas. Por ejemplo, los electrodos modificados con nanopartículas de bismuto mejoran la sensibilidad para la detección de metales pesados, sin embargo, son fácilmente hidrolizados tanto en medio alcalino como neutro, requiriendo previamente una optimización en el parámetro experimental especificado en el pH, potencial de deposición y tiempo (Frena *et al.*, 2011).

Figura 10. a) Voltamograma de pulso diferencial (DPV) a la respuesta electroquímica de  $Hg^{2+}$  en diferentes concentraciones, y, b) su curva de calibración.

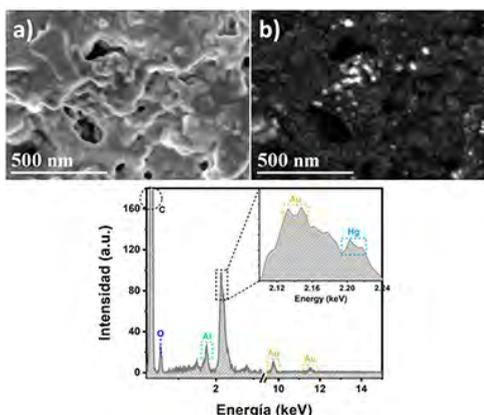


Nota: Para las mediciones se utilizó el buffer de Sorensen y una velocidad de barrido de 5 mV/s; con una amplitud de pulso de 70 mV.

Fuente: Elaboración de los autores.

La figura 11a muestra la micrografía SE-SEM de CNT-SPE/Ox/Au utilizada para la detección de  $Hg^{2+}$ . Como se puede observar en la imagen, la superficie está completamente cubierta por la solución y no se aprecian CNT, lo cual indica la saturación del electrodo. La micrografía BSE-SEM de la figura 11b muestra la presencia de puntos brillantes que están asociados con los metales  $Au^0$  y  $Hg^{2+}$ . En la muestra, el  $Hg^{2+}$  se ubica uniformemente en el sitio de las NPs-Au, corroborando la alta interacción metalófila entre el Hg y el Au. La figura 11c muestra el espectro de rayos X de dispersión de energía (EDS) del CNTSPE/Ox/Au con  $Hg^{2+}$ , confirmando la presencia de  $Au^0$  y  $Hg^{2+}$ . Como se informó anteriormente y como se observó en CV y DVP, el  $Au^0$  presente en la superficie de las NPs-Au interactúa selectivamente con el  $Hg^{2+}$  y confirma la formación de una amalgama Au-Hg (Thakur, Mandal y Banerjee, 2018).

Figura 11. a) y b) micrografías del electrodo CNT-SPE/Ox/Au utilizado para la detección de mercurio, y, c) espectro EDS de las muestras.



Fuente: Elaboración de los autores.

## Conclusiones

El sensor electroquímico desarrollado CNT-SPE/Ox/Au es un dispositivo eficiente capaz de detectar niveles bajos de mercurio en solución acuosa (0.477 ppm) que se pueden encontrar en muestras de alimentos, suelos, sangre; con previa preparación de las muestras, de manera sensible, confiable y de bajo costo, al emplear pequeños volúmenes de muestra. Se determinaron bajos límites de detección y de cuantificación y además la miniaturización inherente del sistema electroquímico se ve beneficiada por el método de síntesis de las NPs-Au empleadas (síntesis verde a partir de extracto acuoso de sargazo) creando un efecto sinérgico que deriva en un método analítico para la detección de mercurio de forma ecológica y al mismo tiempo aumentando su sensibilidad y especificidad debido a la reducción del  $Hg^{2+}$  sobre el  $Au^0$ . Es importante mencionar, que la inclusión de las NPs-Au se realizó de una manera fácil con solo colocar una pequeña gota de 20  $\mu L$  en la superficie del electrodo de trabajo en SPE-CNT, debido a la interacción de grupos funcionales presentes en las NPs-Au debido a la síntesis verde y a la oxidación de los nanotubos de carbono del SPE.

## Referencias

- Abdoli, Mohadese, Elham Arkan, Zahra Shekarbeygi y Salar Khaledian. (2021). Green synthesis of gold nanoparticles using *Centaurea behen* leaf aqueous extract and investigating their antioxidant and cytotoxic effects on acute leukemia cancer cell line (THP-1). *Inorganic Chemistry Communications*, 129: 108649. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1387700321002082>.
- Al-Radadi, Najlaa S. (2021). Facile one-step green synthesis of gold nanoparticles (AuNp) using licorice root extract: Antimicrobial and anticancer study against HepG2 cell line. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(2): 102956. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1878535220305177>.
- Asnag, G. M., A. H. Oraby y A. M. Abdelghany. (2019). Green synthesis of gold nanoparticles and its effect on the optical, thermal and electrical properties of carboxymethyl cellulose. *Composites Part B: Engineering*, 172: 436-446. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1359836819306894>.
- Bernhoft, Robin A. (2012). Mercury toxicity and treatment: a review of the literature. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012: 460508. <https://doi.org/10.1155/2012/460508>.
- Camacho-de la Cruz, Arlette A., Guillermo Espinosa-Reyes, Carlos A. Reboloso-Hernández, Leticia Carrizales-Yáñez, César A. Ilizaliturri-Hernández, Luis E. Reyes-Arreguín y Fernando Díaz-Barriga. (2021). Holistic health risk assessment in an artisanal mercury mining region in Mexico. *Environmental Monitoring and Assessment*, 193(8): 541. <https://doi.org/10.1007/s10661-021-09312-7>.
- Chen, Xin-yue, Zhiyuan Xue, Jiahui Ji, Donghan Wang, Gengen Shi, Liang-gong Zhao y Shilan Feng. (2020). Hedysarum polysaccharides mediated green synthesis of

- gold nanoparticles and study of its characteristic, analytical merit, catalytic activity. *Materials Research Bulletin*, 133: 111070. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2020.111070>.
- Cho, Il-Hoon, Dong Hyung Kim y Sangsoo Park. (2020). Electrochemical biosensors: perspective on functional nanomaterials for on-site analysis. *Biomaterials Research*, 24(1): 6. <https://doi.org/10.1186/s40824-019-0181-y>.
- Ebdon, Les, Mike E. Foulkes, Sophie Le Roux y Riansares Muñoz-Olivas. (2002). Cold vapour atomic fluorescence spectrometry and gas chromatography-pyrolysis-atomic fluorescence spectrometry for routine determination of total and organometallic mercury in food samples. *Analyst*, 127 (8): 1108-1114. <https://doi.org/10.1039/B202927H>. <http://dx.doi.org/10.1039/B202927H>.
- Frena, Morgana, Iolana Campestrini, Otoniel C. de Braga y Almir Spinelli. (2011). *In situ* bismuth-film electrode for square-wave anodic stripping voltammetric determination of tin in biodiesel. *Electrochimica Acta*, 56(12): 4678-4684. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0013468611003501>.
- González-Reyna, Marlen Alexis, Beatriz Liliana España-Sánchez, Gustavo Andrés Molina, José Luis López-Miranda, Rubén Mendoza-Cruz, Rodrigo Esparza y Miriam Estevez. (2022). Carbon dots synthesized from *Cinchona pubescens* Vahl. An efficient antibacterial nanomaterial and bacterial detector. *ChemistrySelect*, 7(17): e202104530. <https://doi.org/https://doi.org/10.1002/slct.202104530>.
- Guo, Weiwei, Jipei Yuan y Erkang Wang. (2009). Oligonucleotide-stabilized Ag nanoclusters as novel fluorescence probes for the highly selective and sensitive detection of the Hg<sup>2+</sup> ion. *Chemical Communications*, (23): 3395-3397. <https://doi.org/10.1039/B821518A>. <http://dx.doi.org/10.1039/B821518A>.
- Hammami, Inès, Nadiyah M. Alabdallah, Amjad Al jomaa y Madiha kamoun. (2021). Gold nanoparticles: synthesis properties and applications. *Journal of King Saud University – Science*, 33(7): 101560. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1018364721002214>.
- Karthika, A., V. Ramasamy Raja, P. Karuppasamy, A. Suganthi y M. Rajarajan. (2019). Electrochemical behaviour and voltammetric determination of mercury (II) ion in cupric oxide/poly vinyl alcohol nanocomposite modified glassy carbon electrode. *Microchemical Journal*, 145: 737-744. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0026265X18309743>.
- Lee, Ju Hee, Hyo Jin Kim, Youngheun Jee, You-Jin Jeon y Hyun Jung Kim. (2020). Antioxidant potential of *Sargassum horneri* extract against urban particulate matter-induced oxidation. *Food Science and Biotechnology*, 29(6): 855-865. <https://doi.org/10.1007/s10068-019-00729-y>.
- Lim, Ji Won, Tai-Yong Kim y Min-Ah Woo. (2021). Trends in sensor development toward next-generation point-of-care testing for mercury. *Biosensors and Bioelectronics*, 183: 113228. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.bios.2021.113228>. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0956566321002657>.
- Muniyappan, N., M. Pandeeswaran y Augustine Amalraj. (2021). Green synthesis of gold nanoparticles using *Curcuma pseudomontana* isolated curcumin: its characterization, antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activities. *Envi-*

- ronmental Chemistry and Ecotoxicology*, 3: 117-124. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2590182621000035>.
- Polo, Luz K. y Fungyi Chow. (2022). Variation of antioxidant capacity and antiviral activity of the brown seaweed *Sargassum filipendula* (Fucales, Ochrophyta) under UV radiation treatments. *Applied Phycology*, 3(1): 260-273. <https://doi.org/10.1080/26388081.2022.2030653>.
- Poulin, Jessie, Herman Gibb y Annette Prüss-Üstüm; Organización Mundial de la Salud (2013). *Mercurio: Evaluación de la carga de morbilidad ambiental a nivel nacional y local*. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/78130>.
- Prasedya, E. S., N. W. R. Martyasari, A. S. Abidin, B. T. K. Ilhami, H. Padmi, S. Widyastuti, A. L. Sunarwidhi y H. Sunarpi. (2021). Antioxidant activity of brown macroalgae *Sargassum* ethanol extract from Lombok coast, Indonesia. *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, 712(1): 012038. <https://doi.org/10.1088/1755-1315/712/1/012038>.
- Satpathy, Swaha, Arjun Patra, Bharti Ahirwar y Muhammad Delwar Hussain. (2020). Process optimization for green synthesis of gold nanoparticles mediated by extract of *Hygrophila spinosa* T. Anders and their biological applications. *Physica E: Low-dimensional Systems and Nanostructures*, 121: 113830. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2019.113830>. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1386947719304564>.
- Singh, Ankit Kumar, Ratnakar Tiwari, Vikas Kumar Singh, Prabhakar Singh, Sk Riyazat Khadim, Urmilesh Singh, Laxmi, Vikas Srivastava, S. H. Hasan y R. K. Asthana. (2019). Green synthesis of gold nanoparticles from *Dunaliella salina*, its characterization and *in vitro* anticancer activity on breast cancer cell line. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 51: 164-176. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1773224718315648>.
- Thakur, Neeraj S., Narattam Mandal y Uttam C. Banerjee. (2018). Esterase-mediated highly fluorescent gold nanoclusters and their use in ultrasensitive detection of mercury: synthetic and mechanistic aspects. *ACS Omega*, 3(12): 18553-18562. <https://doi.org/10.1021/acsomega.8b02505>.
- U. S. Geological Survey. (2020). *Mineral commodity summaries 2020*. Reston, VA: U. S. Geological Survey. <http://pubs.er.usgs.gov/publication/mcs2020>. <https://doi.org/10.3133/mcs2020>.
- Usman, Adamu Ibrahim, Azlan Abdul Aziz y Osama Abu Noqta. (2019). Green sonochemical synthesis of gold nanoparticles using palm oil leaves extracts. *Materials Today: Proceedings*, 7: 803-807. <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2214785318330062>.
- Yeh, Yi-Cheun, Brian Creran y Vincent M. Rotello. (2012). Gold nanoparticles: preparation, properties, and applications in bionanotechnology. *Nanoscale*, 4(6): 1871-1880. <https://doi.org/10.1039/C1NR11188D>.



# Extracción de quitina de *Aspergillus niger* asistida por ondas de choque: caracterización fisicoquímica y eléctrica<sup>◇</sup>

## Shock wave-assisted extraction of chitin from *Aspergillus niger*: physicochemical and electrical characterization

Blanca E. Millán-Chiu,<sup>\*,†</sup> Eduardo A. Alarcón-Flores,<sup>\*\*</sup> Eduardo Ortiz-Olan,<sup>\*\*\*</sup> Francisco Fernández,<sup>\*</sup> Achim M. Loske<sup>\*</sup>

**ABSTRACT:** Chitin is a linear polysaccharide produced by animal and fungal species. One of its sources is the fungus *Aspergillus niger*, which is culturable in industrial bioreactors. Chitin is a neutral biopolymer that modifies the electrical properties of composite materials. These are useful features in some electronic devices. This study aimed to carry out physicochemical characterizations of chitin films obtained from the above-mentioned fungus, using a chemical method enhanced with exposure to heat and shock waves, and to determine their electrical resistivity at high voltages (between 10 and 20 kV). Shock waves were used in this study because they are known to induce pores into cells and could promote alkali entry into the hypha, allowing better removal of residual cellular components. Chitin was neutralized, dried, and films were produced. Residual protein values were quantified by bicinchoninic acid assay (BCA). The films obtained had low amounts of protein. The characterization of the specific morphotype extracted was done by FTIR and XRD. An especially designed circuit revealed significant variations of the resistivity as the voltage was varied. This behavior is typical of a non-linear varistor and, to the best of our knowledge, has not been reported for chitin.

**KEYWORDS:** *Aspergillus niger*, shock waves, chitin films, electrical resistivity.

**RESUMEN:** La quitina es un polisacárido lineal producido por especies animales y fúngicas. Una de sus principales fuentes de obtención es el hongo *Aspergillus niger*, cultivado en biorreactores industriales. Es un biopolímero neutro que modifica las propiedades eléctricas de los materiales compuestos, una característica muy útil para algunos dispositivos electrónicos. Nuestro objetivo en este trabajo fue la caracterización fisicoquímica de películas de quitina, extraída de dicho

Recibido: 19 de enero, 2023.

Aceptado: 17 de abril, 2023.

Publicado: 23 de mayo, 2023.

<sup>◇</sup> Los autores agradecen a Paula Bernardino, Beatriz Millán, René Preza y Guillermo Vázquez por su asistencia técnica. Al Laboratorio Nacional de Caracterización de Materiales, al Laboratorio de Espectroscopía Óptica del CFATA de la UNAM. Este proyecto fue financiado por el Conacyt (proyecto A1-S-21130 de Ciencia Básica, 2018-2019). Eduardo Ortiz agradece al Conacyt por la beca, en el marco del mismo proyecto.

<sup>\*</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Querétaro, Qro., México.

<sup>\*\*</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Posgrado en Ciencia e Ingeniería de Materiales, Querétaro, Qro., México.

<sup>\*\*\*</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, licenciatura en Tecnología, Querétaro, Qro., México.

<sup>†</sup> Autora de correspondencia: blanca.millan@fata.unam.mx



hongo por un método químico asistido por ondas de choque y calor, así como también determinar su resistividad eléctrica al aplicarle altos voltajes (entre 10 y 20 kV). Las ondas de choque se utilizaron en este estudio porque se sabe que inducen poros en las células y podrían promover la entrada de álcali en la hifa, permitiendo una mejor eliminación de los componentes celulares residuales. La quitina fue neutralizada, secada y se formaron películas. Los valores de proteína residual se cuantificaron con la técnica de ácido bicinonínico (BCA), obteniendo películas con bajas cantidades de proteína. La caracterización del morfotipo específico extraído se estimó mediante infrarrojo transformado de Fourier (FTIR) y difracción de rayos X (XRD). Para evaluar la resistividad ante voltajes elevados, se diseñó un circuito especial que permitió detectar variaciones significativas de esta con respecto al voltaje aplicado, es decir, la quitina mostró un comportamiento coincidente con un varistor no lineal y, hasta donde sabemos, este es el primer informe de dicho comportamiento para la quitina.

**PALABRAS CLAVE:** *Aspergillus niger*, ondas de choque, películas de quitina, resistividad eléctrica.

## Introducción

Después de la celulosa, la quitina es el segundo biopolímero más abundante en el mundo. Se produce por varias especies de hongos, crustáceos, insectos, poríferos, cnidarios y tardígrados (Chen *et al.*, 2021). Es un polisacárido lineal conformado por unidades repetidas de  $\beta$ -(1-4)-N-acetilglucosamina (Song *et al.*, 2012), reportado por primera vez en el año 1811 por el químico francés Henri Braconnot, quien observó una fracción del hongo *Agaricus volvaceus* insoluble en álcali, a la cual denominó “fungina”. El término quitina se debe al químico francés Auguste Odier, quien, en 1823, la obtuvo a partir de élitros de insectos. La quitina y el quitosano (derivado desacetilado de la quitina) poseen propiedades de adsorción, biodegradabilidad, baja toxicidad y buena biocompatibilidad (Crini, 2019). Ambos polímeros son de gran interés para aplicaciones en áreas biomédicas, en el tratamiento de aguas, en el procesamiento y embalaje de alimentos, en la industria cosmética, en el desarrollo de baterías de estado sólido y en la fotografía, entre otras (Hirano, 1996; Song *et al.*, 2012).

Se han descrito múltiples ventajas del uso de la quitina fúngica, como tener el menor contenido de sustancias alergénicas (Jones *et al.*, 2020), ser fuentes de producción continuas y homogéneas (a diferencia de las fuentes animales que son estacionales y heterogéneas); su extracción es más amigable con el ambiente debido a una menor generación de productos de desecho durante la extracción, entre otras (Philibert *et al.*, 2017). El contenido de quitina puede variar desde 2 y hasta 42% y depende de la especie de hongo, de las condiciones ambientales de crecimiento, así como de la edad y la estructura fúngica utilizada en la extracción (Nawawi *et al.*, 2020).

*Aspergillus niger* es un hongo muy utilizado en la industria, pues es productor de ácido cítrico y otros ácidos orgánicos. También produce una gran cantidad de enzimas como amilasas, fitasas y proteasas (Shahlaei y Pourhossein, 2013). Este hongo microscópico, se usa actualmente como plataforma para la producción de proteínas heterólogas recombinantes (Ntana *et al.*, 2020). Es cultivado a gran escala en biorreactores, pudiéndose usar como fuente para la

extracción de quitina fúngica (Posch *et al.*, 2013). Se ha reportado que sus paredes celulares poseen un contenido de quitina de aproximadamente 23% (Wu *et al.*, 2005).

El objetivo general de este estudio comprendió la extracción de quitina del hongo *A. niger* por un método químico asistido por ondas de choque concentradas y calor, formando películas a las que se les determinó su resistividad eléctrica ante voltajes relativamente elevados (entre 10 y 20 kV). Así, uno de los objetivos particulares fue probar dichas ondas de choque como posible adyuvante de la extracción, mientras que el otro fue dirigido al análisis de las propiedades eléctricas de la quitina en condiciones extremas, donde su utilidad como dieléctrico —entre otras— no ha sido explorada a la fecha.

Las ondas de choque reportadas en este trabajo son del tipo utilizado en aplicaciones clínicas y biotecnológicas (Lohrer y Gerdesmeyer, 2014; Loske, 2017; Molina *et al.*, 2020; Larrañaga-Ordaz *et al.*, 2022). Se trata de pulsos de presión con una duración de 0.5 a 3  $\mu\text{s}$  y presiones entre 10 y 150 MPa, seguidos de un pulso de rarefacción de aproximadamente 2 a 20  $\mu\text{s}$ , cuya amplitud (considerada negativa con respecto a la presión de equilibrio) puede superar 20 MPa. Se producen en un fluido, generalmente agua, y se concentran con reflectores, lentes o, como en el caso descrito aquí, con generadores de forma semiesférica. El número de veces (dosis), la presión y la frecuencia con la cual se emiten estos pulsos depende de la aplicación específica. Una característica importante es que el tiempo en el que la presión aumenta desde su valor de equilibrio (presión hidrostática) hasta el valor máximo ( $P^+$ ) es extremadamente corto (menor a 500 ns).

Al hacer pasar este tipo de perturbaciones a través de un fluido como el agua o una suspensión de hongos microscópicos, se produce cavitación acústica, es decir, el crecimiento y colapso violento de microburbujas (Choi *et al.* 1993; Ohl e Ikink, 2003; Cleveland y McAteer, 2007; Johnsen y Colonius, 2008). El incremento súbito de presión comprime las microburbujas de aire contenidas en el fluido, aumentando su presión interna significativamente. A este fenómeno, conocido como colapso forzado, le sigue una expansión súbita, con duración de decenas de microsegundos, debida a la elevada presión dentro de la burbuja y a la influencia de la presión negativa de la onda de choque. Después de aproximadamente 100 a 600  $\mu\text{s}$ , las burbujas sufren un colapso inercial sumamente violento, durante el cual se generan ondas de choque secundarias y microchorros de fluido, denominados microjets, cuyas velocidades pueden llegar hasta 700 m/s (Philipp *et al.*, 1993).

Los efectos físicos, biológicos y terapéuticos de las ondas de choque dependen en gran medida de la cavitación acústica, es decir, de los esfuerzos producidos por las ondas de choque secundarias y los microjets emitidos por el colapso de las microburbujas. La formación de burbujas también es propiciada por núcleos de cavitación, que son sitios en los que la fuerza de adhesión entre el fluido y alguna superficie es relativamente baja.

La emisión de los microjets puede ser potenciada haciendo incidir una segunda onda de choque justo durante el colapso de las burbujas generadas por

la onda de choque precedente, lo cual es un proceso denominado generación de ondas de choque tándem (Lukes *et al.*, 2016). La elección del intervalo de tiempo óptimo entre la primera y la segunda onda de choque (también llamado *retraso*) para cierta aplicación es complicada, debido a que la cavitación depende de muchas variables como la viscosidad, la temperatura, la densidad de microburbujas, así como de la cantidad y tamaños de los núcleos de cavitación en la suspensión.

Las ondas de choque tándem se han usado como método de permeabilización celular para aumentar la eficiencia de transformación genética de *A. niger* (Loske *et al.*, 2014). En el ensayo reportado aquí, se recurrió a su uso con la finalidad de promover el ingreso de álcali al interior de las hifas, permitiendo una mayor eliminación de componentes celulares residuales que podrían considerarse como contaminantes en el producto final.

La quitina y el quitosano poseen propiedades eléctricas como la capacidad de carga y descarga, capacidad de actuación, dielectricidad y triboelectricidad. La quitina es un biopolímero neutro mientras que el quitosano es un biopolímero catiónico (Ponnamma *et al.*, 2017). Su uso potencial en la electrónica se contempla como una alternativa para enfrentar el problema de los desperdicios electrónicos y el desarrollo de materiales de nueva generación, renovables y amigables con el ambiente (Wang *et al.*, 2021; Ponnamma *et al.*, 2017). Autores diversos han reportado que la presencia de quitina como componente en algunos materiales compuestos modifica las propiedades dieléctricas y triboeléctricas originales, resultando de utilidad en la propuesta de dispositivos electrónicos como capacitores, biosensores y nanogeneradores triboeléctricos. Zhang y Olin (2020) y Salaberría *et al.* (2018) han encontrado que el refuerzo de materiales de quitosano con nanocristales de quitina redujo la conductividad eléctrica y disminuyó su tendencia a absorber agua. Por otro lado, Wang *et al.* (2020) al utilizar nanoláminas de nitruro de boro con una fuerza dieléctrica alta y pérdida electrónica baja, embebidas en una matriz de quitina, observaron que esta última impactó el comportamiento en ambas variables. Kamalov *et al.* (2020) demostraron que el uso de nanofibras de quitina en matrices de cultivo para fibroblastos permitió modular e incrementar la conductividad eléctrica de la matriz.

Existe gran interés en conocer las propiedades eléctricas de biopolímeros que puedan integrarse en el desarrollo y el mejoramiento de dispositivos electrónicos biodegradables. De entre la variedad de biopolímeros existentes, la quitina es uno de los más abundantes y sus propiedades eléctricas han sido analizadas principalmente como parte de materiales compuestos.

## Material y métodos

### Preparación de muestras

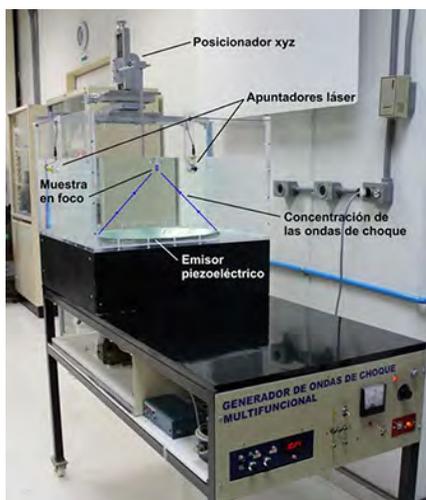
Se elaboraron suspensiones de la masa fúngica a una concentración de 25 mg/mL (m/v) en hidróxido de sodio (NaOH 1M), las cuales fueron homoge-

neizadas en vórtex (Benchmark Scientific Inc., Sayreville, NJ, EUA). Para todos los tratamientos se utilizaron 3 mL por muestra, colectados completamente en 16 pipetas de transferencia de polietileno con capacidad de 4 mL (SEDI-PET, SAMCO, Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EUA), sellando su tallo con calor a 20 mm del bulbo. Cuatro de las suspensiones se incubaron durante 1 h y el resto (12 pipetas) se dejaron a temperatura ambiente (T.A.) durante 24 h previas a cualquier otro tratamiento. Tres pipetas de cada lote fueron sometidas a ondas de choque como método adyuvante en la extracción y una se dejó como control de tratamiento.

### Aplicación de ondas de choque

La aplicación de ondas de choque se llevó a cabo con el equipo experimental mostrado en la figura 1, el cual fue diseñado para generar ondas de choque tándem con retrasos seleccionables en los intervalos de 10 a 100  $\mu\text{s}$  ( $\pm 2 \mu\text{s}$ ) y de 100 a 900  $\mu\text{s}$  ( $\pm 5 \mu\text{s}$ ). Básicamente consiste en un emisor de ondas de choque piezoeléctrico Piezolith 2501 (Richard Wolf GmbH, Knittlingen, Alemania), montado en el fondo de una tina de acrílico de 675  $\times$  675 mm de base y 450 mm de altura, que produce ondas de presión por la súbita expansión de 3000 cristales piezoeléctricos montados sobre la parte cóncava de una superficie semiesférica de aluminio al ser expuestos a una descarga de alto voltaje de 2 a 6 kV. Una superficie polimérica aísla los cristales y sus contactos eléctricos del agua. Debido a efectos no lineales y a la superposición de la contribución del pulso de presión de todos los cristales se produce una onda de choque en torno al centro del arreglo, denominado foco (*F*).

**Figura 1.** Fotografía del generador de ondas de choque utilizado, con líneas y leyendas sobrepuestas para facilitar su comprensión.



Fuente: Elaboración de los autores.

Para el voltaje usado (6 kV), el volumen dentro del cual  $P^+$  tiene un valor igual o mayor al 50% de su máximo, denominado zona focal de -6 dB, tiene la forma de un elipsoide vertical, centrado en  $F$ , con ejes de aproximadamente 6.6 y 1.8 mm. La densidad de energía en el foco es de 0.895 mJ/mm<sup>2</sup>. Un posicionador xyz (UniSlide Assemblies Velmex, Inc., Bloomfield, NY, EUA) y dos láseres situados en dos paredes (perpendiculares una a la otra) de la tina, a la altura de  $F$  (plano focal), permiten colocar las muestras dentro de la tina con una precisión de  $\pm 0.05$  mm.

El nivel de agua dentro de la tina se mantuvo fijo a 40 mm arriba de  $F$  y la frecuencia de generación de eventos tándem se ajustó en 0.5 Hz, es decir, cada dos segundos se emitió una pareja de ondas de choque. Cada pipeta fue colocada dentro de la tina del generador de ondas de choque de tal manera que el centro de la suspensión coincidiera con  $F$ , y sometida a 2000 eventos tándem con tres retrasos diferentes, distribuidos de la siguiente manera: 200 eventos tándem (400 ondas de choque) con retraso de 210  $\mu$ s, 700 eventos (1400 ondas de choque) con retraso de 170  $\mu$ s y finalmente 1100 eventos (2200 ondas de choque) con retraso de 120  $\mu$ s. Los viales control se mantuvieron en las mismas condiciones experimentales, sin tratamiento de ondas de choque. Las dosis de ondas de choque y los retrasos correspondientes fueron seleccionados con base en experimentos previos (no reportados aquí). Información más detallada sobre el generador de ondas de choque puede encontrarse en la bibliografía citada.

### Tratamiento con calor

Las muestras de 3 lotes (tanto las que recibieron ondas de choque como las que se reservaron como controles) fueron sometidas a un tratamiento con calor por 3 h en baño de agua a 65 °C (Benchmark Scientific Inc., Sayreville, NJ, EUA). La diferencia entre lotes fue el tiempo (1 y 24 h) que estuvieron en contacto con el solvente (NaOH 1 M), previo a recibir ondas de choque.

### Neutralización

Las suspensiones fueron recuperadas en tubos cónicos de 50 mL. Se hicieron lavados para eliminar restos celulares y neutralizar el pH, agregando 20 mL agua destilada estéril en cada lavado. La recuperación de masa se realizó por centrifugación a 10,000  $\times g$  (Heraeus, Multifuge X1R, Thermo Fisher Scientific) durante 5 min y el sobrenadante fue descartado. En cada ocasión el botón fúngico se resuspendió agitando con vórtex. El pH fue medido después de cada lavado, hasta alcanzar un valor cercano al neutro (pH 7 – 7.4).

### Determinación de la masa final recuperada

Una vez neutralizada, la masa fúngica se suspendió en un volumen final de 10 mL y se procedió con la documentación fotográfica de una fracción, utilizando un microscopio óptico (BX40F, Olympus Scientific Solutions, Waltham, MA, EUA) con un objetivo 10  $\times$  para evidenciar el efecto de cada tratamiento

en el tamaño de la colonia del hongo. A partir de la suspensión final se tomaron 3 mL de cada muestra y se colocaron en moldes de teflón, dejando secar a 50 °C durante la noche. El producto fue recuperado en forma de película tanto circular como rectangular, mismos que fueron pesados y almacenados.

### **Cuantificación del porcentaje de proteína residual**

A partir de las muestras tratadas conservadas en líquido y en forma de película, se evaluó el porcentaje de proteína utilizando el *kit* para determinación por reacción con ácido bicinonínico (ABP Biosciences, Beltsville, MD, EUA) en microplaca de 96 pozos, de acuerdo con las instrucciones del proveedor. Se utilizó albúmina de suero bovino incluida en el *kit* para la elaboración de una curva de referencia de concentraciones conocidas de proteína (1, 0.5, 0.25, 0.12, 5, 0.0625 y 0 mg/mL). Para la cuantificación se colocaron 200 µL de solución de trabajo del kit y 20 µL de muestra líquida; mientras que para las muestras que formaron películas se cortaron fragmentos de 2 × 2 mm y se pusieron en contacto directo con 200 µL de la solución de trabajo. La placa se incubó a 37 °C por 30 min en oscuridad, se dejó enfriar a T.A. y se leyó a 562 nm utilizando el equipo Varioskan Flash (Thermo Fisher Scientific) en modo espectrofotómetro. Las muestras se analizaron por triplicado.

### **Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier**

Los datos se obtuvieron utilizando un espectrómetro Nicolet 6700 (Thermo Nicolet, Madison, WI, EUA) con un cristal de reflectancia atenuada. Las mediciones se realizaron sobre fragmentos de 5 × 5 mm obtenidos a partir de las muestras que formaron películas. El espectro fue registrado en el rango de 4000 a 500 cm<sup>-1</sup>.

### **Difracción de rayos X**

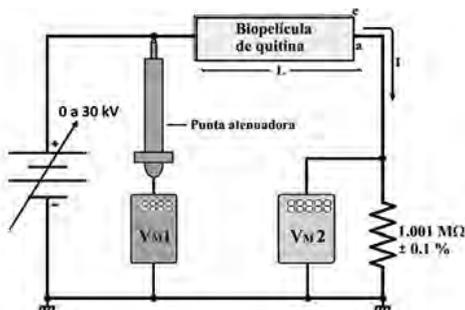
El análisis estructural de la quitina obtenida se llevó a cabo mediante difracción de rayos X sobre las películas, utilizando un difractómetro Rigaku Ultima IV (Wilmington, MA, EUA). Estas fueron colocadas en un portamuestras *zero background* para evitar lecturas que provinieran del mismo. El voltaje y la corriente de la fuente de rayos X fueron preestablecidos en 40 kV y 30 mA, respectivamente. El rango de escaneo de las muestras fue de 5° a 80° en 2θ, con un incremento de paso de 0.02°, a una velocidad de 2 °/min en una configuración Bragg-Brentano.

### **Evaluación de la resistencia longitudinal de las películas rectangulares de quitina**

Las películas rectangulares de quitina obtenidas de la muestra que recibió 2000 ondas de choque y se calentó a 65 °C durante 3 h, se evaluaron eléctricamente mediante el arreglo mostrado en la figura 2, donde es notable que la muestra fue intercalada en el circuito de manera longitudinal, a fin de evitar su posible rotura dieléctrica con los voltajes de interés en este análisis (entre

10 y 20 kV), suministrados por una fuente de alto voltaje marca Gamma High Voltage Research, mod. HVR RR30-20R (Ormond Beach, FL, USA). Tal fuente es regulada con disponibilidad de hasta 30 mA de corriente y su voltaje es variable en el intervalo de 0 a 30 kV mediante un *helipot* de 10 vueltas con vernier, permitiendo establecer valores con resolución de 0.2% y linealidad de 99.999% en todo el intervalo de voltajes.

**Figura 2.** Esquema del montaje para la aplicación de altos voltajes a la biopelícula de quitina y la medición de corrientes con resolución de centésimas de nA.



Fuente: Elaboración de los autores.

Se aplicaron siete valores distintos de alto voltaje ( $V$ ) a los extremos más distantes de la película de quitina, los cuales fueron confirmados con el voltímetro  $V_{M1}$  y la punta atenuadora esbozados en la figura 2, registrando también la corriente  $I$  a través de la quitina mediante un nano-amperímetro implementado con el voltímetro  $V_{M2}$  conectado en paralelo a la resistencia de precisión mostrada. Así, por ley de Ohm, fue posible determinar la resistencia longitudinal  $R$  de la película para cada voltaje aplicado ( $R = V/I$ ); y midiendo también las dimensiones geométricas de la película (largo  $L$ , ancho  $a$  y espesor  $e$ ), se determinó su resistividad eléctrica  $\rho$  en cada caso ( $\rho = Rae/L$ ).

Todas las mediciones se efectuaron en las condiciones ambientales recomendadas para dicha instrumentación (temperatura entre 18 y 22 °C, humedad relativa menor a 60%, etc.), además de tener en cuenta las incertidumbres sistemáticas involucradas y sus propagaciones conforme a la teoría de errores (Baird, 1994). A continuación, se describen las especificaciones de los instrumentos de medición utilizados y los criterios tomados al respecto.

El voltímetro  $V_{M1}$  es marca Fluke, mod. 8060A (Everett, WA, USA), con despliegue de 4 ½ dígitos e incertidumbre de  $\pm 0.05\%$  de la lectura + 2 dígitos en el rango utilizado (20 V); y por su impedancia de entrada (10 M $\Omega$ ) es compatible con la punta atenuadora acoplada, de la marca Simpson, mod. 00168 (Elgin, IL, USA), con razón de atenuación nominal 1000:1 y 2% de tolerancia. Cabe mencionar que a esta última se le midió previamente su relación de atenuación con mayor precisión, encontrando la razón 985:1, con incertidumbre

de 0.1%, a fin de disminuir en lo posible las incertidumbres sistemáticas. Así, cada valor de alto voltaje  $V$  suministrado por la fuente fue determinado por la expresión  $V = m V_1$ , donde  $m$  es dicho factor de atenuación (985) y  $V_1$  es el voltaje registrado en el voltímetro ( $V_{M1}$ ), cuyas incertidumbres absolutas respectivas se denotaron como  $dm$  y  $dV_1$ , en las que se cumplen las expresiones:  $dm = (0.001) m = 0.985$  y  $dV_1 = (0.0005) V_1 + 0.002$ , según los datos antes mencionados. Con lo anterior, la incertidumbre absoluta propagada a  $V$  en cada medición se calculó con la ecuación:  $dV = |V_1 dm| + |m dV_1|$ , o bien de manera relativa con:  $dV/V = |dm/m| + |dV_1/V_1| = 0.001 + |dV_1/V_1|$ .

El segundo voltímetro ( $V_{M2}$ ) utilizado como nano-amperímetro es marca Schlumberger, modelo 7150 plus de 5½ dígitos (Farnborough, Hampshire, UK), con impedancia mayor a 10 G $\Omega$  en el rango utilizado (0.2 V) e incertidumbre de 0.2% de la lectura + 3 dígitos. Al acoplarle la resistencia de precisión antes mencionada (de 1.001 M $\Omega$ , con 0.1% de tolerancia, fabricada previamente para tal propósito), su impedancia quedó prácticamente de 1 M $\Omega$ , ya que el arreglo en paralelo de al menos 10,000 M $\Omega$  con 1.001 M $\Omega$  resulta en tal valor y los voltajes  $V_2$  registrados entre 0 y 0.19999 V pueden ser interpretados como de corriente en  $\mu$ A (y resolución hasta centésimas de nA), ya que por simple análisis dimensional de la expresión de Ohm se deduce:  $[I] = [V_2] / (10^6 \Omega) = [V_2/\Omega] \times 10^{-6} = [\mu$ A]; y en cuanto a la propagación de incertidumbres se cumple que  $dI = (dV_2 + 0.001V_2) [\mu$ A], o bien en forma relativa:  $dI/I = dV_2/V_2 + 0.001$ , donde  $dV_2 = 0.002V_2 + 0.00003$ .

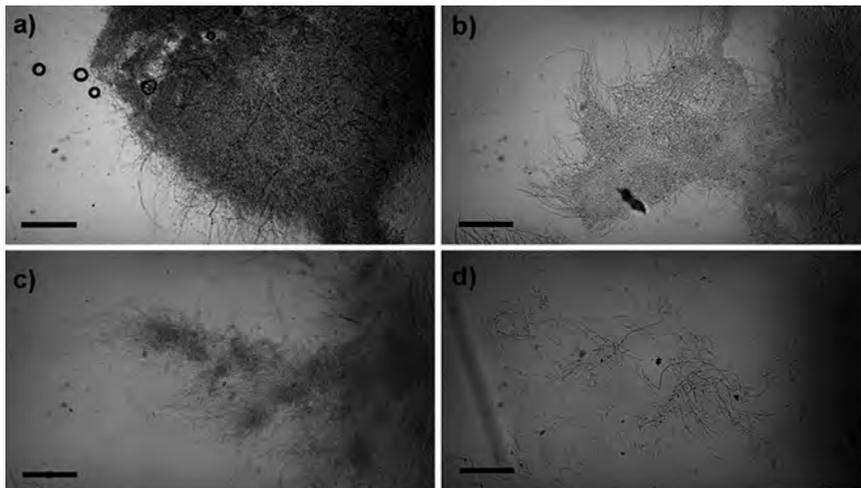
En los cálculos de la resistencia ( $R$ ) y resistividad ( $\rho$ ) de la película de quitina, las propagaciones de incertidumbres respectivas se determinaron en forma relativa mediante las expresiones:  $dR/R = |dV/V| + |dI/I|$  y  $d\rho/\rho = |dR/R| + |(a^{-1} + e^{-1} + L^{-1}) dx|$ , donde  $dx$  tuvo el valor de 0.01 mm en todos los casos, ya que para la medición del ancho ( $a$ ), espesor ( $e$ ) y longitud ( $L$ ) de la muestra se utilizó un vernier mecánico marca Mitutoyo, mod. 530-312, de 0.02 mm de resolución en toda su escala, es decir, dicha incertidumbre  $dx$  corresponde a  $\pm 1/2$  de la mínima división.

## Resultados

### Masa recuperada y proteína residual

El registro fotográfico de las muestras sometidas a tratamientos diferentes (figura 3) demuestra que el solvente por sí solo no fue capaz de disgregar las hifas organizadas de manera compacta, como se percibe en la imagen 3a, correspondiente a una colonia tomada directamente del cultivo. En 3b y 3c (24 y 48 horas en NaOH 1M, respectivamente) es notorio que, aunque los agregados son de menor tamaño, aún pueden observarse algunas zonas compactas. Finalmente, en la imagen 3d, perteneciente a una muestra sometida a ondas de choque, se distingue claramente que las hifas están separadas y presentan tamaños variados. Resulta importante contar con un método mecánico de dispersión del micelio que permita una mejor interacción entre el álcali y el micelio fúngico.

**Figura 3.** Fotografías de microscopía óptica del efecto del tratamiento sobre el micelio de *A. niger* (aumento 10×): a) fragmento de colonia crecida en cultivo sumergido en medio mínimo líquido; b) colonia incubada durante 24 h en NaOH 1 M; c) colonia incubada durante 48 h en NaOH 1 M, y, d) fragmentos de micelio observados después del tratamiento con ondas de choque, solvente NaOH 1M. Barra de escala: 200 µm.

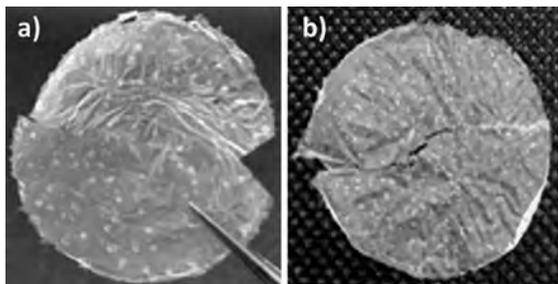


Fuente: Elaboración de los autores.

Una vez secas, las muestras de control y las tratadas formaron una película delgada como se observa en la figura 4. Se utilizó un molde circular de 31 mm de diámetro para el secado. Cada película fue pesada para evaluar el porcentaje de masa recuperada, así como la proteína presente en el producto final (tabla 1). Para el control sin ondas de choque del tratamiento 1, se aprecia que fue recuperada una cantidad pobre de masa fúngica con altos valores de proteínas alcanzando el 9.73% del total recuperado. Después de la aplicación de ondas de choque, los valores de proteína disminuyeron hasta casi un 2%, en una cantidad mayor de masa recuperada. Los valores registrados para las muestras sometidas a calentamiento indican que no hubo una diferencia en aquellas que permanecieron poco o nulo tiempo en incubación, previo a la acción de las ondas de choque. Aquellas muestras en las que se combinaron incubación previa de 24 horas en el solvente, ondas de choque y calor, registraron disminución en la cantidad de masa recuperada, similarmente a lo sucedido para el control.

De acuerdo con la tabla 1, es de notar que el tratamiento con calor a 65 °C por 3 h ayudó a reducir la cantidad de proteína residual en las películas; un resultado esperado, ya que por arriba de 50 °C se promueve la desnaturalización de las proteínas, lo cual ayuda a descartar material celular no deseado (Kaur y Dhillon, 2015). Las ondas de choque al disgregar el micelio en la colonia de *A. niger* y promover su ingreso al interior de la hifa permiten que el NaOH tenga una mayor área de contacto con las estructuras celulares,

**Figura 4.** Películas circulares de quitina con 31 mm de diámetro generadas a partir de a) muestra con la combinación: solvente 24 h - ondas de choque - solvente 24 h. En b) la película corresponde a la combinación: sin incubación previa en el solvente - ondas de choque - tratamiento con calor.



Fuente: Elaboración de los autores.

**Tabla 1.** Porcentaje de masa recuperada (quitina) para cada lote de 3 películas y su cuantificación de proteínas correspondiente.

| Lote | Combinación de parámetros de tratamiento            | % masa recuperada (quitina)  | % de proteína en las películas |
|------|---|------------------------------|--------------------------------|
| 1    | 24 h T.A. 2000 OCH 24 h T.A.<br>Control sin OCH     | 23.11 ± 2.67<br>14.20 ± 0.2  | 1.92 ± 0.08<br>9.73 ± 0.1      |
| 2    | 2000 OCH 65 °C 3 h<br>Control sin OCH               | 19.41 ± 3.41<br>19.10 ± 0.25 | 1.1 ± 0.56<br>0.70 ± 0.9       |
| 3    | 1h T.A. 2000 OCH 65 °C 3 h<br>Control sin OCH       | 20.44 ± 5.33<br>20.90 ± 0.22 | 0.92 ± 0.4<br>0.73 ± 0.7       |
| 4    | 24 h T.A. 2000 OCH - 65 °C - 3 h<br>Control sin OCH | 12.44 ± 5.33<br>14.20 ± 0.2  | 0.82 ± 0.67<br>4.10 ± 0.5      |

Fuente: Elaboración de los autores.

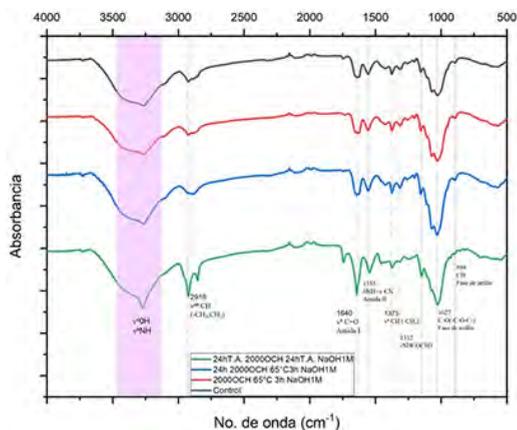
promoviendo, de esta manera, la acción química del álcali, dando como resultado la disminución del contenido proteico. Cabe mencionar que el porcentaje de proteína residual disminuyó con el tiempo de exposición de la masa fúngica en el solvente previo a las ondas de choque, como se observa en la tabla 1. Los rendimientos de quitina recuperada como masa insoluble en álcali obtenidos en este estudio (~12 a 23%) son similares a los reportados por Wu *et al.* en 2005 para la quitina cruda de *A. niger* (~24%), pero mayores a los rendimientos de quitina obtenida por otros tipos de hongos, tales como *Agaricus bisporus* (3-19%), *Lentinula edodes* (1-10%), *Pleurotus ostreatus* (2-15%), *P. eryngii* (3-9%), *Saccharomyces cerevisiae* (1-3%) y *Mucor rouxii* (8-9%) (Wan-Nawawi *et al.*, 2015).

### Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier

El análisis por espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR) es muy utilizado para indicar el tipo de quitina obtenida (figura 5), sabiendo que esta presenta tres formas polimórficas diferentes:  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  (Tsurkan *et al.*,

2021). La figura 5 muestra espectros de absorción de quitina obtenidos en la región de número de onda entre 4000 y 500  $\text{cm}^{-1}$ . Para cada espectro se resaltan las bandas de absorción más intensas características para la quitina: 3269  $\text{cm}^{-1}$  (tensión del grupo N-H), 2918  $\text{cm}^{-1}$  (tensión de enlace C-H;  $\text{CH}_3$ ), 1640  $\text{cm}^{-1}$  (C=O), 1555  $\text{cm}^{-1}$  (C-N, C-N, N-H amida II), 1375  $\text{cm}^{-1}$  (C-H,  $\text{CH}_3$ ), 1312  $\text{cm}^{-1}$  ( $-\text{NHCOCH}_3$ ), 1154  $\text{cm}^{-1}$  (C-O-C), 1027  $\text{cm}^{-1}$  (C-O), 894  $\text{cm}^{-1}$  (C-H anillo), 682  $\text{cm}^{-1}$  (N-H), 573  $\text{cm}^{-1}$  (C-C). En la película sin calentamiento (24 h, T.A., 2000 OCH, 24 h, T.A., NaOH 1M), la región correspondiente al grupo amida presenta una sola banda intensa en 1642  $\text{cm}^{-1}$ , característica de la quitina  $\beta$ . En este polimorfo la banda de absorción cercana a 1650  $\text{cm}^{-1}$  es atribuida al enlace de hidrógeno entre el grupo (C=O) y los grupos amida (H-N) (Cárdenas *et al.*, 2004; Jang *et al.*, 2004; Aylanc *et al.*, 2020). En el resto de los tratamientos en la misma región se encuentran dos picos poco definidos y menos intensos a 1626 y 1640  $\text{cm}^{-1}$ , similares a los que presenta la quitina  $\gamma$ . La quitina  $\alpha$  y la quitina  $\gamma$  muestran bandas similares debido al arreglo de las cadenas poliméricas en antiparalelo, una banda cercana a 1660  $\text{cm}^{-1}$  correspondiente al enlace de hidrógeno entre los grupos carboxilo (C=O) y los grupos amida I y II (H-N) de la misma cadena y en 1620  $\text{cm}^{-1}$  causada por el enlace de hidrógeno entre grupos carbonilo, con los grupos  $-\text{CH}_2\text{OH}$  de las cadenas laterales (Cárdenas *et al.*, 2004; Jang *et al.*, 2004). La presencia de una banda pronunciada para todos los tratamientos en 3269  $\text{cm}^{-1}$ , correspondiente a los grupos OH y NH y la ausencia del pico en 3479  $\text{cm}^{-1}$ , es una característica distinguible en la quitina  $\beta$  (Cárdenas *et al.*, 2004). Por las observaciones anteriores, es probable que se hayan obtenido películas de quitina con contribuciones de  $\beta$  y  $\gamma$ ; sin embargo, resulta interesante que las bandas asociadas con quitina de tipo  $\gamma$ , se hayan presentado en las muestras que recibieron tratamiento con calor.

Figura 5. Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier de las películas de quitina.



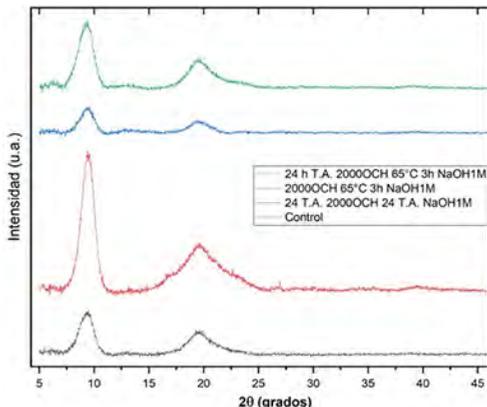
Fuente: Elaboración de los autores.

## Análisis cristalográfico mediante difracción de rayos X

El patrón de difracción de quitina típicamente tiene picos en el rango de  $5^\circ$  a  $35^\circ$  en  $2\theta$ . La diferencia en la posición de estos permite diferenciar entre los polimorfos  $\alpha$ ,  $\beta$  y  $\gamma$  quitina. En la quitina  $\alpha$  normalmente se distinguen cuatro picos principales alrededor de  $9.6^\circ$ ,  $19.6^\circ$ ,  $21.1^\circ$  y  $23.7^\circ$ . En la quitina  $\beta$  aparecen dos picos cerca de  $9^\circ$  y  $20^\circ$ , mientras que en la quitina  $\gamma$  los picos posicionados en  $9.6^\circ$  y  $19.8^\circ$  son similares a los de la quitina  $\alpha$  (Cárdenas *et al.*, 2004; Jang *et al.*, 2004).

Los patrones obtenidos para las muestras estudiadas se presentan en la figura 6, los cuales sumados a los resultados de FTIR indican que la quitina extraída a partir de *A. niger* podría ser del tipo polimorfo  $\beta$ . Así, el primer pico correspondería al plano (010) y el segundo a la contribución de los planos (110) y (020) pertenecientes a la celda unitaria monoclinica (Cárdenas *et al.*, 2004). Los ángulos máximos de difracción de los dos picos principales se describen en la tabla 2. Una distinción notable en los cuatro patrones de difracción obtenidos es que el primer pico es más intenso que el segundo en todos los casos, lo cual no se presenta en la mayoría de los análisis reportados de difracción de rayos X (Cárdenas *et al.*, 2004; Jang *et al.*, 2004; Farinha *et al.*, 2015), a excepción de la quitina  $\beta$  obtenida por Cuong *et al.* (2016), donde el primer pico se encuentra a  $8.1^\circ$  con mayor intensidad que el segundo pico ubicado en  $2\theta = 19.6^\circ$ . Dicha diferencia en intensidad podría estar asociada con una orientación preferencial en el plano cristalino (010), que se produce por el apilamiento para la formación de películas.

**Figura 6.** Patrones de difracción obtenidos por difracción de rayos X para las películas producidas mediante los tratamientos de extracción mencionados.



Fuente: Elaboración de los autores.

## Resistencia y resistividad eléctrica de las películas rectangulares de quitina

Las mediciones de voltaje y corriente registradas para películas obtenidas de la muestra que recibió 2000 OCH y se calentó durante 3 h a  $65^\circ\text{C}$ , se presen-

**Tabla 2.** Posiciones de los picos de difracción de rayos X más altos obtenidos en las películas de quitina.

| Muestras                     | 2θ          |              |
|------------------------------|-------------|--------------|
|                              | Primer pico | Segundo pico |
| Control                      | 9.34°       | 19.52°       |
| 24 h T.A. 2000 OCH 24 h T.A. | 9.4°        | 19.57°       |
| 2000 OCH 65 °C 3 h           | 9.33°       | 19.54°       |
| 24 h T.A. 2000 OCH 65 °C 3h  | 9.28°       | 19.5°        |

Fuente: Elaboración de los autores.

tan en la tabla 3. Se utilizó esta muestra debido a que fue la que presentó la menor cantidad de proteína y buena recuperación de masa fúngica. Se destaca que al aumentar el voltaje, la corriente en el material siguió un comportamiento óhmico, aunque no de forma lineal, esto es, la resistencia como constante de proporcionalidad paramétrica varió de acuerdo con la resistividad del material, al mantenerse las dimensiones de la película constantes en los valores:  $a = 2.40$  mm,  $e = 0.27$  mm y  $L = 36.57$  mm, todos ellos dentro de la incertidumbre mencionada ( $\pm 0.01$  mm).

**Tabla 3.** Mediciones del voltaje y la corriente aplicados a la película de quitina (sección izquierda) y valores obtenidos de su resistencia y resistividad (sección derecha).

| $V_1^*$<br>[V] | $V^§$<br>[kV] | $(dV/V)^¥$<br>[%] | $I^†$<br>[nA] | $(dI/I)^‡$<br>[%] | $R^¶$<br>[TΩ] | $(dR/R)^£$<br>[%] | $\rho^¢$<br>[MΩ·m] | $(d\rho/\rho)^ψ$<br>[%] |
|----------------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|---------------|-------------------|--------------------|-------------------------|
| 10.260         | 10.106        | 0.17              | 1.01          | 3.27              | 10.01         | 3.44              | 177.3              | 7.59                    |
| 11.420         | 11.249        | 0.17              | 1.98          | 1.82              | 5.68          | 1.98              | 100.7              | 6.13                    |
| 12.409         | 12.223        | 0.17              | 3.00          | 1.30              | 4.07          | 1.47              | 72.2               | 5.61                    |
| 14.161         | 13.949        | 0.16              | 5.03          | 0.90              | 2.77          | 1.06              | 49.1               | 5.21                    |
| 15.820         | 15.583        | 0.16              | 7.96          | 0.68              | 1.96          | 0.84              | 34.7               | 4.99                    |
| 17.331         | 17.071        | 0.16              | 11.09         | 0.57              | 1.54          | 0.73              | 27.3               | 4.88                    |
| 18.039         | 17.768        | 0.16              | 12.97         | 0.53              | 1.37          | 0.69              | 24.3               | 4.84                    |

\* Voltaje atenuado medido.

§ Alto voltaje calculado mediante el factor de atenuación (985).

¥ Incertidumbre relativa porcentual del alto voltaje.

† Corriente medida a través de la película.

‡ Incertidumbre relativa porcentual de la medición de corriente.

¶ Resistencia calculada.

£ Incertidumbre relativa porcentual de la resistencia.

¢ Resistividad calculada.

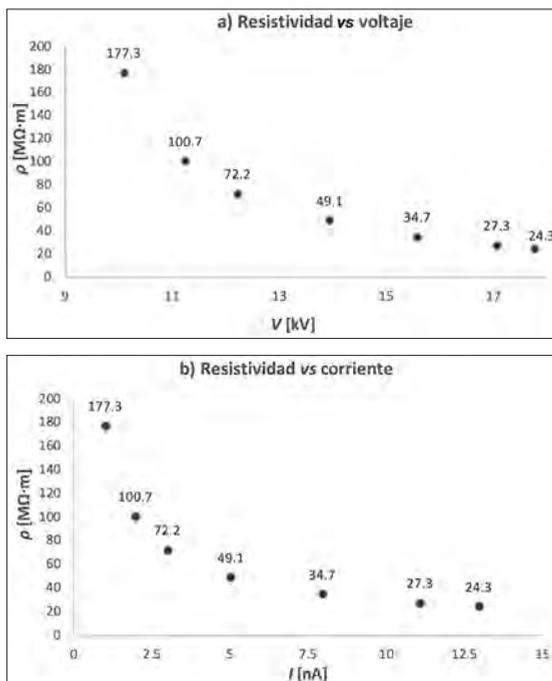
ψ Incertidumbre relativa porcentual de la resistividad.

Fuente: Elaboración de los autores.

En la figura 7 se muestran las gráficas de la resistividad calculada ( $\rho$ ) contra el voltaje ( $V$ ) y la corriente ( $I$ ) aplicados a la película. En ellas, es evi-

dente que la quitina presentó una resistividad variable con respecto a dichos parámetros. Este comportamiento coincide con el de un varistor no lineal.

**Figura 7.** Gráficas de la resistividad calculada versus a) el voltaje, y b) la corriente para las películas de quitina obtenidas.



Fuente: Elaboración de los autores.

El efecto de varistor ocurre comúnmente en óxidos metálicos, de los cuales el ZnO es el más estudiado (He, 2019). En 2012 Rahman *et al.* reportaron que biopolímeros basados en almidón de sagú involucrados en la formación de bionanocompuestos, embebidos con nanorrodillos de ZnO como relleno, se comportan como varistores, mientras que, en biopolímeros sin refuerzo no se observó dicho fenómeno.

Es de notar que  $\rho$  mostró una tendencia a estabilizarse con el aumento del voltaje, acercándose a  $20 M\Omega \cdot m$ ; mientras que la resistividad aumentó exponencialmente conforme el voltaje disminuyó. Esto último tiene relación con lo reportado por Kamalov *et al.* en 2020, quienes, con un voltaje constante de 10 V, obtuvieron valores de conductividad en el rango de  $1.2 \times 10^{-11} - 7.6 \times 10^{-11} S/m$ , para películas compuestas de quitosano y nanofibras de quitina mediante la variación de la concentración de nanofibras de quitina del compuesto. Dichos valores de conductividad corresponden a resistividades de  $13.16 - 83.3 G\Omega \cdot m$ , los cuales son tres ordenes de magnitud mayores a las resistividades

calculadas en este trabajo. Es posible que al efectuar mediciones con voltajes pequeños, también podrían alcanzarse valores de resistividad del orden de los  $G\Omega\cdot m$  en nuestras muestras, dada la tendencia exponencial que presentan los resultados obtenidos. Para corroborar esta tendencia, es necesario obtener más datos experimentales con un mejor control de variables como la ausencia o disminución de perturbaciones ambientales (usando una cámara de vacío) y con medidores de corriente más sensibles, como un pico-amperímetro. En cuanto a la comprobación del valor de estabilidad de  $\rho$  en voltajes altos, es importante determinar a corto plazo el valor del rompimiento eléctrico de las películas de quitina, con los métodos e instrumentos adecuados para ello, pues con el circuito usado en este análisis (figura 2) solo se pretendió investigar el comportamiento reportado y, a lo más, se limitó la corriente de salida de la fuente a su valor mínimo ( $300\ \mu A$ ), a fin de proteger el nano-amperímetro implementado contra una sobrecarga abrupta de corriente.

## Conclusiones

Con todos los tratamientos usados en este estudio fue posible obtener películas delgadas de quitina. Las caracterizaciones realizadas demostraron que existen variaciones ligeras en el producto obtenido a partir de un mismo lote de masa fúngica. Dichas variaciones se asocian con el tratamiento realizado en el momento de la extracción. Aunque la proteína residual no se eliminó completamente, sí fue posible disminuir considerablemente estos valores, siendo la aplicación de calor una variable importante a considerar para la eliminación de estructuras celulares. Con el número de ondas de choque, la energía y los retardos de ondas tándem usados en este trabajo, no fue posible determinar su efecto sobre la eficiencia de desproteínización. Resulta necesario explorar otros parámetros para mejorar la eficacia del método, principalmente en la eliminación de restos celulares. Aunque la quitina se ha utilizado en pequeñas cantidades para la regulación de variables como corriente y voltaje, para nuestro conocimiento, esta es la primera vez que se reporta un comportamiento de varistor de este biopolímero.

## Referencias

- Aylanc, Volkan, Seymanur Ertosun, Lalehan Akyuz, Behlul Koc Bilican, Semih Gokdag, Ismail Bilican, Yavuz Selim Cakmak, Bahar Akyuz Yilmaz y Murat Kaya. (2020). Natural  $\beta$ -chitin-protein complex film obtained from waste razor shells for transdermal capsaicin carrier. *International Journal of Biological Macromolecules*, 155: 508-515. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.232>.
- Baird, David C. (1994). *Experimentation: an introduction to measurement theory and experiment design*, 3a ed. rev. EUA: Addison-Wesley Professional.
- Cárdenas, Galo, Gustavo Cabrera, Edelio Taboaday S. y Patricia Miranda. (2004). Chitin characterization by SEM, FTIR, XRD, and 13C cross polarization/mass

- angle spinning NMR. *Journal of Applied Polymer Science*, 93(4): 1876-1885. <https://doi.org/10.1002/app.20647>.
- Crini, Grégorio. (2019). Historical review on chitin and chitosan biopolymers. *Environmental Chemistry Letters*, 17: 1623-1643. <https://doi.org/10.1007/s10311-019-00901-0>.
- Cuong, Hoang Ngoc, Nguyen Cong Minh, Nguyen Van Hoa y Trang Si Trung. (2016). Preparation and characterization of high purity  $\beta$ -chitin from squid pens (*Loligo chensis*). *International Journal of Biological Macromolecules*, 93(A): 442-447. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.08.085>.
- Chen, Yong-Ming, Sami Pekdemir, Ismail Bilican, Behlul Koc-Bilican, Betul Cakmak, Asad Ali, Lian-Sheng Zang, M. Serdar Onses y Murat Kaya. (2021). Production of natural chitin film from pupal shell of moth: Fabrication of plasmonic surface for SERS-based sensing applications. *Carbohydrate Polymers*, 262: 117909. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.117909>.
- Choi, M. J., A. J. Coleman y J. E. Saunders. 1993. The influence of fluid properties and pulse amplitude on bubble dynamics in the field of a shock wave lithotripter. *Physics in Medicine and Biology*, 38: 1561-1573. <https://doi.org/10.1088/0031-9155/38/11/002>.
- Cleveland, Robin O. y James A. McAteer. (2007). The physics of shock wave lithotripsy. En Arthur D. Smith, Gopal H. Badlani, Demetrius H. Bagley, R. V. Clayman, S. G. Docimo, Gerald H. Jordan, Louis R. Kavoussi, Benjamin R. Lee, James E. Lingeman, Glenn M. Preminger y J. W. Segura (eds.), *Smith's textbook on endourology*. Hamilton, Ontario, Canadá: BC Decker, Inc., 317-332.
- Farinha, Inês, Paulo Duarte, Ana Pimentel, Evgeniya Plotnikova, Bárbara Chagas, Luís Mafra, Christian Grandfils, Filomena Freitas, Elvira Fortunato y María A. M. Reis. (2015). Chitin-glucan complex production by *Komagataella pastoris*: Downstream optimization and product characterization. *Carbohydrate Polymers*, 130: 455-464. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2015.05.034>.
- He, Jinliang. (2019). Introduction of varistor ceramics. En Jinliang He (ed.), *Metal oxide varistors: From microstructure to macro-characteristics*, 1-22. Weinheim, Germany: Wiley-VCH.
- Hirano, Shigehiro. (1996). Chitin biotechnology applications. *Biotechnology Annual Review*, 2(C): 237-258. [https://doi.org/10.1016/S1387-2656\(08\)70012-7](https://doi.org/10.1016/S1387-2656(08)70012-7).
- Jang, Mi-Kyeong, Byeong-Gi Kong, Young-Il Jeong, Chang Hyung Lee y Jae-Woon Nah. (2004). Physicochemical characterization of  $\alpha$ -chitin,  $\beta$ -chitin, and  $\gamma$ -chitin separated from natural resources. *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 42(14): 3423-3432. <https://doi.org/10.1002/pola.20176>.
- Johnsen, Eric y Tim Colonius. (2008). Shock-induced collapse of a gas bubble in shock wave lithotripsy. *Journal of the Acoustical Society of America*, 124(4): 2011-020. <https://doi.org/10.1121/1.2973229>.
- Jones, Mitchell, Marina Kujundzic, Sabu John y Alexander Bismarck. (2020). Crab vs mushroom: a review of crustacean fungal chitin in wound treatment. *Marine Drugs*, 18(1): 64. <https://doi.org/10.3390/md18010064>.
- Kamalov, Almaz, Elena Dresvyanina, Margarita Borisova, Natalia Smirnova, Kon-

- stantin Kolbe y Vladimir Yudin. (2020). The effect of electrical conductivity of films based on chitosan and chitin on the bioactivity of human dermal fibroblasts. *Materials Today: Proceedings*, 30(3): 798-801. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.02.346>.
- Kaur, Surinder y Gurpreet Singh Dhillon. 2015. Recent trends in biological extraction of chitin from marine shell wastes: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*, 35(1): 44-61. <https://doi.org/10.3109/07388551.2013.798256>.
- Larrañaga-Ordaz, Daniel, Miguel A. Martínez-Maldonado, Blanca E. Millán-Chiu, Francisco Fernández, Eduardo Castaño-Tostado, Miguel Ángel Gómez-Lim y Achim M. Loske. (2022). Effect of shock waves on the growth of *Aspergillus niger* conidia: Evaluation of germination and preliminary study on gene expression. *Journal of Fungi*, 8(11): 1117. <https://doi.org/10.3390/jof8111117>.
- Lohrer, Heinz y Ludger Gerdesmeyer. (2014). *Shock wave therapy in practice: Multidisciplinary medical applications*. Heilbronn, Alemania: Level 10.
- Loske, Achim M. (2017). *Medical and biomedical applications of shock waves*. Cham, Suiza: Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-47570-7>.
- Loske, Achim M., Francisco Fernández, Denis Magaña-Ortíz, Nancy Cocconi-Linares, Elizabeth Ortiz-Vázquez y Miguel A. Gómez-Lim. (2014). Tandem shock waves to enhance genetic transformation of *Aspergillus niger*. *Ultrasonics*, 54(6): 1656-1662. <https://doi.org/10.1016/j.ultras.2014.03.003>.
- Lukes, P., F. Fernández, J. Gutiérrez-Aceves, E. Fernández, U. M. Álvarez, P. Sunka y A. M. Loske. (2016). Tandem shock waves in medicine and biology: a review of potential applications and successes. *Shock Waves*, 26(1): 1-23. <https://doi.org/10.1007/s00193-015-0577-0>.
- Molina, Gustavo A., Fanny González-Fuentes, Achim M. Loske, Francisco Fernández y Miriam Estevez. (2020). Shock wave-assisted extraction of phenolic acids and flavonoids from *Eysenhardtia polystachya* heartwood: a novel method and its comparison with conventional methodologies. *Ultrasonics Sonochemistry*, 61(3): 104809. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104809>.
- Nawawi, Wan M. F. B. W., Mitchell Jones, Richard J. Murphy, Koon-Yang Lee, Eero Kontturi, y Alexander Bismarck. (2020). Nanomaterials derived from fungal sources-Is it the new hype? *Biomacromolecules*, 21(1): 30-55. <https://doi.org/10.1021/acs.biomac.9b01141>.
- Ntana, Fani, Uffe Hasbro Mortensen, Catherine Sarazin y Rainer Figge. (2020). *Aspergillus*: a powerful protein production platform. *Catalysts*, 10: 1064. <https://doi.org/10.3390/catal10091064>.
- Ohl, C. D. y R. Ikink. (2003). Shock-wave-induced jetting of micron-size bubble. *Physical Review Letters*, 90(21): 214502 (1-4). <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.90.214502>.
- Philibert, Tuyishime, Byong H. Lee y Nsanzabera Fabien. (2017). Current status and new perspectives on chitin and chitosan as functional biopolymers. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 181: 1314-1337. <https://doi.org/10.1007/s12010-016-2286-2>.

- Philipp, A., M. Delius, C. Scheffczyk, A. Vogel y W. Lauterborn. (1993). Interaction of lithotripter generated shock waves with air bubbles. *Journal of the Acoustical Society of America*, 93:2496-2509. <https://doi.org/10.1121/1.406853>.
- Ponnamma, D., K. K. Sadasivuni y M. A. AlMaadeed. 2017. Introduction of biopolymer composites: What to do in electronics? En K. K. Sadasivuni, D. Ponnamma, J. Kim, J.-J. Cabibihan y M. A. AlMaadeed (eds.), *Biopolymer composites in electronics*. Elsevier, 1-12. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809261-3.00001-2>.
- Posch, Andreas E., Christoph Herwig y Oliver Spadiut. 2013. Science-based bioprocess design for filamentous fungi. *Trends in Biotechnology*, 31(1): 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2012.10.008>.
- Rahman, M. Aizuddin Abdul, Shahrom Mahmud, Rabab Khalid Sendi y Abdul Karim Alias. (2012). Varistor-like effect in zinc oxide bionanocomposite. *Advanced Materials Research*, 626: 743-746. <https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/AMR.626.743>.
- Salaberria, A. M., R. Teruel-Juanes, J. D. Badia, S. C. M. Fernandes, V. Sáenz de Juano-Arbona, J. Labidi y A. Ribes-Greus. (2018). Influence of chitin nanocrystals on the dielectric behaviour and conductivity of chitosan-based bionanocomposites. *Composites Science and Technology*, 167: 323-330. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2018.08.019>.
- Shahlaei, Mohsen y Alireza Pourhossein. (2013). Biomass of *Aspergillus niger*: uses and applications. *Journal of Reports in Pharmaceutical Sciences*, 2(1): 83-89.
- Song, E. H., J. Shang y D. M. Ratner. (2012). Polysaccharides en Krzysztof Matyjaszewski y Martin Möller (eds.), *Polymer science: a comprehensive reference*, 9: 137-155. Elsevier Science. <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53349-4.00246-6>.
- Tsurkan, Mikhail V., Alona Voronkina, Yuliya Khrunyk, Marcin Wysokowski, Iaroslav Petrenko y Hermann Ehrlich. (2021). Progress in chitin analytics. *Carbohydrate Polymers*, 252: 117204. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117204>.
- Wang, Jinyu, Huan Chen, Xueqian Li, Chenggang Zhang, Wenchao Yu, Liang Zhou, Quanling Yang, Zhuqun Shi y Chuanxi Xiong. (2020). Flexible dielectric film with high energy density based on chitin/boron nitride nanosheets. *Chemical Engineering Journal*, 383:123-147. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123147>.
- Wang, Ziyang, Zongtao Ma, Jingyao Sun, Yuhua Yan, Miaomiao Bu, Yanming Huo, Yun-Fei Li y Ning Hu. (2021). Recent advances in natural functional biopolymers and their applications of electronic skins and flexible strain sensors. *Polymers*, 13(5): 813. <https://doi.org/10.3390/polym13050813>.
- Wan-Nawawi, Wan Mohd Fazli, Koon-Yang Lee, Eero Kontturi y Alexander Bismarck. (2015). Strong and tough fungal based chitin-glucan thin film. *ICCM International Conferences on Composite Materials*, 20: 8.
- Wu, Tao, Svetlana Zivanovic, F. Ann Draughon, William S. Conway y Carl E. Sams. (2005). Physicochemical properties and bioactivity of fungal chitin and chitosan. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10): 3888-3894. <https://doi.org/10.1021/jf048202s>.
- Zhang, Renyun y Håkan Olin. (2020). Material choices for triboelectric nanogenerators: A critical review. *EcoMat*, 2(4): 1-13. <https://doi.org/10.1002/eom2.12062>.



# Lipid bilayer-coated nanoparticles: mimetism for biomedical applications<sup>◇</sup>

## Nanopartículas recubiertas con bicapas lipídicas: mimetismo para aplicaciones biomédicas

Alejandro Magallanes-Puebla\* y Luz M. López-Marín\*,<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** Living organisms are made of self-assembled nanostructures. Therefore, the control of sizes, shapes, textures, or chemical functions during chemical synthesis, as managed by nanotechnology, leads to a myriad of possibilities in the field of biomedical applications. One of the main approaches in this area, also known as nanomedicine, is the production of biomimetic nanoparticles, which take profit from either natural products or bioinspired materials. Cell-cell communications are strongly dependent on molecular arrays displayed at the cell surface in the context of lipid bilayers. Therefore, the mimicry of such coatings has gained great interest during the last decades. Herein we summarize the rationale and the methodologies related to this approach, with a special focus on the delivery of drugs and vaccines. The challenges and opportunities in this area, along with some selected examples will be discussed as well.

**KEYWORDS:** supported lipid bilayers, biomimetism, membrane patches, hybrid nanoparticles, liposomes.

**RESUMEN:** Los organismos vivos están formados por nanoestructuras ensambladas de manera automática. Por ello, la capacidad de controlar tallas, formas, texturas o funciones químicas, a través de la nanotecnología, ha dado lugar a un sinnúmero de posibilidades en el área de aplicaciones biomédicas. Una de las principales aproximaciones en este campo, también conocida como nanomedicina, es la producción de nanopartículas biomiméticas, que hacen uso tanto de productos naturales como de materiales bioinspirados. Las comunicaciones célula-célula dependen fuertemente de arreglos moleculares desplegados en la superficie celular en el contexto de bicapas lipídicas. Por ello, el mimetismo de estos recubrimientos ha ganado un gran interés durante las últimas décadas. En este trabajo resumimos los fundamentos y métodos asociados con esta estrategia, enfocándonos principalmente en la entrega de fármacos y vacunas. Asimismo, se discuten los retos y oportunidades en este campo, en conjunto con algunos trabajos ilustrativos.

**PALABRAS CLAVE:** bionanotecnología, biomimetismo, parches de membrana, nanopartículas híbridas, liposomas.

Received: January 30, 2023.

Accepted: May 15, 2023.

Published: June 7, 2023.

<sup>◇</sup>The authors thank the financial support from Conacyt and DGAPA, UNAM (Mexico), through grants CF2019-53395 and PAPIIT IT200421, respectively. AMP is a postdoctoral fellow at DGAPA, UNAM (Mexico). Lourdes Palma Tirado (Unidad de Microscopía, Instituto de Neurobiología, UNAM) obtained the electron micrography of extracellular vesicles. Isabel Buitron revised the manuscript.

\*Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Querétaro, México.

<sup>†</sup>Corresponding autor: [lmlm@unam.mx](mailto:lmlm@unam.mx)



## Size scales in living organisms and nanotechnology

Life has been evolving for at least 3,800 million years. However, it was just after the development of nanosciences that the living cell has been recognized as a nanostructured world, a nanomachine. Overall, cells have sizes from 0.2–0.3  $\mu\text{m}$  (in the smallest known bacteria) to 10–30  $\mu\text{m}$  (in the case of most animal cells). Each cell is in turn organized in hundreds of subcellular compartments, inside which thousands of biomolecules are bumping around, following the rules of quantum mechanics (Goodsell, Olson, and Forli, 2020). Biomolecules have sizes within the nanoscale: 5–20 nm for proteins, 2 nm width in genetic strands, 5–7 nm thickness in cell membranes, and so on (Jeevanandam *et al.*, 2018). Through nanotechnology, the possibility to control matter at such scales allows us a myriad of opportunities for addressing biomedical issues. A recent example is the development of RNA-based vaccines against the severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), a platform based on lipid nanoparticles; thanks to nanotechnology, immunization with messenger RNA (mRNA) now constitutes a novel alternative in human vaccinology (Khurana, *et al.*, 2021). Other promising developments include nanoparticles for drug delivery, bioimaging, sensing, and vaccines, as well as nanostructured materials for implants, organoids, theragnostics (*i. e.*, a combination of therapy and diagnostics), and anti-microbial agents.

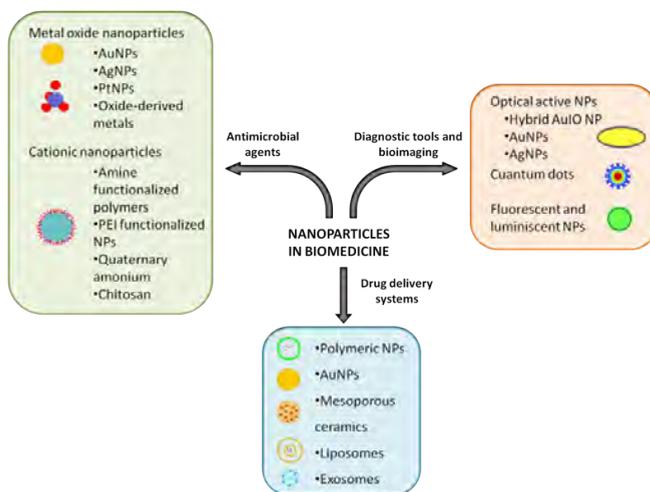
With nanotechnology, the possibility to obtain structures at specific sizes, forms and surface chemistries has led to materials that are highly compatible with cells and tissues. Nanostructures have been designed to deal with aggressive environments before reaching their target, or to respond only to site-specific conditions, such as acidic pH, temperature, and light or intracellular enzymes (Jeong *et al.*, 2021; Wang *et al.*, 2021). More and more biocompatible materials have been obtained, including metals, biodegradable polymers, ceramics, and self-assembled lipids (figure 1). Some of these materials have electrical and optical properties, or surface areas leading to very high capabilities for drug encapsulation. Surface chemistries in nanomedicine can be designed to mimic cell surfaces. In animals, cells are surrounded by coatings allowing, for instance, stealthiness towards the reticuloendothelial system (RES) or the potential to crosstalk and be targeted towards other cells from distant anatomic sites (Castillo-Armengol, Fajas, and López-Mejía, 2019; W. Chen *et al.*, 2018). The potential of such a fine communication machinery goes far beyond our comprehension, but it is well established that all these functions are triggered by cell surface molecules. Cells are surrounded by membranes made of amphipathic structures, mostly represented by glycerophospholipids (figure 2). Also composed of proteins with apolar domains, cell membranes consist of lipid bilayers, where the polar motifs (which are protein, sugar, or nucleic acid in nature) act as the exchangers of information between the internal and external environment of cells. That is why the use of either isolated cell membranes, or cell membrane components for the decoration of nanoparticles

stands as one of the most interesting approaches in nanomedicine. To date, membrane-coated nanoparticles have been obtained with the ability to migrate to specific body sites, or to show stealthiness towards the RES. Other biomimetic constructs have been designed so that, upon the addition of individual molecules, they interact with cell receptors at very high specificities (Ko *et al.*, 2022; X. Huang *et al.*, 2023). In the following sections, the main technologies used for cell membrane biomimetism are presented.

## Mimicking cell surfaces through supported lipid bilayers

The method of choice to mimic cell surfaces is the use of artificial membranes, also known as liposomes, which are self-assemblies of amphipathic lipids, the main components of lipid bilayers. In eukaryotes and bacteria, membranes are supramolecular structures where the major components are glycerophospholipids (phospholipids), a kind of amphipathic lipid consisting of a variable polar head, to which fatty acyl chains (with different structures) are attached through a phosphatidyl glycerol backbone (figure 2). Each cell has a particular composition of phospholipids (Nelson, Cox, and Hoskins, 2021), which is also modulated according to cell location. The molecular composition of cell surfaces is complex and variable. However, the supramolecular nature of synthetic membranes allows the preparation of complex arrays, where lipid-anchored motifs can be easily displayed through self-assembled processes. Liposomes represented one of the first kinds of nanoparticles ever approved for therapeutic use in humans, as they have proved to be innocuous and biodegradable

**Figure 1.** Nanoparticles for therapeutic use.



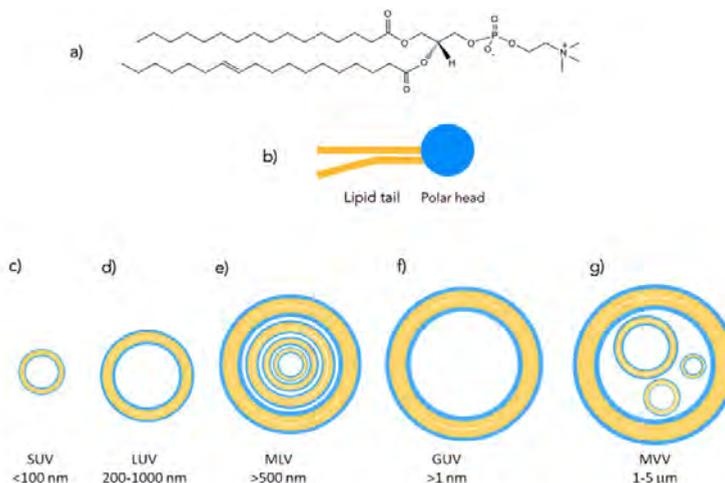
Different materials are suitable for their use in nanomedicine, allowing a selection of well-known chemical and textural features, according to specific medical purposes.

Source: Author's elaboration.

(Batty, Bachelder, and Ainslie, 2021); they can be engineered to have specific features such as biological recognition, permeability, and fluidity (Andra *et al.*, 2022). Furthermore, their amphipathic nature make it possible to encapsulate drugs of distinct classes (Guimarães, Cavaco-Paulo, and Nogueira, 2021).

According to their structure, liposomes can be classified into unilamellar and multilamellar vesicles (figure 2). Methods to synthesize liposomes include the use of organic solvents, mechanical procedures, or the removal of phospholipid/detergent micelle mixtures. The selection of the method can affect the final liposome structure (Alavi, Karimi, and Safaei, 2017). Typically, multilamellar vesicle preparation is achieved by dissolving amphipathic lipids such as egg lecithin, cholesterol, or phosphatidyl glycerol in an organic solvent. Then, a stream of nitrogen is used to generate a film and to remove traces of the solvent before adding an aqueous milieu (Giuliano *et al.*, 2021). Finally, the treatment of multilamellar liposomes by ultrasonication, extrusion, freeze-thawing, or ethanol injection allows their rupture into unilamellar vesicles of submicrometric sizes. Other methodologies, such as electroformation, are used to obtain giant unilamellar liposomes, which have micrometric sizes and have been used as simplified models of cellular systems (Faizi *et al.*, 2022). Thus, simple self-assembling processes are used to obtain liposomes of different sizes (figure 2). In addition, unilamellar vesicles can be attached onto inorganic substrates to give arrays known as supported lipid bilayers (SLBs) (figure 3).

**Figure 2.** Liposomes are self-assemblies of amphipathic lipids.



a) Structure of a typical glycerophospholipid, the major type of amphipathic lipid found in membranes; b) amphipathic lipids can be schematized by a polar head and a lipid tail; c) – g) liposomes are self-assemblies of amphipathic lipids, with one or more lamellae, according to their size and method of preparation. SUV, small unilamellar vesicle; LUV, large unilamellar vesicle; MLV, multilamellar vesicle; GUV, giant unilamellar vesicle; MVV, multivesicular vesicle.

Source: Author's elaboration.

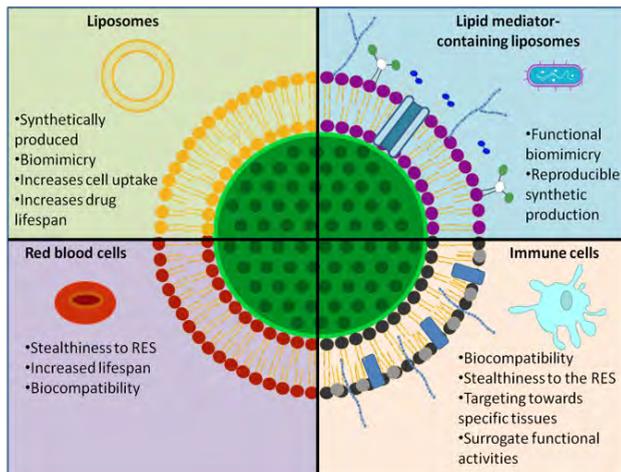
These hybrid arrays, made of inorganic and organic, lipid-based materials, usually give an increased stability to the bilayers (R. Zhang *et al.*, 2021), along with properties given by the selected inorganic structure. To prepare supported-lipid bilayers, the interactions between the coat and the inorganic core is favored through tailored chemistries. Lipid bilayers can be adhered to metal solid substrates using, for instance, thiolated lipids, which are known to strongly bind to metal surfaces such as gold (Pacchioni, 2019; Sakaguchi *et al.*, 2017). Another strategy is the use of electrostatic interactions for binding positively or negatively charged lipid bilayers to oppositely charged materials (Valdemar-Aguilar *et al.*, 2020). Multiple structures have been coated with lipid bilayers, including polymeric nanoparticles, porous silicon, mesoporous silica nanoparticles, hydroxyapatite and other calcium phosphates (Placente *et al.*, 2018; J.-L. Huang, Chen, and Gao, 2018; Mukherjee *et al.*, 2019). For drug/vaccine delivery purposes, the coating of nanoparticles using lipid bilayers give materials with features that include biocompatibility, biodegradability, easiness of drug encapsulation (through simple adsorption steps) and low cost. Owing to all these features, some of the most powerful drug carriers are membrane-coated mesoporous silica nanoparticles, also known as “protocells” (J. Liu *et al.*, 2009). Based on this kind of constructs, complex biological phenomena have been mimicked by displaying bioactive molecules at the surface of mesoporous materials. Silica nanoparticles wrapped with liposomes may also include the ability to release biologically active substances without premature leakage, or the possibility to reconstitute crowded systems with distinct biomolecular components (J. Liu *et al.*, 2009; Balouch *et al.*, 2021).

Curiously, our group found that the use of liposomes to coat dense nanoparticles lowered the impact they have on cells concomitantly submitted to physical forces. A method widely explored to enhance the delivery of drugs in cells is the application of shock waves, which consist of mechanical waves associated with high pressure peaks (López-Marín *et al.*, 2018). To increase the efficiency of drug delivery, shock waves are frequently combined with the use of soft material-based carriers, such as liposomes or lipid microbubbles. In contrast, dense materials have been known to heavily exacerbate the mortality of shock waves, thus banning the use of carriers such as mesoporous silica along with this physical method. In the search for optimal conditions for the genetic modification of human cells, Carrasco and colleagues found that, when coated with lipid bilayers, dense nanoparticles can be combined with shock wave treatments with no increase of cell mortality (Carrasco *et al.*, 2016). This finding was interesting, since it demonstrated that particle surface modification through liposome coating may go far beyond the control of surface chemical interactions.

Being a bottom-up approach in nanotechnology, the preparation of liposome coats may take advantage of isolated membrane molecules to give specific functions. Nordlund and colleagues, for example, produced mesoporous



**Figure 3.** Synthetic and natural lipid bilayers can be stabilized through their attachment to other types of nanoparticles.



Simple and biomimetic liposomes (above) or lipid bilayers from cells (below) can give rise to highly stable constructs, while interesting features of the core (high-loading capabilities, optical activities...) can be added. Source: Author's elaboration.

silica particles coated with cytochrome c oxidase-containing membranes; then, they used the porous silica as a scaffold to demonstrate the redox-driven proton membrane exchange (Nordlund *et al.*, 2009). Overall, supported lipid bilayers enable the exploitation of cell components that are commonly neglected due to their poor solubility in aqueous milieu; within synthetic membranes, hydrophobic structures can be displayed in water-stable colloids through non-covalent linkage, which may be critical as many surface molecules may act upon their trafficking into a cell receptor. In our group, mesoporous silica particles developed for vaccine purposes were coated with liposomes that included phosphatidyl-inositol-mannosides (PIMs), a bacterial lipid known to activate the innate immune system. Displayed within supported-lipid bilayers, PIMs were shown to bind to Toll-Like Receptor (TLR)-2, a macrophage cell surface molecule recognizing microbial patterns, thereby triggering an increase in phagocytic rates and the production of pro-inflammatory signals (Valdemar-Aguilar *et al.*, 2020). Importantly, many naturally occurring amphipathic molecules, such as PIMs, are part of therapeutic formulations already in use for humans. PIMs are molecular components of *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG), an attenuated bacterial strain used as a vaccine against tuberculosis. Although BCG is commonly used in neonates, its application has been proscribed in immunocompromised populations (J. Chen *et al.*, 2023). Supported-lipid bilayers therefore offer the possibility to exploit isolated molecules endowed with interesting functions, like PIMs, in the context of non-living, safer biomedical systems.

Last but not least, lipid bilayers can be supported on planar surfaces to allow the preparation of highly biomimetic sensing platforms, including those based on micropatterned surfaces (Sut *et al.*, 2021).

## Isolated natural membranes and their use in nanotechnology

### Membrane patches

Synthetic lipid bilayers are easy to prepare and highly modulable. However, many functions of cell membranes are multifactorial and depend on a set of proteins and glycans that are unique in each cell type and difficult to reproduce. In this regard, an alternative for biomimicry is the development of camouflages made with natural membranes. Cell membranes are complex and variable even within individual cells; however, there have been methodologies to isolate them since the early 1960s, when cell biologists started to separate cell organelles through differential and/or density gradient centrifugation.

During the last decade, multiple efforts have been dedicated to mimicking cell surface functions using natural membrane coatings. Membranes isolated from red blood cells have been used to enhance circulation times and reduce the clearance of nanoparticles (C.-M. J. Hu *et al.*, 2011; Piao *et al.*, 2014). Also, cell membranes from white blood cells have been used to produce hybrid particles that, in addition to avoiding their clearance by the RES, can communicate with cells by exerting targeting capabilities for improved delivery. The latter systems, also known as leukolike vectors or leukosomes (Molinaro *et al.*, 2016), are usually prepared with membranes from macrophages or cytotoxic T-lymphocytes (Xuan *et al.*, 2015; Rao *et al.*, 2017; L. Zhang *et al.*, 2017). Membranes from cancer cells, platelets and mesenchymal stem cells have also been exploited for targeting nanoparticles towards specific sites, either for therapeutic or imaging purposes (C.-M. J. Hu *et al.*, 2015; Lai *et al.*, 2015; Q. Hu and Gu, 2016; Min *et al.*, 2019). Thus, the potential of natural membranes in nanotechnology is huge and multifaceted. However, there are technical challenges that must be solved for this approach to become a viable alternative in drug targeting. Recent reports have demonstrated, for instance, that the degree of coating in these constructs is low (< 50%), which strongly affects the fate of cell membrane-coated particles in the body (L. Liu *et al.*, 2021).

### Bacterial outer membrane vesicles

A strategy to generate safe and effective vaccines against bacteria is the employment of outer membrane vesicles (OMVs). These particles are nano-sized structures formed spontaneously when portions of the outer membranes of Gram-negative bacteria separate from their envelope, encapsulating inside the periplasmic space. Because they contain highly immunogenic molecules, OMVs have a remarkable potential to induce immune responses (Ahmed *et al.*,

2021). OMVs are 50 to 250 nm in diameter and are composed of phospholipids, proteins, and lipopolysaccharides (LPS) (Li *et al.*, 2019). To obtain OMVs, the general protocol includes bacteria cultivation under specific stress conditions, removal of intact bacteria by low-speed centrifugation, and OMV isolation from culture filtrates through ultrafiltration, ultracentrifugation, and purification by density gradients (Klimentová, and Stulík, 2015). OMVs have diverse functions in bacteria, including their activity as decoys against bacteriophages, the elimination of extracellular harmful substances like antibiotics, biofilm formation (as OMVs contain biofilm matrix proteins), communication, and pathogenesis, due to the liberation of virulence factors that promote bacterial invasion to tissues (Furuyama, and Sircili, 2021). Due to these activities, OMVs have been proposed as nanotherapeutic agents. Firstly, they have been proposed to be used as drug nanocarriers since they can fuse with the membrane of target cells, have great stability and biocompatibility, and present long circulation times in the bloodstream. Also, OMVs can naturally load biomolecules, making them an interesting option for targeted delivery purposes. Moreover, OMVs may be modified through genetic engineering, mostly through permeabilizing techniques such as sonication and electroporation (Collins, and Brown, 2021), before their use in therapy, bioimaging and diagnosis (Xue, Wang, and Liu, 2022). As vaccines, OMVs are suitable due to their inherent adjuvant activity, leading to the activation of both the innate and acquired immune systems, along with their ability to activate cytotoxic T lymphocytes via cross-presentation by dendritic cells (Schettters *et al.*, 2019). Finally, OMVs have been used to coat inorganic nanoparticles, allowing the production of highly immunogenic constructs (George *et al.*, 2022).

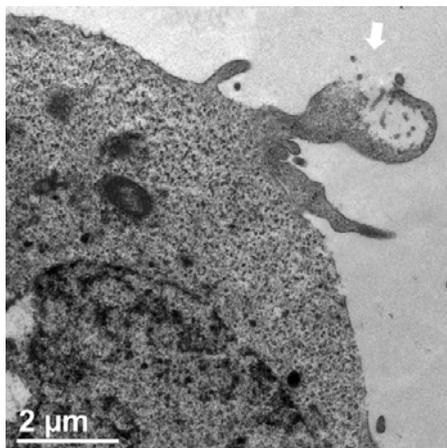
### Extracellular vesicles

Eukaryotic cells secrete different classes of phospholipid vesicles with a large set of roles in physiology and pathology. Although extracellular vesicles (EVs) were first evidenced in the late 1960s, a deeper comprehension of their biogenesis, complexity, and importance has only been obtained with the advancement of nanotechnology during the last three decades (Herrmann, Wood, and Fuhrmann, 2021). Some EVs are formed by budding from the cell membrane, whereas some others are pre-formed in the cytoplasm, then transported towards the extracellular space within multivesicular bodies (van Niel, D'Angelo, and Raposo, 2018) (figure 4). Distinguishable by different compositions, the two types of EVs are commonly called ectosomes and exosomes, according to their origin (from budding processes or release by multivesicular bodies, respectively). One of the most interesting findings about EVs has been their role in cell-cell communication (Meldolesi, 2018). By recognizing a variety of specific cell markers and transporting biological mediators (notably, microRNAs), EVs may affect cell metabolisms at very distant tissues (Mathieu *et al.*, 2019), an ability once thought to be limited to the neural and immunological systems. Therefore, due to their targeting capabilities and na-

nometric sizes, EVs are currently being explored as a powerful alternative for drug delivery (Kooijmans *et al.*, 2012; García-Manrique *et al.*, 2018).

EVs are highly biocompatible, and their ability to change the behavior of cells *in vivo* has been demonstrated for over a decade (Lakhal, and Wood, 2011). Indeed, a set of EV developments are under clinical trials for the treatment of important medical conditions, including cancer, Alzheimer's disease, cerebrovascular disorders and infectious diseases (Herrmann, Wood, and Fuhrmann, 2021). Interestingly, EVs obtained after the genetic manipulation of cells have been produced for the display of very specific molecules, such as targeting ligands or soluble mediators. Nevertheless, the multiple advantages EVs offer are very limited due to their low recovery from cell cultures, along with the high cost associated with their isolation (Li *et al.* 2019). A strategy to increase the production of EVs has been the application of treatments aimed to influence signaling pathways related to EV biogenesis (García-Manrique *et al.*, 2018). Alternatively, the use of plant cells has been proposed as a practical, alternative source of EVs (Y. Liu *et al.*, 2020), as well as the production of bio-inspired exosome mimetics, also known as artificial EVs (García-Manrique *et al.*, 2018). Although these semi-synthetic EVs do not have the high specificity of naturally occurring EVs, their feasibility through top-down bionanotechnology processes constitutes a promising option. Semi-synthetic EVs are produced from cells following either the modification of intravesicular/cell surface content or the encapsulation of exogenous molecules. Some of the strategies for this purpose are (i) the use of chemical reactions, (ii) the application of physical methods to transiently permeabilize preformed EVs, and (iii) the co-incubation of vesicles along with hydrophobic cargoes.

**Figure 4.** Transmission cell microscopy from a section of a HEK293 cell during the liberation of exosomes.



The white arrow points to exosomes liberated from a multivesicular body. Also visible are the nucleus and mitochondria.

Source: Author's elaboration.

Finally, a disruptive approach based on top-down processes has been proposed for the production of EVs: the use of physical methods to induce the fragmentation of cell membranes, followed by spontaneous self-assembly to produce “EV mimetics”. Again, the capabilities of EV mimetics obtained this way are not comparable to those of naturally released exosomes. However, the possibility to obtain vesicles after the controlled expression of cell molecular determinants is promising. To date, the strategies used to produce EV mimetics include the extrusion of cells through polycarbonate membrane filters or microchannels and the use of silicon nitride blades in microfluidic devices (García-Manrique *et al.*, 2018).

## Concluding remarks

Most cellular functions depend on the interactions between the external and the internal cell environments, where cell membranes are major actors. Supported-lipid bilayers therefore represent one of the most powerful options in the field of drug delivery, with more and more possibilities given by the continuous increase of biomedical knowledge and growing advancements in cell technologies. To date, lipid bilayer-coated nanoparticles can be finely tailored for activities such as drug targeting, stealthiness, or immune modulation. However, important issues must be solved before these attractive assemblies can be fully exploited. Major limitations deal with the high yields needed for the preparation of supported-lipid bilayers at large scales. Further improvements are also required for controlling the ultrastructural features and the coating homogeneity of the assemblies. Only interdisciplinary efforts involving the different areas in nanomedicine may solve these drawbacks.

## References

- Ahmed, Abeer Ahmed Qaed, Fuyu Qi, Ruizhu Zheng, Lin Xiao, Ahmed M.bE. Abdalla, Lin Mao, Bianza Moise Bakadia *et al.* (2021). The impact of ExHp-CD (outer membrane vesicles) released from *Helicobacter pylori* SS1 on macrophage RAW 264.7 Cells and their immunogenic potential. *Life Sciences*, 279(August): 119644. <https://doi.org/10.1016/j.lfs.2021.119644>.
- Alavi, Mehran, Naser Karimi, and Mohsen Safaei. (2017). Application of various types of liposomes in drug delivery systems. *Advanced Pharmaceutical Bulletin*, 7(1): 3-9. <https://doi.org/10.15171/apb.2017.002>.
- Andra, Veera Venkata Satya Naga Lakshmi, S. V. N. Pammi, Lakshmi Venkata Krishna Priya Bhatraju, and Lakshmi Kalyani Ruddaraju. (2022). A comprehensive review on novel liposomal methodologies, commercial formulations, clinical trials and patents. *BioNanoScience*, 12(1): 274-91. <https://doi.org/10.1007/s12668-022-00941-x>.
- Balouch, Martin, Marek Šoltys, Filip Hládek, Pavel Ulbrich, and František Štěpánek. (2021). Colloidal bag of marbles: The structure and properties of lipid-coated sili-

- ca nanoclusters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 628(November): 127358. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2021.127358>.
- Batty, Cole J., Eric M. Bachelder, and Kristy M. Ainslie. (2021). Historical perspective of clinical nano and microparticle formulations for delivery of therapeutics. *Trends in Molecular Medicine*, 27(6): 516-19. <https://doi.org/10.1016/j.molmed.2021.04.002>.
- Carrasco, Giovana, Luz M. López-Marín, Francisco Fernández, Pedro Salas, Achim M. Loske, and Blanca E. Millán-Chiu. (2016). Biomimetic coat enables the use of sonoporation to assist delivery of silica nanoparticle-cargoes into human cells. *Biointerphases*, 11(4): 04B303. <https://doi.org/10.1116/1.4965704>.
- Castillo-Armengol, Judit, Lluís Fajas, and Isabel C. López-Mejía. (2019). Inter-organ communication: A gatekeeper for metabolic health. *EMBO Reports*, 20(9). <https://doi.org/10.15252/embr.201947903>.
- Chen, Jingjing, Li Gao, Xinya Wu, Yuxin Fan, Meixiao Liu, Li Peng, Jieqin Song, Bingxue Li, Aihua Liu, and Fukai Bao. (2023). BCG-induced trained immunity: History, mechanisms and potential applications. *Journal of Translational Medicine*, 21(1): 106. <https://doi.org/10.1186/s12967-023-03944-8>.
- Chen, Wenjing, Andrew D. Hoffmann, Huiping Liu, and Xia Liu. (2018). Organotropism: new insights into molecular mechanisms of breast cancer metastasis. *Npj Precision Oncology*, 2(1): 4. <https://doi.org/10.1038/s41698-018-0047-0>.
- Collins, Shannon M., and Angela C. Brown. (2021). Bacterial outer membrane vesicles as antibiotic delivery vehicles. *Frontiers in Immunology*, 12(September): 733064. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2021.733064>.
- Faizi, Hammad A., Annie Tsui, Rumiana Dimova, and Petia M. Vlahovska. (2022). Bending rigidity, capacitance, and shear viscosity of giant vesicle membranes prepared by spontaneous swelling, electroformation, gel-assisted, and phase transfer methods: a comparative study. *Langmuir*, 38(34): 10548-57. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.2c01402>.
- Furuyama, Noemi, and Marcelo Palma Sircili. (2021). Outer membrane vesicles (OMVs) produced by Gram-negative bacteria: structure, functions, biogenesis, and vaccine application. Edited by Abadi Kahu Gebre. *BioMed Research International*, 2021(March): 1-16. <https://doi.org/10.1155/2021/1490732>.
- García-Manrique, Pablo, María Matos, Gemma Gutiérrez, Carmen Pazos, and María Carmen Blanco-López. (2018). Therapeutic biomaterials based on extracellular vesicles: classification of bio-engineering and mimetic preparation routes. *Journal of Extracellular Vesicles*, 7(1): 1422676. <https://doi.org/10.1080/20013078.2017.1422676>.
- George, Edna, Avijit Goswami, Tejan Lodhiya, Priyanka Padwal, Shalini Iyer, Iti Gauttam, Lakshay Sethi, et al. (2022). Immunomodulatory effect of mycobacterial outer membrane vesicles coated nanoparticles. *Biomaterials Advances*, 139(August): 213003. <https://doi.org/10.1016/j.bioadv.2022.213003>.
- Giuliano, Camila Betterelli, Nemanja Cvjetan, Jessica Ayache, and Peter Walde. (2021). Multivesicular vesicles: preparation and applications. *ChemSystemsChem*, 3(2). <https://doi.org/10.1002/syst.202000049>.

- Goodsell, David S., Arthur J. Olson, and Stefano Forli. (2020). Art and science of the cellular mesoscale. *Trends in Biochemical Sciences*, 45(6): 472-83. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2020.02.010>.
- Guimarães, Diana, Artur Cavaco-Paulo, and Eugenia Nogueira. (2021). Design of liposomes as drug delivery system for therapeutic applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 601(May): 120571. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120571>.
- Herrmann, Inge Katrin, Matthew John Andrew Wood, and Gregor Fuhrmann. (2021). Extracellular vesicles as a next-generation drug delivery platform. *Nature Nanotechnology*, 16(7): 748-59. <https://doi.org/10.1038/s41565-021-00931-2>.
- Hu, Che-Ming J., Ronnie H. Fang, Kuei-Chun Wang, Brian T. Luk, Soracha Thamphiwatana, Diana Dehaini, Phu Nguyen, *et al.* (2015). Nanoparticle biointerfacing by platelet membrane cloaking. *Nature*, 526(7571): 118-21. <https://doi.org/10.1038/nature15373>.
- Hu, Che-Ming J., Li Zhang, Santosh Aryal, Connie Cheung, Ronnie H. Fang, and Liangfang Zhang. (2011). Erythrocyte membrane-camouflaged polymeric nanoparticles as a biomimetic delivery platform. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(27): 10980-85. <https://doi.org/10.1073/pnas.1106634108>.
- Hu, Quanyin, and Zhen Gu. (2016). Cell membrane-mediated anticancer drug delivery. In *ACS Symposium Series*, edited by H. N. Cheng, Laurence Doemeny, Charles L. Geraci, and Diane Grob Schmidt, 1224: 197–211. Washington, DC: American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/bk-2016-1224.ch010>.
- Huang, Jia-Lin, Hong-Zhuan Chen, and Xiao-Ling Gao. (2018). Lipid-coated calcium phosphate nanoparticle and beyond: a versatile platform for drug delivery. *Journal of Drug Targeting*, 26(5-6): 398-406. <https://doi.org/10.1080/1061186X.2017.1419360>.
- Huang, Xinliang, Qinwei Yu, Luyong Zhang, and Zhenzhou Jiang. (2023). Research Progress on Mincle as a Multifunctional Receptor. *International Immunopharmacology* 114 (January): 109467. <https://doi.org/10.1016/j.intimp.2022.109467>.
- Jeevanandam, Jaison, Ahmed Barhoum, Yen S. Chan, Alain Dufresne, and Michael K. Danquah. (2018). Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein Journal of Nanotechnology*, 9(April): 1050-74. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>.
- Jeong, Hayoon, Wooram Park, Dong-Hyun Kim, and Kun Na. (2021). Dynamic nano-assemblies of nanomaterials for cancer photomedicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 177(October): 113954. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2021.113954>.
- Khurana, Amit, Prince Allawadhi, Isha Khurana, Sachin Allwadhhi, Ralf Weiskirchen, Anil Kumar Banothu, Deepak Chhabra, Kamaldeep Joshi, and Kala Kumar Bharani. (2021). Role of nanotechnology behind the success of mRNA vaccines for COVID-19. *Nano Today*, 38(June): 101142. <https://doi.org/10.1016/j.nantod.2021.101142>.
- Klimentová, Jana, and Jiří Stulík. (2015). Methods of isolation and purification of outer membrane vesicles from gram-negative bacteria. *Microbiological Re-*

- search, 170(January): 1-9. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2014.09.006>.
- Ko, Chung-Nga, Shaohong Zang, Yingtang Zhou, Zhangfeng Zhong, and Chao Yang. (2022). Nanocarriers for effective delivery: modulation of innate immunity for the management of infections and the associated complications. *Journal of Nanobiotechnology*, 20(1): 380. <https://doi.org/10.1186/s12951-022-01582-8>.
- Kooijmans, Sander A. A., Pieter Vader, Susan M. Dommelen, Wouter W. Solinge, and Raymond Schiffelers. (2012). Exosome mimetics: a novel class of drug delivery systems. *International Journal of Nanomedicine*, March, 1525. <https://doi.org/10.2147/IJN.S29661>.
- Lai, Pei-Ying, Rih-Yang Huang, Ssu-Yu Lin, Yee-Hsien Lin, and Chien-Wen Chang. (2015). Biomimetic stem cell membrane-camouflaged iron oxide nanoparticles for theranostic applications. *RSC Advances*, 5(119): 98222-30. <https://doi.org/10.1039/C5RA17447C>.
- Lakhal, Samira, and Matthew J. A. Wood. (2011). Intranasal exosomes for treatment of neuroinflammation? Prospects and limitations. *Molecular Therapy*, 19(10): 1754-56. <https://doi.org/10.1038/mt.2011.198>.
- Li, Xia, Alexander L. Corbett, Erfan Taatizadeh, Nishat Tasnim, Jonathan P. Little, Cathie Garnis, Mads Daugaard, Emma Guns, Mina Hoorfar, and Isaac T. S. Li. (2019). Challenges and opportunities in exosome research—Perspectives from biology, engineering, and cancer therapy. *APL Bioengineering*, 3(1): 011503. <https://doi.org/10.1063/1.5087122>.
- Liu, Juewen, Xingmao Jiang, Carlee Ashley, and C. Jeffrey Brinker. (2009). Electrostatically mediated liposome fusion and lipid exchange with a nanoparticle-supported bilayer for control of surface charge, drug containment, and delivery. *Journal of the American Chemical Society*, 131(22): 7567-69. <https://doi.org/10.1021/ja902039y>.
- Liu, Lizhi, Xuan Bai, Maria-Viola Martikainen, Anna Kårlund, Marjut Roponen, Wujun Xu, Guoqing Hu, Ennio Tasciotti, and Vesa-Pekka Lehto. (2021). Cell membrane coating integrity affects the internalization mechanism of biomimetic nanoparticles. *Nature Communications*, 12(1): 5726. <https://doi.org/10.1038/s41467-021-26052-x>.
- Liu, Yuan, Sherry Wu, Yeonjong Koo, An Yang, Yanwan Dai, Htet Khant, Samantha R. Osman, *et al.* (2020). Characterization of and isolation methods for plant leaf nanovesicles and small extracellular vesicles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 29(October): 102271. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2020.102271>.
- López-Marín, Luz M., Ana Leonor Rivera, Francisco Fernández, and Achim M. Loske. (2018). Shock Wave-Induced permeabilization of mammalian cells. *Physics of Life Reviews*, 26-27(November): 1-38. <https://doi.org/10.1016/j.plrev.2018.03.001>.
- Mathieu, Mathilde, Lorena Martin-Jaular, Grégory Lavieu, and Clotilde Théry. (2019). Specificities of secretion and uptake of exosomes and other extracellular vesicles for cell-to-cell communication. *Nature Cell Biology*, 21(1): 9-17. <https://doi.org/10.1038/s41556-018-0250-9>.

- Meldolesi, Jacopo. (2018). Exosomes and ectosomes in intercellular communication. *Current Biology*, 28(8): R435-44. <https://doi.org/10.1016/j.cub.2018.01.059>.
- Min, Huan, Jing Wang, Yingqiu Qi, Yinlong Zhang, Xuexiang Han, Ying Xu, Junchao Xu, *et al.* (2019). Biomimetic metal–organic framework nanoparticles for cooperative combination of antiangiogenesis and photodynamic therapy for enhanced efficacy. *Advanced Materials* 31(15): 1808200. <https://doi.org/10.1002/adma.201808200>.
- Molinaro, R., C. Corbo, J. O. Martinez, F. Taraballi, M. Evangelopoulos, S. Minardi, I. K. Yazdi, *et al.* (2016). Biomimetic proteolipid vesicles for targeting inflamed tissues. *Nature Materials*, 15(9): 1037-46. <https://doi.org/10.1038/nmat4644>.
- Mukherjee, Anubhab, Ariana K. Waters, Pranav Kalyan, Achal Singh Achrol, Santosh Kesari, and Venkata Mahidhar Yenugonda. (2019). Lipid-polymer hybrid nanoparticles as a next-generation drug delivery platform: state of the art, emerging technologies, and perspectives. *International Journal of Nanomedicine*, 14(March): 1937–52. <https://doi.org/10.2147/IJN.S198353>.
- Nelson, David L., Michael M. Cox, and Aaron A. Hoskins. (2021). *Lehninger principles of biochemistry*, 8th ed. Austin: Macmillan Learning.
- Niel, Guillaume van, Gisela D'Angelo, and Graça Raposo. (2018). Shedding light on the cell biology of extracellular vesicles. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 19(4): 213-28. <https://doi.org/10.1038/nrm.2017.125>.
- Nordlund, Gustav, Jovice Boon Sing Ng, Lennart Bergström, and Peter Brzezinski. (2009). A membrane-reconstituted multisubunit functional proton pump on mesoporous silica particles. *ACS Nano*, 3(9): 2639-46. <https://doi.org/10.1021/nn9005413>.
- Pacchioni, Giulia. (2019). A not-so-strong bond. *Nature Reviews Materials*, 4(4): 226-226. <https://doi.org/10.1038/s41578-019-0094-3>.
- Piao, Ji-Gang, Limin Wang, Feng Gao, Ye-Zi You, Yujie Xiong, and Lihua Yang. (2014). Erythrocyte membrane is an alternative coating to polyethylene glycol for prolonging the circulation lifetime of gold nanocages for photothermal therapy. *ACS Nano*, 8(10): 10414-25. <https://doi.org/10.1021/nn503779d>.
- Placente, Damián, Luciano A. Benedini, Mónica Baldini, Juan A. Laiuppa, Graciela E. Santillán, and Paula V. Messina. (2018). Multi-drug delivery system based on lipid membrane mimetic coated nano-hydroxyapatite formulations. *International Journal of Pharmaceutics*, 548(1): 559-70. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.07.036>.
- Rao, Lang, Zhaobo He, Qian-Fang Meng, Ziyao Zhou, Lin-Lin Bu, Shi-Shang Guo, Wei Liu, and Xing-Zhong Zhao. (2017). Effective cancer targeting and imaging using macrophage membrane-camouflaged up conversion nanoparticles: Effective cancer targeting and imaging. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 105(2): 521-30. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.35927>.
- Sakaguchi, Naotoshi, Yasuo Kimura, Ayumi Hirano-Iwata, and Toshio Ogino. (2017). Fabrication of Au-nanoparticle-embedded lipid bilayer membranes supported on solid substrates. *The Journal of Physical Chemistry B*, 121(17): 4474-81. <https://doi.org/10.1021/acs.jpcc.7b00500>.

- Schettters, Sjoerd T. T., Wouter S. P. Jong, Sophie K. Horrevorts, Laura J. W. Kruijssen, Steef Engels, Dorian Stolk, Maria H. Daleke-Schermerhorn, *et al.* (2019). Outer membrane vesicles engineered to express membrane-bound antigen program dendritic cells for cross-presentation to CD8+ T cells. *Acta Biomaterialia*, 91(June): 248-57. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2019.04.033>.
- Sut, Tun Naw, Bo Kyeong Yoon, Won-Yong Jeon, Joshua A. Jackman, and Nam-Joon Cho. (2021). Supported lipid bilayer coatings: fabrication, bioconjugation, and diagnostic applications. *Applied Materials Today*, 25(December): 101183. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2021.101183>.
- Valdemar-Aguilar, C. M., R. Manisekaran, R. Avila, V. D. Compeán-García, R. Nava-Mendoza, and L. M. López-Marín. (2020). Pathogen associated molecular pattern-decorated mesoporous silica - A colloidal model for studying bacterial-host cell interactions. *Biointerphases*, 15(4). <https://doi.org/10.1116/6.0000168>.
- Wang, Hao, Lingfeng Gao, Taojian Fan, Chen Zhang, Bin Zhang, Omar A. Al-Hartomy, Ahmed Al-Ghamdi, Swelm Wageh, Meng Qiu, and Han Zhang. (2021). Strategic design of intelligent-responsive nanogel carriers for cancer therapy. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 13(46): 54621-47. <https://doi.org/10.1021/acsami.1c13634>.
- Xuan, Minjun, Jingxin Shao, Luru Dai, Qiang He, and Junbai Li. (2015). Macrophage cell membrane camouflaged mesoporous silica nanocapsules for *in vivo* cancer therapy. *Advanced Healthcare Materials*, 4(11): 1645-52. <https://doi.org/10.1002/adhm.201500129>.
- Xue, Kaikai, Lu Wang, and Jinyao Liu. (2022). Bacterial outer membrane vesicles and their functionalization as vehicles for bioimaging, diagnosis and therapy. *Materials Advances*, 3(19): 7185-97. <https://doi.org/10.1039/D2MA00420H>.
- Zhang, Lianru, Rutian Li, Hong Chen, Jia Wei, Hanqing Qian, Shu Su, Jie Shao, Lifeng Wang, Xiao-Ping Qian, and Baorui Liu. (2017). Human cytotoxic T-lymphocyte membrane-camouflaged nanoparticles combined with low-dose irradiation: A new approach to enhance drug targeting in gastric cancer. *International Journal of Nanomedicine*, 12(March): 2129-42. <https://doi.org/10.2147/IJN.S126016>.
- Zhang, Ruoshi, Ming Hua, Hengliang Liu, and Jing Li. (2021). How to design nanoporous silica nanoparticles in regulating drug delivery: surface modification and porous control. *Materials Science and Engineering: B*, 263(January): 114835. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2020.114835>.



# Convergencia de la inteligencia artificial y la nanotecnología

## Convergence between artificial intelligence and nanotechnology

César Alberto Torres Solís,\* Mario Alan Quiroz Juárez\*,†

**ABSTRACT:** Nanotechnology and artificial intelligence are two scientific fields that individually have promoted a scientific and technological revolution across the globe. While nanotechnology enables the manipulation of matter at nanometric scales to develop applications and technologies with unique properties, artificial intelligence emerges as a set of effective techniques to potentiate computer systems that perform tasks of classification, optimization, prediction, and pattern recognition, which are typically attributed to humans. The intersection between both fields constitutes a multidisciplinary and modern research area that promises to boost a new generation of technologies and address critical challenges that contribute to the advancement of science. This work presents a general review of the efforts reported in the literature where the self-learning attributes of some artificial intelligence algorithms are exploited in the context of nanotechnology. Additionally, future trends and perspectives where these fields converge are discussed.

**KEYWORDS:** artificial intelligence, nanotechnology, neural networks, nanomaterials, nanophotonic.

**RESUMEN:** La nanotecnología y la inteligencia artificial son dos campos científicos que individualmente han promovido una revolución científica y tecnológica en todo el mundo. Mientras la nanotecnología habilita la manipulación de materia a escalas nanométricas para desarrollar aplicaciones y tecnologías con propiedades únicas, la inteligencia artificial reúne un conjunto de técnicas efectivas para potencializar sistemas informáticos que desempeñen tareas de clasificación, optimización, predicción y reconocimiento de patrones, las cuales son típicamente atribuidas a los seres humanos. La intersección entre ambos campos constituye un área de investigación multidisciplinaria y moderna que promete impulsar una nueva generación de tecnologías y atender retos clave que contribuyan al avance de la ciencia. En este artículo se presenta una revisión general de los esfuerzos reportados en la literatura donde se explotan los atributos de autoaprendizaje de algunos algoritmos de inteligencia artificial en el contexto de nanotecnología. Adicionalmente, se discuten tendencias y perspectivas futuras donde convergen estos campos de investigación científica.

**PALABRAS CLAVE:** inteligencia artificial, nanotecnología, redes neuronales, nanomateriales, nanofotónica.

---

Recibido: 4 de noviembre, 2022. Aceptado: 22 de febrero, 2023. Publicado: 10 de marzo, 2023.

\* Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Juriquilla, Qro.

† Autor de correspondencia: [maj@fata.unam.mx](mailto:maj@fata.unam.mx)



## Introducción

La nanotecnología ha emergido como un campo científico multidisciplinario donde se busca estudiar, diseñar, sintetizar, controlar y manipular materia a escalas nanométricas, específicamente aquella que se encuentra en el rango de 1 a 100 nm. En estas escalas, la materia adquiere propiedades y funciones únicas que incentivan el desarrollo de tecnologías y aplicaciones novedosas. En 1959, el físico y ganador del Premio Nobel Richard Feynman anticipó las potenciales oportunidades que ofrecía la manipulación de materia a nivel atómico. Aun cuando la era de oro de la nanotecnología empezó en la década de los ochenta del siglo pasado con el descubrimiento de los fullerenos y el desarrollo de los nanotubos de carbón —por mencionar algunos ejemplos destacados— fue hasta el siglo XXI cuando se registró un crecimiento exponencial de aplicaciones industriales. Después de este hecho, en poco menos de medio siglo, la nanotecnología se ha convertido en la base de notables aplicaciones que impactan la vida diaria. En el sector salud, por ejemplo, la nanotecnología ha revolucionado los dispositivos médicos de diagnóstico incluyendo biosensores, sistemas de administración de medicamentos y sondas de imagen (Hulla *et al.*, 2015). Es interesante señalar que, para finales del año 2022, se estima que el valor del mercado mundial de los nanomateriales superará los 90,500 millones de dólares (Yan *et al.*, 2020). Por supuesto, a raíz de la constante exposición humana a nanopartículas han surgido disciplinas científicas, como la nanotoxicología, que exploran los efectos adversos que estas nanopartículas podrían causar en la salud (Singh *et al.*, 2020).

En paralelo, la inteligencia artificial (IA) ha experimentado un desarrollo sin precedentes durante los últimos años, habilitando avances tecnológicos a un ritmo acelerado en múltiples contextos. El análisis de imágenes para diagnóstico médico (Lalmuanawma *et al.*, 2020; Razzak *et al.*, 2018; Shen *et al.*, 2017), la modelación de sistemas (Brunton *et al.*, 2022 y 2016; Chen *et al.*, 2008) y la superresolución en imágenes (Wetzstein *et al.*, 2020; Yang *et al.*, 2019), reconocimiento de patrones para clasificación (Quiroz-Juárez *et al.*, 2021) son algunas aplicaciones distinguidas donde los algoritmos de inteligencia artificial ofrecen desempeños sobresalientes. La IA se puede definir como una disciplina de las ciencias computacionales que reúne un conjunto de técnicas que buscan crear sistemas que realizan tareas que normalmente son atribuidas a los seres humanos, con el fin de desempeñar tareas en las que algoritmos clásicos ofrecen resultados parcialmente satisfactorios o son costosos de implementar (Jackson, 2019). Esta disciplina combina el conocimiento de diferentes campos como biología evolutiva, ciencias de la computación, matemáticas y neurociencias. Desde sus inicios, los algoritmos de IA han demostrado una alta capacidad para reconocer patrones y extraer información relevante, sumergida en enormes cantidades de datos, lo cual sería imposible de lograr a través de una inspección visual estándar (Goodfellow *et al.*, 2016; Murdoch *et al.*, 2013). Es interesante mencionar como un aspecto inherente a la mayoría de los algoritmos de IA, la ca-

rencia de una comprensión razonable de los mecanismos internos que llevan a la toma de decisiones para hacer una predicción en particular. En modelos simples, como árboles de decisión, es posible realizar un seguimiento para comprender el engranaje que da lugar a las decisiones. Desafortunadamente, la cantidad de problemas que se pueden resolver con este tipo de modelos es limitada. En modelos complejos como redes neuronales, donde a menudo exhiben altos rendimientos para una gran variedad de problemas, suelen tratarse como algoritmos de caja negra, principalmente por la alta complejidad que presenta la interpretación de la sinapsis o conexiones formadas durante el entrenamiento y la alta dimensionalidad de las características que el modelo identifica como importantes para tomar decisiones. Sin embargo, recientemente se han reportado numerosos esfuerzos para explicar y/o interpretar el funcionamiento de estos algoritmos (Arrieta *et al.*, 2020).

La combinación de la IA y la nanotecnología surge como una propuesta novedosa que promete resolver algunos de los retos clave presentes en nanomateriales, nanofotónica y desarrollo de nanodispositivos. En la literatura se han reportado diferentes esfuerzos que implementan técnicas de IA en investigación básica y aplicada en torno a nanociencias, por ejemplo, para la síntesis de nanomateriales acelerando el proceso de optimización de parámetros, diseño de nanodispositivos, y estudio de propiedades térmicas y dinámicas de nanofluidos (Gadzhimagomedova *et al.*, 2022). En este artículo se bosqueja un contexto general donde la inteligencia artificial y la nanotecnología convergen para potencializar aplicaciones y desarrollo tecnológico. Se ha demostrado que el puente entre la inteligencia artificial y diferentes campos del conocimiento puede conducir a la generación de aplicaciones de alto impacto para la sociedad.

Este artículo está organizado de la siguiente manera: en la primera sección se presenta una breve discusión acerca de una de las técnicas más sobresalientes de la inteligencia artificial: las redes neuronales artificiales y su esquema de aprendizaje; en la siguiente sección se describen algunos de los esfuerzos que explotan los atributos de los algoritmos de IA para abordar desafíos dentro del campo de la nanotecnología, y, por último, se presentan las conclusiones.

## Aprendizaje automático

Aunque en pocas ocasiones lo reconocemos de forma consciente, nuestro cerebro posee enormes capacidades para resolver problemas de clasificación, segmentación y reconocimiento de patrones. Por ejemplo, podemos identificar rostros con alta precisión dentro de entornos ruidosos donde participan otros objetos o personas, de hecho, somos capaces de hacer este reconocimiento observando perfiles del rostro a los que no se había tenido acceso antes o en entornos con baja iluminación (Krogh, 2008). Otra notable capacidad del cerebro humano es la habilidad para reconstruir objetos en el espacio a

partir de proyecciones bidimensionales como imágenes. Estos ejemplos permiten evidenciar uno de los aspectos más fascinantes del cerebro humano, la capacidad de aprender, es decir, la capacidad de generalizar conocimiento a partir de un conjunto de experiencias. Esta función cognitiva inspiró el desarrollo del aprendizaje automático, aprendizaje de maquina o también conocido como *machine learning*.

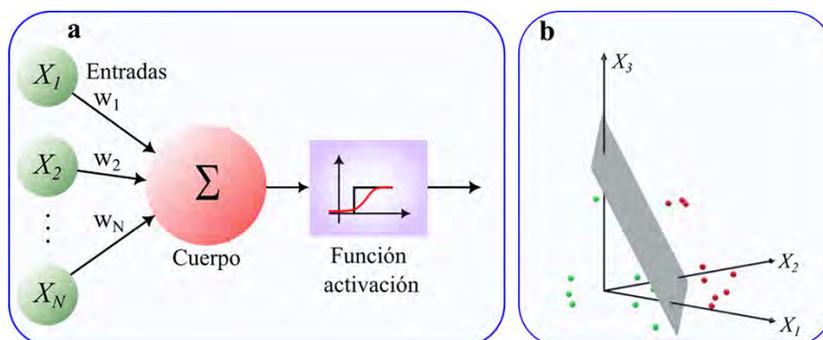
El aprendizaje automático es una rama de la inteligencia artificial que a través de algoritmos se encarga de crear sistemas informáticos capaces de aprender a partir de una colección de datos. Esto permite remplazar la programación explícita de las partes —que, acopladas, ayudan a resolver un problema— por la utilización de algoritmos capaces de encontrar la solución de forma autónoma. No obstante, la calidad y el tamaño del conjunto de datos son aspectos significativos e influyen en el rendimiento de los algoritmos. El aprendizaje automático integra una vasta lista de técnicas, entre las cuales podemos mencionar: árboles de decisión, máquinas de soporte vectorial, clasificadores bayesianos, regresiones no lineales, reglas de asociación y redes neuronales. No obstante, las redes neuronales artificiales son probablemente los modelos computacionales más populares dentro del aprendizaje automático.

En 1943, McCulloch y Pitts propusieron un modelo simplificado de una neurona biológica (McCulloch *et al.*, 1943). La descripción matemática consistía en un interruptor (activado/desactivado) controlado por la suma de las entradas de neuronas vecinas multiplicadas por un factor de ponderación, también llamado peso sináptico (Jackson, 2019). El valor del peso para cada entrada reflejaba la fuerza sináptica entre neuronas, y el signo (positivo o negativo) imitaba la acción de excitación o inhibición propia de una neurona biológica (Krogh, 2008). Este modelo marcó el camino para la creación de redes neuronales artificiales, después de que se mostrara que el acoplamiento de varias neuronas permitía desarrollar operaciones sofisticadas de clasificación (Mitchell *et al.*, 1990; Rosenblatt, 1958) y reconocimiento de patrones (Bishop, 2006).

A este respecto, las redes neuronales artificiales constituyen un grupo interconectado de neuronas artificiales dispuestas en capas (entrada, ocultas y salida), que transmiten señales a sus neuronas adyacentes. A pesar de que las neuronas artificiales son una versión extremadamente simplificada de las neuronas biológicas, estas poseen cuatro partes principales que se correlacionan directamente con su contraparte biológica: entrada, cuerpo o soma (donde se lleva a cabo el procesamiento de la información), función de activación y salida (figura 1a). Como se mencionó anteriormente, las características o entradas son ponderadas por los pesos sinápticos cuya función principal es incrementar o inhibir el estado de activación de la neurona. Aquí, el término “características” hace referencia a los rasgos que hacen descriptivo un objeto dado y, en conjunto, determinan las coordenadas de un vector definido dentro del llamado espacio de características. Finalmente, la salida de cada neurona es controlada por una función de activación, o limitadora, imponiendo una

transformación sobre la salida antes de transmitir la información a las neuronas vecinas (figura 1a). Típicamente, las neuronas artificiales se nombran a partir de la función de activación incluyendo, por ejemplo, neurona RELU (unidad lineal rectificada), neurona ADALINE (unidad adaptiva lineal), neurona sigmoide (unidad con función logística). En este punto vale la pena mencionar que las redes neuronales pueden tener varias capas ocultas y un número arbitrario de neuronas en cada una de ellas. Cuando el número de capas ocultas excede de dos, la red neuronal se denomina profunda (Nielsen, 2015). Esto se relaciona directamente con aprendizaje profundo o *deep learning*, un subconjunto del aprendizaje de máquina que automatiza la obtención de las características y concentra modelos que disponen de una gran cantidad de parámetros ajustables.

**FIGURA 1.** (a) Modelo de una neurona artificial constituido por entradas o características  $X_1, X_2, \dots, X_N$ , pesos sinápticos  $w_1, w_2, \dots, w_N$ , cuerpo o soma, función de activación y salida o axón. (b) Representación de un problema de clasificación binaria para clases linealmente separables en el espacio de características de tres dimensiones.



Fuente: Elaboración de los autores.

La tarea de aprendizaje en un sistema informático se convierte en un proceso iterativo que busca minimizar una cierta medida de costo aplicando cambios en los pesos sinápticos. En general, existen tres paradigmas de aprendizaje: aprendizaje por refuerzo, aprendizaje no supervisado y, aprendizaje supervisado. El aprendizaje por refuerzo hace uso de un esquema de recompensas y penalizaciones, donde el agente (modelo a entrenar) parte de un estado inicial dado y ejecuta una acción que conduce a una interacción con el entorno. En la siguiente iteración, el agente recibe retroalimentación del ambiente en términos de una recompensa (en caso de acierto) o penalización (en caso de desacierto) según sea el caso. Por su parte, el aprendizaje no supervisado es un método que habilita la agrupación de conjuntos de datos en función de similitudes y patrones en común, sin la necesidad de poseer información *a priori* de etiquetas o estructuras. Por último, el aprendizaje supervisado busca ajustar los parámetros del modelo para que sea capaz de repro-

ducir una salida lo más parecida posible a la deseada o conocida. Este objetivo se logra ingresando ejemplos etiquetados y minimizando el error producido entre la salida estimada por el modelo y la salida “correcta”.

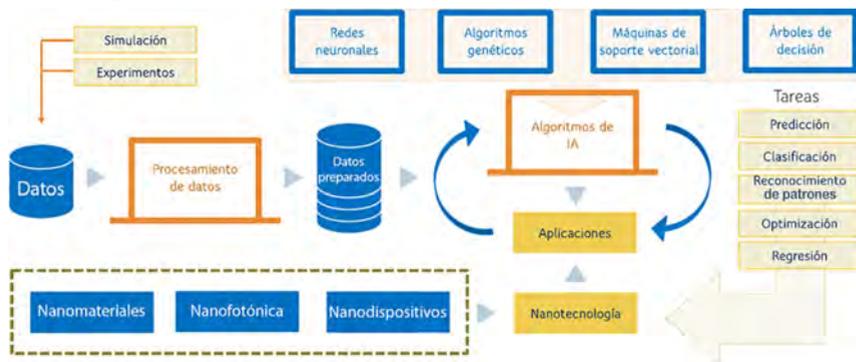
Específicamente, las redes neuronales artificiales que aprenden de manera supervisada se someten a dos fases, la fase de entrenamiento y la fase de prueba. Durante la fase de entrenamiento se desarrolla un proceso iterativo donde se presentan ejemplos con etiquetas conocidas y se optimizan los pesos sinápticos a partir de una regla de adaptación; mientras que en la etapa de prueba se introduce un conjunto de datos fuera del entrenamiento para evaluar el desempeño de la red neuronal y verificar la capacidad de generalización sobre las clases predichas. El porcentaje de reconocimiento para cuantificar el rendimiento de la red neuronal, denominado *accuracy*, se calcula como la razón de verdaderos positivos más los verdaderos negativos con respecto a la suma de los verdaderos positivos, verdaderos negativos, falsos positivos y falsos negativos.

Típicamente, la capa de salida de redes diseñadas para clasificación contiene neuronas con funciones de activación *softmax*; una función exponencial normalizada que habilita la representación de una distribución categórica, en otras palabras, permite representar la salida de la neurona como una distribución de probabilidad sobre las clases a ser predichas, por lo tanto, la suma de las salidas es igual a 1 (Bishop, 2006; Goodfellow *et al.*, 2016). En casos de clasificación binaria cuyos datos son linealmente separables, los pesos sinápticos definen la ecuación del hiperplano permitiendo separar ambas clases dentro del espacio de características. En dos dimensiones el hiperplano es una línea mientras que en tres dimensiones es un plano como se muestra en la figura 1b.

## Inteligencia artificial (IA) y nanotecnología

Existen varias motivaciones para integrar algoritmos de IA en nanotecnología (figura 2). Primero, la interpretación correcta de resultados experimentales en escalas nanométricas frecuentemente es asistida por simulaciones numéricas debido a que el desarrollo de aproximaciones analíticas es complejo. En este sentido, los algoritmos de aprendizaje automático han demostrado altos desempeños para realizar estimaciones paramétricas de modelos predefinidos a partir de datos (Sacha *et al.*, 2013). En segundo lugar, las técnicas de *machine learning* son capaces de reconstruir la función de transferencia de un sistema, es decir, la relación de los datos de salida con respecto a los datos de entrada. Esto permite elucidar el mapeo que existe entre variables físicas controlables (temperatura, presión, volumen) y propiedades funcionales de un nanomaterial, por ejemplo. En última instancia, los algoritmos de IA pueden guiar el diseño de dispositivos novedosos estimando las condiciones experimentales para alcanzar resultados específicos (So *et al.*, 2020). La figura 2 muestra un diagrama de flujo, el cual refleja la integración de algoritmos de inteligencia artificial en el contexto de nanotecnología.

**FIGURA 2.** Flujo de trabajo representando la implementación de algoritmos de IA en el contexto de nanotecnología.



Nota: El proceso inicia con la adquisición, procesamiento y preparación del conjunto de datos. La selección del modelo de aprendizaje automático (redes neuronales, algoritmos genéticos, máquinas de soporte vectorial, árboles de decisión, etc.) depende directamente de la aplicación y el tipo de tarea que se resolverá (predicción, clasificación, reconocimiento de patrones, optimización o regresión).

Fuente: Elaboración de los autores.

## Modelado y simulación de nanoestructuras

Las simulaciones numéricas representan una herramienta útil para evaluar nuevos conceptos y acelerar procesos de diseño. En nanotecnología, la dinámica molecular es una técnica ampliamente usada para modelar y simular nanomateriales (Asproulis *et al.*, 2009). Desafortunadamente, el tiempo de cálculo y los recursos computacionales para desarrollar simulaciones de “grano fino” son altamente demandantes y, con frecuencia, están limitadas por el tamaño de la molécula que se pretende simular (Rapaport *et al.*, 2004). Asproulis *et al.*, (2009) mostraron que las redes neuronales artificiales con arquitecturas multicapa pueden reducir la demanda computacional de simulaciones de dinámica molecular. Los autores entrenaron una red neuronal para predecir las trayectorias de 560 moléculas alrededor de un cilindro hueco que se encontraban sometidas a diferentes esfuerzos cortantes. Después del entrenamiento, la red neuronal es capaz de predecir las coordenadas de las moléculas usando la información del esfuerzo y el paso de tiempo.

Una estrategia que ha ganado fuerza es el entrenamiento de redes neuronales con datos de simulación numérica para resolver diferentes tareas. Sacha *et al.* (2009), por ejemplo, entrenaron una red neuronal multicapa con simulaciones numéricas para estimar la distancia entre punta-muestra, y la constante dieléctrica de un experimento de microscopía de fuerza electrostática, donde la punta escaneaba un nanotubo de carbón colocado en una muestra dieléctrica semi infinita. La misma metodología se probó en un sistema en el que se desconocían los parámetros geométricos de la sonda, tales como la longitud, el ángulo medio y el radio del vértice. Los resultados mostraron que

la red neuronal es capaz de estimar la constante dieléctrica de la muestra sin poseer información *a priori* de la punta. Por su parte, la determinación de las propiedades elásticas de películas delgadas también se ha realizado a través de redes neuronales entrenadas con datos de simulaciones numéricas basadas en el método de elemento finito. Una vez que el algoritmo se ha entrenado, la red se usa para estimar el módulo de Young, la densidad, la relación de Poisson y el espesor de la película (Xu *et al.*, 2004). Incluso se han diseñado redes neuronales para modelar las curvas de carga-desplazamiento de pruebas de nanoindentación. El algoritmo fue entrenado con respuestas de indentación para diferentes parámetros geométricos y materiales, las cuales fueron simuladas por modelos de elemento finito (Muliana *et al.*, 2002).

En nanofotónica, convencionalmente, el modelado consiste en predecir las propiedades ópticas de estructuras fotónicas resolviendo las ecuaciones de Maxwell que gobiernan la propagación de la luz en ambientes fotónicos complejos a través de métodos numéricos (So *et al.*, 2020). Con la integración de algoritmos de IA se ha logrado estimar soluciones removiendo el alto costo computacional, por caso, para aproximar la sección transversal de dispersión en nanopartículas núcleo-coraza (Peurifoy *et al.*, 2018). Incluso se ha demostrado la posibilidad de realizar predicciones de las propiedades ópticas de un escenario específico a partir del conocimiento generalizado de otro problema físico que se encuentra relacionado. Este tipo de estrategia se conoce como transferencia de conocimiento, y consiste en aprovechar un modelo de aprendizaje automático previamente entrenado para resolver una tarea diferente pero que se puede enmarcar dentro del mismo contexto (Qu *et al.*, 2019).

## Diseño de nanodispositivos

Los algoritmos de IA no solo se han implementado para asistir simulaciones, también han permitido explorar las relaciones no lineales en procesos de deposición de óxido conductores transparentes, cuyas películas se emplean como electrodos de dispositivos optoelectrónicos (diodos, *displays*, celdas solares). Particularmente, se ha reportado el análisis de los efectos del proceso de deposición sobre las propiedades eléctricas y la tasa de deposición de películas delgadas de  $\text{In}_2\text{O}_3\text{-ZnO}$  usando redes neuronales que aprenden de manera supervisada retro propagando el error (Kim *et al.*, 2009). Las redes neuronales artificiales también han tenido aplicaciones importantes en el modelado y predicción de las características de amplificación de pulso (como la ganancia del amplificador saturado) y la eficiencia en la mezcla de ondas en amplificadores ópticos de semiconductor de puntos cuánticos (Ababneh *et al.*, 2006). Una notable característica de modelos basados en redes neuronales es la reducción del tiempo de cálculo en comparación con simulaciones numéricas estándar.

En el contexto de las comunicaciones, típicamente, el diseño de nanoantenas se basa en la tecnología de radiofrecuencia. No obstante, en los últimos

años se han explotado las características que ofrecen los algoritmos genéticos para mejorar la estructura de estos dispositivos. Los algoritmos genéticos son un subconjunto de la IA inspirados en la evolución biológica en donde, a partir de un criterio, se determina cuáles individuos son aptos para sobrevivir y cuáles son propensos a desaparecer. Por ejemplo, Feichtner *et al.* (2012) mostraron, utilizando un algoritmo genético, poder hallar una nueva geometría de antenas que superan el rendimiento de las antenas de separación convencional, simplemente optimizando la intensidad de campo cercano. Los algoritmos genéticos han encontrado grandes aplicaciones en el campo de la nano óptica (Forestiere *et al.*, 2010; Ginzburg *et al.*, 2011). Una extensión natural a estos campos de acción es utilizar algoritmos de IA para modelar, diseñar y construir prototipos de nanocómputo (Arlat *et al.*, 2012; Uusitalo *et al.*, 2011).

## Caracterización de nanoestructuras

Los microscopios con sonda de barrido son instrumentos que permiten obtener imágenes estructurales no invasivas de materia en escala nanométrica. Particularmente, en técnicas de microscopía con sonda de barrido multimodal se adquieren múltiples canales de información en cada píxel. Se ha mostrado que a partir de las respuestas espectroscópicas medidas a nivel píxel se pueden entrenar redes neuronales que caractericen comportamientos locales de nanoestructuras. Nikiforov *et al.* (2009) usaron una red neuronal en combinación con el método de componentes principales para identificar las bacterias *Micrococcus lysodeikticus* y *Pseudomonas fluorescens* usando la diferencia en sus respuestas electromecánicas en un solo píxel. Cabe señalar que, a pesar de los avances en las técnicas de microscopía con sonda de barrido, la optimización de la sonda y los parámetros para hacer imagen dependen directamente de la habilidad y experiencia del operador. Para robustecer el proceso de medición, Woolley *et al.* (2011) desarrollaron un protocolo de aprendizaje automático para controlar y optimizar la estructura de una sonda usada para barrer imágenes de resolución atómica. Cabe señalar que uno de los principales problemas en la caracterización de materiales se encuentra en el hecho de entender las complejas interacciones entre la sonda y la muestra, debido a que dependen de muchos parámetros. Estos son los tipos de problemas en los que los métodos de IA pueden ser extremadamente útiles.

La caracterización de las propiedades estructurales de nanomateriales también se ha resuelto a través del procesamiento de imágenes obtenidas por microscopía electrónica de barrido, una técnica que permite obtener imágenes de alta resolución de la superficie de una muestra, explotando las interacciones electrón-materia. Algunos esfuerzos reportan la implementación de redes neuronales para cuantificar propiedades estructurales tales como alineación y curvatura de nanotubos de carbón usando la información del análisis en frecuencia de las imágenes obtenidas por microscopía electrónica en combinación con procedimientos estereológicos (Al-Khedher *et al.*, 2007). Otros es-

fuerzos reportan la implementación de redes neuronales y algoritmos genéticos para predecir la resistencia a la flexión y el porcentaje de absorción de agua de concretos que contienen nanopartículas  $ZnO_2$  (Nazari *et al.*, 2012) y  $Cr_2O_3$  (Nazari *et al.*, 2010). Para realizar estas predicciones, los modelos se entrenaron con datos experimentales incluyendo información del contenido de cemento, nanopartículas y agua, el tipo de agregado, la cantidad de superplastificante, el tipo de medio de curado y la edad del curado, para diferentes proporciones de mezcla.

Por su parte, en el campo de la nanofotónica se han introducido algoritmos de aprendizaje profundo para obtener mapeos no lineales entre la topología, la composición de estructuras nanofónicas arbitrarias y sus propiedades funcionales asociadas. Notablemente, bajo este esquema, el modelo “aprende” las ecuaciones de Maxwell y cómo resolverlas (So *et al.*, 2020). En esta misma dirección, existe un gran interés por parte de la comunidad científica en la aplicación de IA para realizar diseño inverso de dispositivos nanofotónicos, es decir, dada una respuesta óptica estimar la configuración del sistema físico (Liu *et al.*, 2018a y b).

En el sector de aplicaciones médicas, la nanotecnología se ha beneficiado de los algoritmos de IA para desarrollar herramientas que habilitan el análisis y modelado de nanopartículas en el contexto de la farmacología y nanomedicina (Ho *et al.*, 2019; Wilson *et al.*, 2020). Debido a la constante exposición humana a nanopartículas han surgido disciplinas, como la nanotoxicología, que pretenden estudiar los posibles efectos adversos. Sorpresivamente, algunos estudios utilizan modelos de aprendizaje automático como máquinas de soporte vectorial y regresiones basadas en los k-vecinos más cercanos para predecir perfiles de actividad biológica de nuevos nanomateriales y priorizar el diseño y fabricación de nanomateriales encaminados a productos más seguros (Fourches *et al.*, 2010; Singh *et al.*, 2020).

## Conclusiones

Se han discutido algunos de los esfuerzos donde convergen la nanotecnología y la IA. La lista de aplicaciones de algoritmos de IA en nanotecnología es realmente vasta y diversa para discutirla en detalle; como se ha mencionado en las subsecciones previas, incluyen desde la asistencia en la caracterización de nuevos materiales acelerando el proceso de optimización de parámetros, pasando por la estimación de modelos entrada-salida para realizar predicciones de estados futuros, hasta el desarrollo de nuevos dispositivos. No obstante, a pesar de que la combinación de ambos campos de investigación ha permitido potencializar algunas aplicaciones se prevé que estos habiliten la solución de problemas complejos que requieren múltiples niveles de descripción e interacción. Es de hacer notar que las técnicas de aprendizaje automático más recurrentes en las aplicaciones de IA en nanotecnología son las redes neuronales artificiales y los algoritmos genéticos, lo cual, probablemente, se deba a la

simplicidad de los modelos y a su alta capacidad de generalización. A este respecto, es importante señalar: estas características habilitan la implementación de estos algoritmos en dispositivos electrónicos portátiles, incluidos teléfonos móviles y tabletas, facilitando el despliegue de tecnologías.

## Referencias

- Ababneh, J. I. y Qasaimeh, O. (2006). Simple model for quantum-dot semiconductor optical amplifiers using artificial neural networks. *IEEE Transactions on Electron Devices*, 53(7): 1543-1550. <https://doi.org/10.1109/TED.2006.875803>.
- Al-Khedher, M. A., Pezeshki, C., McHale, J. L. y Knorr, F. J. (2007). Quality classification via Raman identification and SEM analysis of carbon nanotube bundles using artificial neural networks. *Nanotechnology*, 18(35): 355703. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/35/355703>.
- Arlat, J., Kalbarczyk, Z. y Nanya, T. (2012). Nanocomputing: Small devices, large dependability challenges. *IEEE Security & Privacy*, 10(1): 69-72. <https://doi.org/10.1109/MSP.2012.17>.
- Arrieta, A. B., Díaz-Rodríguez, N., Del Ser, J., Bennetot, A., Tabik, S., Barbado, A., ... y Herrera, F. (2020). Explainable artificial intelligence (XAI): Concepts, taxonomies, opportunities and challenges toward responsible AI. *Information fusion*, 58: 82-115. <https://doi.org/10.1016/j.inffus.2019.12.012>.
- Asproulis, N. y Drikakis, D. (2009). Nanoscale materials modelling using neural networks. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 6(3): 514-518. <https://doi.org/10.1166/jctn.2009.1062>.
- Bishop, C. M. y Nasrabadi, N. M. (2006). *Pattern recognition and machine learning*, 4(4): 738. New York: springer.
- Brunton, S. L. y Kutz, J. N. (2022). *Data-driven science and engineering: Machine learning, dynamical systems and control*. Cambridge University Press.
- Brunton, S. L., Proctor, J. L. y Kutz, J. N. (2016). Discovering governing equations from data by sparse identification of nonlinear dynamical systems. *Proceedings of the national academy of sciences*, 113(15): 3932-3937. <https://doi.org/10.1073/pnas.1517384113>.
- Chen, S. H., Jakeman, A. J. y Norton, J. P. (2008). Artificial intelligence techniques: an introduction to their use for modelling environmental systems. *Mathematics and computers in simulation*, 78(2-3): 379-400. <https://doi.org/10.1016/j.matcom.2008.01.028>.
- Feichtner, T., Selig, O., Kiunke, M. y Hecht, B. (2012). Evolutionary optimization of optical antennas. *Physical review letters*, 109(12): 127701. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.109.127701>.
- Forestiere, C., Donelli, M., Walsh, G. F., Zeni, E., Miano, G. y Dal Negro, L. (2010). Particle-swarm optimization of broadband nanoplasmonic arrays. *Optics letters*, 35(2): 133-135. <https://doi.org/10.1364/OL.35.000133>.
- Fourches, D., Pu, D., Tassa, C., Weissleder, R., Shaw, S. Y., Mumper, R. J. y Tropsha, A. (2010). Quantitative nanostructure- activity relationship modeling. *ACS*

- nano*, 4(10): 5703-5712. <https://doi.org/10.1021/nn1013484>.
- Gadzhimagomedova, Z. M., Pashkov, D. M., Kirsanova, D. Y., Soldatov, S. A., Butakova, M. A., Chernov, A. V. y Soldatov, A. V. (2022). Artificial intelligence for nanostructured materials. *Nanobiotechnology Reports*, 17(1): 1-9. <https://doi.org/10.1134/S2635167622010049>.
- Ginzburg, P., Berkovitch, N., Nevet, A., Shor, I. y Orenstein, M. (2011). Resonances on-demand for plasmonic nano-particles. *Nano letters*, 11(6): 2329-2333. <https://doi.org/10.1021/nl200612f>.
- Goodfellow, I., Bengio, Y. y Courville, A. (2016). *Deep learning*. MIT press.
- Ho, D., Wang, P., y Kee, T. (2019). Artificial intelligence in nanomedicine. *Nanoscale Horizons*, 4(2): 365-377. <https://doi.org/10.1039/C8NH00233A>.
- Hulla, J. E., Sahu, S. C. y Hayes, A. W. (2015). Nanotechnology: history and future. *Human & experimental toxicology*, 34(12): 1318-1321. <https://doi.org/10.1177/09603271155603588>.
- Jackson, P. C. (2019). *Introduction to artificial intelligence*, 3a ed. Nueva York: Courier Dover Publications.
- Kim, C. E., Shin, H. S., Moon, P., Kim, H. J. y Yun, I. (2009). Modeling of In<sub>2</sub>O<sub>3</sub>-10 wt% ZnO thin film properties for transparent conductive oxide using neural networks. *Current Applied Physics*, 9(6): 1407-1410. <https://doi.org/10.1016/j.cap.2009.03.013>.
- Krogh, A. (2008). What are artificial neural networks? *Nature biotechnology*, 26(2): 195-197. <https://doi.org/10.1038/nbt1386>.
- Lalmuanawma, S., Hussain, J. y Chhakchhuak, L. (2020). Applications of machine learning and artificial intelligence for Covid-19 (SARS-CoV-2) pandemic: a review. *Chaos, Solitons & Fractals*, 139: 110059. <https://doi.org/10.1016/j.chaos.2020.110059>.
- Liu, D., Tan, Y., Khoram, E. y Yu, Z. (2018a). Training deep neural networks for the inverse design of nanophotonic structures. *Acs Photonics*, 5(4): 1365-1369. <https://doi.org/10.1021/acsp Photonics.7b01377>.
- Liu, Z., Zhu, D., Rodrigues, S. P., Lee, K. T. y Cai, W. (2018b). Generative model for the inverse design of metasurfaces. *Nano letters*, 18(10): 6570-6576. <https://doi.org/10.1021/acs.nanolett.8b03171>.
- McCulloch, W. S. y Pitts, W. (1943). A logical calculus of the ideas immanent in nervous activity. *The bulletin of mathematical biophysics*, 5(4): 115-133. <https://doi.org/10.1007/BF02478259>.
- Mitchell, T., Buchanan, B., DeJong, G., Dietterich, T., Rosenbloom, P. y Waibel, A. (1990). Machine learning. *Annual review of computer science*, 4(1): 417-433. <https://doi.org/10.1146/annurev.cs.04.060190.002221>.
- Muliana, A., Haj-Ali, R. M., Steward, R. y Saxena, A. (2002). Artificial neural network and finite element modeling of nanoindentation tests. *Metallurgical and Materials Transactions A*, 33(7): 1939-1947. <https://doi.org/10.1007/s11661-002-0027-3>.
- Murdoch, T. B. y Detsky, A. S. (2013). The inevitable application of big data to health care. *Jama*, 309(13): 1351-1352. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.393>.

- Nazari, A. y Azimzadegan, T. (2012). Prediction the effects of ZnO<sub>2</sub> nanoparticles on splitting tensile strength and water absorption of high strength concrete. *Materials Research*, 15(3): 440-454. <https://doi.org/10.1590/S1516-14392012005000057>.
- Nazari, A. y Riahi, S. (2010). Computer-aided prediction of physical and mechanical properties of high strength cementitious composite containing Cr<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanoparticles. *Nano*, 5(05): 301-318. <https://doi.org/10.1142/S1793292010002219>.
- Nielsen, M. A. (2015). *Neural networks and deep learning*, 25. San Francisco, CA, USA: Determination press.
- Nikiforov, M. P., Reukov, V. V., Thompson, G. L., Vertegel, A. A., Guo, S., Kalinin, S. V. y Jesse, S. (2009). Functional recognition imaging using artificial neural networks: applications to rapid cellular identification via broadband electromechanical response. *Nanotechnology*, 20(40): 405708. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/40/405708>.
- Peurifoy, J., Shen, Y., Jing, L., Yang, Y., Cano-Renteria, F., DeLacy, B. G., ... y Soljačić, M. (2018). Nanophotonic particle simulation and inverse design using artificial neural networks. *Science advances*, 4(6): eaar4206. <https://doi.org/10.1126/sciadv.aar4206>.
- Qu, Y., Jing, L., Shen, Y., Qiu, M. y Soljagic, M. (2019). Migrating knowledge between physical scenarios based on artificial neural networks. *ACS Photonics*, 6(5): 1168-1174. <https://doi.org/10.1021/acsp Photonics.8b01526>.
- Quiroz-Juárez, M. A., Torres-Gómez, A., Hoyo-Ulloa, I., León-Montiel, R. D. J. y U'Ren, A. B. (2021). Identification of high-risk COVID-19 patients using machine learning. *PLoS One*, 16(9): e0257234. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0257234>.
- Rapaport, D. C. y Rapaport, D. C. R. (2004). *The art of molecular dynamics simulation*. Cambridge university press.
- Razzak, M. I., Naz, S. y Zaib, A. (2018). Deep learning for medical image processing: overview, challenges and the future. *Classification in BioApps*, 323-350. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-65981-7\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-65981-7_12).
- Rosenblatt, F. (1958). The perceptron: a probabilistic model for information storage and organization in the brain. *Psychological review*, 65(6): 386. <https://doi.org/10.1037/h0042519>.
- Sacha, G. M., Rodriguez, F. B. y Varona, P. (2009). An inverse problem solution for undetermined electrostatic force microscopy setups using neural networks. *Nanotechnology*, 20(8): 085702. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/20/8/085702>.
- Sacha, G. M. y Varona, P. (2013). Artificial intelligence in nanotechnology. *Nanotechnology*, 24(45): 452002. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/24/45/452002>.
- Shen, D., Wu, G. y Suk, H. I. (2017). Deep learning in medical image analysis. *Annual review of biomedical engineering*, 19: 221. <https://doi.org/10.1146/annurev-bioeng-071516-044442>.
- Singh, A. V., Ansari, M. H. D., Rosenkranz, D., Maharjan, R. S., Kriegel, F. L., Gandhi, K., ... y Luch, A. (2020). Artificial intelligence and machine learning in computational nanotoxicology: unlocking and empowering nanomedicine. *Advanced Healthcare Materials*, 9(17): 1901862. <https://doi.org/10.1002/adhm.201901862>.

- So, S., Badloe, T., Noh, J., Bravo-Abad, J. y Rho, J. (2020). Deep learning enabled inverse design in nanophotonics. *Nanophotonics*, 9(5): 1041-1057. <https://doi.org/10.1515/nanoph-2019-0474>.
- Uusitalo, M. A., Peltonen, J. y Ryhänen, T. (2011). Machine learning: how it can help nanocomputing. *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 8(8): 1347-1363. <https://doi.org/10.1166/jctn.2011.1821>.
- Wetzstein, G., Ozcan, A., Gigan, S., Fan, S., Englund, D., Soljačić, M., ... y Psaltis, D. (2020). Inference in artificial intelligence with deep optics and photonics. *Nature*, 588(7836): 39-47. <https://doi.org/10.1038/s41586-020-2973-6>.
- Wilson, B. y Km, G. (2020). Artificial intelligence and related technologies enabled nanomedicine for advanced cancer treatment. *Nanomedicine*, 15(05): 433-435. <https://doi.org/10.2217/nnm-2019-0366>.
- Woolley, R. A., Stirling, J., Radocea, A., Krasnogor, N. y Moriarty, P. (2011). Automated probe microscopy via evolutionary optimization at the atomic scale. *Applied Physics Letters*, 98(25), 253104. <https://doi.org/10.1063/1.3600662>.
- Xu, B., Shen, Z., Ni, X., Wang, J., Guan, J. y Lu, J. (2004). Determination of elastic properties of a film-substrate system by using the neural networks. *Applied physics letters*, 85(25): 6161-6163. <https://doi.org/10.1063/1.1841472>.
- Yan, X., Sedykh, A., Wang, W., Yan, B. y Zhu, H. (2020). Construction of a web-based nanomaterial database by big data curation and modeling friendly nanostructure annotations. *Nature communications*, 11(1): 1-10. <https://doi.org/10.1038/s41467-020-16413-3>.
- Yang, W., Zhang, X., Tian, Y., Wang, W., Xue, J. H. y Liao, Q. (2019). Deep learning for single image super-resolution: a brief review. *IEEE Transactions on Multimedia*, 21(12): 3106-3121. <https://doi.org/10.1109/TMM.2019.2919431>.

# Estudio de los efectos toxicológicos de los nanoplásticos en células de colon

## Study of the toxicological effects of nanoplastics on colon cells

Emmanuel Cortes Roos\* y Karla Juárez Moreno\*\*,<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** Plastic waste represents a threat to the environment, not only because of its accumulation and contamination, but also because of the constant degradation it undergoes, leading to its transformation into micro and nanoplastics (MNPLs). The size range of MNPLs makes it easier for them to cross the barriers of organisms, that is, the natural mechanisms that protect the organism from the entry of harmful substances or pathogens, becoming a potential risk factor for human health due to its relatively unknown effects. Human absorption of nanoplastics can occur unintentionally through the food chain through consumption of contaminated food and beverages or possibly through migration of nanoplastic particles from packaging materials to food products, then it is a concern that requires reliable data to assess its safety. In this review, we focus on the literature on research studies in which the effects of MNPLs on colon epithelial cells have been evaluated. These works have evaluated the danger of MNPLs through tests of cell viability, membrane integrity, localization and translocation of MNPs, induction of reactive oxygen species and genotoxic damage to have a comprehensive view of their potentially harmful effects. Most of the plastics produced by the industry are composed of different types of polymers, and given the technological limitation to obtain environmental samples, we work mainly with models of synthesized micro and nanoplastic particles.

**KEYWORDS:** nanoplastics, microplastics, colon, cytotoxicity, nanotoxicology.

**RESUMEN:** Los residuos plásticos representan una amenaza para el entorno, no solo por su acumulación y contaminación, sino también por su constante degradación y transformación en micro y nanoplásticos (MNPLs). El rango de tamaño de los MNPLs les facilita cruzar las barreras de los organismos, es decir, los mecanismos naturales que protegen al organismo de la entrada de sustancias dañinas o patógenos, convirtiéndose en un factor de riesgo potencial para la salud humana ante sus efectos relativamente desconocidos. La absorción humana de nanoplásticos puede ocurrir de manera no intencional a través de la cadena alimentaria por el consumo de alimentos y bebidas contaminados o posiblemente a través de la migración de partículas nanoplásticas de los materiales de empaque a los productos alimenticios, por lo que evaluar la seguridad y toxicidad de los MNPLs es una preocupación que exige datos fiables. En esta revisión, nos enfocaremos a la literatura publicada en torno a los estudios sobre la evaluación de los efectos de los MNPLs en células epiteliales de colon. Estos trabajos han evaluado el peligro de los MNPLs mediante pruebas de viabilidad celular, integridad de las membranas, localización y translocación de MNPs, inducción de especies reactivas de oxígeno y daño geno-

Recibido: 26 de noviembre, 2022. Aceptado: 7 de abril, 2023. Publicado: 12 de mayo, 2023.

\* Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Posgrado en Nanociencias, Ensenada, Baja California, México.

\*\* Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Departamento de Nanotecnología, Juriquilla, Querétaro, México.

<sup>†</sup> Autora de correspondencia: kjuarez@fata.unam.mx

tóxico para tener una visión integral de sus efectos potencialmente dañinos. La mayoría de los plásticos producidos por la industria están compuestos por diferentes tipos de polímeros, y dada la limitación tecnológica para obtener muestras ambientales se trabaja principalmente con modelos de partículas micro y nanoplásticas sintetizadas.

**PALABRAS CLAVE:** nanoplásticos, microplásticos, colon, citotoxicidad, nanotoxicología.

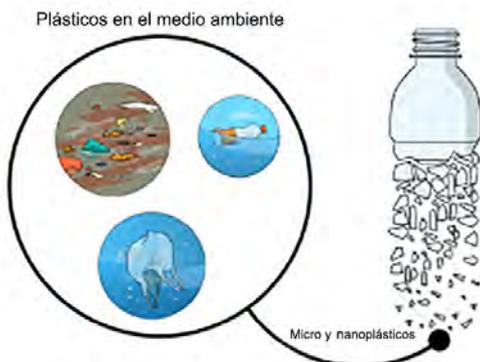
## Introducción

A medida que se han creado los materiales plásticos han surgido problemas con respecto a su uso, en la actualidad hay más de 5,300 tipos de polímeros sintéticos comercializados (Wagner y Lambert, 2018), muchos no son biodegradables, por lo tanto, aportan un volumen importante a la basura que se genera. Los océanos son considerados el ecosistema global más afectado por los desechos plásticos.<sup>1</sup> Un estudio de 2018 predijo que al menos 79 mil toneladas métricas de plástico oceánico están flotando dentro de un área de 1.6 millones de km<sup>2</sup>. También se ha demostrado la acumulación de estos residuos en las profundidades del mar, así como su ingesta por animales de la zona bentónica, asumiendo un comportamiento de sedimentación en las partículas plásticas. La sedimentación es posible si la densidad de los plásticos es superior a la del agua de mar (que es el caso de aproximadamente un tercio de todos los polímeros producidos), cuanto más pequeñas son las partículas, más rápido pueden alcanzar su densidad crítica de hundimiento. La degradación de los plásticos macroscópicos en piezas más pequeñas se produce típicamente por una combinación de procesos químicos y físicos que, en particular, pueden implicar la degradación foto, térmica o biológica, oxidación, degradación hidrolítica y desintegración mecánica, y provocan la ruptura de enlaces químicos en los polímeros sintéticos, afectando no solo a los polímeros en sí, sino también a los aditivos implementados dentro de los materiales, lo cual resulta en cambios en su estructura química y propiedades físicas (Lehner *et al.*, 2019). En general, los procesos de degradación ambiental implican la fragmentación y/o transformación de plásticos en microplásticos, nanoplásticos (que serán definidos en la siguiente sección), después, en moléculas orgánicas no poliméricas y, finalmente, la transformación en otros compuestos (Wagner y Lambert, 2018), (figura 1). Es evidente que la contaminación de plásticos en los océanos se ha convertido en un problema medioambiental alarmante, las primeras partículas pequeñas de plástico (< 5 mm) se detectaron en aguas abiertas en la década de los años 70 del siglo XX (Colton, Knapp y Burns, 1974), pero su formación en el medio ambiente está aumentando, y con ello la posible transferencia a los seres humanos a través de la cadena alimentaria, esto podría representar un desafío importante para la sociedad en materia de salud.

---

<sup>1</sup> Puede verse el artículo de Martínez González *et al.* (2022). (Nota del editor).

**Figura 1.** Degradación de plásticos y su transformación en micro y nanoplasticos.



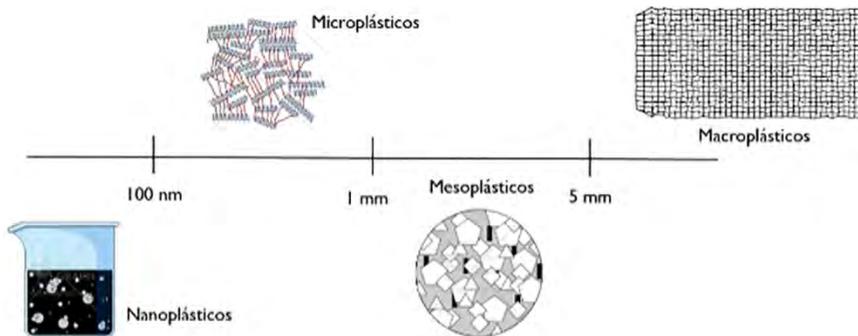
Fuente: Elaboración de los autores (imagen creada en BioRender.com).

## Micro y nanoplasticos: definición, tipos, y la preocupación emergente

Se cree que cuando se encuentran microplásticos (MPLs) en el medio ambiente, hay más nanoplasticos (NPLs) no detectados y, en efecto, la actual “exposición a microplásticos” es una mezcla de exposiciones a micro y nanoplasticos en conjunto. De tal forma, el tema engloba ambos términos: “microplásticos” se refiere comúnmente a partículas de plástico cuyo diámetro más largo es  $< 5$  mm y es la definición utilizada por la mayoría de los autores, porque este tamaño puede incluir una gama de partículas pequeñas que los organismos pueden ingerir fácilmente, pero, se ha sugerido que el término se redefina como elementos  $< 1$  mm para incluir solo partículas en el rango de tamaño micrométrico (Wagner y Lambert, 2018); Lambert *et al.*, en 2014, describieron los macroplásticos como  $> 5$  mm, los mesoplasticos como  $> 1$  mm a  $\leq 5$  mm, los microplásticos como  $> 100$  nm a  $\leq 1$  mm y los nanoplasticos  $\leq 100$  nm (Lambert, Sinclair y Boxall, 2014) (figura 2). Sin embargo, aún no se ha establecido una definición común para el término “nanoplasticos”, si bien los nanomateriales de ingeniería se definen por tener al menos una dimensión en el rango de tamaño de 1 a 100 nm (Official Journal of the European Union, 2011), algunos autores los definen como partículas  $< 1000$  nm y otros como  $< 100$  nm (Koelmans, Besseling y Shim, 2015), (Browne, Galloway y Thompson, 2007). Generalmente, los MNPLs se dividen en categorías de MNPLs primarios o secundarios. Los primarios se fabrican como tales y se utilizan como gránulos de resina para producir materiales más grandes o directamente en productos cosméticos como exfoliantes faciales y pastas dentales o en chorreado abrasivo. En comparación con este uso deliberado, los MNPLs secundarios se forman a partir de la degradación y desintegración de desechos plásticos más grandes (Wagner y Lambert, 2018), por lo cual, algunos de ellos pueden ser considera-

dos como contaminantes principalmente de los cuerpos de agua y de los alimentos. Es importante tener una comprensión clara de la interacción de los nanoplasticos con el medio ambiente y los organismos vivos, para poder evaluar los posibles riesgos a la salud. Es sabido que las nanopartículas exhiben generalmente propiedades químicas y físicas diferentes a las de los tamaños macroscópicos del mismo material (Murty *et al.*, 2013), por ende, sus interacciones con los organismos vivos también pueden diferir mucho, e, incluso, los nanoplasticos pueden reaccionar de manera diferente a sus contrapartes de tamaño micronizado. Con base en esto, el tema de las interacciones de NPLs con el medio ambiente y los organismos son un área de interés emergente en la nanotoxicología. La investigación en torno a los efectos del plástico se ha centrado principalmente en los sistemas acuáticos y se dispone de datos limitados sobre el impacto de los nanoplasticos en la salud humana, se advierte que su formación en el medio ambiente está aumentando y, en consecuencia, lo hace la posible transferencia a los seres humanos (Science Advisory Board to the Commissioner of the, and New Jersey Department of Environmental Protection, 2015).

Figura 2. Descripción del rango de tamaño de partículas plásticas.



Fuente: Elaboración de los autores (imagen creada en Mindthegraph.com).

## Ingestión: vía de exposición más importante a los nanoplasticos

Los nanomateriales pueden ingresar al cuerpo a través de seis rutas: intravenosa, dérmica, subcutánea, por inhalación, intraperitoneal y oral (Fischer y Chan, 2007). En el caso particular de la exposición a los nanoplasticos destacan, mayormente, la vía inhalatoria (o aérea) y la vía oral (o ingestión). Sin embargo, ante el conocimiento actual, la ingestión de partículas nanoplasticas representa la principal vía de entrada. Los MNPLs afectan un gran número de organismos, incluidos los consumidores primarios de la cadena alimentaria

como el zooplancton, los bivalvos y los peces pequeños (Cole *et al.*, 2013; J. Li *et al.*, 2015). Varios estudios experimentales, al utilizar modelos de nanopartículas de poliestireno, han ubicado a las dafnias, mejillones, zooplancton, algas y varios grupos de animales como filtradores que pueden ingerir activamente partículas nanoplásticas o adsorberlas en sus superficies, habiéndose demostrado su presencia y acumulación en su tracto gastrointestinal, e incluso también en aves (Pitt *et al.*, 2018; Cole y Galloway, 2015; Li, Tse y Fok, 2016), revelando que, a diferencia de las partículas microplásticas, los NPLs pueden traspasar la barrera gastrointestinal en los organismos acuáticos, y bioacumularse en el tejido subyacente (Lehner *et al.*, 2019; Cole y Galloway, 2015) Se ha demostrado la acumulación y transferencia trófica de nanoplásticos dentro de especies de pescados y mariscos como camarones y bivalvos, pero también se han encontrado partículas microplásticas en otros alimentos como miel, cerveza, sal y azúcar, fortaleciendo la posibilidad de que los MNPLs se acumulen en la cadena alimentaria, resultando en exposición humana (Lehner *et al.*, 2019) (figura 3). Estudios recientes han dado a conocer la existencia de microplásticos en agua del grifo y agua embotellada, así como en agua potable de fuentes subterráneas (Kosuth, Mason y Wattenberg, 2018). Los fragmentos de fibras textiles con dimensiones en el rango micrométrico que son desprendidos de la ropa durante el lavado no son eliminados por los sistemas de filtrado de las plantas de tratamiento de aguas residuales y, por lo tanto, terminan en el medio ambiente (Browne *et al.*, 2011). Incluso, los productos para el cuidado personal, como las pastas dentales y los exfoliantes faciales, a menudo contienen partículas microplásticas a base de polietileno que luego terminan en las aguas residuales (Fendall y Sewell, 2009), estos, conjuntamente, debido

**Figura 3.** Transferencia trófica de micro y nanoplásticos. La ingestión es la vía de exposición más común e importante de los NPLs.



Fuente: Elaboración de los autores (imagen creada en BioRender.com).

a diferentes factores abióticos, pueden transformarse en nanoplásticos. Además, la salud humana también puede verse afectada debido a la transferencia de los aditivos químicos del propio material plástico. En el humano, el tracto gastrointestinal (GI) tiene una superficie de aproximadamente 200 m<sup>2</sup> (Lehner *et al.*, 2019), representando el mayor lugar de exposición para la absorción de partículas plásticas, pues el epitelio intestinal es la mayor superficie del cuerpo en contacto con el medio exterior, que inclusive es mayor que la piel. La pregunta es ¿qué sucede dentro del órgano gastrointestinal en los seres humanos en el caso de los nanoplásticos? La información en torno a la interacción nanoplástica y el tejido intestinal proviene en su mayor parte de estudios *in vitro* con cultivos de células intestinales, en particular en las células epiteliales del colon. Diferentes estudios *in vitro* han investigado la internalización y translocación de nanopartículas de poliestireno en monocultivos de células intestinales o, incluso, en modelos complejos de células intestinales humanas. Estos trabajos utilizan MNPLs como modelo, no proveniente de muestras ambientales, sino que son sintetizados en laboratorio.

## Implicaciones biológicas de los nanoplásticos en el ser humano

Desde la superficie de la capa mucosa, el tejido epitelial intestinal posee un revestimiento de glándulas tubulares en el que se extienden criptas profundas, llamadas criptas de Lieberkuhn, y se caracterizan por la presencia de células columnares cilíndricas, como los colonocitos, enterocitos de absorción, células caliciformes, además de células madre y algunas células enteroendócrinas dispersas (Kierszenbaum y Tres, 2012; Junqueira y Carneiro, 2015). Las células caliciformes participan en el transporte de iones y agua, mientras que los enterocitos son células especializadas en la absorción de nutrientes. Los enterocitos poseen dominios celulares diferenciados, uno apical y otro basolateral (Megías, Molist y Pomba, 2019) (figura 4), en su parte apical presentan microvellosidades cortas e irregulares, las cuales están densamente dispuestas

Figura 4. Tejido epitelial del colon (colonocitos).



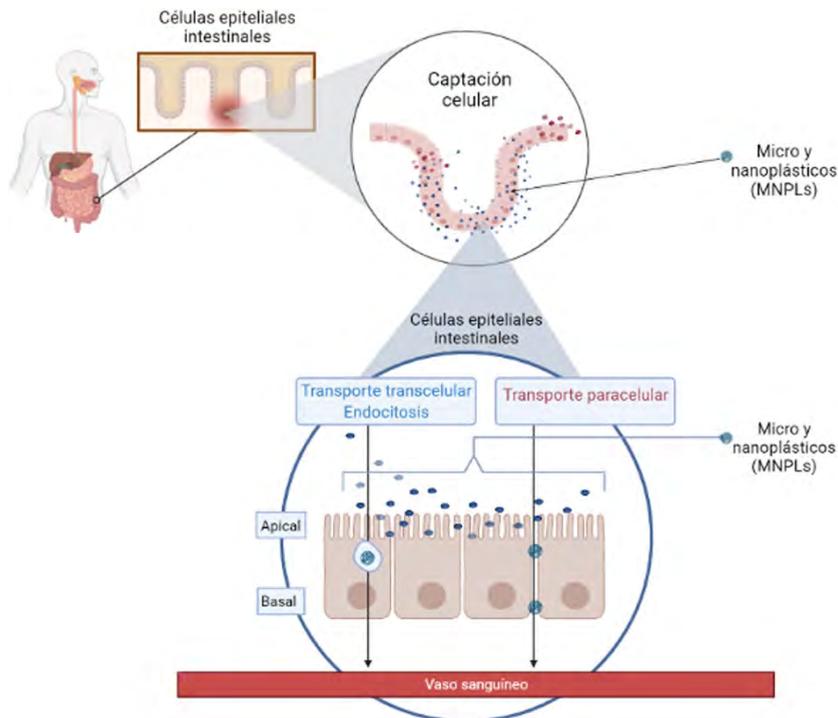
Fuente: Elaboración de los autores (imagen creada en BioRender.com).

formando una estructura denominada como ribete en cepillo, que aumenta la superficie apical de la célula hasta 100 veces, además, se encuentran los transportadores necesarios para la incorporación de moléculas que resultan de la digestión, mientras que en su parte basolateral se encuentran los transportadores necesarios para sacar del enterocito estas moléculas incorporadas que tendrán que pasar al torrente sanguíneo (Megías, Molist y Pombal, 2019).

En términos de evaluación de toxicidad, existe la necesidad de comprender las vías moleculares y celulares, y la cinética de los mecanismos de absorción, distribución, metabolismo y excreción que pudieran ser exclusivos de los nanoplasticos; estos, al ingresar al intestino, pueden presentar diferentes escenarios: la captación celular de nanopartículas depende en gran manera de sus interacciones con componentes biológicos, como proteínas, fosfolípidos o carbohidratos, debido a su tamaño, carga y química de superficie. El contacto previo con los fluidos intestinales puede causar la aglomeración de las partículas, y después ser excretadas, esto puede influir en la absorción en comparación con las partículas individuales, pero la reducción del tamaño junto con la naturaleza hidrofóbica de los nanoplasticos aumenta su capacidad para cruzar la barrera intestinal y las barreras endoteliales (Teles *et al.*, 2020). Las partículas pueden ser captadas y absorbidas en los enterocitos, o por distintas células epiteliales y alcanzar así el lado basolateral, esto se produce principalmente por endocitosis. Una vez dentro de la célula, las nanopartículas se almacenan en el interior de vesículas y mitocondrias, y son capaces de ejercer respuestas celulares (Nowack y Bucheli, 2007), como estrés oxidativo, actividad antioxidante y citotoxicidad (Oberdörster *et al.*, 2006). La captación de partículas en las células sin un transporte posterior al torrente sanguíneo no conduce a una distribución sistémica; sin embargo, también es posible que algunas partículas atraviesen el epitelio a través de la ruta paracelular, que es el paso mediante espacios entre las células epiteliales intestinales, pues el intestino puede presentar fugas en la monocapa de células, principalmente en la parte apical de las vellosidades, y al utilizar estos espacios, es posible el cruce de la barrera por partículas mucho más grandes que los límites de absorción de las células, y así, transportarse a los vasos sanguíneos (Paul *et al.*, 2020) (figura 5). Por otro lado, también se puede esperar que algunas partículas no crucen al torrente sanguíneo, sino que permanezcan dentro de las células intestinales, y es probable que estas partículas se liberen en el lumen intestinal al final del ciclo de vida de la célula, esto es, después de alrededor de 72 h (Paul *et al.*, 2020). En principio, parece posible la captación y el transporte de partículas de hasta un tamaño máximo de 5 a 10  $\mu\text{m}$  en las células intestinales. Una captación intracelular de partículas más grandes sería incompatible con el tamaño de las células epiteliales intestinales, que son de aproximadamente 10  $\mu\text{m}$ . La EFSA está considerando que los microplásticos tienen una biodisponibilidad muy limitada, de menos del 0.3%, y que solo las partículas de plástico de tamaño inferior a 150  $\mu\text{m}$  podrían, en principio, atravesar el epitelio intestinal

(Paul *et al.*, 2020), las cuales, ocasionalmente son encontradas en los tejidos, pero es probable que no reaccionen y se depositen sin estar biodisponibles sistémicamente, aunque al parecer, solo las partículas mucho más pequeñas de hasta 1.5  $\mu\text{m}$  podrían distribuirse sistémicamente. Por lo tanto, es probable que se produzca una distribución sistémica de partículas de plástico que se encuentran en el rango de la nanoescala (Jani *et al.*, 1990).

**Figura 5.** Captación celular de micro y nanoplasticos en células de colon.



Fuente: Elaboración de los autores (imagen creada en BioRender.com).

## Evaluación *in vitro* del efecto de los micro y nanoplasticos en líneas celulares de colon

Walczak *et al.*, en 2014, evaluaron tres modelos de células intestinales *in vitro*, y observaron que la carga superficial de nanopartículas de poliestireno (PS-NPs) afectó su internalización celular, sin embargo, la química de la superficie pareció ser más importante, al tener, dos tipos de NPs de 50 nm con carga negativa, una diferencia de más de 30 veces en la translocación, subsecuentemente, afirmaron que la diferencia en la cantidad de proteína adsorbida en la

superficie de las PS-NPs podría explicar la diferencia en su internalización, sin embargo, al parecer, la cantidad de proteína en la corona proteica no es el único parámetro que influye en su translocación a través de la barrera intestinal, pues las PS-NPs de 50 y 100 nm de diámetro con carga positiva tenían muchas menos proteínas adsorbidas pero se translocaron en mayor medida que las PS-NPs de carga negativa. Concluyeron que, para comparar la translocación relativa de diferentes NPs es suficiente con usar un modelo intestinal. Sin embargo, para calcular los valores de translocación absolutos se requieren experimentos *in vivo* (Walczak *et al.*, 2014).

Con un enfoque más complejo Walczak *et al.*, en 2015, sometieron PS-NPs de 50 nm de cargas positivas (funcionalizadas con aminos), negativas (con ácido carboxílico) y neutrales, en dos formas: puras y digeridas, en un modelo de digestión gastrointestinal humana *in vitro*, y evaluaron el efecto sobre la corona de proteínas de las PS-NPs y su posterior translocación en un co-cultivo de células Caco-2 y HT29-MTX. Las PS-NPs neutrales, en su forma original y digerida, no afectaron la viabilidad celular hasta la concentración de 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Las PS-NPs cargadas negativamente en forma prístina no afectaron la viabilidad celular sino hasta la concentración de 125  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , sin embargo, a una concentración de 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$  la viabilidad disminuyó en un 80%, y en la forma digerida, no afectaron la viabilidad celular sino hasta la concentración de 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . Pero, las PS-NPs cargadas positivamente, prístinas y digeridas, mostraron una citotoxicidad significativa, en concentraciones de 25 y 50  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , y ambas formas redujeron la viabilidad celular al 7% en la concentración de 250  $\mu\text{g}/\text{mL}$ . La adsorción de proteínas en superficies de NPs da como resultado la formación de una “corona de proteínas” alrededor de las partículas, y se reportó que, tras la digestión *in vitro*, todas las PS-NPs tenían menos proteína adsorbida en diferentes cantidades en comparación con sus equivalentes prístinos, y que esto favoreció su translocación. Esto sugiere una correlación directa entre estos dos parámetros. Por otro lado, la diferencia en la translocación entre diferentes PS-NPs prístinas y digeridas no se correlacionó directamente con la diferencia en la cantidad de proteína adsorbida. La composición principal de la corona de proteínas de las PS-NPs prístinas era independiente de la funcionalización, tal como Walczak *et al.*, en 2014, lo habían mostrado antes. Las PS-NPs generalmente se consideran estables y no degradables, y en efecto, las PS-NPs no se degradaron tras la digestión *in vitro* (Walczak *et al.*, 2015).

En 2018, Inkielewicz-Stepniak *et al.* examinaron la interacción de PS-NPs de ~60 nm, modificadas con: amina, con carboxilo, y sin modificar, durante 72 h, con la mucina gastrointestinal y su efecto en las líneas celulares; CaCo-2, HT-29 y LS174T, con concentraciones crecientes de 20, 50 y 100  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de PS-NPs. Encontraron una reducción en la viabilidad celular dependiente de la concentración tras la incubación con las PS-NPs funcionalizadas con  $-\text{NH}_2$  (carga positiva). Sin embargo, ni las PS-NPs funcionalizadas con  $-\text{COOH}$  ni las no modificadas, ejercieron ningún efecto sobre la viabilidad celular. Además, solo

las PS-NPs con carga positiva, a 100 µg/mL, fueron capaces de inducir la muerte celular por apoptosis en las tres líneas celulares, independientemente de su capacidad para producir mucina (Inkielewicz-Stepniak *et al.*, 2018). Respecto a la interacción entre las PS-NPs y la mucina, se observó que el tipo de grupos funcionales presentes en la superficie de las NPs juega un papel importante como protector de la capa de mucina. Por ejemplo, las PS-NPs no funcionalizadas tienen un número significativo de grupos  $-SO_3$  expuestos en la superficie y, por lo tanto, un valor de potencial zeta negativo al igual que las PS-NPs modificadas con  $-COOH$ , mientras que las PS-NPs modificadas con  $-NH_2$  tienen un valor de potencial zeta positivo (Inkielewicz-Stepniak *et al.*, 2018), planteando la hipótesis de que estas últimas pueden provocar la interrupción de las interacciones electrostáticas y los enlaces de hidrógeno debido a la competencia entre los grupos cargados de las PS-NPs y la mucina, lo cual conduce a la desestabilización de la estructura de la mucina, aumentando el tamaño de los agregados, ocasionando el atrapamiento de las NPs (Inkielewicz-Stepniak *et al.*, 2018).

Wu *et al.*, en 2019, tras exponer micropartículas de poliestireno (PS-MPs) de 0.1 y 5 µm en células Caco-2, después de 12 h, localizaron las micropartículas alrededor del núcleo celular, y su superposición con los lisosomas, pero, el nivel de las PS-MPs de 5 µm que entró en las células fue inferior a las de 0.1 µm, mostrando una actividad más potente en estos últimos. Sin embargo, ninguno de los tamaños de las PS-MPs indujo cambios significativos en la integridad y fluidez de la membrana en las células Caco-2. La inhibición de la actividad del transportador ABC de la membrana plasmática fue el segundo efecto tóxico de las PS-MPs observado en este estudio. Los transportadores ABC son ATPasas asociadas a la membrana que desempeñan funciones importantes en la salida celular de sustratos xenobióticos y el sistema de defensa celular. Estudios anteriores de Wu y col. han demostrado que los nanomateriales cero, uni y bidimensionales pueden bloquear la actividad del transportador ABC a través de la inhibición competitiva de sustratos o el daño de la membrana plasmática, por esta razón se plantea que las PS-MPs actúan como quimiosensibilizadores para incrementar los efectos adversos de los sustratos xenobióticos en la función de los transportadores ABC. Sin embargo, los efectos y los mecanismos subyacentes no se han reportado hasta la fecha. El daño de la membrana podría no explicar la inhibición de la actividad del transportador ABC causada por ambos tamaños de PS-MPs, ya que este estudio mostró que los inhibidores de los transportadores ABC, PSC833 y MK571, aumentaron la acumulación de PS-MP de 0.1 µm en las células Caco-2, lo cual indica que las PS-MPs de 0.1 µm podrían actuar como sustratos de los transportadores ABC. Por tanto, la inhibición competitiva podría explicar la reducción detectada en las actividades del transportador ABC. Las PS-MPs expuestas no alteraron significativamente la viabilidad celular a medida que la concentración de exposición aumentó hasta 200 µg/mL, Sin embargo, sí aumentó significativamente la generación de ROS intracelulares. En particular, las PS-MPs

de 0.1 y 5  $\mu\text{m}$  a la concentración de  $\geq 20 \mu\text{g}/\text{mL}$  y  $\geq 1 \mu\text{g}/\text{mL}$ , respectivamente, indicaron la aparición de una despolarización mitocondrial. Los resultados de citotoxicidad revelaron que las PS-MPs de 0.1  $\mu\text{m}$  causaron menos citotoxicidad en comparación con las de 5  $\mu\text{m}$  (Wu *et al.*, 2019).

En 2019, Cortes *et al.* expusieron células de colon Caco-2 durante 24 y 48 h a un rango de concentraciones de 0 a 200  $\mu\text{g mL}^{-1}$  de nanopartículas de poliestireno de forma redonda de aproximadamente 50 nm de diámetro. Las PS-NPs no ejercieron ningún tipo de citotoxicidad, al menos hasta la concentración de 150  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , la concentración más alta (200  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) indujo un efecto citotóxico leve, alcanzando valores de supervivencia relativa del 80%. En todas las concentraciones evaluadas las PS-NPs se internalizaron en las células Caco-2. Se observó que en la concentración más baja de 1  $\mu\text{g mL}^{-1}$  las PS-NPs se internalizaron en el núcleo y se acumularon en los lisosomas y vacuolas en el citoplasma, ocasionando una alteración en la morfología de las crestas mitocondriales. Además, se observó que las PS-NPs se internalizaban en un 59% de las células a partir de la concentración de 25  $\mu\text{g mL}^{-1}$ , y en un 86% a partir de la concentración de 100  $\mu\text{g mL}^{-1}$ . En conjunto, los resultados mostraron una fácil absorción y captación de PS-NPs en las células Caco-2, así como respuestas celulares, que aumentaban de manera dependiente de la concentración. Entre los efectos biológicos causados por los MNPLs, está la inducción de estrés oxidativo intracelular, por lo que midieron los niveles intracelulares de especies de oxígeno altamente reactivas (ROS, por sus siglas en inglés) en las células expuestas, y observaron que las PS-NPs no producían estrés oxidativo. Los autores confirmaron la ausencia de estrés oxidativo analizando los cambios en los niveles de expresión de los genes superóxido dismutasa 2 (*SOD2*) y glutatión S-transferasa P (*GSTP1*) relacionados con la producción de ROS. La ausencia de cambios significativos en la expresión de dichos genes confirmaría la baja o nula inducción de estrés oxidativo asociado con la exposición de estas células a los PS. No obstante, el comportamiento del gen hemo-oxigenasa 1 (*HO1*), tanto para tiempos de exposición de 24 como de 48 h, es especialmente interesante, al correlacionarse con el aumento del nivel de ARNm y de proteína en respuesta a condiciones de estrés oxidativo. Los niveles de ROS no se detectaron directamente, algunos procesos subyacentes de respuesta al estrés se producen como respuesta a la exposición de PS-NPs. Esto estuvo respaldado por un aumento de ambos marcadores de estrés general, *HO1* y la proteína de choque térmico 70 (*HSP70*), que es un indicador de inducción de estrés celular general. A pesar de la baja citotoxicidad, se observaron cambios en los niveles de expresión del gen *HSP70*, utilizado como indicador general de la inducción de estrés, principalmente en la exposición durante 48 h. En la misma dirección, los cambios observados en los niveles de expresión de genes implicados en la respuesta inflamatoria (principalmente para *IL-1 $\beta$* , 48 h después de la exposición) apoyan una ligera inducción de estrés celular. Las respuestas inmunes, especialmente las respuestas inflamatorias, tienen un papel clave en la regulación de los meca-

nismos de genotoxicidad, y la recopilación de estos datos se ha convertido en un requisito reglamentario para todas las sustancias químicas nuevas, al ser considerados la carcinogenicidad y los efectos hereditarios de los nuevos compuestos como importantes problemas de salud pública (Cortés *et al.*, 2019).

De manera similar, Domenech *et al.* en el 2020 reportaron la ausencia de efectos citotóxicos significativos inducidos por las PS-NPs en modelos de cultivo de células Caco-2/HT-29 diferenciadas, y células Caco-2/HT-29/células Raji-B, ya que no detectaron la producción significativa de ROS intracelulares en ninguna de las concentraciones probadas para ninguno de los modelos ensayados. Analizaron los cambios en la expresión de genes asociados con diferentes vías de estrés celular mediante RT PCR en tiempo real en las monocapas de Caco-2/HT29 y no se detectaron cambios significativos en la expresión de los tres genes HO1, GSTP1 y SOD2, relacionados con ROS. Además, la falta de cambios en la expresión del gen HSP70, que es un indicador de estrés celular general, confirmó la falta de toxicidad asociada con la exposición a las PS-NPs, sin embargo, detectaron una ligera tendencia a aumentar la expresión de estos genes de manera dependiente de la dosis, especialmente para el indicador celular de estrés HSP70. Las ROS pueden interactuar con el ADN produciendo diferentes tipos de daño genotóxicos, incluidos los aductos 8-oxodG. Para detectar este tipo de lesiones, utilizaron la enzima FPG que las identifica específicamente, no obstante, no se detectaron bases de ADN oxidadas. Los resultados indicaron que las PS-NPs no fueron genotóxicas (Domenech *et al.*, 2020).

Actualmente no hay datos disponibles sobre concentraciones de microplásticos que podrían ser ingeridos, ni hay datos suficientes sobre el posible efecto de los entornos complejos presentes dentro de toda la vía de ingestión como la saliva y los fluidos gastrointestinales, sobre el comportamiento de las partículas plásticas. Se requiere más investigación para determinar los efectos de los MNPLs, y también se debe considerar la exposición crónica de las partículas a la barrera intestinal. Los posibles escenarios podrían imitar la ingesta de alimentos contaminados con partículas de polímeros. Excepto el trabajo con PS-NPs, hasta ahora se han realizado pocos estudios de toxicidad *in vitro* con micro y nanoplásticos, en la tabla 1 se muestra una descripción general.

## Estudios *in vivo* de los efectos tóxicos de los micro y nanoplásticos

Se espera que aumente la presencia de nanopartículas artificiales en alimentos y productos farmacéuticos, y si el impacto en la salud humana de la exposición aguda a nanopartículas es desconocido, lo es aún más el proveniente de la exposición oral crónica. Mahler *et al.* en 2012 mostraron que la exposición oral aguda y crónica a PS-NPs puede influir en la absorción y el transporte de hierro en un modelo *in vitro* del epitelio intestinal y un modelo *in vivo* de asa intestinal de pollo, respectivamente. Las células intestinales que estuvieron

**TABLA 1.** Resumen de la literatura revisada utilizando modelos *in vitro* para estudiar el efecto de los micro y nanoplasticos en células de colon.

| Referencia  | Tipo y tamaño de partículas utilizadas  | Modelo celular                                   | Clasificación de efectos           |
|---|---|--|------------------------------------|
| Walczak <i>et al.</i> (2014)  | - PS con -NH <sub>2</sub> , con -COOH, y sin modificar: 50 y 100 nm.  | - Líneas celulares Caco-2, HT29-MTX y células M. | Tóxicos y no tóxicos, en conjunto. |
| Resultados:<br>- Mayor translocación para PS de 50 nm.<br>- La presencia de moco redujo la translocación de PS neutrales, pero aumentó en las cargadas negativamente.   |   |  |                                    |
| Walczak <i>et al.</i> (2015)  | - PS con -NH <sub>2</sub> , con -COOH, y sin modificar: 50 nm.<br>- Hasta 250 µg/mL.<br>- 24 h de exposición.                   | - Co-cultivo de células Caco-2 y HT29-MTX.       | Tóxicos y no tóxicos, en conjunto. |
| Resultados:<br>- Citotoxicidad significativa mediante PS-NPs puras y digeridas, cargadas positivamente.<br>- La digestión modificó las proteínas adsorbidas y aumentó la translocación de todas las PS-NPs.   |   |  |                                    |
| Magri <i>et al.</i> (2018)  | - Polietileno (PET): 100 nm, ablación con láser, diferentes características.<br>- 1-30 µg/mL.<br>- 24, 48 y 96 h de exposición. | - Modelo celular Caco-2.                         | No tóxicos.                        |
| Resultados:<br>- Sin citotoxicidad, sin liberación de deshidrogenasa láctica (LDH).<br>- Captación celular cerca de los lisosomas y translocación a través de las capas intestinales.<br>- Sin efectos tóxicos tras 24 h de exposición.<br>- Las PET-NPs no indujeron estrés oxidativo    |   |  |                                    |
| Stepniak <i>et al.</i> (2018)   | - PS con -NH <sub>2</sub> , con -COOH, y sin modificar: 60 nm.<br>- 20, 50 y 100 µg/mL.<br>- 72 h de exposición.                | - Líneas celulares Caco-2, HT-29 y LS174T.       | Tóxicos y no tóxicos, en conjunto. |
| Resultados:<br>- Reducción en la viabilidad celular mediante PS-NPs cargadas positivamente, y apoptosis a los 100 µg/mL de PS, en las tres líneas celulares.  |   |  |                                    |
| Cortes <i>et al.</i> (2019).  | - PS: 50 a 100 nm.<br>- PS fluorescente: 40 a 90 nm.<br>- 0 a 200 µg mL <sup>-1</sup> .<br>- 24 y 48 h de exposición.           | - Línea celular Caco-2.                          | No tóxicos.                        |
| Resultados:<br>- Sin citotoxicidad.<br>- Fácil absorción.<br>- Cambios estructurales, sin efectos tóxicos significativos independientemente del tiempo.   |   |  |                                    |
| Wu y col. (2019)  | - PS: 100 y 5000 nm.<br>- 1-200 µg mL <sup>-1</sup> .   | - Células de colon Caco-2.                       | Tóxicos y no tóxicos, en conjunto  |
| Resultados:<br>- Sin citotoxicidad.<br>- Débil toxicidad sobre el estrés oxidativo y la integridad de la membrana.<br>- Interrupción del potencial de la membrana mitocondrial, especialmente con PS de 5000 nm.<br>- Inhibición del transportador ABC ubicado en la membrana plasmática. |   |  |                                    |

Continúa ►

**TABLA 1.** Resumen de la literatura revisada utilizando modelos *in vitro* para estudiar el efecto de los micro y nanoplasticos en células de colon (continuación).

| Referencia   | Tipo y tamaño de partículas utilizadas   | Modelo celular   | Clasificación de efectos |
|--|--|--|--------------------------|
| Domenech <i>et al.</i> (2020)  | - PS: 50 nm.<br>- 0-200 µg/mL.<br>- 24 h de exposición.  | - Cocultivos: Caco-2/HT29 y Caco-2/HT29+Raji-B.  | No tóxicos.              |
| Resultados:<br>- Sin citotoxicidad.<br>- Sin efectos adversos en la integridad y permeabilidad de los modelos.<br>- Gran absorción de MNPLs y una translocación a través de las membranas.<br>- Internalización dependiente de la concentración, sin inducción de daño genotóxico u oxidativo en el ADN. |  |  |                          |
| Lehner <i>et al.</i> (2020)  | - Polipropileno (PP), poliuretano (PU), poliamida (PA), caucho de neumáticos polidisperso.<br>- 50-500 µm. | - Cocultivo de Caco-2/HT29-MTX con macrófagos y células dendríticas derivados de monocitos de sangre humana. | No tóxicos.              |
| Resultados:<br>- Sin citotoxicidad.<br>- Sin liberación de citocinas inflamatorias.<br>- Sin cambios en la integridad de la barrera epitelial.   |  |  |                          |

Fuente: Elaboración de los autores.

expuestas a altas concentraciones de nanopartículas mostraron un mayor transporte de hierro debido a la disrupción de la membrana celular. Los pollos expuestos de forma aguda a partículas carboxiladas de 50 nm de diámetro tenían una absorción de hierro más baja que las aves no expuestas o crónicamente expuestas. La exposición crónica a PS-NPs provocó la remodelación de las vellosidades intestinales, lo cual aumentó la superficie disponible para la absorción de hierro. Esto es interesante porque es posible que se produzcan alteraciones similares en la absorción de nutrientes en relación con otros elementos inorgánicos como el calcio, el cobre y el zinc, que requieren sistemas de transporte pasivos o activos para su absorción a través del epitelio intestinal. Además, las nanopartículas hidrófobas podrían interrumpir la formación de micelas, las interacciones de las micelas con la capa epitelial y/o la difusión de nutrientes a través de la membrana de fosfolípidos (Mahler *et al.*, 2012).

Por otro lado, Lu *et al.*, en el 2018, reportaron los efectos sobre el metabolismo de los lípidos hepáticos en ratones a los que se les administró agua potable durante 5 semanas con microplásticos de PS de 0.5 y 50 µm en concentraciones de 100 y 1000 µg/L. Observaron una disminución en la secreción de moco del intestino, y la composición de la microbiota intestinal se vio afectada; además de una disminución del peso corporal (Lu *et al.*, 2018).

Por el contrario, en 2019, Stock *et al.* alimentaron a ratones macho por 28 días con MPLs esféricos de PS fluorescente de tamaños de 1, 4 y 10 µm, para analizar el transporte en el epitelio intestinal y la respuesta al estrés oxidativo. Los resultados del estudio demostraron que existía absorción celular

de una fracción menor de MPLs. Se examinó el intestino (duodeno, yeyuno, íleon y colon), pero no se observaron respuestas positivas. Todos los animales parecían sanos durante todo el experimento y no mostraron signos clínicos de enfermedad u otros síntomas potencialmente relacionados con el tratamiento. El examen histológico de las secciones de tejido intestinal reveló una morfología de tejido normal sin hallazgos patológicos perceptibles. Por lo que los datos demostraron la ausencia de lesiones detectables histológicamente y de respuestas inflamatorias. Estos resultados sugieren que la exposición oral a PS-MPLs en las condiciones experimentales elegidas no presenta riesgos agudos relevantes para la salud de los mamíferos (Stock *et al.*, 2019).

Algo interesante es la observación de que al combinar la exposición de microplásticos con nanoplásticos su efecto tóxico es mayor (Liang *et al.* 2021), pero aún la información respecto a los estudios *in vivo* también es limitada, y con algunos resultados científicamente controversiales. En la tabla 2 se muestra una descripción general.

**TABLA 2.** Resumen de la literatura revisada utilizando modelos *in vivo* para estudiar el efecto de los micro y nanoplásticos.

| Referencia  | Estudio y partículas utilizadas   | Clasificación de efectos           |
|---|---|------------------------------------|
| Mahler <i>et al.</i> (2012)   | - Suministración a pollos.<br>- PS: 50 nm<br>- recibieron 2 mg/kg dosis de nanopartículas carboxiladas.   | No tóxicos.                        |
| Resultados:<br>- La exposición oral aguda a PS-NPs interrumpió el transporte de hierro y la exposición crónica causó la remodelación de las vellosidades intestinales.    |   |                                    |
| Lu <i>et al.</i> (2018)   | - Estudio de 5 semanas en ratones.<br>- PS: 0.5 y 50 µm.<br>- 100 y 1000 µg/L (1.456 x 10 <sup>10</sup> partículas por L para 0.5 µm y 1.456 x 10 <sup>4</sup> para 50 µm).<br>- Dieta básica, administración oral con exposición continua. | Tóxicos y no tóxicos, en conjunto. |
| Resultados:<br>- Trastorno del metabolismo hepático y de la microbiota intestinal.<br>- Disminución de la secreción de moco colónico y triglicéridos séricos.             |   |                                    |
| Stock <i>et al.</i> (2019)  | - Alimentación a ratones por 28 días.<br>- Mezcla de PS: 1, 4 y 10 µm.<br>- 4.55 x 10 <sup>7</sup> y 1.49 x 10 <sup>8</sup> partículas, 10 mL por kg por peso corporal.<br>- Sonda oral 3 veces por semana.                                 | No tóxicos.                        |
| Resultados:<br>- Menor captación en las células intestinales.<br>- Sin bioacumulación en diferentes tejidos.<br>- Sin inflamación, estrés oxidativo o efectos tóxicos.    |   |                                    |
| Liang <i>et al.</i> (2021)  | - PS: 50 nm, 500 nm y 5000 nm.<br>- Células epiteliales intestinales de ratón.  | Tóxicos y no tóxicos, en conjunto. |
| Resultados:<br>- PS de 50 nm indujo mayor apoptosis que las de 500 nm. Pero al combinarlos, su efecto fue aún más severo.<br>- Generación de ROS a bajas concentraciones. |   |                                    |

Fuente: Elaboración de los autores.

## Conclusiones

Diversos resultados han mostrado que los MNPLs pueden cruzar la barrera epitelial del sistema digestivo, pero sin ejercer efectos peligrosos aparentes. Hasta ahora, la mayoría de los experimentos se han realizado con poliestireno PS y en la línea celular de adenocarcinoma de colon humano Caco-2 y co-cultivos derivados de la misma, al ser un modelo bien establecido de enterocitos humanos, es destacado su uso en los estudios toxicológicos. Otros polímeros como polipropileno PP, polietileno PE y tereftalato de polietileno PET son el principal material polimérico presente en el medio ambiente, por ello, los autores de estos trabajos documentados sugieren que los MNPLs de estos tipos de polímeros deben considerarse en los estudios futuros con diferentes modelos biológicos. La contaminación de micro y nanoplásticos es un importante problema medioambiental y una posible amenaza para la salud. Si bien, las células intestinales son capaces de internalizar en gran cantidad los MNPLs y sus efectos biológicos detectados no fueron significativos, con todo y eso, la postura de los autores continua en señalar la importancia de realizar evaluaciones, y que el riesgo para la salud de la exposición a partículas micro y nanoplásticas en los seres humanos no debería ser subestimado, pues una de las características de los micro y nanoplásticos es que, gracias a su alta área superficial estos pueden absorber otros contaminantes orgánicos a su superficie y actuar como nanoportadores, esto abriría paso a la propuesta de nuevos experimentos de estudio. Por las características tan variables de los materiales plásticos con respecto a otros, estos pueden diferir en sus efectos toxicológicos, así como su interacción con los medios de cultivo celular para los ensayos *in vitro*, por esa razón, se requiere el desarrollo de modelos de cultivo celular capaces de adaptarse a las propiedades fisicoquímicas de las distintas partículas poliméricas, y de esta forma, obtener una estimación más precisa de los efectos de los MNPLs en los modelos celulares que se estudien.

Sorprendentemente, dada la revisión de literatura, el número de estudios que utilizan células humanas para evaluar los efectos biológicos asociados con la exposición de MNPLs es escaso. Teniendo en cuenta que la ingestión es la vía más importante de exposición a los MNPLs, el uso de células intestinales representa una buena elección.

## Referencias

- Browne, Mark A., Tamara Galloway y Richard Thompson. (2007). Microplastic-an emerging contaminant of potential concern? *Integrated Environmental Assessment and Management*, 3(4): 559-61. <https://doi.org/10.1002/ieam.5630030412>.
- Browne, Mark Anthony, Phillip Crump, Stewart J. Niven, Emma Teuten, Andrew Tonkin, Tamara Galloway y Richard Thompson. (2011). Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. *Environmental Science and Technology*, 45(21): 9175-79. <https://doi.org/10.1021/es201811s>.

- Cole, Matthew y Tamara S. Galloway. (2015). Ingestion of nanoplastics and microplastics by pacific oyster larvae. *Environmental Science and Technology*, 49(24): 14625-32. <https://doi.org/10.1021/acs.est.5b04099>.
- Cole, Matthew, Pennie Lindeque, Elaine Fileman, Claudia Halsband, Rhys Goodhead, Julian Moger y Tamara S. Galloway. (2013). Microplastic ingestion by zooplankton. *Environmental Science and Technology*, 47(12): 6646-55. <https://doi.org/10.1021/es400663f>.
- Colton, John B., Frederick D. Knapp y Bruce R. Burns. (1974). plastic particles in surface waters of the northwestern Atlantic. *Science*. <https://doi.org/10.1126/science.185.4150.491>.
- Cortés, Constanza, Josefa Domenech, Marcela Salazar, Susana Pastor, Ricard Marcos y Alba Hernández. (2019). Nanoplastics as a potential environmental health factor: effects of polystyrene nanoparticles on human intestinal epithelial Caco-2 cells. *Environmental Science: Nano*, 7(1): 272-85. <https://doi.org/10.1039/c9en00523d>.
- Domenech, Josefa, Alba Hernández, Laura Rubio, Ricard Marcos y Constanza Cortés. (2020). Interactions of polystyrene nanoplastics with *in vitro* models of the human intestinal barrier. *Archives of Toxicology*, 94 (9): 2997-3012. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02805-3>.
- Fendall, Lisa S. y Mary A. Sewell. (2009). Contributing to marine pollution by washing your face: microplastics in facial cleansers. *Marine Pollution Bulletin* 58(8): 1225-28. <https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2009.04.025>.
- Fischer, Hans C. and Warren C. W. Chan. (2007). Nanotoxicity: the growing need for *in vivo* study. *Current Opinion in Biotechnology*. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2007.11.008>.
- Inkielewicz-Stepniak, Iwona, Lidia Tajber, Gavin Behan, Hongzhou Zhang, Marek W. Radomski, Carlos Medina y Maria J. Santos-Martinez. (2018). The role of mucin in the toxicological impact of polystyrene nanoparticles. *Materials*, 11(5). <https://doi.org/10.3390/ma11050724>.
- Jani, Praful, Gavin W. Halbert, John Langridge y Alexander T. Florence. (1990). Nanoparticle uptake by the rat gastrointestinal mucosa: quantitation and particle size dependency. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 42(12): 821-26. <https://doi.org/10.1111/j.2042-7158.1990.tb07033.x>.
- Junqueira, Luiz Carlos Uchoa y José Carneiro. (2015). Aparato digestivo. En Médica Panamericana (ed.), *Histología básica. Texto & atlas*, 12a. ed., 367-84.
- Kierszenbaum, Abraham L. y Laura T. Tres. (2012). *Histología y biología celular. Introducción a la anatomía patológica*, 3a ed. Madrid: Todos tus libros.
- Koelmans, Albert A., Ellen Besseling y Won J. Shim. (2015). Nanoplastics in the aquatic environment. critical review. En *Marine Anthropogenic Litter*. Springer, Cham., 325-40. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3\\_12](https://doi.org/10.1007/978-3-319-16510-3_12).
- Kosuth, Mary, Sherri A. Mason y Elizabeth V. Wattenberg. (2018). Anthropogenic contamination of tap water, beer, and sea salt. *PLoS ONE*, 13(4). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0194970>.
- Lambert, Scott, Chris Sinclair y Alistair Boxall. (2014). Occurrence, degradation, and

- effect of polymer-based materials in the environment. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology*, 227: 1-53. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-01327-5\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-319-01327-5_1).
- Lehner, Roman, Christoph Weder, Alke Petri-Fink y Barbara Rothen-Rutishauser. (2019). Emergence of nanoplastic in the environment and possible impact on human health. *Environmental Science and Technology*. American Chemical Society. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b05512>.
- Lehner, Roman, Wendel Wohlleben, Dedy Septiadi, Robert Landsiedel, Alke Petri-Fink y Barbara Rothen-Rutishauser. (2020). A novel 3D intestine barrier model to study the immune response upon exposure to microplastics. *Archives of Toxicology*, 94(7): 2463-79. <https://doi.org/10.1007/s00204-020-02750-1>.
- Li, Jiana, Dongqi Yang, Lan Li, Khalida Jabeen y Huahong Shi. (2015). Microplastics in commercial bivalves from China. *Environmental Pollution*, 207(diciembre): 190-95. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2015.09.018>.
- Li, W. C., H. F. Tse y L. Fok. (2016). Plastic waste in the marine environment: a review of sources, occurrence and effects. *Science of the Total Environment*. Sci Total Environ. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.05.084>.
- Liang, Boxuan, Yizhou Zhong, Yuji Huang, Xi Lin, Jun Liu, Li Lin, Manjiang Hu *et al.* (2021). Underestimated health risks: polystyrene micro- and nanoplastics jointly induce intestinal barrier dysfunction by ROS-mediated epithelial cell apoptosis. *Particle and Fibre Toxicology*, 18(1): 1-19. <https://doi.org/10.1186/s12989-021-00414-1>.
- Lu, Liang, Zhiqin Wan, Ting Luo, Zhengwei Fu y Yuanxiang Jin. (2018). Polystyrene microplastics induce gut microbiota dysbiosis and hepatic lipid metabolism disorder in mice. *Science of the Total Environment*, 631-632(agosto): 449-58. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.03.051>.
- Magri, Davide, Paola Sánchez-Moreno, Gianvito Caputo, Francesca Gatto, Marina Veronesi, Giuseppe Bardi, Tiziano Catelani *et al.* (2018). Laser ablation as a versatile tool to mimic polyethylene terephthalate nanoplastic pollutants: characterization and toxicology assessment. *ACS Nano*, 12(8): 7690-7700. <https://doi.org/10.1021/acsnano.8b01331>.
- Mahler, Gretchen J., Mandy B. Esch, Elad Tako, Teresa L. Southard, Shivaun D. Archer, Raymond P. Glahn y Michael L. Shuler. (2012). Oral exposure to polystyrene nanoparticles affects iron absorption. *Nature Nanotechnology*, 7(4): 264-71. <https://doi.org/10.1038/nnano.2012.3>.
- Martínez González, V., Guerrero Rivera, S., Mora-Longa, G., Klagges Ormeño, C., Moreno Araneda, M., Miranda Montenegro, M., Palacios Peñaranda, M., Chaurra Arboleda, A., Purca Cuicapusa, S., Robinson-Duggon, J. y Vega-Baudrit, J. (2022). La problemática de los micro y nanoplasticos en las costas americanas del Océano Pacífico. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 16(30): 1e-34e. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2023.30.69783>.
- Megías, M., P. Molist y M. A. Pombal. (2019). *Tipos celulares. Enterocito. Atlas de histología vegetal y animal*. 2019. <http://mmegias.webs.uvigo.es/8-tipos-celulares/enterocito.php>.

- Murty, B. S., P. Shankar, Baldev Raj, B. B. Rath y James Murday. (2013). Unique properties of nanomaterials. En *Textbook of nanoscience and nanotechnology*, 29-65.
- Nowack, Bernd y Thomas D. Bucheli. (2007). Occurrence, behavior and effects of nanoparticles in the environment. *Environmental Pollution*. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2007.06.006>.
- Oberdörster, Eva, Shiqian Zhu, T. Michelle Blickley, Patricia McClellan-Green y Mary L. Haasch. (2006). Ecotoxicology of carbon-based engineered nanoparticles: effects of fullerene (C60) on aquatic organisms. *Carbon*, 44(6): 1112-20. <https://doi.org/10.1016/J.CARBON.2005.11.008>.
- Official Journal of the European Union. COMMISSION RECOMMENDATION. of 18 October. (2011). On the definition of nanomaterial. *Official Journal of the European Union*, 2011(54): 38.
- Paul, Maxi B., Valerie Stock, Julia Cara-Carmona, Elisa Lisicki, Sofiya Shopova, Valérie Fessard, Albert Braeuning, Holger Sieg y Linda Böhmert. (2020). Micro and nanoplastics-current state of knowledge with the focus on oral uptake and toxicity. *Nanoscale Advances*. RSC. <https://doi.org/10.1039/d0na00539h>.
- Pitt, Jordan A., Jordan S. Kozal, Nishad Jayasundara, Andrey Massarsky, Rafael Trevisan, Nick Geitner, Mark Wiesner, Edward D. Levin y Richard T. Di Giulio. (2018). Uptake, tissue distribution, and toxicity of polystyrene nanoparticles in developing zebrafish (*Danio Rerio*). *Aquatic Toxicology*, 194(enero): 185-94. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2017.11.017>.
- Science Advisory Board to the Commissioner of the, and New Jersey Department of Environmental Protection. (2015). *Human health impacts of microplastics and nanoplastics*. chromeextension://efaidnbmnnnibpajpcglclefindmkaj/<https://dep.nj.gov/wp-content/uploads/sab/sab-microplastics-nanoplastics.pdf>.
- Stock, Valerie, Linda Böhmert, Elisa Lisicki, Rafael Block, Julia Cara-Carmona, Laura Kim Pack, Regina Selb *et al.* (2019). Uptake and effects of orally ingested polystyrene microplastic particles *in vitro* and *in vivo*. *Archives of Toxicology*, 93(7): 1817-33. <https://doi.org/10.1007/s00204-019-02478-7>.
- Teles, Mariana, Joan Carles Balasch, Miguel Oliveira, Jordi Sardans y Josep Peñuelas. (2020). Insights into nanoplastics effects on human health. *Science Bulletin*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.scib.2020.08.003>.
- Wagner, Martin y Scott Lambert. 2018. *Freshwater microplastics – The handbook of environmental chemistry* 58. Springer Nature. <https://doi.org/10.1007/978-3-319-61615-5>.
- Walczak, Agata P., Evelien Kramer, Peter J. M. Hendriksen, Richard Helsdingen, Meike Van Der Zande, Ivonne M. C. M. Rietjens y Hans Bouwmeester. (2015). *In vitro* gastrointestinal digestion increases the translocation of polystyrene nanoparticles in an *in vitro* intestinal co-culture model. *Nanotoxicology*, 9(7): 886-94. <https://doi.org/10.3109/17435390.2014.988664>.
- Walczak, Agata P., Evelien Kramer, Peter J. M. Hendriksen, Peter Tromp, Johannes P. F. G. Helsper, Meike Van Der Zande, Ivonne M. C. M. Rietjens y Hans Bouwmeester. (2014). Translocation of differently sized and charged polystyrene

- nanoparticles in *in vitro* intestinal cell models of increasing complexity. *Nanotoxicology*, 9(4): 453-61. <https://doi.org/10.3109/17435390.2014.944599>.
- Wu, Bing, Xiaomei Wu, Su Liu, Zhizhi Wang y Ling Chen. (2019). Size-dependent effects of polystyrene microplastics on cytotoxicity and efflux pump inhibition in human Caco-2 cells. *Chemosphere*, 221(abril): 333-41. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.056>.

# Los liposomas en nanomedicina: del concepto a sus aplicaciones clínicas y tendencias actuales en investigación<sup>◇</sup>

## Liposomes in nanomedicine: from concept to current clinical applications and research trends

Ana Saret Ortega-Galindo,\* Lucero Díaz-Peralta,\*\* Arturo Galván-Hernández,\*\* Iván Ortega-Blake,\*\* Alejandro Pérez-Riascos,\*\*\* Yareli Rojas-Aguirre\*,<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** Liposomes are biocompatible and biodegradable artificial vesicles with a two-compartment structure that can encapsulate both hydrophilic and lipophilic molecules. Liposomes have been extensively studied over the last twenty years, leading to the development of several promising technologies including Stealth® and DepoFoam® liposomes. Also targeted, physico-chemical stimuli-responsive, and liposomal-based combined therapies have evolved. Liposomes are the first nanomedicines to reach the clinical use. Currently, up to 20 different liposomal technologies are commercially available, and approximately 18 liposomal formulations are in clinical trials. While most commercial liposomes are used to treat cancer, there are some liposomal developments that have shown promising results for treating other diseases. In this review, we present an overview of the basic concepts of liposomes, breakthroughs in liposomal-based nanoformulations in clinical trials and currently marketed liposomal technologies. Furthermore, using data science tools, we present a comprehensive analysis of current research in liposomes. Undoubtedly, liposomes will continue to be at the forefront of nanotechnologies applied for the benefit of human health.

**KEYWORDS:** liposomes, liposomal technologies, cancer, targeting, stimuli-responsive, clinical trials.

**RESUMEN:** Los liposomas son vesículas artificiales biocompatibles y biodegradables que poseen una estructura con dos compartimentos capaces de albergar moléculas hidrofílicas y lipofílicas, respectivamente. Los liposomas han sido ampliamente investigados durante los últimos veinte años como sistemas de liberación de fármacos, lo cual ha resultado en el desarrollo de diversas tecnologías como liposomas Stealth® y DepoFoam®. Asimismo, han surgido liposomas funcionalizados en su superficie con biomacromoléculas que pueden reconocer blancos biológicos específicos, dando lugar a potenciales terapias de alta selectividad. De igual manera, liposomas

Recibido: 17 de enero, 2023.

Aceptado: 12 de abril, 2023.

Publicado: 14 de mayo, 2023.

<sup>◇</sup> Los autores agradecen al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (Conacyt) (beca Conacyt de maestría con No. CVU: 1146548); al Programa de Apoyo a Proyectos de Investigación e Innovación Tecnológica (DGAPA-PAPIIT, UNAM): PAPIIT-IA200821 y PAPIIT-100920; y al Proyecto Conacyt-Fordecyt-Pronaces-74884.

\* Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Investigaciones en Materiales, Departamento de Polímeros, SupraMatLab. CDMX, México.

\*\* Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Ciencias Físicas. Cuernavaca, Morelos, México.

\*\*\* Universidad Nacional Autónoma de México, Instituto de Física, Departamento de Sistemas Complejos. CDMX, México.

<sup>†</sup> Autora de correspondencia: yareli.rojas@materiales.unam.mx



que responden a estímulos fisicoquímicos o biológicos y en los que la liberación de un fármaco estaría controlada en función de dicho estímulo. O bien, liposomas que encapsulan 2 o más fármacos, resultando así en terapias de combinación. Los liposomas son las primeras nanomedicinas en alcanzar uso clínico. Actualmente, existen al menos 20 tecnologías liposomales para tratar diversos padecimientos y alrededor de 18 están en fases clínicas de evaluación. La mayoría de liposomas comerciales se utilizan para tratar diferentes tipos de cáncer. Sin embargo, varias formulaciones liposomales para otros padecimientos han mostrado resultados prometedores. En este trabajo revisamos los conceptos básicos sobre liposomas, discutimos los casos de éxito y revisamos aquellas nanoformulaciones que se encuentran en estudios clínicos. Por último, por medio de ciencia de datos, presentamos el panorama actual de la investigación de liposomas en el área de la nanomedicina. Sin duda, los liposomas están y seguirán estando a la vanguardia en el traslado de nanotecnologías en beneficio de la salud de la población.

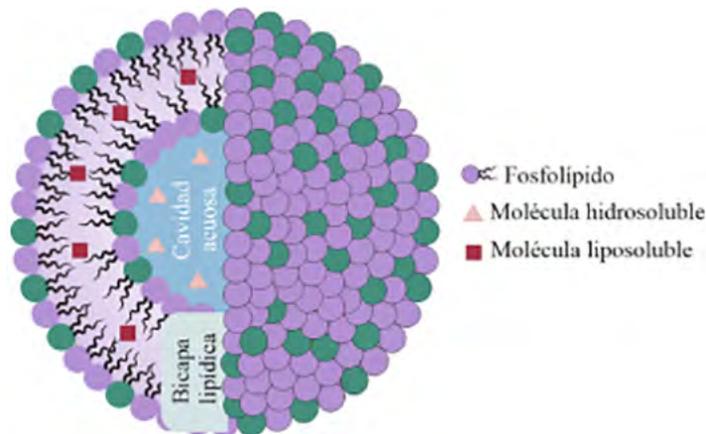
**PALABRAS CLAVE:** liposomas, tecnologías liposomales, cáncer, *targeting*, estímulo-sensible, ensayos clínicos.

## Liposomas: estructura y composición<sup>1</sup>

Los liposomas son pequeñas vesículas artificiales conformadas por una bicapa de fosfolípidos que rodean un núcleo acuoso (figura 1). Estas vesículas varían en tamaño, composición, carga eléctrica y lamellaridad (unilamelares, multilamelares y multivesiculares) (Nsairat, 2022; Sivan, 2018).

Los liposomas pueden encapsular moléculas hidrofílicas en su cavidad acuosa, mientras que en su bicapa lipídica pueden albergar moléculas hidrofóbicas. Estas características estructurales han determinado su enorme relevancia en distintas disciplinas como la biología (dada su similitud con la

**Figura 1.** Representación esquemática de un liposoma unilamelar.



Fuente: Elaboración de los autores.

<sup>1</sup> Las abreviaturas utilizadas a lo largo de este artículo, se encuentran al final del mismo, antes de las referencias.

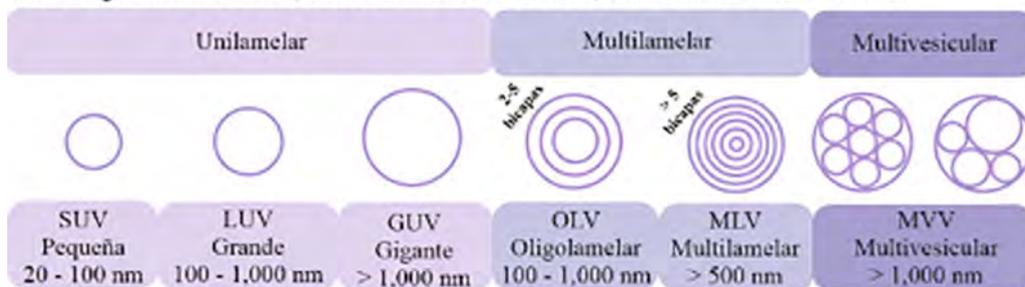
membrana celular), la medicina, las ciencias farmacéuticas, cosméticas y dermocosméticas (Nakhaei, 2021).

Por su habilidad de encapsular moléculas de diversa naturaleza, los liposomas pueden funcionar como sistemas de liberación de fármacos. En este contexto, los liposomas pueden modificar de manera aparente aspectos como la solubilidad o estabilidad de un fármaco, lo cual favorecerá el comportamiento de dicho fármaco en un ambiente biológico. Además, los liposomas son biocompatibles y biodegradables (Sercombe, 2015).

Los liposomas se clasifican en función de su tamaño (que va desde la nanoescala hasta la microescala), y del número de sus bicapas o lamelas (figura 2) (Liu, 2022).

**Figura 2.** Clasificación de liposomas por tamaño y lamellaridad.

**SUV:** small unilamellar vesicles, **LUV:** large unilamellar vesicles, **GUV:** giant unilamellar vesicles, **OLV:** oligolamellar vesicles, **MLV:** multilamellar vesicles, **MVV:** multivesicular vesicles.



Fuente: Elaboración de los autores.

Los fosfolípidos que forman los liposomas están constituidos por un extremo hidrofílico (cabeza) y un extremo hidrófobo (cola). La cabeza determina la carga superficial del liposoma (neutra, catiónica o aniónica) y generalmente está compuesta de colina, fosfato y glicerol. Por su parte, la cola hidrofóbica está conformada por una o dos cadenas de ácidos grasos de 14 - 18 carbonos (Nsairat, 2022). Los fosfolípidos pueden ser de origen natural (obtenidos de la soya o la yema de huevo) o sintético. Los fosfolípidos más comúnmente usados en la preparación de liposomas se muestran en la tabla 1 (Van Hoogevest, 2014).

Además de los fosfolípidos, los liposomas también pueden contener esteroles, siendo el colesterol el más común. El colesterol brinda estabilidad física y biológica ya que puede modificar la viscosidad o la rigidez de la bicapa a la vez que reduce su permeabilidad en presencia de fluidos biológicos como la sangre. En ausencia de colesterol, la bicapa podría sufrir una rotura (Nakhaei, 2021; Kawakami, 2017).

**Tabla 1.** Fosfolípidos naturales y sintéticos más comunes en la preparación de liposomas.

| Naturales                  | Sintéticos                           |
|----------------------------|--------------------------------------|
| Fosfatidilcolina (PC)      | Dimiristoilfosfatidilcolina (DMPC)   |
| Fosfatidiletanolamina (PE) | Dioleoilfosfatidilcolina (DOPC)      |
| Fosfatidilserina (PS)      | Distearoilfosfatidilcolina (DSPC)    |
| Fosfatidilglicerol (PG)    | Dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG) |
| Fosfatidilinositol (PI)    | Diestearoilfosfatidilglicerol (DSPG) |
| Ácido fosfatídico (PA)     |                                      |

Fuente: Adaptado de Van-Hoogevest (2014).

## Liposomas como sistemas de liberación de fármacos

Los liposomas se pueden utilizar para encapsular fármacos hidrofílicos (en el núcleo acuoso), o hidrofóbicos (en la bicapa). El encapsulamiento protege al fármaco de la degradación. En caso de que el fármaco sea hidrofóbico, el encapsulamiento podría ayudar a superar las limitantes fisicoquímicas, biológicas y farmacéuticas asociadas con su baja solubilidad. Además, los liposomas pueden optimizar los parámetros farmacocinéticos del fármaco encapsulado, al prolongar su tiempo de vida media, controlar su liberación en función del tiempo y disminuir su toxicidad (Liu, 2022). Así, el diseño de un liposoma como sistema de liberación de fármacos (SLF) debe considerar lo siguiente:

### Tamaño

El tamaño determinará la biodistribución y la velocidad de eliminación del liposoma. Si su diámetro es menor a 10 nm se eliminará por vía renal y si es mayor a 200 nm será retenido mayoritariamente por los hepatocitos, lo cual afectará la distribución del liposoma (Taléns, 2022).

### Temperatura de transición de fase

La temperatura de transición de fase ( $T_c$ ) es la temperatura a la cual los fosfolípidos cambian de estado físico. Por debajo de la  $T_c$ , los fosfolípidos están ordenados en una fase tipo gel y por encima de ella, se encuentran en una fase líquida. Los fosfolípidos con una  $T_c > 37^\circ\text{C}$  forman liposomas de una bicapa poco fluida, y, por lo tanto, menos permeables a temperatura fisiológica. Mientras que fosfolípidos con una  $T_c < 37^\circ\text{C}$  forman liposomas que liberan el fármaco encapsulado en la fase líquida de forma más rápida (Sharma, 1997). Así, la  $T_c$  determinará la fluidez de la bicapa, la liberación del fármaco *in vivo* y la estabilidad durante el almacenamiento.

Adicionalmente, la  $T_c$  se puede modificar con la adición de esteroides (Kawakami, 2017).

## Interacciones con proteínas plasmáticas

Después de su administración, los liposomas que llegan a circulación sistémica pueden interactuar con las proteínas plasmáticas, lípidos y metabolitos por medio de interacciones electrostáticas, de Van der Waals e hidrofóbicas, resultando así en la formación de una corona proteica. A nivel biológico, la corona determina la interacción con células del sistema inmune; modifica o impide la salida del fármaco del liposoma; o, por el contrario, deforma la bicapa provocando la fuga del fármaco; limita las interacciones del liposoma con su blanco terapéutico; e induce efectos inmunogénicos debido a la pérdida parcial de la estructura secundaria de las proteínas de la corona (Marichal, 2020; Cai, 2019). Dado el impacto de la corona en el desempeño biológico del liposoma, es fundamental evaluar este aspecto durante los estudios *in vitro/in vivo* y definir el tipo de recubrimiento que pueda mitigar este fenómeno.

Dada la versatilidad y potencial de los liposomas como sistemas de liberación de fármacos (SLF), se han desarrollado diversas tecnologías para aumentar su estabilidad coloidal, hacerlos responsivos a algún estímulo fisicoquímico endógeno o exógeno; o bien, para dirigirlos a un blanco biológico específico.

## Tecnologías liposomales

### Liposomas convencionales

Son liposomas simples (figura 3a), los cuales, después de su administración, suelen ser eliminados rápidamente de circulación sistémica al ser fagocitados por los macrófagos del sistema retículo endotelial (RES) (Sercombe, 2015).

### Liposomas Stealth®

Los liposomas Stealth® (sigilosos) tienen polietilenglicol (PEG) enlazado covalentemente a las cabezas polares de los fosfolípidos (figura 3b). También se conocen como liposomas pegilados. La pegilación de la superficie del liposoma mejora su estabilidad coloidal. Reduce la interacción con proteínas plasmáticas y lipoproteínas. Además, lo hace invisible frente a RES, y, por lo tanto, optimiza la farmacocinética al prolongar el tiempo de vida media del fármaco en circulación sistémica (Čeh, 1997; Nsairat, 2022).

Los fosfolípidos más comunes en esta tecnología son: DSPE, DPPE y DOPE. El peso molecular del PEG suele ser de 2000 Da (Nosova, 2019).

### Liposomas iónicos (catiónicos o aniónicos)

La carga de la superficie del liposoma puede ser positiva o negativa y se puede modular dependiendo del fosfolípido a utilizar. La carga superficial del liposoma genera un campo eléctrico que incrementa el espesor de la bicapa lipídica pudiendo así aumentar la cantidad de fármaco liposoluble encapsulado (figura 3c).

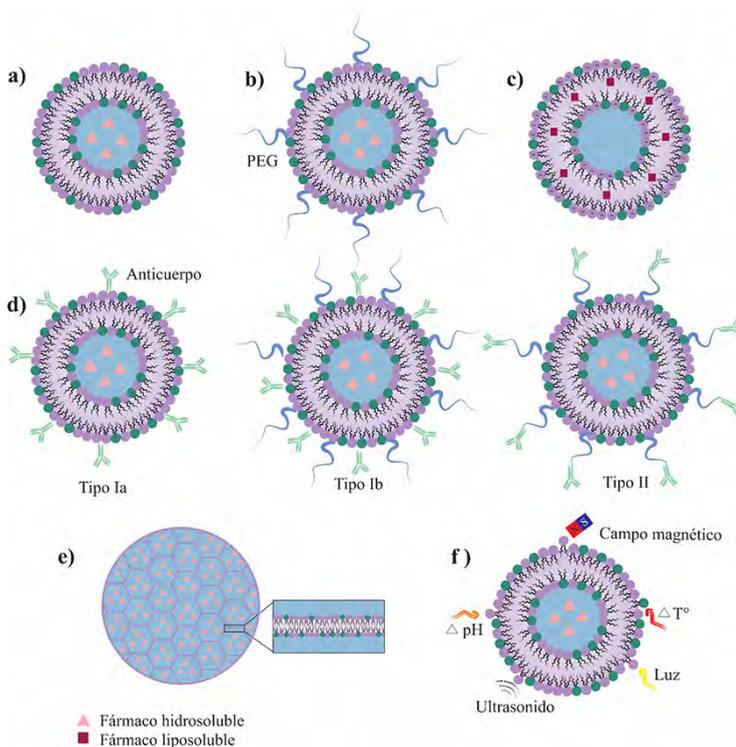
### Inmunoliposomas

Son liposomas con anticuerpos monoclonales (mAb) o fragmentos de anticuerpos (Fab o scFv) acoplados a su superficie (NCI 2019). Pueden ser liposomas convencionales (tipo Ia), pegilados (tipo Ib) y (tipo II) pegilados con anticuerpos acoplados en los extremos distales de las cadenas de PEG (figura 3d). El objetivo del inmunoliposoma es dirigirse a un blanco terapéutico, de manera específica, por medio de la unión del liposoma a su receptor en la célula blanco. También se puede favorecer la internalización celular mediada por receptores de superficie y promover la acumulación del fármaco dentro de la célula, lo cual es altamente deseable si se trata de quimioterapéuticos (Kontermann, 2011).

### DepoFoam®

Esta tecnología encapsula fármacos en una plataforma liposomal de tipo MVV. Estas estructuras se componen de un panel de numerosas cámaras acuosas de diferente tamaño, delimitadas por una única bicapa lipídica que, físicamente,

**Figura 3.** Esquema de liposoma: a) convencional; b) Stealth®; c) iónico; d) inmunoliposoma; e) DepoFoam®, y, f) estímulo-sensible.



Fuente: Elaboración de los autores.

se asemejan a burbujas de jabón (figura 3e). Esta tecnología puede proporcionar mayor estabilidad, encapsular fármacos de forma más eficiente y asegurar una liberación sostenida de fármacos en comparación con los liposomas unilamelares (Angst, 2006).

### Liposomas estímulo-sensibles

Son liposomas que incorporan materiales que responden a estímulos físicos (térmico, óptico, magnético) o químicos (pH, redox, enzimas) para promover o desencadenar la liberación de fármaco en respuesta a dichos estímulos y controlar así la liberación de un fármaco de manera temporal. Así, los liposomas funcionalizados con biomoléculas en su superficie para reconocer y dirigirse al blanco terapéutico, y que además incorporan materiales estímulo-sensibles, han resultado sumamente atractivos como potenciales terapias contra el cáncer (figura 3f) (Lee, 2017).

## Tecnologías liposomales en uso clínico

Los liposomas son las primeras nanomedicinas aprobadas para uso clínico utilizadas con éxito desde hace dos décadas (tabla 2) como terapias antifúngicas, antiinflamatorias, anticancerígenas e, incluso, terapias génicas (Bulbake, 2017).

**Tabla 2.** Tecnologías liposomales en uso clínico.

| Tec. Lip. (año)         | Fármaco  | Adm.     | Indicación   |
|-------------------------|--|----------|--|
| Doxil® (1995)           | Doxorrubicina  | IV       | Cáncer de ovario, mama, sarcoma de Kaposi.             |
| DaunoXome® (1996)       | Daunorrubicina   | IV       | Sarcoma de Kaposi.                                     |
| Ambisome® (1997)        | Anfotericina B   | IV       | Infecciones fúngicas invasivas graves.                 |
| Inflexal® (1997)        | Hemaglutinina inactivada de las cepas A y B del virus de la influenza. | IM       | Influenza.   |
| DepoCyt® (1999 - 2017)* | Citarabina   | IT       | Meningitis neoplásica.                                 |
| Myocet® (2000)          | Doxorrubicina + ciclofosfamida   | IV       | Cáncer de mama y ovario metastásico.                   |
| Visudyne® (2000)        | Verteporfina   | IV       | Neovascularización coroidea.                           |
| Mepact® (2004)          | Mifamurtide  | IV       | Osteosarcoma de alto grado, resecable, no metastásico. |
| DepoDur™ (2004)         | Sulfato de morfina   | Epidural | Tratamiento para el dolor.                             |
| Epaxal® (2006)          | Virus - hepatitis A inactivado (cepa RGSB).                            | IM       | Hepatitis A.   |
| Exparel® (2011)         | Bupivacaína  | IV       | Tratamiento para el dolor.                             |
| Marqibo® (2012 - 2021)* | Vincristina  | IV       | Linfoma no Hodgkin y leucemia linfoblástica aguda.     |

Continúa ►

**Tabla 2.** Tecnologías liposomales en uso clínico (continuación).

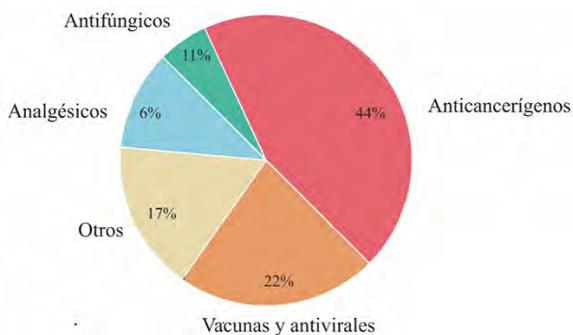
| Tec. Lip. (año)                    | Fármaco   | Adm. | Indicación  |
|------------------------------------|---|------|---|
| Onivyde™ (2015)                    | Irinotecán + fluorouracilo y leucovorina.   | IV   | Adenocarcinoma de páncreas metastásico.                       |
| Mosquirix (2015)                   | Proteínas derivadas de <i>Plasmodium falciparum</i> y proteína S de la envoltura del virus de la hepatitis B. | IV   | Malaria.  |
| Vyxeos™ (2017)                     | Daurorrubicina y citarabina.  | IV   | Leucemia mieloide aguda.                                      |
| Shingrix (2018)                    | Glicoproteína E recombinante del virus de la varicela zóster.   | IM   | Herpes zóster y neuralgia post-herpética.                     |
| Arikayce (2018)                    | Sulfato de amikacina.   | INH  | Enfermedad pulmonar.  |
| Moderna y Pfizer - BioNTech (2021) | Vacunas de ARNm de respuesta inmunitaria.   | IV   | COVID-19.   |
| Zolsett® (2022)                    | Doxorrubicina   | IV   | Cáncer de mama, ovario, mieloma múltiple y sarcoma de Kaposi. |

Nota: Esta lista incluye formas liposomales aprobadas por la FDA y la EMA.

Fuente: Adaptado de Taléns (2022), Liu (2022), Beltrán (2019), Bulbake (2017), EMA (2015).

Hemos representado gráficamente la información de la tabla 2 para facilitar la identificación de las áreas de aplicación de los liposomas siendo evidente el predominio de las quimioterapias (figura 4).

**Figura 4.** Áreas terapéuticas con tecnologías liposomales aprobadas clínicamente. Otros (sistema nervioso, ocular y respiratorio).



Fuente: Elaboración de los autores.

## Liposomas en cáncer

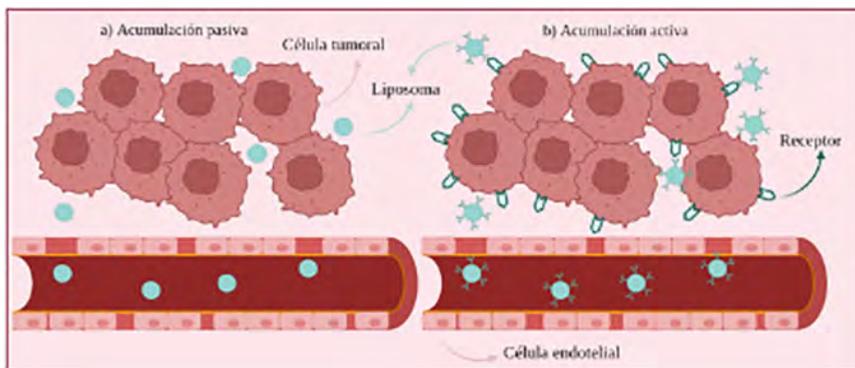
El cáncer está entre los primeros cinco lugares de causas de mortalidad en México y a nivel mundial (INEGI, 2022; WHO, 2022). Se sabe que el cáncer se desarrolla por una proliferación celular descontrolada activada por vías de

señalización y falta de apoptosis (muerte celular). Inicia en un sitio localizado, pero tiende a propagarse a diferentes partes del cuerpo (metástasis).

En el cáncer, el microambiente del tejido donde se desarrolla el tumor suele ser anormal. Hay ausencia de vasos linfáticos funcionales e hipoxia. El pH es más ácido que en el resto del cuerpo y hay sobreexpresión de algunas enzimas. Además, se forman vasos sanguíneos inmaduros, discontinuos y fenestrados de manera rápida y descontrolada, lo cual se conoce como efecto de permeabilidad y retención aumentada (EPR, por sus siglas en inglés) (Taléns, 2022). Las fenestraciones rondan entre 10-800 nm. Por lo tanto, si se tienen liposomas en ese rango de tamaño, se favorecerá su acumulación en el tejido tumoral (acumulación pasiva) (Hu, 2022), al mismo tiempo que son retenidos debido a la deficiencia del sistema linfático. Se considera que liposomas entre 100 y 200 nm se acumulan preferentemente en el tejido tumoral por el efecto EPR (Taléns, 2022).

Como las células tumorales sobreexpresan algunos receptores de membrana que promueven su crecimiento desenfrenado, la superficie de los nanoliposomas se puede funcionalizar con ligandos que reconozcan dichos receptores para dar paso a lo que se conoce como acumulación activa (selectiva o *targeted*) que, además, podría estar favorecida por la acumulación pasiva, mediada por el tamaño nanométrico del liposoma (figura 5) (Mahato, 2017).

**Figura 5.** Representación de la acumulación: a) pasiva, y b) activa.



Fuente: Elaboración de los autores.

Por lo tanto, liposomas en los que por su tamaño se favorezca la acumulación pasiva, con superficies funcionalizadas para que reconozcan una célula o tejido en particular y en los que se controle la liberación del fármaco por medio de un estímulo físico o químico (liposomas inteligentes) son las nanoplataformas de liberación de fármacos que más expectativas han generado en el desarrollo de terapias novedosas contra el cáncer.

## Tecnologías liposomales como terapias contra el cáncer

Los liposomas son las primeras nanomedicinas aprobadas para terapias contra el cáncer. De un total de 20 formulaciones liposomales aprobadas para uso clínico (tabla 2), 9 están indicadas para dicho padecimiento. De estas 9 formulaciones, 5 de ellas (Doxil<sup>®</sup>, Myocet<sup>®</sup>, Zolsketil<sup>®</sup>, DaunoXome<sup>®</sup> y Vyxeos<sup>™</sup>) contienen doxorubicina o daunorrubicina, que son derivados de antraciclinas. Las antraciclinas son fármacos muy eficaces como quimioterapéuticos, pero con uso limitado debido a su cardiotoxicidad y una resistencia espontánea o adquirida al tratamiento (Aubel, 1984). A continuación, describimos las tecnologías liposomales utilizadas en terapias contra el cáncer.

### Doxil<sup>®</sup>

Doxil<sup>®</sup> fue la primera formulación liposomal aprobada para el tratamiento de algunos tipos de cáncer. Consiste en liposomas Stealth<sup>®</sup>, tipo SUV, de 100 nm de diámetro, compuestos de HSPC, MPEG2000-DSPE y colesterol. Encapsula doxorubicina en la cavidad acuosa. Se utiliza para el tratamiento del cáncer de ovario avanzado y sarcoma de Kaposi asociado con el VIH. Los comienzos de Doxil<sup>®</sup> datan de la década de los años sesenta del siglo XX, con varios intentos fallidos, y que actualmente han sido un pilar fundamental en el desarrollo de tecnologías liposomales, hoy en día exitosos (tabla 3). El artículo *Doxil<sup>®</sup> – The first FDA-approved nano-drug: Lessons learned* es una excelente revisión sobre la historia del desarrollo de Doxil<sup>®</sup> (Barenholz, 2012).

**Tabla 3.** Requisitos y soluciones de la formulación liposomal de Doxil<sup>®</sup>.

| Requisitos   | Solución  |
|--|---|
| Prolongar tiempo en circulación sanguínea.                     | Modificar la formulación liposomal usando HSPC (fosfolípido de alta $T_c$ ). Optimizar la proporción de colesterol en la bicapa lipídica aumentando su rigidez a 37 °C (temperatura corporal). Pegilación (liposoma Stealth <sup>®</sup> ). |
| Carga significativa y estable de fármaco en la cavidad acuosa. | Carga remota/activa, mediante un gradiente transmembranal de sulfato de amonio, logrando un porcentaje de encapsulamiento del 90%.  |
| Extravasación en tejido tumoral.                               | Liposomas tipo SUV para favorecer EPR.  |

Fuente: Barenholz (2012).

Doxil<sup>®</sup> resultó más eficaz que la doxorubicina libre, logró mejorar el perfil toxicológico de la doxorubicina y mejoró sus características farmacocinéticas debido a su tamaño, pegilación y estabilidad de bicapa (Gabizon, 1994).

### Myocet<sup>®</sup>

Son liposomas MLVs de 190 nm de diámetro, compuestos de EPC y colesterol. Encapsulan doxorubicina y emplean la técnica de carga remota, con eficiencias

de encapsulamiento del 99%. Se utiliza en combinación con ciclofosfamida como tratamiento de primera línea en pacientes con cáncer de mama. La lógica detrás de su diseño es similar a Doxil® (con el objetivo de mejorar el perfil de seguridad de la doxorubicina y mantener su eficacia antitumoral) sin embargo, Myocet® es un sistema liposomal no pegilado por lo cual, libera más del 90% del fármaco durante las primeras 24 horas posteriores a su administración (Doxil® libera menos del 10 % de su doxorubicina en el mismo periodo de tiempo). En ausencia de PEG, los liposomas son visibles ante RES pero al mismo tiempo se reduce la prevalencia de un efecto secundario que parece estar ligado a liposomas Stealth®, conocido como eritrodiesstesia palmar-plantar (Waterhouse, 2001).

### **Daunoxome**

Son liposomas SUVs no pegilados de 45-80 nm de diámetro, compuestos de DSPC y colesterol con daunorrubicina en la cavidad acuosa que se utiliza para el tratamiento del sarcoma de Kaposi asociado al VIH.

DaunoXome ha mostrado tasas de respuesta superiores al 50%. Además, mejora el perfil farmacocinético de daunorrubicina; aumenta su permanencia en circulación sistémica con una liberación sostenida de alrededor de 36 horas. Asimismo, ha mostrado una reducción considerable en la cardiotoxicidad del fármaco (Forssen, 1997).

### **Vyxeos**

Son liposomas LUVs de 110 nm de diámetro, compuestos de DSPC, DSPG y colesterol. Son los primeros liposomas aprobados en terapia dual encapsulando dos fármacos en su cavidad acuosa: citarabina y daunorrubicina. Se utiliza para el tratamiento de leucemia mieloide aguda causada por quimioterapias previas y para mielodisplasias de diagnóstico reciente.

Las ventajas de Vyxeos se basan en la sinergia antitumoral mejorada de sus fármacos, en la reducción de la frecuencia de dosis administradas en comparación con los tratamientos tradicionales, y en el aumento de la tasa de supervivencia de los pacientes (EMA, 2022).

### **Zolsketil**

Son liposomas Stealth®, tipo SUV, de 100 nm de diámetro, conteniendo doxorubicina, compuestos de HSPC, MPEG2000-DSPE y colesterol. Zolsketil demostró ser bioequivalente a Doxil® y está indicado para pacientes con cáncer de mama, mieloma múltiple (en combinación con bortezomib) y sarcoma de Kaposi. De igual manera, los liposomas de Zolsketil pueden permanecer por largo tiempo en circulación sanguínea sin ser detectados por RES y se ha demostrado su acumulación selectiva en comparación con doxorubicina libre (EMA, 2022).

### **DepoCyt™ \* Aprobación retirada en 2017**

Es el primer sistema DepoFoam™ en alcanzar un uso clínico. Son liposomas MVVs de 20,000 nm de diámetro, compuestos de DOPC, DPPG, trioleína y

colesterol conteniendo citarabina en las cavidades acuosas, lo cual permite su liberación sostenida durante 14 días. Este sistema logró una dosificación menos frecuente. Demostró prolongar el tiempo de supervivencia y una mejor calidad de vida de los pacientes respecto a aquellos tratados con citarabina libre (Angst, 2006). En 2017, DepoCyt™ se retiró del mercado debido a problemas de producción a largo plazo no revelados (McDonald, 2017)

### **Mepact®**

Son liposomas MLVs de 2,000-3,500 nm, compuestos de POPC y DOPS. Contienen el principio activo mifamurtida (muramil tripéptido fosfatidiletanolamina, MTP-PE). MTP-PE es un derivado lipofílico fabricado del dipéptido muramilo, componente de las paredes celulares bacterianas. Mepact® tiene como objetivo reducir el desarrollo y recurrencia de las metástasis al usar el MTP-PE como un ligando específico del receptor NOD2 que se encuentra en monocitos y en macrófagos.

Fue la primera inmunoterapia aprobada para el tratamiento de tumores óseos no metastásicos resecables de alto grado en niños, adolescentes y adultos jóvenes, posterior a una resección quirúrgica macroscópica completa. El uso de Mepact® ha demostrado prolongar la supervivencia de los pacientes sin que reaparezca la enfermedad y redujo el riesgo de muerte (EMA 2013).

### **Marqibo® \* Aprobación retirada en 2022**

Son liposomas LUVs de 130-150 nm de diámetro, se componen de SM y colesterol. Contienen sulfato de vincristina en la cavidad acuosa y se usan para tratar leucemia linfoblástica aguda cuando los pacientes no han respondido a terapias antileucémicas anteriores. Marqibo®, con un 95% de vincristina encapsulada, demostró aumentar el tiempo en circulación sistémica del fármaco, a pesar de no estar pegilado. Asimismo, su seguridad y eficacia fueron aceptables (Silverman, 2013). Marqibo® fue aprobado en 2012, bajo las regulaciones de aprobación acelerada de la FDA, a reserva de verificar su beneficio clínico en la etapa de post-comercialización, lo cual no se logró concretar debido a la dificultad de reclutamiento de pacientes, por lo que fue retirado en 2022 (FDA, 2022).

### **Onivyde™**

Son liposomas Stealth® MLVs de 110 nm de diámetro, compuestos por HSPC, MPEG-DSPE y colesterol. Está indicado para el tratamiento de adenocarcinoma de páncreas metastásico que no respondió al tratamiento con gemcitabina. Se prepara con un gradiente de polialquilamida de alto pKa para facilitar la encapsulación de irinotecán. Así, Onivyde™ logra el 90% de encapsulación del fármaco, el cual se libera de manera prolongada. Onivyde™ se utiliza en combinación con leucovorina y fluorouracilo (Bulbake, 2017).

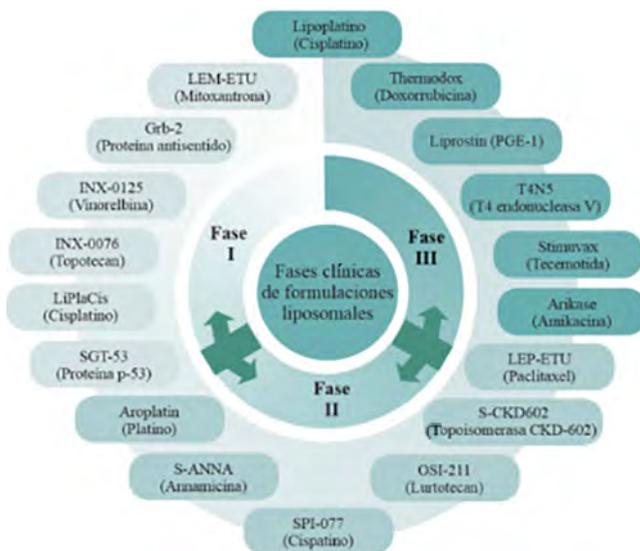
## Liposomas en estudios clínicos

Los liposomas son los nanosistemas que mejor han enfrentado los desafíos de los estudios clínicos, en comparación con el resto de nanomateriales estudiados como posibles SLF.

Los ensayos clínicos son aquellos que se llevan a cabo en humanos para poner a prueba la eficacia de los fármacos y se dividen en 4 fases. En la fase I se administra la formulación a un grupo reducido de pacientes (5-15) a dosis bajas para conocer el potencial de la formulación frente a un padecimiento específico. En las fases II y III se incrementa el número de pacientes (25-100 y varios cientos, respectivamente), y la dosis administrada se aproxima a la ideal. En la fase IV, el número de pacientes aumenta a unos miles. En esta fase se estudia la seguridad del tratamiento a través del tiempo (American Cancer Society, 2020).

Son varios los sistemas liposomales que actualmente se encuentran en las fases clínicas I-III (figura 6).

**Figura 6.** Diagrama de formulaciones liposomales fases clínicas I-III. Las flechas indican que hay flujo dinámico entre las fases.



Fuente: Modificado de Bulbake (2017).

Todos los liposomas en fases I y II contienen fármacos anticancerígenos, mientras que los ensayos de fase III incluyen, además de anticancerígenos, otros activos. A continuación, se describen brevemente los sistemas liposomales en fase III.

### **Arikace™**

Son liposomas GUVs de 200-300 nm de diámetro, compuestos de DPPC y colesterol, conteniendo el fármaco amikacina. Su uso se contempla para tratar infecciones bacterianas al ser administrado por inhalación para liberar el fármaco de manera prolongada en los pulmones. Es la primera tecnología liposomal de administración pulmonar que ha llegado a evaluación clínica (Bulbake, 2017).

### **Stimuvax®**

Es una vacuna liposomal tipo MLV, compuesta por DMPG, DPPC y colesterol. Se diseñó para tratar cánceres que expresan el antígeno mucina 1 asociado con tumores, como el carcinoma de pulmón de células no pequeñas. Desafortunadamente, en 2013 se suspendieron sus ensayos al no aumentar la supervivencia general de los pacientes (Kroemer, 2013).

### **T4N5**

Es una loción liposomal MLV, compuesta por PC, PE, ácido oleico y hemisuccinato de colesterol (CHEMS). El sistema liposomal encapsula la endonucleasa V del bacteriófago T4, enzima de reparación del ADN. Se diseñó para tratar cáncer de piel y xeroderma pigmentoso (enfermedad genética caracterizada por una piel extremadamente sensible a la luz ultravioleta). T4N5 se administra por vía tópica para penetrar en las células dérmicas (Yarosh, 2001).

### **Liprostin™**

Son liposomas MLVs conteniendo prostaglandina E-1 (PGE-1), un vasodilatador, inhibidor plaquetario, agente antiinflamatorio y antitrombótico. Liprostin™ está dirigido a enfermedades vasculares, como reestenosis posterior a la angioplastia. La reestenosis se asocia con el bloqueo de los vasos sanguíneos en el corazón y las piernas luego de un cateterismo (Bulbake, 2017; Liprostin Group, 2020).

### **Lipoplatino™**

Son liposomas LUVs de 110 nm de diámetro, compuestos de DPPG, SPC, MPEG-DSPE y colesterol. Contiene cisplatino y se encuentra en fase I para derrame pleural maligno; en fase II para cáncer de mama y cáncer gástrico. Asimismo, en fase II/III para cáncer de páncreas y ensayos de fase III para cáncer de pulmón de células no pequeñas (Fantini, 2011).

### **ThermoDox®**

Son liposomas Stealth® termosensibles compuestos por DPPC, MSPC, DSPE-PEG-2000 conteniendo doxorubicina. En este caso, la liberación del fármaco será después de un ligero aumento de temperatura. ThermoDox® es el primer y único sistema termosensible que ha alcanzado las fases clínicas. Está dirigido a cáncer primario de hígado (carcinoma hepatocelular) y a cáncer de mama

recurrente de la pared torácica. Se administra por vía intravenosa y el aumento de temperatura ocurre de manera localizada por medio de ablación por radiofrecuencia para generar hipertermia moderada (39.5-42 °C). El aumento de la temperatura modifica la permeabilidad de la bicapa, facilitando la liberación de doxorubicina (Dou, 2017). ThermoDox® es un sistema muy novedoso cuyos resultados de pruebas in vivo fueron prometedores. Entró a fases clínicas de evaluación y los ensayos clínicos avanzaron rápidamente hasta que, en 2013, ya en fase III, se detuvieron, debido a la falta de evidencia sobre su eficacia (Liu, 2022).

El hecho de que Stimuvax® y ThermoDox® hayan fracasado en la fase III nos da una lección importante: los liposomas son sistemas prometedores pero impredecibles, reflejando así la necesidad de investigar a detalle la relación entre su tamaño, composición e interacción con las interfaces biológicas.

## La investigación en liposomas

Para tener un panorama general sobre la investigación que ha predominado en cuanto al diseño y desarrollo de tecnologías liposomales, analizamos un conjunto de 4,340 publicaciones sobre liposomas como SLF, utilizando herramientas de la ciencia de datos.

Para ello, se utilizó la base de datos Scopus, de la cual se obtuvieron las investigaciones publicadas entre 1975-2022, obtenidas bajo los siguientes criterios de búsqueda:

- Palabras clave: se seleccionaron artículos que tuvieran las palabras *liposome*, *drug* y *delivery* haciendo uso del código booleano AND: *liposome* AND *drug* AND *delivery*.
- Tipo de documento: se seleccionaron únicamente artículos de investigación (excluyendo revisiones, capítulos de libro, memorias de congresos, comentarios, etcétera).
- Idioma: se incluyeron solamente los artículos publicados en idioma inglés.

De esta manera se obtuvo un conjunto de 4,340 artículos, cuyos *abstracts* se descargaron para su posterior análisis, el cual se llevó a cabo siguiendo la metodología previamente desarrollada dentro de nuestro grupo de investigación, basado en ciencia de redes para detección de comunidades (figura 7) (Rincón, 2021). El propósito de la minería de texto fue caracterizar el universo de 4,340 documentos e identificar patrones que nos permitieran mostrar el panorama de la investigación en este campo. La describimos brevemente a continuación.

Pre-procesamiento: se realizó empleando la librería *Natural Language Toolkit* (NLTK) de Python 3.0 (McKinney, 2010). Esta etapa consistió en eliminar aquellas palabras “ruido” que pudieran interferir con el análisis; todas las pala-

**Figura 7.** Proceso de la minería de texto en artículos científicos sobre liposomas como sistemas de liberación de fármacos.



Fuente: Modificado de Bulbake (2017).

bras se transformaron a minúsculas; se removieron todos los símbolos de puntuación; y se eliminaron aquellas palabras que no aportan gran significado a las oraciones, como *a, the, an, on, this, is, for, large, numerous, used, without*, entre otras.

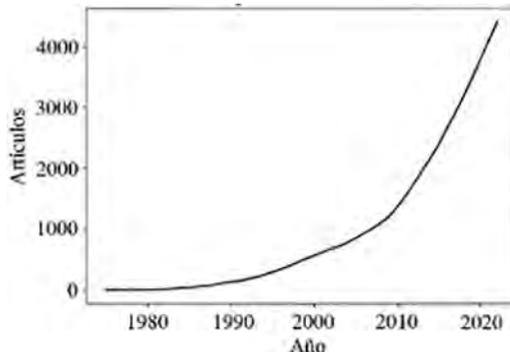
Minería: los datos pre-procesados se analizaron a través del mayor componente conectado (LCC), que detecta las conexiones dentro del conjunto de datos para así formar una red. Posteriormente, se aplicó el algoritmo de Louvain para detectar las comunidades dentro de la red con mayor densidad, es decir, grupos de artículos con contenido semántico similar. El análisis se llevó a cabo utilizando diversas herramientas de librerías en Python.

Interpretación: la detección de comunidades nos permitió conocer la frecuencia relativa de las palabras en cada una de dichas comunidades. Así, analizando las 3 palabras más frecuentes en cada comunidad, logramos identificar patrones dentro del universo de documentos.

## Resultados

La figura 8 muestra la suma acumulada de publicaciones de liposomas como SLF desde 1975 hasta 2022. Se observa que a mediados de los años 90, el interés por estas estructuras comenzó a emerger, y a partir del año 2000 hay un crecimiento acelerado en su investigación que se mantiene hasta la actualidad. De hecho, de 1975 a 1999 hay solamente 515 publicaciones, mientras que de 2000 a 2022, hay 3,825 artículos. Lo anterior refleja el punto de inflexión generado a partir de la aprobación clínica de doxorubicina liposomal (Doxil®) y del inicio de los ensayos clínicos de ThermoDox®, dos parteaguas en la historia de liposomas como SLF.

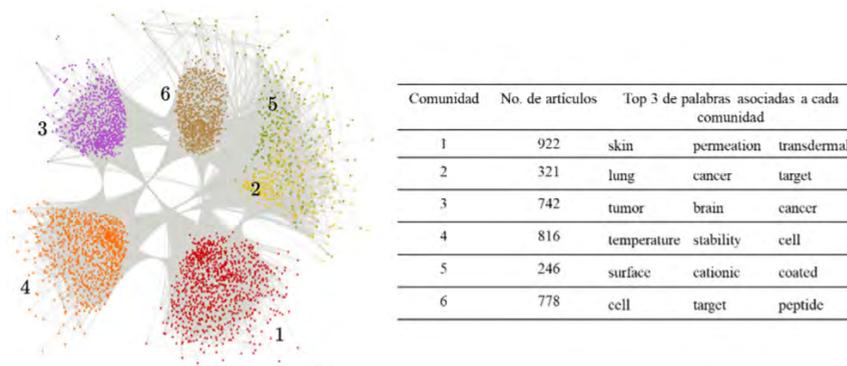
**Figura 8.** Suma acumulada de publicaciones de liposomas como SLF, 1975-2022.



Fuente: Elaboración de los autores.

Debido a que la mayoría de artículos se han publicado después del año 2000, el análisis de detección de comunidades se realizó solamente para el conjunto de 3,825 artículos. Los resultados muestran que los artículos se agruparon en 6 comunidades. La red de comunidades, el tamaño de cada comunidad (la cantidad de artículos en cada una de ellas), así como las 3 palabras más frecuentes asociadas a cada grupo se muestran en la figura 9.

**Figura 9.** Representación gráfica de la red formada por las publicaciones de liposomas como SLF del 2000-2022, así como las palabras representativas de cada comunidad.



Fuente: Elaboración de los autores.

Resulta muy interesante que la comunidad 1 es la más grande y hace referencia a liposomas como sistemas de liberación tópica y transdérmica. Dentro de las estrategias utilizadas para promover la penetración de fármacos a través de la piel, se encuentran las nano y micro vesículas, de las cuales los liposomas han jugado un rol importante. Aunque los liposomas convencio-

nales no logran llegar a las capas más profundas de la piel, es posible que por medio de la modulación de la flexibilidad de la bicapa lipídica, su lamellaridad, tamaño y la carga superficial, se dé lugar a sistemas con una eficiencia similar a la de una inyección subcutánea. Así, liposomas ultradeformables menores a 150 nm son capaces de penetrar la piel y liberar el fármaco en sus capas profundas. Los liposomas catiónicos flexibles pueden acumularse, por medio de interacciones electrostáticas, en los folículos capilares, desde donde pueden difundir más fácilmente. Los fosfolípidos de la piel, que se encuentran cargados negativamente, pueden interactuar con los liposomas catiónicos, favoreciendo su penetración hasta capas profundas de la piel. Cabe destacar que los liposomas también se han considerado como potenciales modelos de membranas para estudiar la permeación en piel (El Maghraby, 2008).

Después del cáncer de mama, el cáncer de pulmón es el más común a nivel mundial, y en 2020 el que causó más muertes (WHO, 2022). Con la finalidad de mejorar las estrategias terapéuticas, se ha explorado ampliamente el uso de SLF, en particular, los liposomas, que han sido los más estudiados para tal fin. De hecho, son alrededor de 12 formulaciones liposomales las que se encuentran en ensayos clínicos, incluyendo aquellas que contienen doxorubicina, cisplatino, paclitaxel, irinotecan y lurtotecan. Destaca el caso de la combinación de cisplatino liposomal en combinación con paclitaxel, así como el de la vacuna liposomal conteniendo tecemotida, que han demostrado ocasionar menos efectos adversos y tener resultados prometedores (Canão, 2022; Wang, 2020). La comunidad 2 resalta la importancia de los lipomas para este padecimiento.

La comunidad 3 agrupó los artículos en función de las palabras *tumor*, *cerebro* y *cáncer*. De todas las nanomedicinas, los liposomas han sido los más investigados para tratar los tumores cancerosos que se desarrollan en el cerebro. Si bien los liposomas convencionales no pueden atravesar la barrera hematoencefálica (BHE) asociada con tumores cerebrales, la modificación de la superficie de los liposomas con algunos ligandos (anticuerpos, péptidos, aptámeros, entre otros) para atravesar dichas barreras, ha mostrado resultados alentadores (Mojarad, 2021). Incluso, ya hay algunos prototipos de liposomas funcionalizados en ensayos clínicos fase I para malignidades cerebrales. Por ejemplo, 2B3-101 (G-technology™), un liposoma pegilado de ~95 nm, cargado con doxorubicina, funcionalizado con glutatión en estado reducido (GSH), para que entregue su carga en el cerebro vía transportadores de GSH sin alterar la integridad de la BHE. Por otro lado, está 2B3-101, que ha llegado a fases clínicas I/IIa para pacientes con glioma recurrente y cáncer de mama con metástasis en cerebro. Otro caso es C225-ILs-Dox, un inmunoliposoma Stealth® conteniendo doxorubicina. Esta nanovesícula está modificada en sus superficies por fragmentos Fab de cetuximab y está en estudios clínicos de fase I para gliomas. MM-398 es un liposoma convencional de ~110 nm conteniendo irinotecan que se encuentra en fase clínica I para glioma. Se ha postulado que el carácter altamente lipofílico de MM-398 le permite atravesar la BHE (Mojarad, 2021; Shaw, 2022).

Lo anterior evidencia la importancia de la modificación de las propiedades de superficie de los liposomas, las cuales determinan su comportamiento biológico y su efectividad como SLF. Más allá de introducir cargas positivas o negativas a la superficie del liposoma, la incorporación de moléculas para orientación activa (anticuerpos, péptidos, aptámeros, azúcares, proteínas) sigue siendo un área de investigación con grandes expectativas. Los liposomas también pueden estar recubiertos con materiales poliméricos para aumentar su estabilidad coloidal, evitar el reconocimiento por RES, favorecer su farmacocinética e impartir algunas otras propiedades biológicas. Además de PEG, los recubrimientos más comunes son: quitosano, polisacáridos, poli-L-lisina, ácido hialurónico y polielectrolitos (Dymec, 2022; Noble, 2014; Torchilin, 2008; Keith, 2022; Kristensen, 2014; Dass, 2006). Los liposomas pueden estar recubiertos por materiales sensibles a algún estímulo físico o químico que detone la liberación del fármaco (Lee, 2017), que junto con los liposomas biomiméticos (recubiertos por membranas celulares) están comenzando a cobrar enorme interés (Pratygyan, 2020). La importancia de las características de la superficie de los liposomas se ve reflejada en las comunidades 5 y 6.

Por último, la comunidad 4 indica que 816 artículos se agruparon en función de la palabra *temperatura*. Esta palabra puede estar relacionada con aspectos de estabilidad coloidal e integridad del liposoma a diferentes temperaturas, las cuales dependen de la  $T_c$  de los fosfolípidos que constituyen la vesícula. Si se conocen bien las  $T_c$ , se puede modular la permeabilidad de la bicapa y por lo tanto controlar la liberación del fármaco. Bajo esta premisa, Needham y colaboradores diseñaron en el año 2000 un liposoma con doxorubicina cuya liberación rápida era desencadenada por un aumento moderado en la temperatura ( $\sim 42$  °C). Esta formulación la conocemos actualmente como ThermoDox® (Ver Sección ThermoDox®), que, a partir de la eficacia mostrada en estudios preclínicos, se trasladó rápidamente a ensayos clínicos en 2006. A pesar de que los ensayos clínicos se detuvieron en 2013, ThermoDox® ha sido un parteaguas en el diseño de liposomas termosensibles, reflejado en un continuo incremento en el número de publicaciones desde 2006 (Dou, 2017).

Si bien la temperatura ha sido el estímulo físico más explorado para controlar la liberación de fármacos contenidos en liposomas, también se ha investigado ampliamente el control de la liberación por medio de luz (UV e infrarrojo cercano), campos magnéticos y ultrasonido (Lee 2017; Ashrafizadeh 2022). Asimismo, la liberación mediada por cambios en el pH, en presencia de algunas enzimas o en respuesta a los procesos de óxido-reducción extra e intracelular. Así, en las últimas dos décadas, los liposomas pasaron de ser simples vesículas anfífilas, a nanosistemas “inteligentes” (estímulo-sensibles) con gran potencial de éxito.

## Tendencias en investigación

La ciencias de los materiales junto con la nanotecnología han permitido el diseño y estudio de formulaciones liposomales inteligentes y multifuncionales. Por ejemplo, liposomas que mejoren las técnicas de diagnóstico introduciendo

do agentes de contraste para resonancia magnética nuclear (gadoteridol) y tomografía computarizada (iohexol). O bien, agentes que permitan rastrear al liposoma. Si estas vesículas llevan además una carga de fármaco, se tendrá una plataforma que entregue el fármaco y haga diagnóstico de manera simultánea (es decir, un teranóstico) (Aryasomayajula, 2017).

A pesar de tener las bases y la intención de desarrollar sistemas exitosos, los liposomas son impredecibles y los desafíos por superar no son pocos. Por ejemplo, su inestabilidad fisicoquímica originada por procesos de oxidación e hidrólisis pueden provocar efectos secundarios no deseados y reducir su eficacia. Su inestabilidad coloidal en medios fisiológicos, formación de la corona de proteínas e interacciones con el sistema inmune pueden provocar fallas en la liberación del fármaco (Nakhaei, 2021). Por ello, a pesar de las ventajas que podrían ofrecer los liposomas responsivos a estímulos y las grandes expectativas que generan, en particular en terapias contra el cáncer, existen todavía numerosos retos que deben ser cuidadosamente abordados para su adecuado progreso a la clínica. La eficacia observada en modelos *in vitro/in vivo* deberá correlacionarse con aquella observada en estudios clínicos. La toxicidad de estos liposomas inteligentes también se debe estudiar a detalle. Por ello, la investigación en liposomas convencionales sigue siendo de enorme relevancia, pues, aunque no se consideren “inteligentes”, son y seguirán siendo una fuente de generación de valioso conocimiento para el diseño y desarrollo racional de nuevos liposomas, para cáncer y otros padecimientos; así como para el entendimiento de las barreras biológicas a las que se enfrentan las nanomedicinas. En otras palabras, para que las tecnologías liposomales en uso clínico sean cada vez más frecuentes y beneficien la salud de la población.

## Conclusiones

Las propiedades únicas de los liposomas los han convertido en los nanosistemas más utilizados para la entrega de una amplia gama de agentes terapéuticos y de diagnóstico con diferentes propiedades fisicoquímicas. Su composición puede modificarse fácilmente para brindar propiedades específicas a la bicapa lipídica. De esta manera, se puede prolongar el tiempo en circulación sistémica del fármaco y superar limitantes asociadas con dicho fármaco como inestabilidad e insolubilidad acuosa. Al ser de escala nanométrica, se puede promover su acumulación en algunos tejidos tumorales por el efecto EPR. Cuando están funcionalizados en su superficie con ligandos de reconocimiento, se puede favorecer su acumulación únicamente en el tejido tumoral, reduciendo así los efectos adversos de los quimioterapéuticos que encapsulan. Los liposomas son las primeras nanomedicinas que han alcanzado el uso clínico y han cobrado particular relevancia en terapias contra el cáncer. Además, las tecnologías liposomales comienzan a destacar como nanomedicinas para tratar otros padecimientos. Los liposomas han demostrado una gran capacidad para superar algunas limitaciones de las terapias convencionales y, sin duda,

en los años por venir serán las nanomedicinas las que seguirán estando a la cabeza en su traslado a la clínica.

### Abreviaturas:

Fosfatidilcolina (PC)  
Fosfatidiletanolamina (PE)  
Fosfatidilcolina de soya (SPC)  
Fosfatidilcolina de soya hidrogenada (HSPC)  
Diestearoilfosfatidilcolina (DSPC)  
Fosfatidilcolina de huevo (EPC)  
1-palmitoil-2-oleoil-fosfatidilcolina (POPC)  
Dipalmitoilfosfatidilcolina (DPPC)  
Dioleoilfosfatidilcolina (DOPC)  
Diestearoilfosfatidilglicerol (DSPG)  
Dipalmitoilfosfatidilglicerol (DPPG)  
Dioleoilfosfatidilserina (DOPS)  
Dipalmitoilfosfatidiletanolamina (DPPE)  
Esfingomielina (SM)  
Miristoilestearoil fosfatidilcolina (MSPC)  
Dimiristoilfosfatidilglicerol (DMPG)  
N-(carbamil-metoxipolietilenglicol 2000)-1,2-diestearoil-sn-glicero-3-fosfoetanolamina (MPEG2000-DSPE)  
Food and Drug Administration (FDA)  
European Medicines Agency (EMA),  
Tecnología liposomal (Tec. Lip.)  
Año de aprobación (año)  
Administración (Adm.)  
Intramuscular (IM)  
Intravenosa (IV)  
Intratecal (IT)  
Inhalación (INH)  
Fármaco discontinuado (\*)  
Enhanced Permeability and Retention Effect (EPR).

### Referencias

- ACS (American Cancer Society). (2020). *Types and phases of clinical trials*. <https://www.cancer.org/>.
- Angst, M. S. y Drover, D. R. (2006). Farmacología de medicamentos formulados con DepoFoam™. *ClinPharmacokinet*, 45: 1153-1176. <https://doi.org/10.2165/00003088-200645120-00002>.
- Aryasomayajula, B., Salzano, G. y Torchilin, V. P. (2017). Multifunctional liposomes. *Methods in molecular biology*, 1530: 41-61, Clifton, N. J. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6646-2\\_3](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6646-2_3).

- Ashrafizadeh, M., Delfi, M., Zarrabi, A., Bigham, A., Sharifi, E., Rabiee, N., Paiva-Santos, A. C., Kumar, A. P., Tan, S. C., Hushmandi, K., Ren, J., Zare, E. N. y Makvandi, P. (2022). Stimuli-responsive liposomal nanoformulations in cancer therapy: Pre-clinical & clinical approaches. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 351: 50-80. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.08.001>.
- Aubel-Sadron, G. y Londos-Gagliardi, D. (1984). Daunorubicin and doxorubicin, anthracycline antibiotics, a physicochemical and biological review. *Biochimie*, 66(5): 333-52. [https://doi.org/10.1016/0300-9084\(84\)90018-x](https://doi.org/10.1016/0300-9084(84)90018-x).
- Barenholz, Y. (2012). Doxil®-the first FDA-approved nano-drug: lessons learned. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 160(2), 117-134. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2012.03.020>.
- Beltrán, E., López, A., Higuera, I., Velázquez, J. y Cardona A. (2019). Nanomedicine review: clinical developments in liposomal applications. *Cancer Nano*, 10: 11. <https://doi.org/10.1186/s12645-019-0055-y>.
- Bulbake, U., Doppalapudi, S., Kommineni, N. y Khan, W. (2017). Liposomal formulations in clinical use: an updated review. *Pharmaceutics*, 9(2): v12. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics9020012>.
- Cai, R. y Chen, C. (2019). The crown and the scepter: Roles of the protein corona in nanomedicine. *Advanced Materials*, 31(45): e1805740. <https://doi.org/10.1002/adma.201805740>.
- Canão, F., Ferreira, H., Neves, N. M., (2022), Liposomal formulations for lung cancer treatment in the last two decades: a systematic review. *Journal of Cancer Research and Clinical Oncology*, 148(9): 2375-2386. <https://doi.org/10.1007/s00432-022-04079-x>.
- Čeh, B., Winterhalter, M., Frederik, P. M., Vallner, J. J. y Lasic, D. D. (1997). Stealth® liposomes: from theory to product. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 24(2-3): 165-177. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00456-5](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00456-5).
- Dass, C. R. y Choong, P. F. (2006). Selective gene delivery for cancer therapy using cationic liposomes: *in vivo* proof of applicability. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 113(2): 155-163. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2006.04.009>.
- Dou, Y., Hynynen, K. y Allen, C. (2017). To heat or not to heat: challenges with clinical translation of thermosensitive liposomes. *Journal of Controlled Release: Official Journal of the Controlled Release Society*, 249: 63-73. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.01.025>.
- Dymek, Michał y Sikora, Elżbieta. (2022). Liposomes as biocompatible and smart delivery systems – The current state. *Advances in Colloid and Interface Science*, 309: 102757. <https://doi.org/10.1016/j.cis.2022.102757>.
- El Maghraby, G. M., Barry, B. W. y Williams, A. C. (2008). Liposomes and skin: from drug delivery to model membranes. *European Journal of Pharmaceutical Sciences: Official Journal of the European Federation for Pharmaceutical Sciences*, 34(4-5): 203-222. <https://doi.org/10.1016/j.ejps.2008.05.002>.
- EMA (European Medicines Agency). (2013). *European public assessment report sum-*

- mary for the public, Mepact, mifamurtide. <https://www.ema.eu>.
- EMA (European Medicines Agency). (2015). *Mosquirix: Opinion on medicine for use outside EU*. <https://www.ema.eu>.
- EMA (European Medicines Agency). (2022). *An overview of Zolsketil pegylated liposomal and why it is authorised in the EU. Zolsketil pegylated liposomal (doxorubicin)*. <https://www.ema.eu>.
- Fantini, M., Gianni, L., Santelmo C., Drudi F., Castellani C., Affatato A., Nicolini M., Ravaioli, A., (2011). Lipoplatin treatment in lung and breast cancer. *Chemotherapy Research Practice*, 2011: 125192. <https://doi.org/10.1155/2011/125192>.
- FDA (Food and Drug Administration). (2022). *Withdrawal of approval of new drug application for MARQIBO*. Federal Register, FDA-2022-N-0354, 89, 84, 25644-25645.
- Forssen, E. (1997). The design and development of DaunoXome® for solid tumor targeting *in vivo*. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 24(2-3): 133-150. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(96\)00453-X](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(96)00453-X).
- Gabizon, A., Isacson, R., Libson, E., Kaufman, B., Uziely, B., Catane, R., Ben-Dor, C. G., Rabello, E., Cass, Y. y Peretz, T. (1994). Clinical studies of liposome-encapsulated doxorubicin. *Acta oncologica*, 33(7): 779-786, Stockholm, Suecia. <https://doi.org/10.3109/02841869409083948>.
- Hu, M. y Huang, L. (2022). Strategies targeting tumor immune and stromal micro-environment and their clinical relevance. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 183: 114137. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2022.114137>.
- INEGI (Instituto Nacional de Estadística y Geografía). (2022). *Estadísticas de defunciones registradas en el año 2021*, 83-90. <https://www.inegi.org>.
- Kawakami, Lisa M., Yoon, Bo Kyeong, Jackman, Joshua A., Wolfgang, Knoll, Weiss, Paul S. y Cho, Nam-Joon. (2017). Understanding how sterols regulate membrane remodeling in supported lipid bilayers. *Langmuir*, 33(51): 14756-14765. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.7b03236>.
- Keith L. Willes, Sydney A. McFarland, Trent E. Johnson, Daniel R. Hart y Walter F. Paxton. (2022). Modulating and modeling the surface  $\zeta$  potential of hybrid lipid/polymer nanovesicles: implications for surface modification and drug delivery. *ACS Applied Nano Materials*, 5(10): 13820-13828. <https://doi.org/10.1021/acsnm.2c01407>.
- Kontermann, R. E. (2011). Inmunoliposomas. En Schwab, M. (ed.), *Encyclopedia of cancer*. Berlín, Heidelberg: Springer. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-16483-5\\_2997](https://doi.org/10.1007/978-3-642-16483-5_2997).
- Kristensen, Kasper, Urquhart, Andrew J., Thormann, Esben y Andresen, Thomas L. (2016). Binding of human serum albumin to PEGylated liposomes: insights into binding numbers and dynamics by fluorescence correlation spectroscopy. *Nanoscale*, 8(47): 19726-19736, *The Royal Society of Chemistry*. <http://dx.doi.org/10.1039/C6NR05455B>.
- Kroemer, G., Zitvogel, L., Galluzzi, L., (2013). Victories and deceptions in tumor immunology: Stimuvax®. *Oncoimmunology*, 2(1): e23687. <https://doi.org/10.4161/onci.23687>.

- Lee, Y. y Thompson, D. H. (2017). Stimuli-responsive liposomes for drug delivery. Wiley interdisciplinary reviews. *Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 9(5). <https://doi.org/10.1002/wnan.1450>.
- Liprostin Group. (2020). Vascular pulmonary diseases. <http://www.LiprostinGroup.com>.
- Liu, P., Chen, G., Zhang, J. (2022). A review of liposomes as a drug delivery system: Current status of approved products, regulatory environments, and future perspectives. *Molecules*, 27(4): 1372. <https://doi.org/10.3390/molecules27041372>.
- Mahato, Rubi. (2017). *Emerging nanotechnologies for diagnostics, drug delivery, and medical devices. Chapter 2 -Multifunctional micro- and nanoparticles, micro and nano technologies*. Elsevier, 21-43. <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-323-42978-8.00002-4>.
- Marichal, L., Degrouard, J., Gatin, A., Raffray, N., Aude, J., Boulard, Y., Pin, S. (2020). From protein corona to colloidal self-assembly: The importance of protein size in protein-nanoparticle interactions. *Langmuir*, 36(28): 8218-8230. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.0c01334>.
- McDonald, G. (2017). *Pacira to stop making DepoCyt due to long-term production problems*. <https://www.outsourcing-pharma.com>.
- McKinney, W. (2010). *Data structures for statistical computing in Python*. Proceedings of the 9th Python in Science Conference, 56-61, <https://doi.org/10.25080/Majora-92bf1922-00a>.
- Mojarad-Jabali, S., Farshbaf, M., Walker, P. R., Hemmati, S., Fatahi, Y., Zakeri-Milani, P., Sarfraz, M. y Valizadeh, H. (2021). An update on actively targeted liposomes in advanced drug delivery to glioma. *International Journal of Pharmaceutics*, 602: 120645. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2021.120645>.
- Nakhaei, P., Margiana, R., Bokov, D. O., Abdelbasset, W. K., Jadidi, Kouhbanani, M. A., Varma, R. S., Marofi, F., Jarahian, M. y Beheshtkhoo, N. (2021). Liposomes: structure, biomedical applications, and stability parameters with emphasis on cholesterol. *Front. Bioeng. Biotechnol*, 9: 705886. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2021.705886>.
- NCI (National Cancer Institute). (2019). *Immunotherapy to treat cancer*. National Institutes of Health. <https://www.cancer.gov/about-cancer/treatment/types/immunotherapy>.
- Needham, D., Anyarambhatla, G., Kong, G. y Dewhirst, M. W. (2000). A new temperature-sensitive liposome for use with mild hyperthermia: characterization and testing in a human tumor xenograft model. *Cancer Research*, 60(5): 1197-1201. [www.scopus.com](http://www.scopus.com).
- Noble, G. T., Stefanick, J. F., Ashley, J. D., Kiziltepe, T. y Bilgicer, B. (2014). Ligand-targeted liposome design: challenges and fundamental considerations. *Trends in Biotechnology*, 32(1): 32-45. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2013.09.007>.
- Nosova, A. S., Koloskova, O. O., Nikonova, A. A., Simonova, V. A., Smirnov, V. V., Kudlay, D., Khaitov, M. R. (2019). Diversity of PEGylation methods of liposomes and their influence on RNA delivery. *Medchemcomm*, 10(3): 369-377. <https://doi.org/10.1039%2Fc8md00515j>.

- Nsairat, H., Khater, D., Sayed, U., Odeh, F., Al Bawab, A., Alshaer, W. (2022) Liposomes: structure, composition, types, and clinical applications. *Heliyon*, 8(5): e09394. <https://doi.org/10.1016%2Fj.heliyon.2022.e09394>.
- Pratigyan Dash, Anna Maria Piras, Mamoni Dash. (2020). Cell membrane coated nanocarriers – An efficient biomimetic platform for targeted therapy. *Journal of Controlled Release*, 327: 546-570. ISSN 0168-3659. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2020.09.012>.
- Rincón-López, J., Almanza-Arjona, Y. C., Riascos, A. P., Rojas-Aguirre, Y. (2021). When cyclodextrins met data science: unveiling their pharmaceutical applications through network science and text-mining. *Pharmaceutic*, 13(8): 1297. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081297>.
- Rojas-Aguirre, Y., Aguado-Castrejón, K., González-Méndez, I. (2016). La nanomedicina y los sistemas de liberación de fármacos: ¿la (r)evolución de la terapia contra el cáncer? *Educación Química*, 27(4): 286-291. <https://doi.org/10.1016/j.eq.2016.07.002>.
- Sercombe, L., Veerati, T., Moheimani, F., Wu, S. Y., Sood, A. K., Hua, S. (2015). Advances and challenges of liposome assisted drug delivery. *Front. Pharmacol.*, 6: 286. <https://doi.org/10.3389/fphar.2015.00286>.
- Sharma, Amarnath y Sharma, Uma S. (1997). Liposomes in drug delivery: Progress and limitations. *International Journal of Pharmaceutics*, 154(2): 123-140, 0378-5173. [https://doi.org/10.1016/S0378-5173\(97\)00135-X](https://doi.org/10.1016/S0378-5173(97)00135-X).
- Shaw, T. K. y Paul, P. (2022). Recent approaches and success of liposome-based nano drug carriers for the treatment of brain tumor. *Current Drug Delivery*, 19(8): 815-829. <https://doi.org/10.2174/1567201818666211213102308>.
- Silverman, J. A., Deitcher, S. R. (2013). Marqibo® (vincristine sulfate liposome injection) improves the pharmacokinetics and pharmacodynamics of vincristine. *Cancer Chemother Pharmacol*, 71(3): 555-64. <https://doi.org/10.1007/s00280-012-2042-4>.
- Sivan-Peretz D., Dima-Shamrakov, Maxim-Varenik, Erez-Koren, Einat-Nativ-R., Yechezkel-Barenholz, Oren-Regev. (2018). Practical aspects in size and morphology characterization of drug-loaded nano-liposomes. *International Journal of Pharmaceutics*, 547(1-2): 648-655. ISSN 0378-5173. <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2018.06.037>.
- Taléns-Visconti, R., Díez-Sales, O., De Julián-Ortiz, J. V. y Náchter, A. (2022). Nanoliposomes in cancer therapy: marketed products and current clinical trials. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(8): 4249. <https://doi.org/10.3390/ijms23084249>.
- Torchilin-Vladimir, P. (1996). How do polymers prolong circulation time of liposomes? *Journal of Liposome Research*, 6(1): 99-116. <https://doi.org/10.3109/08982109609037204>.
- Van-Hoogevest, P. y Wendel, A. (2014). The use of natural and synthetic phospholipids as pharmaceutical excipients. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 116(9): 1088-1107. <https://doi.org/10.1002/ejlt.201400219>.
- Wang, Wei y Hao, Yuhao y Liu, Yusheng y Li, Rui y Huang, Da-Bing y Pan, Yue-Yin.

(2020). Nanomedicine in lung cancer: Current states of overcoming drug resistance and improving cancer immunotherapy. *Wiley Interdisciplinary Reviews. Nanomedicine and Nanobiotechnology*, 13(1). <https://doi.org/10.1002/wnan.1654>.

Waterhouse, D. N., Tardi, P. G., Mayer, L. D. y Bally, M. B. (2001). A comparison of liposomal formulations of doxorubicin with drug administered in free form: changing toxicity profiles. *Drug Safety*, 24(12): 903-920. <https://doi.org/10.2165/00002018-200124120-00004>.

WHO (World Health Organization). (2022). *Cancer*. <https://www.who.int/news>.

Yarosh, Daniel B. (2001). Enhancement of repair of UV damage in humans. *Comprehensive Series in Photosciences*, 3(31): 593-612. Elsevier. [https://doi.org/10.1016/S1568-461X\(01\)80066-1](https://doi.org/10.1016/S1568-461X(01)80066-1).

# Breve revisión sobre la síntesis de los nanomateriales más usados como soportes y catalizadores en diversas aplicaciones

## Brief review on the synthesis of the most used nanomaterials as supports and catalysts in various applications

C. E. Soto-Arteaga,<sup>\*</sup> <sup>\*\*</sup> E. D. Gutiérrez-López,<sup>\*</sup> <sup>\*\*</sup> Y. Esqueda-Barrón,<sup>\*\*</sup>  
J. N. Díaz de León<sup>\*\*</sup>,<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** The development of high-performance nanocatalysts depends on generating stable and active surface sites at the atomic scale by systematically controlling the size, shape, and chemical composition of metals and metal oxides at the nanoscale. In this work, the synthesis and application of nanomaterials based mainly on alumina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), Titania (TiO<sub>2</sub>), and some others of minor use, such as cerium oxide (CeO<sub>2</sub>), are mentioned. Furthermore, their morphological and textural characteristics and crystallographic phases obtained are briefly described. The importance of the synthesis methods in the morphology and structure of the nanoparticles and how this affects the catalytic activity of the supports and catalysts prepared with them is highlighted.

**KEYWORDS:** nanocatalysts, supports, alumina, Titania, cerium oxide, synthesis.

**RESUMEN:** El desarrollo de nanocatalizadores de alto rendimiento depende de la generación de sitios superficiales estables y activos a escala atómica mediante el control sistemático del tamaño, la forma y la composición química de metales y óxidos metálicos a nanoescala. En este trabajo se mencionan la síntesis y aplicación de nanomateriales basados principalmente en alúmina (Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub>), Titania (TiO<sub>2</sub>) y algunos otros de menor uso como el óxido de cerio (CeO<sub>2</sub>). Asimismo, se describen brevemente sus características morfológicas, texturales y fases cristalográficas obtenidas. Se destaca la importancia de los métodos de síntesis en la morfología y estructura de las nanopartículas y cómo esto afecta a la actividad catalítica de los soportes y catalizadores preparados con ellas.

**PALABRAS CLAVE:** nanocatalizadores, soportes, alúmina, Titania, óxido de cerio, síntesis.

## Introducción

La humanidad enfrenta, actualmente, grandes retos, desde la creciente aparición de casos de cáncer (Anjali Das *et al.* 2022), la progresiva demanda y contaminación del agua (Valadez-Renteria *et al.* 2023) hasta el calentamiento

---

Recibido: 6 de noviembre, 2022. Aceptado: 27 de abril, 2023. Publicado: 23 de mayo, 2023.

<sup>\*</sup> Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Programa de Posgrado en Nanociencias.

<sup>\*\*</sup> Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Nanociencias y Nanotecnología.

<sup>†</sup> Autor de correspondencia: noejd@ens.cnyn.unam.mx

global de la tierra debido al incremento de los gases de efecto invernadero (Celaya *et al.* 2022) entre muchos otros. La síntesis de nanomateriales se observa como un campo que puede ayudar a mitigar los problemas antes mencionados. Sin embargo, en términos generales, la formación de estructuras nanométricas representa un reto y el poder controlar su morfología se ha vuelto tendencia. Si se busca el término “nanopartículas” en inglés, en alguna base de datos de artículos científicos como Scopus ([www.scopus.com](http://www.scopus.com)), se obtendrán más de 700,000 documentos, lo que dará idea al lector del gran interés de la comunidad científica en este tema. De estos, más de la mitad han sido publicados en los últimos 5 años; aunado a lo anterior, los documentos están centrados en 10 categorías, entre las que destacan ciencia de materiales, química, física y astronomía, ingeniería, ingeniería química, bioquímica, genética, farmacéutica, ciencias ambientales y medicina, entre otros. Sin embargo, no todos son de relevancia en nuestro caso, ya que este trabajo se enfoca en los materiales usados como soportes y catalizadores. Estos están principalmente centrados en los temas, ciencia de materiales, química, física, ingeniería, ingeniería química y ciencias ambientales. En su conjunto, estos representan el 82%, aproximadamente.

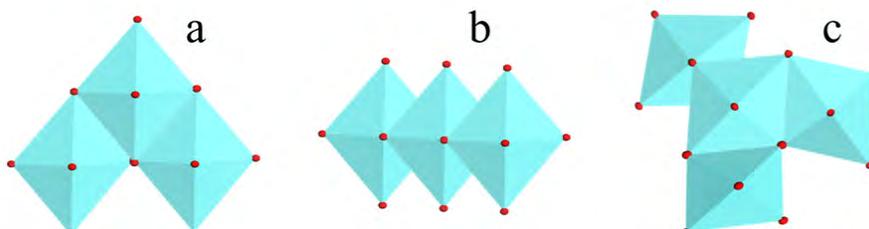
Típicamente, un soporte de catalizadores debe ser un sólido poroso inerte con propiedades como alta área superficial, para tener capacidad de carga de las fases activas. Una porosidad controlada, ya que es importante que éste facilite la difusión de los reactivos. Estabilidad térmica y química, para garantizar la estabilidad del catalizador, así como la actividad de las fases activas por el mayor tiempo posible. Baja toxicidad, disponibilidad y bajo costo (Satterfield 1991). De tal manera, la selección adecuada del soporte es de vital importancia en el desempeño y eficiencia del catalizador al ser aplicado en una reacción específica.

Entonces, la preparación de nanopartículas que sirvan como soportes es un campo que ha despertado un gran interés debido a las múltiples propiedades presentadas por las nanopartículas y la amplia variedad de aplicaciones en que se pueden usar. No obstante, por muchos años no se le dio gran importancia a la parte morfológica, puesto que las fases activas solo necesitaban soportes optimizados en sus propiedades de bulto. Esto ha cambiado con las propiedades encontradas en los nanomateriales. Y ahora, la parte morfológica y la estructura de un soporte se consideran parámetros importantes durante la preparación de un catalizador, al determinar, en cierto grado, la naturaleza del proceso catalítico al que será aplicado el material en cuestión. Esto se relaciona con la preferencia de los sitios catalíticos a ocupar ciertas posiciones específicas en un material, por ejemplo, en las esquinas, aristas, o sobre determinada familia de planos cristalográficos (Topsøe, Clausen, y Massoth 1996). De este modo, se han estudiado continuamente materiales que permitan modular estas características, y así tener control sobre la relación entre la estructura y la morfología, con la actividad catalítica.

La síntesis y preparación de nanomateriales presentados en la mayoría de los documentos se centra en nanopartículas de composiciones muy variadas. No obstante, de entre ellos destacan los trabajos relacionados con óxidos metálicos, pues estos se han usado históricamente como soportes y catalizadores para diversas aplicaciones (Martín *et al.* 2021). Destaca el óxido de aluminio mejor conocido como alúmina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), uno de los más empleados industrialmente, al fungir como soporte de catalizadores para petroquímica (Trueba y Trasatti 2005). Este óxido tiene varias fases cristalográficas, la más utilizada es la fase gamma que se alcanza entre los 400 °C y los 600 °C, mientras que la más estable es la fase alfa, que se obtiene por arriba de los 1000 °C. La fase gama tiene muy buenas propiedades mecánicas y alta área superficial, misma que puede ir hasta los 600  $\text{m}^2\cdot\text{g}^{-1}$  dependiendo del método de síntesis (Satterfield, 1991). Normalmente, no presenta una forma específica, pues se considera amorfa, aunque para su uso industrial se fabrica en *pellets* de muy diversas formas. Otro de los materiales típicos es el óxido de titanio, mejor conocido como Titania ( $\text{TiO}_2$ ). Este óxido normalmente tiene una estructura cristalina tetragonal para los dos polimorfos más conocidos: la anatasa y el rutilo. Sin embargo, este óxido tampoco tiene una morfología definida que lo identifique. Más bien, es característico de la anatasa, su alineación en cadenas en zigzag a partir de los octaedros formados por un átomo de titanio y seis de oxígeno (Bagheri *et al.* 2014). Según Peláez y colaboradores, las estructuras de las fases de  $\text{TiO}_2$  se forman dependiendo de cómo se unan los octaedros que las conforman, es decir, que si los octaedros están unidos por los vértices se forma la fase anatasa (figura 1a), mientras que al unirse a través de los bordes se forma la fase rutilo (figura 1b). Finalmente, como se puede ver en la figura 1c, si se unen los octaedros por medio de los vértices y los bordes tendremos la fase brookita (Peláez *et al.* 2012). En la figura 1 las esferas rojas representan oxígenos, mientras que el átomo de titanio se encuentra en el centro de todos ellos.

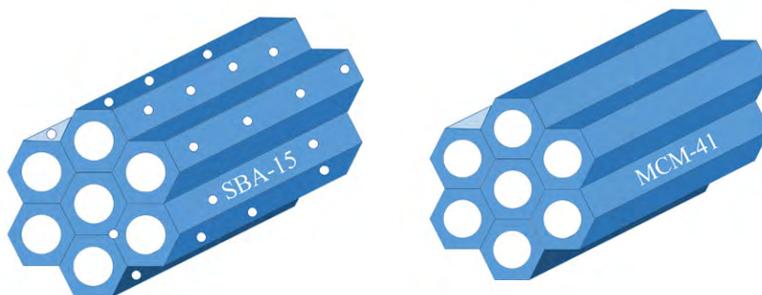
Otros materiales como el óxido de zinc, de zirconio, de cerio, de magnesio o de sílice son también muy utilizados. De entre estos, este último (el óxido de silicio) destaca, pues puede formar múltiples estructuras mesoporosas como la SBA-15 o las MCM, haciéndolo muy interesante como soporte (figura 2).

**Figura 1.** Esquema representativo de octaedros  $\text{TiO}_6$  formando las fases a) anatasa, b) rutilo, y, c) brookita.



Fuente: Adaptado de Peláez *et al.* (2012).

Figura 2. Esquema de óxidos de silicio con estructura definida, SBA-15 (izquierda) y MCM-41 (derecha).



Fuente: Elaboración de los autores.

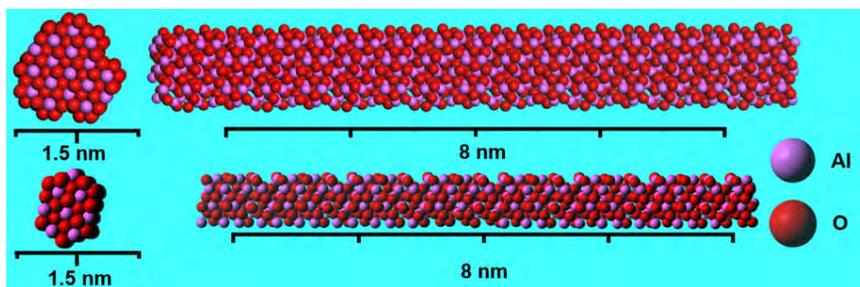
La síntesis de estos óxidos a escala nanométrica ha permitido modular sus propiedades electrónicas, mecánicas, magnéticas y de superficie (Kaur *et al.*, 2022). Se encontró, por ejemplo, que las nanopartículas menores de 100 nm presentan típicamente un aumento en el área superficial específica, efectos de confinamiento cuántico (László *et al.*, 2018) o enriquecimiento metálico superficial (Díaz de León *et al.*, 2014). En las siguientes secciones discutiremos sobre la síntesis de nanopartículas de los óxidos más usados.

## Síntesis y propiedades de nanopartículas de alúmina

Como se mencionó en el párrafo anterior, la obtención de nanopartículas de alúmina que puedan ser usadas como soporte abre un universo de posibilidades en las que se permita modular, por ejemplo, la interacción metal soporte, o lograr una amplia dispersión de las fases activas. Sin embargo, la síntesis de estos materiales tiene múltiples variables que tomar en cuenta, como el uso de agentes directores de estructura, temperatura, presión, metodología y precursores utilizados. No obstante, la posibilidad de preparar materiales con las características morfológicas deseadas es difícil y no existe un método de síntesis específico para lograrlo. Actualmente, la síntesis asistida por surfactantes es la más usada, debido a que ha demostrado un buen control de la morfología, forma y tamaño con su empleo, aunque las características obtenidas dependen mucho del método utilizado (Kaur *et al.*, 2022). Un caso es la síntesis de alúmina por un método de autoensamblaje, empleando surfactantes como directores de estructura (Yuan *et al.*, 2008). En este caso, se utilizaron distintos surfactantes y precursores de aluminio, lo cual permitió la obtención de materiales con propiedades texturales en función de los precursores y temperaturas de calcinación; áreas superficiales específicas entre  $180 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  y  $480 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$  y volúmenes de poro de aproximadamente  $0.80 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ . En general, estos nanomateriales de alúmina presentaron una alta área superficial ( $> 200 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ ), con una red mesoporosa ordenada, lo cual es de interés para uti-

lizarse como soporte (Fu *et al.*, 2017) o catalizador. Liu y colaboradores estudiaron el efecto de la morfología de distintas alúminas mesoporosas ordenadas al servir como soporte de paladio en la oxidación catalítica de CO y C<sub>3</sub>H<sub>6</sub>, encontrando un aumento en la actividad y estabilidad térmica del catalizador comparado con alúmina comercial no nanométrica (F. Liu *et al.*, 2015). Este material es estable hasta 1000 °C, presentando una distribución estrecha de tamaño de poro y alta área superficial. Otro ejemplo es el trabajo de Dabbagh y colaboradores, donde reportan la formación de nanobastones de alúmina en presencia de alanina en medio acuoso a condiciones ambientales (Dabbagh *et al.* 2011). Sus nanobastones tenían diámetros de 6 a 8 nm y longitudes de 17 a 18 nm. Mientras que Díaz de León y colaboradores (Díaz de León *et al.*, 2014) reportaron la síntesis de nanobastones de alúmina empleando surfactantes *pluronic*s y usando 2-propanol como solvente a 0 °C por 24 horas para formar un gel. Ellos encontraron que la morfología de los nanobastones obtenidos depende de la cadena del surfactante utilizado. La longitud promedio de los nanobastones fue de 26 nm para el pluronic L64 con cadena de 2900 g.mol<sup>-1</sup>, de 19 nm para el pluronic P123 de 5800 g.mol<sup>-1</sup> y de 14.3 nm para el pluronic F68 de 8400 g.mol<sup>-1</sup>. En cuanto al diámetro de los nanobastones que obtuvieron, estos presentaron un comportamiento inverso, al ser mayor usando el pluronic F68 con 3.2 nm, seguido del P123 con 2.4 nm y de 1.9 nm para el L64. Los resultados de difracción de rayos X mostraron que la fase  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O era la que estaba presente en todos los nanomateriales. Usando este resultado realizamos el modelado de las estructuras nanométricas de los nanobastones dependiendo de su diámetro y longitud. Como se puede observar en la figura 3, los nanobastones tienen el mismo arreglo cristalino y solo cambia la cantidad de átomos presentes en cada estructura. Para el caso de los nanobastones de Dabbagh y colaboradores (Dabbagh *et al.*, 2011), se utilizaron 575 átomos totales, de los cuales 348 fueron oxígenos. Para el caso de los nanobastones más grandes de Díaz de León y colaboradores (2014), se usaron 1,454 átomos, de los cuales 912 fueron oxígenos (figura.3).

**Figura 3.** Modelado de las nanoestructuras reportadas por Dabbagh *et al.* (2011) y Díaz de León *et al.* (2014). Los átomos indicadores de color no están a escala.



Fuente: Elaboración de los autores.

Más recientemente, por parte de nuestro grupo de investigación se reportó la preparación de nanoesferas huecas tipo erizo de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  por medio de una síntesis hidrotermal asistida por Triton X-100 como agente director de estructura (Mendoza-Núñez *et al.*, 2022). La síntesis se realizó usando sulfato de aluminio ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3 \cdot 18\text{H}_2\text{O}$ ) y urea ( $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ ) como agente reductor y agua desionizada para disolver los reactivos a condiciones ambientales. Las muestras calcinadas a  $500\text{ }^\circ\text{C}$  inicialmente mostraron por microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés) que la morfología se asemejaba a microesferas 3D huecas de  $2.4 \pm 0.6$  micras. El análisis por microscopía electrónica de transmisión (TEM, por sus siglas en inglés) permitió observar claramente que sí eran microesferas huecas y parecían estar compuestas por nanocinturones y nanobastones superpuestos. Los nanocinturones asemejaban ser las bases para el crecimiento de los nanobastones, puesto que estos últimos presentaron tamaños más pequeños. Los nanobastones tuvieron en este caso un diámetro de  $14\text{ nm}$ , pero longitudes mayores a los  $100\text{ nm}$ . Por otra parte, Jiang y colaboradores (Jiang *et al.*, 2022) utilizaron también el método hidrotermal, aunque en este caso los autores utilizaron nitrato de aluminio ( $\text{Al}(\text{NO}_3)_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ ) y fosfato de sodio ( $\text{Na}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ ) en solución acuosa. Ellos usaron la autoclave para verificar el efecto de la temperatura entre  $160\text{ }^\circ\text{C}$ ,  $180\text{ }^\circ\text{C}$  y  $200\text{ }^\circ\text{C}$ . Sus materiales no fueron calcinados, por lo cual sus nanopartículas resultaron de la fase bohemitica. Ellos encontraron microestructuras que parecen cuerdas de hasta  $3\text{-}4\text{ nm}$  y pequeños cúmulos laminares. Las cuerdas vistas en alta resolución resultaron estar formadas por nanocables, estas estructuras más pequeñas mostraron diámetros de entre  $25$  y  $28\text{ nm}$ . Otro trabajo acerca de esferas de alúmina fue reportado por Demir Cakan y colaboradores, donde menciona que se utilizó el método hidrotermal pero esta vez asistido por glucosa y con diferentes concentraciones de ácido acrílico, molécula usada principalmente por su fácil polimerización (Demir-Cakan *et al.*, 2022). La síntesis hidrotermal se realizó a  $190\text{ }^\circ\text{C}$  por  $16$  horas. Las esferas micrométricas obtenidas con diámetros de hasta  $4$  micras resultaron estar formadas por estructuras esféricas más pequeñas. Cuando los autores aumentaron la concentración de ácido acrílico, las nanoesferas fueron más fácilmente detectables. En las imágenes que presentaron los autores se puede observar que su tamaño resultó cercano a los  $50\text{ nm}$  en promedio.

Como se puede observar el método hidrotermal asistido por surfactantes ha generado interesantes resultados morfológicos. Sin embargo, en este punto cabría mencionar que algunos de los surfactantes no son fáciles de remover del nanomaterial final. Así, los procesos térmicos para estabilizar la estructura cristalina de las nanopartículas pueden llegar a sinterizar muy fácilmente las estructuras si estos son bruscos o se encuentran a temperaturas muy elevadas.

De tal manera, otros métodos como el de emulsión-hidrólisis (Shojaie-Bahaabad y Taheri-Nassaj, 2008), aerosol-hidrólisis (Ingebretsen y Matijević,

1980) o plasma térmico (Ouyang *et al.*, 2020) han mostrado ser eficientes para obtener nanopartículas esféricas. En particular, el método de plasma térmico hace uso de un sistema de alta frecuencia de 10 kW a 4 MHz, una antorcha de plasma controlada y un reactor cilíndrico que actúa también como cámara para colectar las nanoesferas formadas. Una vez que este sistema está estable se procede a enviar un flujo de aluminio y oxígeno a la cámara de plasma donde ocurre una reacción redox que produce las nanoesferas. Las nanopartículas obtenidas presentaron una distribución de diámetros centrada en los 60-70 nm. Sin embargo, de los trabajos mencionados anteriormente, en este es donde pudimos observar las nanoesferas más pequeñas.

Los nanomateriales de alúmina que hemos discutido hasta el momento tienen aplicaciones muy variadas dependiendo del campo en que se han especializado los autores. Particularmente, en nuestro grupo de investigación hemos usado nanobastones de alúmina como soportes de nanopartículas de óxidos de níquel y tungsteno (Díaz de León *et al.*, 2014, 2015) sulfurados para realizar reacciones de hidrodesulfuración ultra profunda. El uso de los nanobastones en este caso tuvo excelentes resultados en cuanto a la dispersión ( $\approx 1$ ) de las fases activas,<sup>1</sup> ya que, si bien no presentaron porosidad, las fases activas resultaron más expuestas al flujo de los reactantes. Y aunque desafortunadamente no pudimos probar que disminuyen los efectos difusivos intrapartícula o extrapartícula, sí obtuvimos mejores propiedades catalíticas ( $\approx 50\%$  más actividad) que un catalizador industrial contra el que se compararon (Díaz de León *et al.* 2015). En relación con esta aplicación, se ha reportado un efecto en la geometría de la fase activa dependiendo del plano en el que se sitúa sobre el soporte; la fase activa se sitúa de forma basal y tiene un ordenamiento preferencial en la dirección [001] cuando se encuentra en los planos (111) de la alúmina, mientras que de una interacción en los planos (100) se obtiene un crecimiento preferencial en la dirección [001] de la fase activa situada por los bordes del MoS<sub>2</sub> en el soporte (Sakashita y Yoneda, 1999). Otro uso que les dimos fue como soporte para la inmovilización de cloroperoxidasa (CPO), enzima que funciona como catalizador en la reacción de oxidación de dibenzotiofeno (Juárez-Moreno *et al.*, 2015). Cabe mencionar que en ambos casos las actividades observadas en sus respectivas reacciones se incrementaron considerablemente. Esto fue atribuido a la presencia de la nanoestructura y a un enriquecimiento de la superficie con aluminio, lo que propició que esta tenga un carácter más metálico y, por lo tanto, sus sitios de acidez Lewis se incrementen. Cabe mencionar que las propiedades de los nanobastones preparados con el método sol-gel suave asistido por surfactantes permite modular las propiedades texturales al calcinar las nanoestructuras a diferentes temperaturas. Pasando de 415 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> calcinando a 500 °C hasta

---

<sup>1</sup> Considere que la dispersión es el cociente de los átomos disponibles una vez impregnados entre el número total de átomos impregnados.

238 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> calcinando a 700 °C y hasta 170 m<sup>2</sup>.g<sup>-1</sup> usando 900 °C para este último tratamiento. El volumen de poro promedio formado por las redes entrelazadas de nanobastones pasó de 1.2 cm<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup> a 1.0 cm<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup> y a 0.8 cm<sup>3</sup>.g<sup>-1</sup>, respectivamente. Mientras que el tamaño de poros promedio se incrementó de 11.9 nm a 17.2 nm y hasta a 21.3 nm con el aumento respectivo de la temperatura de calcinación. De hecho, el material que resultó ser el mejor para poder inmovilizar la CPO y al mismo tiempo llevar a cabo la actividad catalítica fue el calcinado a 700 °C. En el caso de las nanoesferas huecas formadas por los nanocinturones y nanobastones las utilizamos para la deshidratación catalítica de 2-propanol con excelentes resultados.

Estos trabajos muestran la importancia de la morfología en las propiedades generales de la alúmina; quisiéramos hacer énfasis en que un simple tratamiento térmico puede tener un efecto significativo en las propiedades texturales, morfológicas y por supuesto en la actividad catalítica (Juárez-Moreno *et al.*, 2015). Como también lo demostraron Cheng y colaboradores, ellos observaron la formación de nanoplatos de alúmina al cambiar la temperatura de síntesis, lo cual generó un aumento en la acidez del material a diferencia del material sin tratamiento térmico (Jun-Cheng *et al.*, 2006).

Como puede apreciarse, las propiedades de los nanomateriales de alúmina sintetizados por los diversos métodos mencionados en párrafos anteriores son muy variados, así como las propiedades texturales, morfológicas y estructurales obtenidas. Sin embargo, de manera general puede concluirse que los nanomateriales de Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> obtenidos presentaron mejores propiedades que la alúmina de bulto sin morfología definida.

Por otra parte, cada vez existen más reportes de catalizadores preparados sobre nanoalúmina para muy diversas aplicaciones, por ejemplo, Shi y colaboradores reportaron el uso de nanopartículas de alúmina de diferentes tamaños para depositar 1% de Pd (Shi *et al.*, 2023). Los autores tomaron alúminas de 10 nm, 20-50 nm, 50 nm y 1000-2000 nm para hacer las impregnaciones por llenado de poro, encontrando que la conversión de metano tenía una curva de actividad a menores temperaturas con los catalizadores soportados en la alúmina nano de 10 nm. Y que para llegar a la misma conversión debían aumentar de manera significativa la temperatura de reacción. Debido a este problema, los autores analizaron los catalizadores en condiciones de flujo continuo para probar su estabilidad a largo plazo, encontrando que la alúmina nano de 10 nm de tamaño promedio era la más estable de entre los materiales estudiados. Por su parte, Arul y colaboradores prepararon catalizadores de Co/Cu sobre nanoesferas de alúmina de 62 nm encontrando que el catalizador era térmicamente estable hasta 750 °C para ser usado en la preparación de hidrocarburos lineales de cadena larga (Jayan, Dawn, y Vinoth Kumar, 2020). Asimismo, Khajeh y colaboradores informaron que un catalizador Ni soportado en nanoalúmina resultó con el mejor comportamiento catalítico en comparación con los catalizadores preparados sobre nanocería y cliptilopita en el reformado seco de metano (Khajeh Talkhoncheg y Haghighi, 2015).

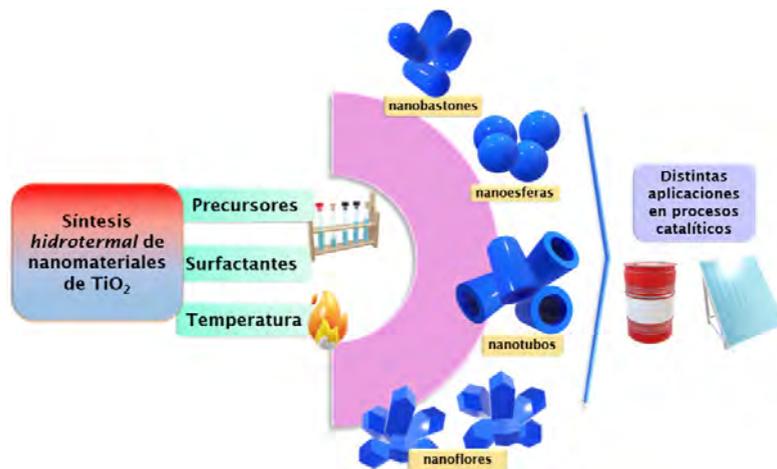
## Síntesis y propiedades de nanopartículas de Titania

El óxido de titanio ( $\text{TiO}_2$ ) comúnmente se ocupa como base del color blanco en muchos tipos de pintura, papel, fibras sintéticas, alimentos y cosméticos (Haider, Jameel y Al-Hussaini, 2019). Sin embargo, de manera general, el  $\text{TiO}_2$  es un semiconductor tipo n con una banda de conducción de 3.2 eV, con excelentes propiedades electrónicas y ópticas, además tiene alta estabilidad física y química. Estas propiedades hacen que este óxido pueda utilizarse en muchos otros campos como en celdas solares, sensores, electroquímica y fotocatálisis. A partir de los años 70 el uso de este óxido se acrecentó como soporte para procesos catalíticos. Por ejemplo, Fujishima y Honda diseñaron un electrodo de  $\text{TiO}_2$  que aplicaron para la fotólisis del agua (Fujishima y Honda, 1972). Este electrodo se puso conectado con un electrodo de platino y se aplicó una carga externa. Al irradiar el electrodo de  $\text{TiO}_2$  se observó que la corriente fluía del electrodo de platino al de  $\text{TiO}_2$  a través del circuito externo. Esto reveló que la reacción de oxidación ocurría en este electrodo de  $\text{TiO}_2$  y que la reducción se llevaba a cabo en el de platino. Otro ejemplo es su empleo en equipos comerciales para el control de contaminantes del aire, usado como soporte para sistemas de reducción catalítica selectiva por Matsuda y Kato (1983). Cabe mencionar que los procesos catalíticos han sucedido históricamente sobre materiales con sitios específicos a escala nanométrica. Esto pasó desapercibido o no podía describirse por muchos años, es hasta los años 80 con la invención del microscopio de efecto túnel por Binning y Rohrer que fue posible observar átomos individuales. Esto permitió el desarrollo de la nanotecnología y el estudio de los materiales catalíticos a esta escala. Observar la morfología ha permitido correlacionar su desempeño en algún proceso catalítico con la forma de la nanopartícula. En la Titania destacan los trabajos en los que se puede sintetizar con forma de nanoesferas e incluso a estas alturas ya se encuentra a la venta de forma comercial (Titania degusa). Además de las nanoesferas, destacan algunas morfologías como lo son los nanobastones, nanotubos, nanovarillas y materiales mesoporosos/nanoporosos (Chen y Mao, 2006).

Entre los métodos de síntesis más estudiados para obtener nanomateriales de Titania se encuentran el sol-gel, hidrotermal, solvotermal y depósito de vapor químico (Chen y Mao, 2006). Donde pequeñas variaciones paramétricas nos permiten obtener morfologías diversas como se puede apreciar en la figura 4. Por ejemplo, dentro de nuestro equipo de investigación se han obtenido nanobastones utilizando el método hidrotermal; a partículas micro y nanométricas de  $\text{TiO}_2$  se les añadió una solución de NaOH, la mezcla resultante fue colocada en una autoclave a 140 °C por diferentes tiempos (Díaz de León *et al.*, 2019). Esto permitió a Díaz de León y colaboradores observar la formación de nanohojas laminares 2D a 5 horas de tratamiento, coincidiendo con lo reportado por Zhang y colaboradores (Z. Zhang *et al.*, 2010). A partir de las 15 horas de síntesis hidrotermal estas estructuras laminares se separan

formando nanobastones de titanatos de sodio bien definidos con diámetros de 9 nm y longitudes cercanas a los 100 nm. Posteriormente, con tratamientos ácidos usando HCl y HNO<sub>3</sub> a distintas concentraciones, se logró controlar el diámetro y longitud de los bastones. Partiendo de estructuras con longitudes de 107 ± 23 nm se pudieron obtener nanobastones de hasta 40 nm de largo, conservando su diámetro en no menos de 8.6 nm (Díaz de León *et al.*, 2021). Sin embargo, previamente, Kasuga y colaboradores habían reportado que, con una síntesis hidrotermal parecida, pero a 110 °C y limpiando los titanatos con HCl se obtenían nanotubos de Titania (Kasuga *et al.*, 1999). Otro trabajo similar reportado por Sun y colaboradores menciona que los nanotubos obtenidos no son de TiO<sub>2</sub> sino más bien de H<sub>2</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>7</sub> (Sun y Li, 2003). En esta misma dirección, Ota y colaboradores reportaron que usando nanopartículas de TiO<sub>2</sub> se pueden obtener los nanotubos sin la necesidad de un tratamiento hidrotermal (Ota *et al.*, 2018). Los autores mencionan que solamente utilizando HCl sobre las nanopartículas y controlando el tiempo de contacto se pueden obtener los nanotubos con excelentes propiedades texturales.

Figura 4. Síntesis hidrotermal de nanomateriales de TiO<sub>2</sub> con distintas morfologías.



Fuente: Elaboración de los autores.

Asimismo, variaciones en los precursores del titanio podrían ser significativos en cuanto a la morfología, debido a que si utilizamos isopropóxido de titanio podría dar como resultado la formación de nanohojuelas según lo reportado por Gopal y Basha (2018). No obstante, utilizando el isopropóxido en conjunto con solventes como alcohol isopropílico y N,N-dimetilformamida, en esa misma síntesis hidrotermal a 200 °C durante 20 horas y con tratamientos térmicos de secado y calcinado, podemos obtener morfologías que asemejan flores (J. Wang *et al.*, 2021).

Es bien conocido que este óxido puede funcionar como excelente soporte catalítico, pues las nanopartículas metálicas con la superficie presentan una buena interacción (Tauster *et al.*, 1981). Se ha reportado también que esas interacciones inducen cambios en posición, dirección de crecimiento de las nanopartículas, en la actividad catalítica y que pueden además modificar la selectividad de las reacciones (Díaz De León *et al.*, 2017 y 2018). Estudios recientes revelaron que para reacciones de oxidación de tolueno, xileno y benceno es mejor utilizar la fase rutilo debido probablemente a su alta estabilidad termodinámica y a que presenta una baja interacción metal soporte. Sin embargo, la gran mayoría de los catalizadores reportados en la literatura hacen uso de la fase anatasa (Bagheri *et al.*, 2014). Normalmente, el comportamiento catalítico de un catalizador heterogéneo es determinado principalmente por el tamaño de partícula logrado. Por ejemplo, en el caso de nanopartículas de Au en donde la Titania ha demostrado ser un excelente soporte, según los reportes de Bamwenda y colaboradores (Bamwenda *et al.*, 1997) para nanopartículas, y de Guo y colaboradores (Guo *et al.*, 2023) para átomos solitarios. Ghampson y colaboradores también usaron este soporte para depositar Re-MoOx así como Re-Vox encontrando notable dispersión de las fases activas sobre nanopartículas de TiO<sub>2</sub> (Ghampson *et al.*, 2017). De hecho, Zhong y colaboradores reportaron un estudio sistemático del efecto de la morfología de este óxido, depositando Ru por un método fotoquímico a temperatura ambiente (Zhong *et al.*, 2023). Los autores usaron nanoesferas, nanohojas, nanocinturones y nanoaglomerados de TiO<sub>2</sub> en su fase anatasa, para depositar 5% en peso de Ru. Encontrando diferencias claras en la selectividad de la hidroxilación de guaiacol, con las nanohojas obtuvieron principalmente ciclohexanol, mientras que con los nanocinturones el producto principal fue metoxihexanol y, finalmente, con las nanopartículas se obtuvo ciclohexano, que es el producto totalmente hidrogenado.

## Síntesis y propiedades de nanopartículas de otros óxidos

Otros de los óxidos metálicos utilizados en la catálisis es el dióxido de zirconio. Distintos estudios han analizado el efecto de la morfología de este material: desde materiales mesoestructurados, nanobastones o nanoestrellas. En el trabajo de Liu y colaboradores, se investiga el efecto de la morfología de soportes de ZrO<sub>2</sub> en la reducción catalítica a bajas temperaturas de NO (Liu *et al.*, 2019). Los materiales fueron sintetizados a partir del método de autoensamblaje inducido por evaporación y solvotermal, los cuales presentan estructuras definidas desde nanoesferas huecas, nanovarillas y nanoestrellas. Las principales diferencias de estos soportes se encuentran en las propiedades ácidas y texturales de los materiales, además, se muestra que las fases cristalinas expuestas en la superficie y en el bulto dependen de la morfología obtenida.

La conversión de CO<sub>2</sub> y el posterior uso de carbón como fuente de energía son tecnologías de gran interés para combatir el continuo deterioro am-

biental. En esta dirección, la síntesis Fischer-Tropsch, la reacción de Sabatier al igual que la reacción de desplazamiento de gas de agua aparecen como una alternativa para recuperar y aprovechar el  $\text{CO}_2$ . Estas reacciones suelen utilizar como catalizadores materiales de  $\text{TiO}_2$ ,  $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Al}_2\text{O}_3$ ,  $\text{ZrO}_2$  o  $\text{CeO}_2$  con metales nobles (Ru, Rh y Pd) o hierro como fases activas (Khdary *et al.*, 2022). Además, diversos estudios muestran que este tipo de reacciones dependen de la morfología y estructura del catalizador. Por ejemplo, Yao y colaboradores estudiaron la hidrogenación de  $\text{CO}_2$  en una serie de materiales de  $\text{FeO}_x$ , donde observan que la formación de nanovarillas tiene un efecto adverso, en comparación con catalizadores de nanopartículas (Yao *et al.*, 2021). Por otra parte, Puga y Corma usaron nanopartículas de Ni-Fe bajo luz solar para la hidrogenación de  $\text{CO}_2$  (Puga y Corma, 2018). Los autores reportaron que el contacto entre las fases cristalinas de NiO y  $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$  mejoró debido a su interacción cercana dentro de las nanopartículas, derivando en catalizadores eficaces para la generación de alcanos ligeros. Para el caso de la reacción de desplazamiento de vapor de agua, Romero-Núñez y colaboradores prepararon catalizadores de Ni soportados en nanobastones de  $\text{CeO}_2$  dopados, encontrando una clara mejora de la selectividad a medida que existe dopaje de Ni en los nanobastones de ceria. Además, la presencia de Ni modificó favorablemente la selectividad inhibiendo la reacción de metanación y mejorando la estabilidad de los catalizadores (Romero-Núñez *et al.*, 2018). Otro ejemplo del uso del óxido de cerio es en la oxidación de CO donde se reportó que las nanovarillas presentan una mejor actividad a comparación de las nanopartículas debido a una mayor exposición de los planos (110) (Mai *et al.*, 2005).

Asimismo, Trovarelli y colaboradores mostraron que particularmente para el óxido de cerio ( $\text{CeO}_2$ ) es importante el control de la forma y el tamaño, ya que esto induce diferencias significativas en sus propiedades catalíticas. El control de la superficie del  $\text{CeO}_2$  afecta directamente la reactividad de los iones  $\text{Ce}^{+4}/\text{Ce}^{3+}$  si se modifica la cantidad de oxígeno disponible para ser captado-liberado (*oxygen storage capacity (OSC)*). Este efecto también puede impactar directamente las interacciones metal-soporte y con esto modificar la dispersión de las nanopartículas depositadas. Los autores mencionan que el OSC se incrementa con la siguiente tendencia nanohojas > nanocubos > nanobastones > nanopoliedros. (Trovarelli y Llorca, 2017). Wu y colaboradores reportaron la oxidación de CO con nanobastones, nanocubos y octaedros, encontrando que los nanobastones fueron los más activos, seguidos por los nanocubos y al final los octaedros (Wu *et al.*, 2012). Esto coincide con lo reportado por Zhou y colaboradores, quienes mostraron que los nanobastones presentan una mayor actividad durante la oxidación de CO en comparación con otras formas de nanopartículas. Lo anterior se debe a una mayor exposición de los planos reactivos (001) y (110) en las nanovarillas (Zhou *et al.*, 2005). López-Rodríguez y colaboradores mostraron recientemente qué catalizadores bimetalicos de Cu-Pt tenían variaciones en su conversión de metanol al ser depositados en óxidos de cerio con diferentes morfologías nanométricas. Las nanopartículas

impregnadas con 5% de Pt incrementaron su conversión a partir de 200 °C. Asimismo, los nanopoliedros y los nanobastones a 250 °C obtuvieron cerca del 45% de conversión, mientras que sobre los nanocubos solo se obtuvo cerca del 17%. Cuando se les impregnó % de Cu y 1% de Pt los nanopoliedros obtuvieron la mayor conversión a 250 °C seguidos de los nanobastones y con la menor conversión los nanocubos (López-Rodríguez *et al.*, 2022).

Adicionalmente, se ha reportado el uso de nanoestructuras de óxidos binarios como el bismuto de tungsteno, en reacciones fotocatalíticas. En el trabajo realizado por Zhang y colaboradores, se muestra la formación de estructuras de tipo flor conformadas por sub-bloques de nanoláminas de  $\text{Bi}_2\text{WO}_6$  con actividad fotocatalítica superior a la del  $\text{TiO}_2$ . Como explicación a este aumento de actividad, se atribuyó la facilidad de transporte a la estructura jerárquica presente en el material (Zhang *et al.*, 2007).

Los óxidos de metales preciosos, como el  $\text{RuO}_2$  y  $\text{IrO}_2$ , son utilizados en reacciones electrocatalíticas como la electrólisis de agua. Ambos sistemas cristalizan en la estructura del rutilo, y estudios se enfocan generalmente en la superficie (110), la cual es la más estable y expuesta de estos materiales. Sin embargo, algunos trabajos señalan sensibilidad estructural durante la reacción de evolución del oxígeno (OER), donde se espera una mayor actividad si la superficie expuesta corresponde a los planos (100) (Over, 2021), esto se atribuye a una mayor exposición de átomos coordinativamente insaturados de Ru e Ir sobre esta familia de planos.

Los métodos de síntesis pueden permitir el control de la forma de las partículas, como en el trabajo de Hankova y colaboradores, donde se presenta una metodología de deposición de nanopartículas de vanadio por un método físico utilizando un sistema compuesto de un magnetrón y una fuente de gas de agregación. En el trabajo se muestran las condiciones necesarias para llegar a obtener películas compuestas de nanopartículas o nanoesferas, dependiendo de la atmósfera y corriente utilizada (Hanková *et al.*, 2022).

## Nanopartículas de metales

A pesar de que la mayoría de los catalizadores en la industria tienen como componente principal un soporte inerte, como lo es en principio la alúmina. Antes de continuar cabe mencionar que, para ciertas reacciones, la alumina no es inerte y que incluso en catalizadores de hidropcesamiento puede formar espinelas superficiales debido a la migración de las especies superficiales de Ni o Co, y, dependiendo de su acidez, llevar a cabo deshidrataciones o deshidrogenaciones (Laurenti *et al.*, 2013; Phung *et al.*, 2015; Busca, 2014). Debido a esto, diversos estudios se han enfocado en determinar las características, exclusivamente, de nanopartículas o nanoclústers metálicos que funcionan como fases activas sin involucrar el efecto de su interacción con el óxido acarreador (Flytzani-Stephanopoulos, 2014). Lo anterior ha permiti-

do determinar y relacionar la actividad catalítica de estas nanoestructuras metálicas con su forma, tamaño y orientación, similar a lo comentado en secciones anteriores.

Comenzando por el platino, uno de los metales preciosos utilizados como fase activa en reacciones de electrocatálisis e hidrogenación. En el trabajo de Bratlie y colaboradores, se estudia la hidrogenación del benceno utilizando nanopartículas de Pt de forma cúbica y cuboctaédrica (Bratlie *et al.*, 2007). Los resultados muestran un cambio evidente en la selectividad debido a una mayor exposición de los planos (111) en la superficie de los cuboctaedros, donde se promueve la producción de ciclohexano a diferencia de las estructuras cúbicas donde no existe la presencia de estos planos. El níquel también es un buen catalizador en reacciones de hidrogenación, y, al igual que el Pt, muestra una diferencia en la actividad catalítica durante la hidrogenación de glucosa. En el estudio de Fu y colaboradores, se sintetizan nanopartículas de forma esférica, varillas y cadenas de Ni, y se encuentra una mayor actividad para las partículas esféricas (Y. Fu *et al.*, 2022). Referente a reacciones electrocatalíticas, se ha encontrado por estudios teóricos y experimentales que el Pt presenta sensibilidad en la forma de las nanopartículas durante la reducción de oxígeno, donde es necesario un efecto sinérgico entre las caras (100) y (111), donde la primera adsorbe fácilmente oxígeno, pero la reducción es ineficaz, en caso contrario, la cara (111) presenta una mejor reducción, pero una menor facilidad de adsorción de oxígeno. Por lo cual, además de presentar este efecto geométrico, la presencia de un menor tamaño de partícula promocionaría la proximidad entre las diferentes especies en la superficie (Komanicky *et al.*, 2009).

Por otra parte, la Ag se utiliza como catalizador de oxidación de olefinas para la producción de productos como epóxidos o aldehídos en la industria; en el estudio de Xu y colaboradores se muestra la síntesis de nanocubos de Ag, estos exponen uno de los planos menos estables de este metal, el (100). Se encuentra que la actividad en la oxidación de estireno es hasta 4 veces mayor que al utilizar partículas cuasiesféricas (Xu *et al.*, 2006).

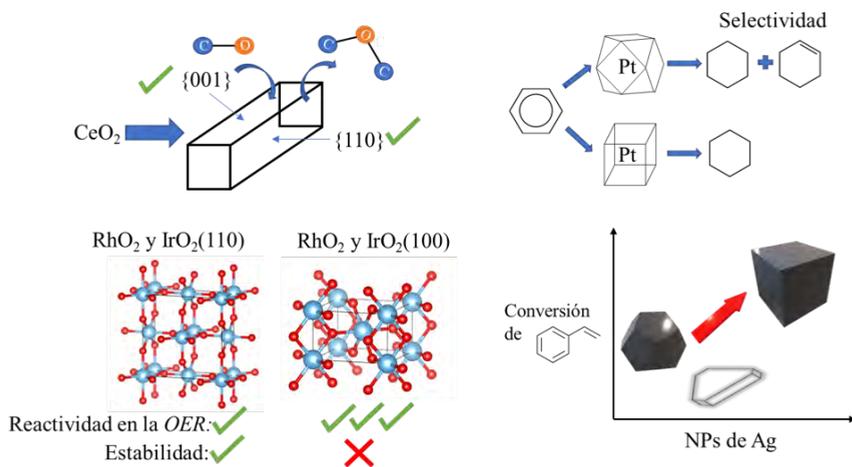
De la misma forma, existen numerosos estudios de catalizadores de nanopartículas de Au soportados en CeO<sub>2</sub> (Fu, Weber y Flytzani, 2001; Flytzani, 2014) en donde se pone de manifiesto que las nanopartículas de Au coexisten con las de Ceria formando compositos. Fu y colaboradores encontraron que la adición de oro incrementa significativamente la reducibilidad de la nanocería y que esta se correlaciona casi de manera lineal con la actividad catalítica (Q. Fu, Weber y Flytzani, 2001).

Asimismo, existen trabajos donde se muestra la síntesis de nanopartículas bimetalicas; Wang y colaboradores presentan un método para la síntesis de nanocápsulas de Pd-Au, los materiales presentaron familias de planos {730} y {221}. Estas caras fueron superiores en actividad catalítica para las reacciones de acoplamiento cruzado que las encontradas para nanocubos de Pd-Au (F. Wang *et al.*, 2011). Los autores mencionan que este incremento de

actividad se debe a que en estas caras se presentan múltiples defectos en forma de escalones salientes y pliegues.

Los trabajos presentados en esta sección muestran que la preparación de una nanopartícula metálica para su función como catalizador es muy versátil, y una simple variación en la metodología puede impactar en la actividad general del catalizador preparado debido a los efectos relacionados con la reactividad dependiente de su estructura y morfología (figura 5).

**Figura 5.** Esquemas con relación de la estructura y reactividad catalítica de algunos trabajos mencionados: a) oxidación de CO sobre nanovarillas de CeO<sub>2</sub>; b) selectividad atribuida a la estructura de nanoestructuras de Pt durante la hidrogenación de benceno; c) reactividad en distintos planos durante la OER de RhO<sub>2</sub> y IrO<sub>2</sub>, y, d) conversión de estireno en distintas nanoestructuras de Ag.



Fuente: Elaboración de los autores.

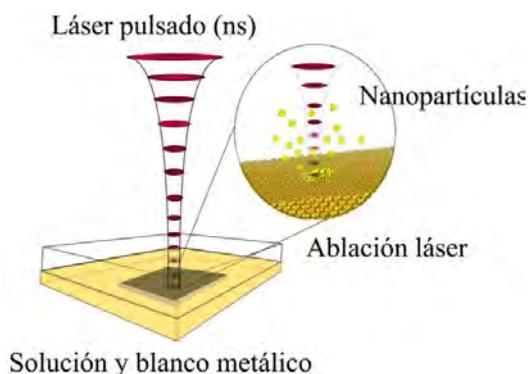
## Perspectivas

Dado que la síntesis de nanomateriales ha probado ser un área efervescente en constante crecimiento y descubrimiento, el uso de nuevas técnicas para su obtención, más allá del tradicional método sol-gel o el hidrotérmal, ha resultado ser una de las mejores opciones para controlar las propiedades de los materiales a escala nanométrica. Otras técnicas menos usadas también han dado buenos resultados al sintetizar nanopartículas, por ejemplo Son y colaboradores prepararon nanoesferas de Ag usando síntesis coloidal asistida por polivinilpirrolidona (Song *et al.*, 2014). Patiño-Guillen y colaboradores reportaron la formación de nanoesferas de carbón por medio de la pirolisis de mezclas de tolueno-etanol (Patiño-Guillén *et al.*, 2021). Afanasiev reportó la síntesis de nanoesferas huecas de MoS<sub>2</sub> por medio de un proceso de metátesis seguido de sulfuración *in situ* (Afanasiev, 2018). Mientras que Safo y colabo-

radadores reportaron la síntesis de nanocubos de Pt por medio del método de polioles usando etilenglicol (Safo *et al.*, 2019).

Una de las técnicas que está cobrando relevancia es la síntesis de nanopartículas por medio de láseres pulsados. Esta presume ser la solución para un control preciso de la concentración, tamaño, cristalinidad, fases activas, defectos y, según Forsythe y colaboradores, de las propiedades electrónicas, ópticas, térmicas, mecánicas y catalíticas de los materiales obtenidos (Forsythe *et al.*, 2021). Desde nuestro punto de vista, la mayor ventaja de esta técnica es que no se necesitan procesos largos de síntesis, reactivos costosos o el uso de surfactantes. Este método consiste en poner un objetivo metálico o un precursor soluble inmerso en un medio líquido y hacerle incidir un láser con propiedades específicas. Al momento en que el láser incide sobre la muestra se genera un plasma que está confinado por el líquido y que al mismo tiempo lo enfría. A través de este líquido es posible controlar las propiedades del nanomaterial resultante. Este proceso permite modificar la concentración de la solución manteniendo el tamaño de partícula, lo cual es especialmente interesante en el campo de la catálisis. No obstante, esta técnica no es del todo sencilla y su complejidad reside en controlar la longitud de onda del láser, la longitud del pulso, fluencia, potencia energética, velocidad de repetición y secuencia de los pulsos (figura 6).

**Figura 6.** Representación esquemática de la obtención de nanopartículas a partir de un láser pulsado de nanosegundos.



Fuente: Elaboración de los autores.

Varios autores reportan que controlar los parámetros del láser permite un control preciso del tamaño de las nanopartículas, en especial la fluencia (Forsythe *et al.*, 2021; Amendola y Meneghetti, 2013). Amendola y colaboradores reportaron que fluencias bajas producen tamaños de partícula pequeños, mientras que al aumentar la fluencia incrementa el tamaño de partícula obtenido (Amendola y Meneghetti, 2013). Los materiales sintetizados

por múltiples autores han sido usados en electrocatálisis, fotocátalisis, fotoelectrocátalisis, oxidaciones selectivas, reducciones y en deshidrogenaciones (Forsythe *et al.*, 2021). No obstante, nuevas aplicaciones son reportadas cada día, por ejemplo, en la fotooxidación de sulfametoxazol con materiales de anatasa-rutilo sintetizados con un láser de estado sólido (Zhang *et al.*, 2023).

## Conclusiones

Como puede apreciarse en este artículo, la síntesis de nanomateriales presenta múltiples variables para tener en cuenta, como el uso de agentes, directores de estructura, temperatura, metodología y precursores utilizados. Aunque no existe un método de síntesis específico para obtener nanomateriales de alúmina con las características morfológicas deseadas, actualmente la síntesis asistida por surfactantes es la más empleada debido a su buen control de la morfología, forma y tamaño. Sin embargo, las técnicas sol-gel e hidrotermal son las usadas para la síntesis de nanopartículas de  $\text{Al}_2\text{O}_3$  aplicadas en catálisis. Las nanopartículas con formas definidas como los nanobastones, nanoesferas o nanoflores han permitido encontrar propiedades mejoradas en los catalizadores preparados con respecto a los materiales sin morfología definida. Para el caso de la Titania se han obtenido diversas morfologías como nanoesferas, nanobastones, nanotubos, usando métodos de síntesis como el sol-gel, hidrotermal, solvotermal y depósito de vapor químico. Estos nanomateriales, al igual que con la alúmina, se han usado como soportes y catalizadores. Estas nanopartículas han permitido encontrar un mayor número de sitios activos, al presentar más pliegues, defectos, escalones y bordes curvados que los materiales de bulto. Otros óxidos y nanopartículas aplicadas en catálisis han demostrado excelentes propiedades al tener morfología y tamaños nanométricas como el  $\text{CeO}_2$ . En cuanto a perspectivas de métodos de síntesis sobresale la síntesis por medio de láseres pulsados, y se ofrece como una de las alternativas más atractivas de entre las técnicas nuevas reportadas, pues no hace empleo de agentes directores de estructura ni tiempos prolongados de síntesis.

## Referencias

- Afanasiev, Pavel. (2018). *Topotactic synthesis of size-tuned  $\text{MoS}_2$  inorganic fullerenes that allows revealing particular catalytic properties of curved basal planes*. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.12.012>.
- Amendola, Vincenzo, Moreno Meneghetti. (2013). What controls the composition and the structure of nanomaterials generated by laser ablation in liquid solution. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 15(9): 3027-46. The Royal Society of Chemistry: <https://doi.org/10.1039/C2CP42895D>.
- Anjali Das, C. G., V. Ganesh Kumar, T. Stalin Dhas, V. Karthick, C. M. Vineeth Kumar. (2022). Nanomaterials in anticancer applications and their mechanism of ac-

- tion-a review. *India Earth Science and Technology Cell (Marine Biotechnological Studies)*, 600119. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2022.102613>.
- Bagheri, Samira, Nurhidayatullaili Muhd Julkapli, Sharifah Bee, Abd Hamid. (2014). *Titanium dioxide as a catalyst support in heterogeneous catalysis*. <https://doi.org/10.1155/2014/727496>.
- Bamwenda, G. R., S. Tsubota, T. Nakamura, M. Haruta. (1997). The influence of the preparation methods on the catalytic activity of platinum and gold supported on TiO<sub>2</sub> for CO oxidation. *Catalysis Letters*, 44(1/2): 83-87. <https://doi.org/10.1023/A:1018925008633>.
- Bratlie, Kaitlin M., Hyunjoo Lee, Kyriakos Komvopoulos, Peidong Yang, Gabor A. Somorjai. (2007). Platinum nanoparticle shape effects on benzene hydrogenation selectivity. *Nano Letters*, 7(10): 3097-3101. <https://doi.org/10.1021/nl0716000>.
- Busca, Guido. (2014). The surface of transitional aluminas: a critical review. *Catalysis Today*, 226: 2-13. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2013.08.003>.
- Celaya, Christian A., Melissa Méndez-Galván, O. Castro-Ocampo, Leticia M. Torres-Martínez, Edith Luévano-Hipólito, Jorge Noé Díaz de León, Hugo A. Lara-García, Gabriela Díaz, Jesús Muñiz. (2022). Exploring the CO<sub>2</sub> conversion into hydrocarbons via a photocatalytic process onto M-doped titanate nanotubes (M = Ni and Cu). *Fuel*, 324(febr.). <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.124440>.
- Chen, Xiaobo, Samuel S. Mao. (2006). Synthesis of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanomaterials. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 6 (4): 906-25. <https://doi.org/10.1166/jnn.2006.160>.
- Dabbagh, Hossein A., Elham Rasti, Mohammad S. Yalfani, Francisc Medina. (2011). Formation of  $\gamma$ -alumina nanorods in presence of alanine. *Materials Research Bulletin*, 46(2). Elsevier Ltd: 271-77. <https://doi.org/10.1016/j.materresbull.2010.10.011>.
- Demir-Cakan, Rezan, Niki Baccile, Markus Antonietti, Maria-Magdalena Titirici. (2022). *Carboxylate-rich carbonaceous materials via one-step hydrothermal carbonization of glucose in the presence of acrylic acid*. <https://doi.org/10.1021/cm802141h>. (Consultado, octubre 29, 2022).
- Díaz de León, J. N., J. Antunes-García, G. Alonso-Núñez, T. A. Zepeda, D. H. Galvan, J. A. de los Reyes, S. Fuentes. (2018). Support effects of NiW hydrodesulfurization catalysts from experiments and DFT calculations. *Applied Catalysis B: Environmental*, 238(marzo): 480-90. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2018.07.059>.
- Díaz de León, J. N., J. R. Rodríguez, Joel Rojas, Y. Esqueda-Barrón, L. Cárdenas, R.K. Chowdari, Gabriel Alonso-Núñez, Sergio Fuentes-Moyado. (2019). new insight on the formation of sodium titanates 1D nanostructures and its application on CO<sub>2</sub> hydrogenation. *Frontiers in Chemistry*, 7(nov.): 1-11. <https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00750>.
- Díaz de León, J. N., J. Rojas, D. Domínguez, Y. Esqueda-Barrón, J. M. Romo-Herrera, S. Fuentes-Moyado. (2021). The effect of shape and size of 1D and 0D titanium oxide nanorods in the photocatalytic degradation of red amaranth toxic dye. *Nano-Structures and Nano-Objects*, 26. Elsevier B. V.: 100738. <https://doi.org/10.1016/j.nanoso.2021.100738>.
- Díaz de León, J. N., V. Petranovskii, J. A. de Los Reyes, G. Alonso-Núñez, T. A. Zepeda,

- Sergio Fuentes, J. L. García-Fierro. (2014). One dimensional (1D)  $\gamma$ -alumina nanorod linked networks: synthesis, characterization and application. *Applied Catalysis A: General*, 472: 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2013.12.005>.
- Díaz de León, J. N., T. A. A. Zepeda, G. Alonso-Núñez, D. H. H. Galván, B. Pawelec, S. Fuentes. (2015). Insight of 1D  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  nanorods decoration by NiWS nanoslabs in ultra-deep hydrodesulfurization catalyst. *Journal of Catalysis*, 321(ene.): 51-61. Academic Press. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2014.11.001>.
- Flytzani-Stephanopoulos, Maria. (2014). Gold atoms stabilized on various supports catalyze the water-gas shift reaction. *Accounts of Chemical Research*, 47(3): 783-92. <https://doi.org/10.1021/ar4001845>.
- Forsythe, Ryland C., Connor P. Cox, Madeleine K. Wilsey, Astrid M. Mü. (2021). *Pulsed laser in liquids made nanomaterials for catalysis*. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.0c01069>.
- Fu, Liangjie, Huaming Yang, Yuehua Hu, Di Wu, Alexandra Navrotsky. (2017). Tailoring mesoporous  $\gamma$ - $\text{Al}_2\text{O}_3$  properties by transition metal doping: a combined experimental and computational study. *Chemistry of Materials*, 29(3): 1338-49. <https://doi.org/10.1021/acs.chemmater.6b05041>.
- Fu, Qi, Adam Weber, Maria Flytzani-stephanopoulos. (2001). Nanostructured Au –  $\text{CeO}_2$  catalysts for low-temperature water – Gas Shift. *Catalysis Letters*, 77(1): 87-95. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1012666128812>.
- Fu, Yang, Benoit Pichon, François Devred, Michael L. Singleton, Sophie Hermans. (2022). Synthesis of spherical, rod, or chain ni nanoparticles and their structure – Activity relationship in glucose hydrogenation reaction. *Journal of Catalysis*, 415 (nov.): 63-76. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2022.09.028>.
- Fujishima, Akira, Kanichi Honda. (1972). Electrochemical photolysis of water at a semiconductor electrode. *Nature*, 238(5358): 38-40. <https://doi.org/10.1038/238038a0>.
- Ghampson, I. T., G Pecchi, J. L. G. Fierro, A. Videla, N. Escalona. (2017). Catalytic hydrodeoxygenation of anisole over  $\text{Re-MoO}_x/\text{TiO}_2$  and  $\text{Re-VO}_x/\text{TiO}_2$  catalysts. *Applied Catalysis B: Environmental*, 208: 60-74. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.02.047>.
- Gopal, Neeruganti O., Md Hussain Basha. (2018).  $\text{TiO}_2$  nano-flakes with high activity obtained from phosphorus doped  $\text{TiO}_2$  nanoparticles by hydrothermal method. *Ceramics International*, 44(18): 22129–34. Elsevier Ltd and Techna Group S.r.l. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2018.08.325>.
- Guo, Zhilei, Guohua Jing, Sara A. Tolba, Chung-Shin Yuan, Yu-Hua Li, Xiaowei Zhang, Zhiwei Huang, et al. (2023). Design and construction of an O-Au-O coordination environment in Au single atom-doped Ti 4+ defected  $\text{TiO}_2$  for an enhanced oxidative ability of lattice oxygen for  $\text{Hg}^0$  oxidation. *Chemical Engineering Journal*, 451: 138895. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.138895>.
- Haider, Adawiyah J., Zainab N. Jameel, Imad H. M. Al-Hussaini. (2019). Review on: titanium dioxide applications. *Energy Procedia*, 157: 17–29. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.egypro.2018.11.159>.
- Hanková, Adéla, Anna Kuzminova, Jan Hanuš, Tereza Košutová, Pavel Solař, Jaro-

- slav Kousal, Ondřej Kylián. (2022). Nanostructured and columnar vanadium and vanadium oxides films synthesized by means of magnetron-based gas aggregation source. *Surface and Coatings Technology*, 431 (febr.): 128015. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2021.128015>.
- Ingebretsen, Bradley J, Egon Matijević. (1980). Preparation of uniform colloidal dispersions by chemical reactions in aerosols-2. Spherical particles of aluminum hydrous oxide. *Journal of Aerosol Science*, 11(3): 271-80. [https://doi.org/10.1016/0021-8502\(80\)90101-9](https://doi.org/10.1016/0021-8502(80)90101-9).
- Jayan, M. Arul, S. S. Dawn, G. G. Vinoth Kumar. (2020). Facile preparation of highly dispersed copper promoted cobalt catalyst supported on alumina nanospheres. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2020.129221>.
- Jiang, Cong, Maohong Fan, Ge Gao, Wufeng Jiang, Xiaoshan Li, Cong Luo, Liqi Zhang, Fan Wu. (2022). Nanostructured ALOOH-A promising catalyst to reduce energy consumption for amine-based CO<sub>2</sub> capture. *Separation and Purification Technology*, 303: 1383-5866. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.122232>.
- Juárez-Moreno, Karla, J. Noé Díaz De León, Trino A. Zepeda, Rafael Vázquez-Duhalte, Sergio Fuentes. (2015). Oxidative transformation of dibenzothiophene by chloroperoxidase enzyme immobilized on (1D)- $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> nanorods. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*. 115. Elsevier B.V.: 90-95. <https://doi.org/10.1016/j.molcatb.2015.02.004>.
- Jun-Cheng, Li, Xiang Lan, Xu Feng, Wang Zhan-Wen, Wei Fei. (2006). Effect of hydrothermal treatment on the acidity distribution of  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> support. *Applied Surface Science*, 253(2): 766-70. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2006.01.003>.
- Kasuga, Tomoko, Masayoshi Hiramatsu, Akihiko Hoson, Toru Sekino, Koichi Niihara. (1999). Titania nanotubes prepared by chemical processing. *Advanced Materials*, 11(15): 1307-11. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1521-4095\(199910\)11:15<1307::AID-ADMA1307>3.0.CO;2-H](https://doi.org/10.1002/(SICI)1521-4095(199910)11:15<1307::AID-ADMA1307>3.0.CO;2-H).
- Kaur, Arshpreet, Bharat Bajaj, Ajeet Kaushik, Anju Saini, Dhiraj Sud. (2022). A review on template assisted synthesis of multi-functional metal oxide nanostructures: status and prospects. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2022.116005>.
- Khajeh Talkhoncheh, Saeed, Mohammad Haghghi. (2015). Syngas production via dry reforming of methane over Ni-based nanocatalyst over various supports of clinoptilolite, ceria and alumina. <https://doi.org/10.1016/j.jngse.2015.01.020>.
- Khdary, Nezar H., Alhanouf S. Alayyar, Latifah M. Alsarhan, Saeed Alshihri, Mohamed Mokhtar. (2022). Metal oxides as catalyst/supporter for CO<sub>2</sub> capture and conversion, review. *Catalysts*, 12(3), 300; <https://doi.org/10.3390/catal12030300>.
- Komanicky, Vladimir, Hakim Iddir, Kee-Chul Chang, Andreas Menzel, Goran Karapetrov, Daniel Hennessy, Peter Zapol, and Hoydoo You. (2009). Shape-dependent activity of platinum array catalyst. *Journal of the American Chemical Society*, 131(16): 5732-33. <https://doi.org/10.1021/ja900459w>.
- László, Balázs, Kornélia Baán, Zsuzsa Ferencz, Gábor Galbács, Albert Oszkó, Zoltán Kónya, János Kiss, András Erdőhelyi. (2018). Gold size effect in the thermal-induced reaction of CO<sub>2</sub> and H<sub>2</sub> on titania- and titanate nanotube-supported

- gold catalysts. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 19(1): 470-77. <https://doi.org/10.1166/jnn.2019.15772>.
- Laurenti, Dorothée, Bo Phung-Ngoc, Charbel Roukoss, Elodie Devers, Karin Marchand, Laurence Massin, Laurent Lemaitre, Cristèle Legens, Anne Agathe Quoineaud, Michel Vrinat. (2013). Intrinsic potential of alumina-supported CoMo catalysts in HDS: comparison between  $\Gamma_c$ ,  $\Gamma_t$ , and  $\delta$ -alumina. *Journal of Catalysis*, 297(ene.): 165-75. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2012.10.006>.
- Liu, Fang, Xiaohai Zheng, Jiebo Chen, Ying Zheng, Lilong Jiang. (2015). Controlling the synthesis and application of nanocrystalline spherical and ordered mesoporous alumina with high thermal stability. *RSC Advances*, 5(114): 93917-25. <https://doi.org/10.1039/C5RA12111F>.
- Liu, Shanshan, Hao Wang, Ying Wei, Runduo Zhang, Sebastien Royer. (2019). Morphology-oriented  $ZrO_2$ -supported vanadium oxide for the  $NH_3$ -SCR process: importance of structural and textural properties. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 11(25): 22240-54. <https://doi.org/10.1021/acsami.9b03429>.
- López-Rodríguez, L., Araiza, D. G., Arcos, D. G., Gómez-Cortés, A. y Díaz, G. (2022). Bimetallic Cu-Pt catalysts over nanoshaped ceria for hydrogen production via methanol. decomposition. *Catalysis Today*, 394-396(jul.): 486-498. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2021.07.003>.
- Mai, Hao-Xin, Ling-Dong Sun, Ya-Wen Zhang, Rui Si, Wei Feng, Hong-Peng Zhang, Hai-Chao Liu, Chun-Hua Yan. (2005). Shape-selective synthesis and oxygen storage behavior of ceria nanopolyhedra, nanorods, and nanocubes. *The Journal of Physical Chemistry B*, 109(51): 24380-85. <https://doi.org/10.1021/jp055584b>.
- Martín, Nancy, Margarita Viniegra, Rubicelia Vargas, Jorge Garza. (2021). Nanostructured oxides of transition metals with applications in catalysis. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*, 14(26): 1-16.
- Matsuda, S., A. Kato. (1983). Titanium oxide based catalysts - A review. *Applied Catalysis*, 8(2): 149-65. [https://doi.org/10.1016/0166-9834\(83\)80076-1](https://doi.org/10.1016/0166-9834(83)80076-1).
- Mendoza-Núñez, E. M., A. Solís-García, C. Ortiz-Domínguez, C. E. Soto-Arteaga, D. Domínguez, O. E. Contreras, S. Fuentes-Moyado, J. N. Díaz de León. (2022). Insight into alcohol transformation over binary  $Al_2O_3$ - $Y_2O_3$  mixed oxide nanoparticles. *Applied Catalysis B: Environmental*, mayo, 121567. <https://doi.org/10.1016/J.APCATB.2022.121567>.
- Ota, Misaki, Yuichiro Hirota, Yoshiaki Uchida, Yasuhiro Sakamoto, Norikazu Nishiyama. (2018). Low temperature synthesized  $H_2Ti_3O_7$  nanotubes with a high  $CO_2$  adsorption property by amine modification. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.8b00317>.
- Ouyang, Yuge, Xiaofei Li, Fei Ding, Liuyang Bai, Fangli Yuan. (2020). Simultaneously enhance thermal conductive property and mechanical properties of silicon rubber composites by introducing ultrafine  $Al_2O_3$  nanospheres prepared via thermal plasma. *Composites Science and Technology*, 190: 108019. <https://doi.org/10.1016/j.compscitech.2020.108019>.
- Over, Herbert. (2021). Fundamental studies of planar single-crystalline oxide model

- electrodes (RuO<sub>2</sub>, IrO<sub>2</sub>) for acidic water splitting. *ACS Catalysis*, 11(14): 8848-71. <https://doi.org/10.1021/acscatal.1c01973>.
- Patiño-Guillén, Gerardo, Alan Arceta-Lozano, Jessica A. Falcón-Montes, Esmeralda García-Díaz, Jorge Noé Díaz de León, Rafael Vázquez-Duhalt, Guanhui Gao, Miguel Ángel Méndez-Rojas, Jessica Campos-Delgado. (2021). Simple *in situ* functionalization of carbon nanospheres. *Nanotechnology*, 32(8). IOP Publishing: 085602. <https://doi.org/10.1088/1361-6528/abc8b3>.
- Peláez, Miguel, Nicholas T. Nolan, Suresh C. Pillai, Michael K. Seery, Polycarpus Falaras, Athanassios G. Kontos, Patrick S. M. Dunlop *et al.* (2012). A review on the visible light active titanium dioxide photocatalysts for environmental applications. *Applied Catalysis B, Environmental*, 125: 331-49. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2012.05.036>.
- Phung, Thanh Khoa, Lorian Proietti Hernández, Alberto Lagazzo, Guido Busca. (2015). Dehydration of ethanol over zeolites, silica alumina and alumina: lewis acidity, brønsted acidity and confinement effects. *Applied Catalysis A: General*, 493: 77-89. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.apcata.2014.12.047>.
- Puga, Alberto V., Avelino Corma. (2018). Hydrogenation of CO<sub>2</sub> on nickel-iron nanoparticles under sunlight irradiation. *Topics in Catalysis*, 61(18-19): 1810-19. Springer US. <https://doi.org/10.1007/s11244-018-1030-2>.
- Romero-Núñez, Araceli, Antonio Gómez-Cortés, Hugo Tiznado, Gabriela Díaz. (2018). *Ni-doped ceria nanorods for the WGS reaction: effect of Ni distribution in methane suppression*. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2018.09.009>.
- Safo, I. A., M. Werheid, C. Dosche, M. Oezaslan. (2019). The role of polyvinylpyrrolidone (PVP) as a capping and structure-directing agent in the formation of Pt nanocubes. *Nanoscale Advances*, 1(8): 3095-3106. Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/C9NA00186G>.
- Sakashita, Y., T. Yoneda. (1999). Orientation of MoS<sub>2</sub> clusters supported on two kinds of  $\gamma$ -Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> single crystal surfaces with different indices. *Journal of Catalysis*, 185(2): 487-95. <https://doi.org/10.1006/jcat.1999.2504>.
- Satterfield, Charles N. (1991). *Heterogeneous Catalysis in Practice*. EUA: McGraw-Hill.
- Shi, Wei, Guangyan Xu, Xuewang Han, Yingjie Wang, Zhi Liu, Sen Xue, Nannan Sun *et al.* (2023). Nano-sized alumina supported palladium catalysts for methane combustion with excellent thermal stability. *Journal of Environmental Sciences*, 126: 333-47. <https://doi.org/10.1016/j.jes.2022.04.030>.
- Shojaie-Bahaabad, M., E. Taheri-Nassaj. (2008). *Economical synthesis of nano alumina powder using an aqueous sol-gel method*. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2008.03.012>.
- Song, Yuan Jun, Mingliang Wang, Xiao Yang Zhang, Jing Yuan Wu, Tong Zhang. (2014). Investigation on the role of the molecular weight of polyvinyl pyrrolidone in the shape control of highyield silver nanospheres and nanowires. *Nanoscale Research Letters*, 9(1). Springer New York LLC. <https://doi.org/10.1186/1556-276X-9-17>.
- Sun, Xiaoming, Yadong Li. (2003). Synthesis and characterization of ion-exchangeable titanate nanotubes. *Chemistry - A European Journal*, 9(10): 2229-38. <https://doi.org/10.1002/chem.200204394>.

- Tauster, S. J., S. C. Fung, R. T. K. Baker, J. A. Horsley. (1981). Strong interactions in supported-metal catalysts. *Science*, 211(4487): 1121-25. <https://doi.org/10.1126/science.211.4487.1121>.
- Topsøe, Henrik, Bjerne S. Clausen, Franklin E. Massoth. (1996). Hydrotreating catalysis. *Catalysis*, 1-269. [https://doi.org/10.1007/978-3-642-61040-0\\_1](https://doi.org/10.1007/978-3-642-61040-0_1).
- Trovarelli, A. y Llorca, J. (2017). Ceria catalysts at nanoscale: how do crystal shapes catalysis? *ACS Catalysis*, 7(7): 4716-4735. <https://doi.org/10.1021/acscatal.7b01246>.
- Trueba, Monica, Stefano P. Trasatti. (2005).  $\gamma$ -alumina as a support for catalysts: a review of fundamental aspects. *European Journal of Inorganic Chemistry*, 17: 3393-3403. <https://doi.org/10.1002/ejic.200500348>.
- Valadez-Rentería, Ernesto, Rafael Pérez-González, Christian Gómez-Solís, Luis Armando Díaz-Torres, Armando Encinas, Jorge Oliva, Vicente Rodríguez-González. (2023). A novel and stretchable carbon-nanotube/Ni@TiO<sub>2</sub>:W photocatalytic composite for the complete removal of diclofenac drug from the drinking water. *Journal of Environmental Sciences*, 126(abr.): 575-89. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/J.JES.2022.05.028>.
- Wang, Feng, Chuanhao Li, Ling-Dong Sun, Haoshuai Wu, Tian Ming, Jianfang Wang, Jimmy C. Yu, Chun-Hua Yan. (2011). Heteroepitaxial growth of high-index-faceted palladium nanoshells and their catalytic performance. *Journal of the American Chemical Society*, 133(4): 1106-11. <https://doi.org/10.1021/ja1095733>.
- Wang, Junlei, Kuan Wang, Zhen Hong He, Song Song Li, Rong Rong Zhang, Pengfei Guo, Weitao Wang, Yang Yang, Zhao Tie Liu. (2021). Solvent-induced synthesis of hierarchical TiO<sub>2</sub> nanoflowers with tunable morphology by monolayer self-assembly for probing the photocatalytic performance. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 0123456789. Springer Berlin Heidelberg. <https://doi.org/10.1007/s40097-021-00445-2>.
- Wu, Z., Li, M. y Overbury, S. H. (2012). On the structure dependence of CO oxidation over CeO<sub>2</sub> nanocrystals with well-defined surface planes. *Journal of Catalysis*, 285(1): 61-73. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2011.09.01>.
- Xu, Run, Dingsheng Wang, Jiatao Zhang, Yadong Li. (2006). Shape-dependent catalytic activity of silver nanoparticles for the oxidation of styrene. *Chemistry – An Asian Journal*, 1(6): 888-93. <https://doi.org/10.1002/asia.200600260>.
- Yao, Ruwei, Jian Wei, Qingjie Ge, Jing Xu, Yu Han, Hengyong Xu, Jian Sun. (2021). Structure sensitivity of iron oxide catalyst for CO<sub>2</sub> hydrogenation. *Catalysis Today*, 371(jul.): 134-41. <https://doi.org/10.1016/j.cattod.2020.07.073>.
- Yuan, Quan, An-Xiang Yin, Chen Luo, Ling-Dong Sun, Ya-Wen Zhang, Wen-Tao Duan, Hai-Chao Liu, Chun-Hua Yan. (2008). Facile synthesis for ordered mesoporous  $\gamma$ -aluminas with high thermal stability. *Journal of the American Chemical Society*, 130(11): 3465-72. <https://doi.org/10.1021/ja0764308>.
- Zhang, Lisha, Wenzhong Wang, Zhigang Chen, Lin Zhou, Haolan Xu, Wei Zhu. (2007). Fabrication of flower-like Bi<sub>2</sub>WO<sub>6</sub> superstructures as high performance visible-light driven photocatalysts. *Journal of Materials Chemistry*, 17(24): 2526. <https://doi.org/10.1039/b616460a>.

- Zhang, Shilan, Songsong Zhi, Hongju Wang, Jing Guo, Weihao Sun, Lu Zhang, Yi Jiang, Xiaguang Zhang, Kai Jiang, Dapeng Wu. (2023). Laser-assisted rapid synthesis of anatase/rutile TiO<sub>2</sub> heterojunction with function-specified micro-zones for the effective photo-oxidation of sulfamethoxazole. *Chemical Engineering Journal*, 453: 139702. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2022.139702>.
- Zhang, Zhice, Josephine B. M. Goodall, Sonal Brown, Lisa Karlsson, Robin J. H. Clark, John L. Hutchison, I. U. Rehman, Jawwad A. Darr. (2010). Continuous hydrothermal synthesis of extensive 2D sodium titanate (Na<sub>2</sub>Ti<sub>3</sub>O<sub>7</sub>) nano-sheets. *Dalton Transactions*, 39(3): 711-14. <https://doi.org/10.1039/b915699b>.
- Zhong, Zhuojie, Junxuan Li, Minyin Jian, Riyang Shu, Zhipeng Tian, Chao Wang, Ying Chen, Ning Shi, Yanxue Wu. (2023). Hydrodeoxygenation of lignin-derived phenolic compounds over Ru/TiO<sub>2</sub> catalyst: effect of TiO<sub>2</sub> morphology. *Fuel*, 333. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2022.126241>.
- Zhou, K., X. Wang, X. Sun, Q. Peng, Y. Li. (2005). Enhanced catalytic activity of ceria nanorods from well-defined reactive crystal planes. *Journal of Catalysis*, 229(1): 206-12. <https://doi.org/10.1016/j.jcat.2004.11.004>.

# Nanopartículas metálicas: una alternativa para combatir la resistencia de especies causantes de la candidiasis

## Metallic nanoparticles: an alternative against resistant species causing candidiasis

Luis Enrique García-Marín,\* Ernestina Castro-Longoria\*<sup>†</sup>

**ABSTRACT:** Candidiasis is a disease caused by different *Candida* species, with *C. albicans* being the most common in clinical isolates worldwide. This disease is a problem for the health sector, due to the multiresistance that some *Candida* species present to the antifungals traditionally used. *C. glabrata* and *C. auris* are two species frequently reported as resistant to azoles, echinocandins and polyenes. Therefore, the search for new antifungals is a priority. Nanotechnology offers new alternatives, such as the use of metallic nanoparticles (NPs). In particular, silver and copper NPs have been reported as efficient inhibition agents against *C. albicans*. This paper presents the most relevant studies that have evaluated the effect of metallic NPs in *Candida* spp., as well as the most promising results.

**KEYWORDS:** *Candida*, antifungals, multiresistance, nanotechnology.

**RESUMEN:** La candidiasis es provocada por diferentes especies del género *Candida*, siendo *C. albicans* la más común en los aislados clínicos a nivel mundial. Esta enfermedad es un problema para el sector salud, debido a la multiresistencia que algunas especies de *Candida* presentan a los antifúngicos tradicionalmente utilizados para controlar la enfermedad. Tal es el caso de *C. glabrata* y recientemente *C. auris*, las cuales son resistentes a los azoles, las equinocandinas y a los polioenos; por lo cual, la búsqueda de nuevos antifúngicos es una prioridad. La nanotecnología ofrece nuevas alternativas, como el uso de las nanopartículas (NPs) metálicas, en particular, las de plata y cobre han mostrado ser eficientes para la inhibición de *C. albicans*. En este trabajo se presentan los estudios más relevantes que han evaluado el efecto de las NPs metálicas en especies del género *Candida*, así como los resultados más prometedores.

**PALABRAS CLAVE:** *Candida*, antifúngicos, multiresistencia, nanotecnología.

## Introducción

Las especies del género *Candida* son microorganismos clasificados como comensales, ya que forman parte de la microbiota humana y se localizan en los tractos gastrointestinales, genitales y en la piel (Pfaller *et al.*, 2007; Mixão, 2020). Sin embargo, en personas inmunosuprimidas o médicamente comprometidas, *Candida* puede provocar una candidiasis. La candidiasis es la enfer-

---

Recibido: 11 de noviembre, 2022. Aceptado: 2 de mayo, 2023. Publicado: 23 de mayo, 2023.

\* Centro de Investigación Científica y de Educación Superior de Ensenada, Departamento de Microbiología. Ensenada, Baja California, México.

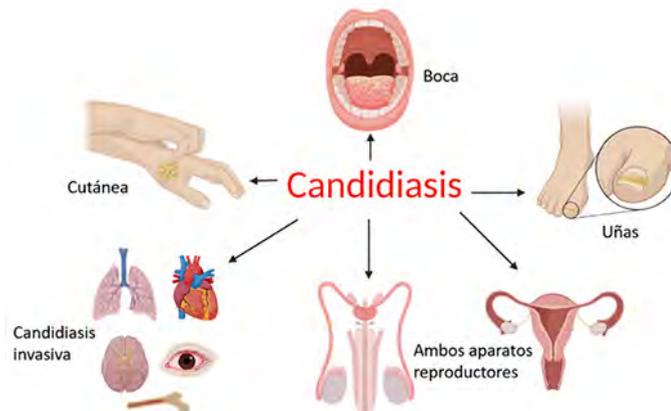
<sup>†</sup> Autora de correspondencia: ecastro@cicese.mx



medad micótica más común a nivel mundial, la cual puede agravarse cuando el hongo entra en el torrente sanguíneo provocando una candidiasis invasiva o candidemia (Garnacho-Montero *et al.*, 2012; McCarty *et al.*, 2021). En el sector médico hay siete especies de *Candida* que infectan al humano causando la candidiasis, entre ellas se encuentran: *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis*, *C. stellatoidea*, *C. krusei* y *C. kyfer* (McCullough *et al.*, 1996; Khaled *et al.*, 2019). Sin embargo, *C. albicans* es la especie con mayor incidencia en los aislados clínicos a nivel mundial (Biasoli *et al.*, 2010; Talapko *et al.*, 2021). No obstante, en los últimos años otras especies de *Candida* como *C. glabrata*, *C. parapsilosis* y *C. tropicalis* han mostrado un aumento en su incidencia en aislados clínicos (Silva *et al.*, 2012; Karkowska-Kuleta *et al.*, 2020).

Los pacientes infectados con candidiasis presentan diferentes síntomas, los más comunes son una dermatitis con enrojecimiento y comezón, en algunos casos se puede producir fiebre, debilidad o fatiga, dolor muscular, dolor de cabeza y dolor abdominal. En pacientes cuya infección llega al grado de candidemia o candidiasis invasiva, la infección puede llegar a propagarse a zonas como ojos, riñones, cerebro e hígado (figura 1), lo cual generalmente se presenta en pacientes postquirúrgicos o inmunodeprimidos (Pappas *et al.*, 2018; Lazo *et al.*, 2018).

**Figura 1.** Diferentes zonas en donde se presenta la candidiasis en humanos.



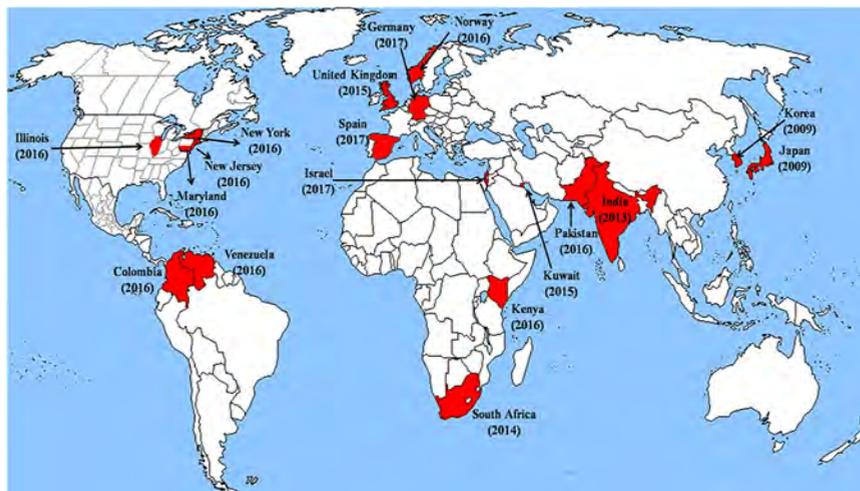
Fuente: Elaboración de los autores (en biorender.com).

Actualmente se utilizan principalmente cuatro tipos de antimicóticos para atacar la infección por *Candida*: los polienos, los azoles, las equinocandinas y la flucitosina (Pappas *et al.*, 2016; Pastrana-Gómez *et al.*, 2020). Sin embargo, se han aislado cada vez con mayor frecuencia algunas especies de *Candida* como *C. glabrata* y *C. auris* con multirresistencia a los fármacos comúnmente utilizados, representando una seria amenaza (Arendrup y Pat-

terson, 2017; Lone y Ahmad, 2019). *C. auris* se aisló por primera vez en el 2009, no obstante, en un corto plazo se detectó en varios países (figura 2), causando infecciones invasivas difíciles de tratar (Chowdhary *et al*, 2017; Lone y Ahmad, 2019). Es por ello que la búsqueda de alternativas para controlar este tipo de microorganismos es una necesidad prioritaria.

La nanotecnología es una ciencia multidisciplinaria que actualmente se está aplicando en diversos campos de investigación, uno de ellos es la biomedicina. En este sentido, las NPs metálicas podrían utilizarse para controlar especies de bacterias y hongos que presenten multiresistencia a los fármacos convencionales. Sin embargo, aún faltan estudios que demuestren que su uso resultaría beneficioso y no perjudicial para el humano o el medio ambiente. Una alternativa que se está evaluando es el uso de NPs sintetizadas de manera biológica o ecoamigable, pues no involucran el uso de químicos tóxicos, sino de material biológico (Castro-Longoria *et al.*, 2017; Ijaz *et al.*, 2020). En este trabajo se describe la problemática de la resistencia del género *Candida* y se incluyen los estudios más relevantes que han evaluado el potencial de las NPs como agentes antifúngicos contra diversas especies de *Candida*.

**Figura 2.** Mapa global donde se muestra la rápida aparición de cepas clínicas de *C. auris* multiresistentes, desde el primer reporte en el 2009 hasta el 2017. El valor entre paréntesis indica el año del reporte de *C. auris* en el país o estado respectivo.



Fuente: Tomada de Chowdhary *et al.* (2017).

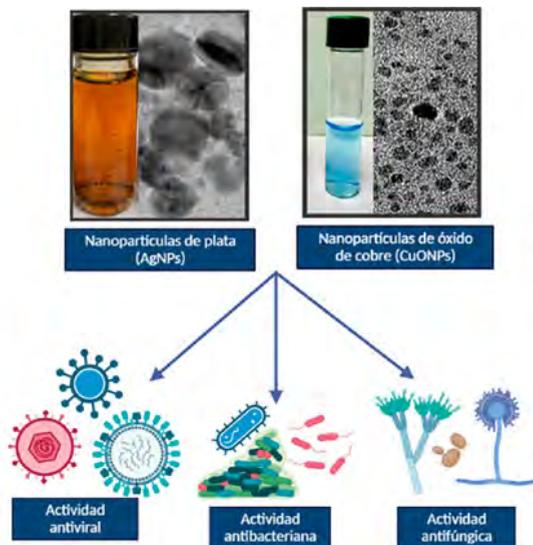
## Las nanopartículas como agentes antimicrobianos

La nanotecnología crece a pasos agigantados y su utilización ha tenido un gran impacto en diversas áreas, entre ellas la medicina. Mediante la nanotec-

nología se han creado nuevas herramientas que se pueden utilizar para tratamientos, diagnósticos, monitoreo y control de sistemas biológicos, a este campo se le denomina nanomedicina (Mauricio *et al.*, 2018). En la nanomedicina se utilizan NPs cuya dimensión en al menos una de sus caras es de nanómetros. Las propiedades de las NPs generalmente dependen de parámetros como el tamaño y la forma, los cuales son importantes para definir su factibilidad de internalizarse en las células (Ghosh Chaudhuri, 2012).

Las NPs metálicas son de particular interés en medicina debido a su capacidad antimicrobiana, al haberse demostrado que son eficaces para la inhibición de bacterias, hongos y virus (Ingle *et al.*, 2014; Lakshminarayanan *et al.*, 2018) (figura 3). Sin embargo, su uso clínico es todavía controversial, por ello hacen falta un mayor número de estudios que comprueben que, aparte de ser efectivas contra los microorganismos patógenos, sus efectos adversos al humano o daños al medio ambiente sean mínimos (Castro-Longoria *et al.*, 2017).

**Figura 3.** Representación esquemática de la actividad antimicrobiana de las nanopartículas de plata y cobre en virus, bacterias y hongos.



Fuente: Elaboración de los autores.

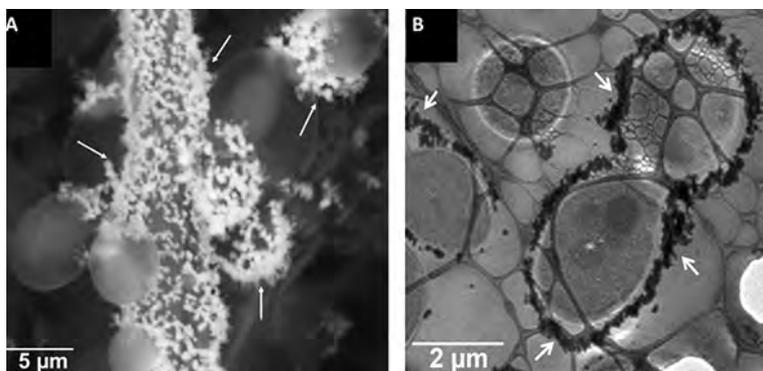
## Nanopartículas metálicas para combatir la resistencia de *Candida*

La resistencia que generan los microorganismos como *Candida* es alarmante, se estima que el 70% de las infecciones intrahospitalarias son resistentes al menos a uno o más de los tratamientos actuales (Tang *et al.*, 2017). El uso de

las NPs metálicas en la clínica es todavía controversial; asimismo, existen productos en el mercado que contienen plata, como Acticoat<sup>®</sup>, Aquacel<sup>®</sup>, Con-treet<sup>®</sup>, Actisorb Silver 220<sup>®</sup> y Urgotul SSD<sup>®</sup>. Estos productos son comercializados y se aplican principalmente para evitar infecciones en la piel en pacientes con quemaduras o úlceras crónicas (Castro-Longoria *et al.*, 2017). Algunos de estos productos contienen plata nanocristalina, otros solo describen que contienen plata para liberación prolongada de iones. Por lo tanto, las NPs metálicas pudieran ser una solución para controlar microorganismos multirresistentes a los antimicrobianos convencionales. Hasta el momento, las NPs más estudiadas para combatir microorganismos son las nanopartículas de plata (AgNPs), y se ha demostrado que tienen la capacidad de inhibir bacterias Gram negativas y Gram positivas (Guzman *et al.*, 2012). Además de la acción antibacteriana, a determinadas concentraciones, las AgNPs son capaces de inhibir también a *C. albicans* (Vázquez-Muñoz *et al.*, 2014; Martínez-Andrade *et al.*, 2018). Un resultado importante es la sinergia que presentan las NPs en combinación con antifúngicos convencionales, pues se ha reportado que aumentan su efectividad contra *Candida*. Por ejemplo, Vázquez-Muñoz *et al.* (2014) informaron que el uso combinado de Fluconazol, un fármaco fungistático, con AgNPs comerciales sintetizadas químicamente, redujo la proliferación celular de *C. albicans*.

Se ha documentado que cuando *C. albicans* se expone a las AgNPs se induce una rápida y elevada producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), lo cual conduce a la muerte celular de la levadura (Hwang *et al.*, 2012; Lee *et al.*, 2019). En análisis bajo microscopía electrónica se ha observado cómo las AgNPs tienden a aglomerarse alrededor de la pared celular de *Candida* (figura 4) y una exposición prolongada provoca la formación de poros finalizando en la muerte celular (Vázquez-Muñoz *et al.*, 2014; Martínez-Andrade *et al.*, 2018).

**Figura 4.** Micrografías de *C. albicans* expuestas a AgNPs mostrando acumulación de NPs alrededor de la célula. A) Micrografía tomada bajo microscopía electrónica de barrido. B) Micrografía tomada bajo microscopía electrónica de transmisión.



Fuente: Tomado de Vázquez-Muñoz *et al.* (2014).

Las NPs de cobre (CuNPs) también se han reportado como agentes antimicrobianos, al actuar como un fármaco de amplio espectro contra bacterias. La actividad de las CuNPs ya se ha demostrado también en contra de la levadura *C. albicans*. La exposición de las células a las NPs provoca daños en la pared y membrana celulares, generando poros en su superficie provocando la lisis de la célula (Cheong *et al.*, 2020). Este tipo de NPs se han puesto a prueba con cepas de *C. albicans* resistentes a los azoles, demostrando que tienen la capacidad de impedir que *Candida* pase de su forma levaduriforme a su fase de pseudo-hifa (fase infecciosa), además de reducir el tamaño de biopelículas formadas por el hongo (Mudiar y Kelkar-Mane, 2020).

## Nanopartículas biosintetizadas para combatir la resistencia de *Candida* spp

Aunque las NPs sintetizadas químicamente son efectivas contra microorganismos patógenos, la principal desventaja que presentan es el uso de diferentes compuestos utilizados durante la síntesis, o los subproductos generados por la misma, algunos de estos compuestos como el dióxido de sulfuro, formaldehído, óxidos de nitrógeno, metales ligeros y pesados, además de compuestos de cloración son altamente tóxicos para el humano y el medio ambiente. Por ello, una de las alternativas para eliminar el uso de químicos potencialmente tóxicos es la síntesis biológica, la cual involucra solamente el material biológico que sirve como agente reductor y estabilizante. Se ha comprobado que las NPs metálicas sintetizadas por el método biológico también son altamente efectivas para la inhibición de bacterias (Murillo-Rábago *et al.*, 2022) y también se han evaluado para la inhibición de *C. albicans* obteniendo resultados prometedores (García-Marín *et al.*, 2022). Incluso, son capaces de inhibir especies de *Candida* que presentan resistencia a los antifúngicos convencionales (El-Sherbiny *et al.*, 2020).

Los extractos de plantas son altamente utilizados para la biosíntesis de NPs, y se han reportado para la biosíntesis de AgNPs y otros metales para la inhibición de *Candida*. Por ejemplo, las AgNPs sintetizadas con extractos de la planta *Lotus lalambensis* mostraron diámetros de inhibición de hasta 19 mm, con concentraciones de 50 µg/mL de AgNPs, en contra de *C. albicans*. Además, se reportó daño en la pared celular, la internalización de las NPs y la degradación de la membrana, con una alta producción de ROS. Los autores también reportaron una baja toxicidad de las AgNPs en células de mamíferos (Abdallah y Ali, 2021).

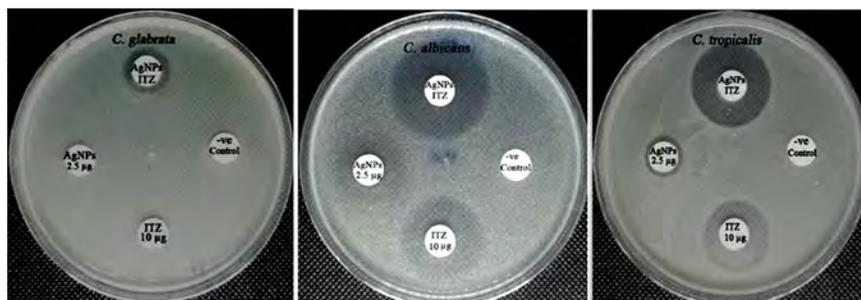
En el trabajo de Mohammadi *et al.* (2019) se reportó la síntesis de dos tipos de AgNPs, una utilizando extractos de la planta *Zingiber officinale* y otra con extractos de *Thymus vulgaris*, las cuales se probaron para la inhibición de *C. albicans*. Se reportó una concentración muy baja de AgNPs para la inhibición del hongo. La concentración mínima inhibitoria (CMI) fue de 0.7 µg/mL y 0.5 µg/mL para NPs sintetizadas con *Z. officinale* y *T. vulgaris*, respectiva-

mente. La cantidad de Fluconazol necesaria para la inhibición del hongo fue de 16  $\mu\text{g}/\text{mL}$ , lo cual contrasta con las CMI de las AgNPs. Además, se realizó un estudio de toxicidad en fibroblastos humanos (HDF-1), demostrando una baja toxicidad para ambas NPs. Un estudio reportó que la cantidad de Fluconazol necesaria para inhibir cepas de *Candida* fue mayor a los 64  $\mu\text{g}/\text{mL}$  y mediante el uso de AgNPs sintetizadas a partir de extractos de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*, se demostró una CMI de 2 a 4  $\mu\text{g}/\text{mL}$  de AgNPs (Niknejad *et al.*, 2015).

Las AgNPs biosintetizadas con extractos de la bacteria *Rothia endophytica* demostraron también una mejor actividad antifúngica que el Posaconazol en contra de *C. albicans*. Se reportó que la CMI fue de 62.5  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para las AgNPs y 125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para el Posaconazol. Adicionalmente, se demostró que las AgNPs provocaron poros en la superficie de la célula, incluida una alta peroxidación lipídica con repercusiones en todos los ácidos grasos, lo cual condujo a la muerte celular (Elbahnasawy *et al.*, 2021).

En un estudio reciente se evaluó la sinergia de AgNPs biosintetizadas en combinación con varios antifúngicos convencionales y se encontró que particularmente con el Itraconazol se obtuvo una mayor actividad contra *C. glabrata*, *C. albicans*, y *C. tropicalis*, registrando porcentajes de sinergismo relativo de 74.32, 57.78 y 36.37%, respectivamente (figura 5) (Yassin *et al.*, 2022).

**Figura 5.** Sinergismo de las AgNPs en combinación con Itraconazol contra especies de *Candida*.



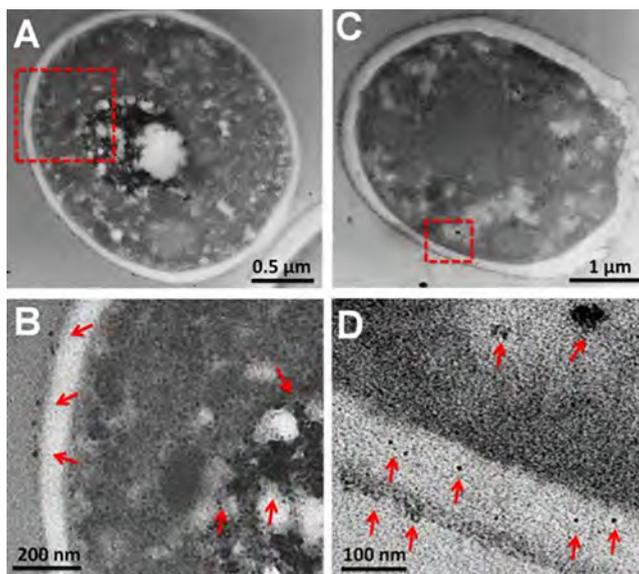
Fuente: Imagen tomada y modificada de Yassin *et al.* (2022).

La síntesis biológica de NPs de cobre (CuNPs) se ha incrementado últimamente al ser más económica y con un amplio potencial de aplicación en diferentes campos. De igual forma que para las AgNPs, el material biológico más utilizado como agente reductor para la biosíntesis son las plantas, particularmente extractos de hojas, seguido por los hongos y por último las bacterias (Din y Rehan, 2017). Se ha reportado que las CuNPs son eficientes para inhibir diferentes especies de *Candida*. Por ejemplo, Tahvilian *et al.* (2019) sintetizaron CuNPs con extractos de hojas de *Allium saralicum* y se encontró que la CMI para *C. albicans* fue de 4  $\text{mg}/\text{mL}$ , además, esta misma concentración

fue suficiente para inhibir otras especies de *Candida* como *C. krusei*, *C. glabrata* y *C. guilliermondii*, todas reportadas con anterioridad en casos de resistencia. Mediante el extracto de la planta *Prunus mahaleb* se sintetizaron CuNPs, y se reportó una CMI de 0.125  $\mu\text{g}/\text{mL}$  para inhibir a *C. albicans* (Dasthizadeh *et al.*, 2021), lo cual demuestra que el agente reductor aumenta la eficiencia de las NPs. Las CuNPs tienen efectos similares a las AgNPs al entrar en contacto con la levadura, tienen la capacidad de adherirse alrededor de la célula, lo cual implica el deterioro de la pared celular, esto hace que las NPs internalicen más rápidamente la célula y ocasionen lisis celular (Padmavathi *et al.*, 2020). Una ventaja de las NPs es su tamaño pequeño, esto ocasiona que internalicen la célula por difusión pasiva e inicie una bioacumulación dentro de la célula, además de la liberación de iones dentro de la célula, ocasiona la muerte temprana de las células de *C. albicans* (Martínez *et al.*, 2021).

Recientemente se ha reportado la capacidad antifúngica de las NPs de óxido de cobre (CuONPs) biosintetizadas mediante el uso del hongo *Trichoderma sp.* Se reportó que son altamente efectivas contra *C. albicans*, pues poseen un tamaño pequeño ( $5.8 \pm 3.5 \text{ nm}$ ) y se acumulan alrededor de toda la célula, internalizándose (figura 6) y provocando la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y, finalmente, la muerte celular. Aunado a esto, se reportó que a determinadas concentraciones el efecto tóxico en tres líneas celulares es mínimo (García-Marín *et al.*, 2022).

**Figura 6.** Células de *C. albicans* expuestas a nanopartículas de óxido de cobre. A) y C) Muestran la célula completa, y, B) y D) muestran zonas amplificadas donde se observan acumulaciones de las nanopartículas, las cuales son señaladas con flechas.



Fuente: Imagen tomada de García-Marín *et al.* (2022).

Otras NPs metálicas sintetizadas por medio del método biológico (tabla 1) y probadas en contra de *Candida*, son las NPs de óxido de zinc (ZnONPs). Un estudio reciente realizó la biosíntesis de ZnONPs con extractos de plantas, *Beta vulgaris*, *Cinnamomum tamala*, *Cinnamomum verum* y *Brassica olerace*. Todas las ZnONPs mostraron actividad antifúngica en contra de *C. albicans* (Pillai *et al.*, 2020), no obstante, el resultado no fue tan efectivo como el de las NPs de plata y cobre. Asimismo, recientemente se sintetizaron NPs de dióxido de titanio (TiO<sub>2</sub>NPs) utilizando una mezcla de extractos de las plantas *Azadirachta indica*, *Ficus benghalensis* y *Syzygium aromaticum*, y se encontró que a una concentración de 100 µg/mL se inhibe la formación de biopelículas de *C. albicans* (Achudhan *et al.*, 2020). Esto demuestra la búsqueda constante de alternativas, y que en un corto plazo será posible utilizar en la clínica uno o varios productos nanotecnológicos para la inhibición de especies de *Candida* multi-resistentes a los antifúngicos convencionales.

**Tablaa 1.** Efecto antifúngico en especies de *Candida* de las nanopartículas metálicas producidas con distintos reductores biológicos.

| Tipo de NP         | Agente reductor   | Efecto antifúngico       | Especie de <i>Candida</i>   | Referencia                        |
|--------------------|---|--------------------------|---|-----------------------------------|
| Óxido de cobre     | Metabolitos secundarios del hongo <i>Trichoderma asperellum</i>   | Fungicida                | <i>C. albicans</i>  | García-Marín <i>et al.</i> (2022) |
| Plata              | Extractos de la planta <i>Lotus lalambensis</i>   | Fungicida                | <i>C. albicans</i>  | Abdallah y Ali (2021)             |
| Plata              | Extractos de la planta <i>Zingiber officinale</i>   | Fungicida                | <i>C. albicans</i>  | Mohammadi <i>et al.</i> (2019)    |
| Plata              | Extractos de la planta <i>Thymus vulgaris</i>   | Fungicida                | <i>C. albicans</i>  | Mohammadi <i>et al.</i> (2019)    |
| Plata              | Extractos de la levadura <i>Saccharomyces cerevisiae</i>  | Fungicida                | <i>C. albicans</i>  | Niknejad <i>et al.</i> (2015)     |
| Plata              | Extractos de la bacteria <i>Rothia endophytica</i>  | Fungicida                | <i>C. albicans</i>  | Elbahnasawy <i>et al.</i> (2021)  |
| Plata              | Extracto acuoso de la cáscara de <i>Punica granatum</i> en sinergia con itraconazol   | Fungicida                | <i>C. glabrata</i> , <i>C. albicans</i> , y <i>C. tropicalis</i>                        | Yassin <i>et al.</i> (2022)       |
| Cobre              | Extractos de hojas de <i>Allium saralicum</i>   | Fungicida                | <i>C. albicans</i> , <i>C. krusei</i> , <i>C. glabrata</i> , y <i>C. guilliermondii</i> | Tahvilian <i>et al.</i> (2019)    |
| Cobre              | Extracto de la planta <i>Prunus mahaleb</i>   | Fungicida                | <i>C. albicans</i>  | Dashtizadeh <i>et al.</i> (2021)  |
| Oxido de zinc      | Extractos de las plantas, <i>Beta vulgaris</i> , <i>Cinnamomum tamala</i> , <i>Cinnamomum verum</i> y <i>Brassica olerace</i> | Fungicida / Fungistático | <i>C. albicans</i>  | Pillai <i>et al.</i> (2020)       |
| Dióxido de titanio | Mezcla de extractos de las plantas <i>Azadirachta indica</i> , <i>Ficus benghalensis</i> y <i>Syzygium aromaticum</i>         | Fungicida                | <i>C. albicans</i>  | Achudhan <i>et al.</i> (2020)     |

Fuente: Elaboración de los autores.

## Conclusiones y perspectivas

Se ha demostrado que las nanopartículas metálicas sintetizadas químicamente y por medio de métodos biológicos son efectivas para la inhibición de especies de *Candida*. Además, que la efectividad de las nanopartículas aumenta al combinarse con antibióticos convencionales. Sin embargo, las nanopartículas sintetizadas biológicamente representan una mejor opción, al no involucrar el uso de químicos tóxicos potencialmente dañinos al humano y al medio ambiente. Por lo tanto, representan una excelente alternativa para solucionar la problemática de la resistencia del género *Candida*. Por consiguiente, en un futuro cercano, la nanotecnología hará posible contar con nuevas y mejores opciones que contribuyan a solucionar el problema de la multiresistencia. Por lo anterior, es importante que se realicen un mayor número de estudios para evaluar el potencial clínico de las nanopartículas, sobre todo aquello que involucre aislados clínicos que presenten multiresistencia, y la correspondiente evaluación utilizando modelos *in vivo*.

## Referencias

- Abdallah, B. M., y Ali, E. M. (2021). Green synthesis of silver nanoparticles using the *Lotus lalambensis* aqueous leaf extract and their anti-candidal activity against oral candidiasis. *ACS Omega*, 6(12): 8151-8162. <https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06009>.
- Achudhan, D., Vijayakumar, S., Malaikozhundan, B., Divya, M., Jothirajan, M., Subbian, K., González-Sánchez, Z. I., Mahboob, S., Al-Ghanim, K. A. y Vaseeharan, B. (2020). The antibacterial, antibiofilm, antifogging and mosquitocidal activities of titanium dioxide (TiO<sub>2</sub>) nanoparticles green-synthesized using multiple plants extracts. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 8(6), 104521. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104521>.
- Arendrup, M. C., Patterson, T. F. (2017). Multidrug-resistant *Candida*: Epidemiology, molecular mechanisms, and treatment. *J. Infect. Dis.*, 216: S445-S451. <https://doi.org/10.1093/infdis/jix131>.
- Biasoli, M. S., Tosello, M. E., Luque, A. G. y Magaró, H. M. (2010). Adherence, colonization and dissemination of *Candida dubliniensis* and other *Candida* species. *Medical Mycology*, 48(2): 291-297. <https://doi.org/10.3109/13693780903114942>.
- Castro-Longoria, E., Garibo-Ruiz, D., Martínez-Castro, S. (2017). *Myconanotechnology to treat infectious diseases: a perspective. in fungal nanotechnology*. Berlin/Heidelberg, Germany: Springer, 235-261.
- Cheong, Y.-K., Arce, M. P., Benito, A., Chen, D., Luengo Crisóstomo, N., Kerai, L. V, Rodríguez, G., Valverde, J. L., Vadalía, M., Cerpa-Naranjo, A. y Ren, G. (2020). Synergistic antifungal study of PEGylated graphene oxides and copper nanoparticles against *Candida albicans*. *Nanomaterials*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/nano10050819>.
- Chowdhary, A., Sharma, C., Meis, J. F. (2017). *Candida auris*: A rapidly emerging

- cause of hospital-acquired multidrug-resistant fungal infections globally. *PLoS Pathog*, 13(5): e1006290. <https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1006290>.
- Dashtizadeh, Z., Jookar Kashi, F., y Ashrafi, M. (2021). Phytosynthesis of copper nanoparticles using *Prunus mahaleb* L. and its biological activity. *Materials Today Communications*, 27(mayo). <https://doi.org/10.1016/j.mtcomm.2021.102456>.
- Din, M. I. y Rehan, R. (2017). Synthesis, characterization, and applications of copper nanoparticles. *Analytical Letters*, 50(1): 50-62. <https://doi.org/10.1080/00032719.2016.1172081>.
- Elbahnasawy, M. A., Shehabeldine, A. M., Khattab, A. M., Amin, B. H. y Hashem, A. H. (2021). Green biosynthesis of silver nanoparticles using novel endophytic *Rothia endophytica*: Characterization and anticandidal activity. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 62, 102401. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2021.102401>.
- El-Sherbiny, G. M., Lila, M. K., Shetaia, Y. M., Elswify, M. M. y Mohamed, S. S. (2020). Antimicrobial activity of biosynthesised silver nanoparticles against multidrug-resistant microbes isolated from cancer patients with bacteraemia and candidaemia. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 38(3-4): 371-378. [https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM\\_20\\_299](https://doi.org/10.4103/ijmm.IJMM_20_299).
- García-Marín, L. E., Juárez-Moreno, K., Vilchis-Néstor, A. R. y Castro-Longoria, E. (2022). Highly antifungal activity of biosynthesized copper oxide nanoparticles against *Candida albicans*. *Nanomaterials*, 12(21). <https://doi.org/10.3390/nano12213856>.
- Garnacho-Montero, J., Díaz-Martín, A., De Piappón, M. R.-P. y García-Cabrera, E. (2012). Infección fúngica invasiva en los pacientes ingresados en las áreas de críticos. *Enfermedades Infecciosas y Microbiología Clínica*, 30(6): 338-343. <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2012.02.011>.
- Ghosh Chaudhuri, R. y Paria, S. (2012). Core/shell nanoparticles: classes, properties, synthesis mechanisms, characterization, and applications. *Chemical Reviews*, 112(4), 2373-2433. <https://doi.org/10.1021/cr100449n>.
- Guzman, M., Dille, J., y Godet, S. (2012). Synthesis and antibacterial activity of silver nanoparticles against gram-positive and gram-negative bacteria. *Nano-medicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 8(1): 37-45. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.05.007>.
- Hwang, I., Lee, J., Hwang, J. H., Kim, K.-J. y Lee, D. G. (2012). Silver nanoparticles induce apoptotic cell death in *Candida albicans* through the increase of hydroxyl radicals. *The FEBS Journal*, 279(7): 1327-1338. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2012.08527.x>.
- Ingle, A. P., Duran, N. Rai, M. (2014). Bioactivity, mechanism of action, and cytotoxicity of copper-based nanoparticles: A review. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 98: 1001-1009. <https://doi.org/10.1007/s00253-013-5422-8>.
- Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A. y Bukhari, A. (2020). Detail review on chemical, physical and green synthesis, classification, characterizations and applications of nanoparticles. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 13(3): 59-81. <https://doi.org/10.1080/17518253.2020.1802517>.

- Karkowska-Kuleta, J., Kulig, K., Karnas, E., Zuba-Surma, Woznicka, Olga, Pyza, E., Kuleta, P., Osyetzka, A., Kozik, MR., Kozik, A. (2020). Characteristics of extracellular vesicles released by the pathogenic yeast-like fungi *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*. *Cells*, 9(7): 1722 <https://doi.org/10.3390/cells9071722>.
- Khaled, Y. y Pahuja, B. K. (2019). Identifying the different kinds of oral *Candida* species in denture wearing patients. *EC Dental Science*, 18(7): 1428-1434.
- Lakshminarayanan, R., Ye, E., Young, D. J., Li, Z. y Loh, X. J. (2018). Recent advances in the development of antimicrobial nanoparticles for combating resistant pathogens. *Advanced Healthcare Materials*, 7(13), 1701400. <https://doi.org/10.1002/adhm.201701400>.
- Lazo, V., Hernández, G. y Méndez, R. (2018). Candidiasis sistémica en pacientes críticos, factores predictores de riesgo. *Horizonte Médico (Lima)*, 18(1): 75-85. <http://dx.doi.org/10.24265/horizmed.2018.v18n1.11>.
- Lee, B., Lee, M. J., Yun, S. J., Kim, K., Choi, I.-H. y Park, S. (2019). Silver nanoparticles induce reactive oxygen species-mediated cell cycle delay and synergistic cytotoxicity with 3-bromopyruvate in *Candida albicans*, but not in *Saccharomyces cerevisiae*. *International Journal of Nanomedicine*, 14, 4801. <https://doi.org/10.2147/IJN.S205736>. eCollection 2019.
- Lone, S. A. y Ahmad, A. (2019). *Candida auris* — The growing menace to global health. *Mycoses*, 62(8): 620-637. <https://doi.org/10.1111/myc.12904>.
- Martínez, A., Apip, C., Meléndrez, M. F., Domínguez, M., Sánchez-Sanhueza, G., Marzialetti, T. y Catalán, A. (2021). Dual antifungal activity against *Candida albicans* of copper metallic nanostructures and hierarchical copper oxide marigold-like nanostructures grown *in situ* in the culture medium. *Journal of Applied Microbiology*, 130(6): 1883-1892. <https://doi.org/10.1111/jam.14859>.
- Martínez-Andrade, J. M., Avalos-Borja, M., Vilchis-Néstor, A. R., Sánchez-Vargas, L. O. y Castro-Longoria, E. (2018). Dual function of EDTA with silver nanoparticles for root canal treatment—A novel modification. *PLoS ONE*, 13(1): 1-19. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0190866>.
- Mauricio, M. D., Marchio, P., Valles, S. L., Aldasoro, M., Herance, J. R., Rocha, M., Vila, J. M., y Víctor, V. M. (2018). Review article nanoparticles in medicine : a focus on vascular oxidative stress. <https://doi.org/10.1155/2018/6231482>.
- McCarty, T. P., White, C. M. y Pappas, P. G. (2021). Candidemia and invasive candidiasis. *Infectious Disease Clinics of North America*, 35(2): 389-413. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2021.03.007>.
- McCullough, M. J., Ross, B. C. y Reade, P. C. (1996). *Candida albicans*: a review of its history, taxonomy, epidemiology, virulence attributes, and methods of strain differentiation. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 25(2): 136-144. [https://doi.org/10.1016/S0901-5027\(96\)80060-9](https://doi.org/10.1016/S0901-5027(96)80060-9).
- Mixão, V. de P. (2020). *Hybridization in Candida yeast pathogens*. September 2019. <https://widgets.ebscohost.com/prod/customerspecific/ns000545/customproxy.php?url=https://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&db=edstdx&AN=edstdx.10803.670103&lang=pt-pt&site=eds-live&scope=site>.

- Mohammadi, M., Shahisaraee, S. A., Tavajjohi, A., Pournoori, N., Muhammadnejad, S., Mohammadi, S. R., Poursalehi, R. y Delavari H, H. (2019). Green synthesis of silver nanoparticles using *Zingiber officinale* and *Thymus vulgaris* extracts: characterization, cell cytotoxicity, and its antifungal activity against *Candida albicans* in comparison to fluconazole. *IET Nanobiotechnology*, 13(2): 114-119. <https://doi.org/10.1049/iet-nbt.2018.5146>.
- Mudiar, R. y Kelkar-Mane, V. (2020). Original research article (experimental): Targeting fungal menace through copper nanoparticles and Tamrajal. *Journal of Ayurveda and Integrative Medicine*, 11(3): 316-321. <https://doi.org/10.1016/j.jaim.2018.02.134>.
- Murillo-Rábago, E. I., Vilchis-Néstor, A. R., Juárez-Moreno, K., García-Marín, L. E., Quester, K., Castro-Longoria, E. (2022). Optimized synthesis of small and stable silver nanoparticles using intracellular and extracellular components of fungi: an alternative for bacterial inhibition. *Antibiotics*, 11(6).
- Niknejad, F., Nabili, M., Ghazvini, R. D. y Moazeni, M. (2015). Green synthesis of silver nanoparticles: advantages of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* model. *Current Medical Mycology*, 1(3): 17. <https://doi.org/10.18869/acadpub.cmm.1.3.17>.
- Padmavathi, A. R., Das, A., Priya, A., Sushmitha, T. J., Pandian, S. K. y Toleti, S. R. (2020). Impediment to growth and yeast-to-hyphae transition in *Candida albicans* by copper oxide nanoparticles. *Biofouling*, 36(1): 56-72. <https://doi.org/10.1080/08927014.2020.1715371>.
- Pappas, P. G., Kauffman, C. A., Andes, D. R., Clancy, C. J., Marr, K. A., Ostrosky-zeichner, L., Reboli, A. C., Schuster, M. G., Vázquez, J. A. y Walsh, T. J. (n.d.), Zaoutis T. E., Sobel, J. D. (2016). Executive summary: clinical practice guideline for the management of candidiasis: 2016. Update by the Infectious Diseases Society of America. *Clin. Infect. Dis*, 62(4): 409-417.
- Pappas, P. G., Lionakis, M. S., Arendrup, M. C., Ostrosky-Zeichner, L. y Kullberg, B. J. (2018). Invasive candidiasis. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1): 1-20. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.26>.
- Pastrana-Gómez, C. A., Almonacid-Urrego, C. C., Velasco-Montejo, B. E., Mendieta-Zerón, H. y Cuevas-Yañez, E. (2020). Antimycotic sensitivity evaluation against *Candida* ATCC species of 1,2,3-triazoles derived from 5-chloro-2(2,4-dichlorophenoxy)phenol. *Medicinal Chemistry Research*, 29(3): 417-425. <https://doi.org/10.1007/s00044-019-02490-7>.
- Pfaller, M. A. y Diekema, D. (2007). Epidemiology of invasive candidiasis: a persistent public health problem. *Clinical Microbiology Reviews*, 20(1): 133-163.
- Pillai, A. M., Sivasankarapillai, V. S., Rahdar, A., Joseph, J., Sadeghfhar, F., Anuf A, R., Rajesh, K. y Kyzas, G. Z. (2020). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles with antibacterial and antifungal activity. *Journal of Molecular Structure*, 1211, 128107. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.128107>.
- Silva, S., Negri, M., Henriques, M., Oliveira, R., Williams, D. W. y Azeredo, J. (2012). *Candida glabrata*, *Candida parapsilosis* and *Candida tropicalis*: biology, epidemiology, pathogenicity and antifungal resistance. *FEMS Microbiology Reviews*, 36(2): 288-305. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00278.x>.

- Talapko, J., Juzbašić, M., Matijević, T., Pustijanac, E., Bekić, S., Kotris, I., y Škrlec, I. (2021). *Candida albicans*-the virulence factors and clinical manifestations of infection. *Journal of Fungi*, 7(2): 1-19. <https://doi.org/10.3390/jof7020079>.
- Tang, Y., Fang, L., Xu, C., y Zhang, Q. (2017). Antibiotic resistance trends and mechanisms in the foodborne pathogen. *Campylobacter. Animal Health Research Reviews*, 18(2): 87-98. <https://doi.org/10.1017/S1466252317000135>.
- Tahvilian, R., Mahdi, M. y Falahi, H. (2019). Green synthesis and chemical characterization of copper nanoparticles using *Allium saralicum* leaves and assessment of their cytotoxicity, antioxidant, antimicrobial and cutaneous wound healing properties. *Applied Organometallic Chemistry*, 33(12): 1-16. <https://doi.org/10.1002/aoc.5234>.
- Vázquez-Muñoz, R., Avalos-Borja, M. y Castro-Longoria, E. (2014). Ultrastructural analysis of *Candida albicans* when exposed to silver nanoparticles. *PLOS ONE*, 9(10): e108876. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0108876>.
- Yassin, M. T., Mostafa, A. A. F., Al-Askar, A. A. y Al-Otibi, F. O. (2022). Synergistic antifungal efficiency of biogenic silver nanoparticles with itraconazole against multi-drug-resistant *Candida* strains. *Crystals*, 12(6): 816. <https://doi.org/10.3390/cryst12060816>.

# A biosensing platform based on graphene oxide and photoluminescent probes: advantages and perspectives

## Una plataforma biosensora basada en óxido de grafeno y sondas fotoluminiscentes: ventajas y perspectivas

Diana L. Mancera-Zapata,\* Eden Morales Narváez\*\*,†

**ABSTRACT:** Biosensing systems are powerful biotechnological tools which are widely applied in medical and environmental settings. Herein, we provide an overview of a recently developed optical biosensing system based on the quenching abilities of graphene oxide and fluorescent bioprobes. This biosensing platform has been demonstrated to be a fast, cost-effective and reliable nanophotonic technology. In particular, it has been exploited to detect relevant analytes in real matrixes, including prostate specific *E. coli* and COVID-19 antibodies. Besides, this technology enabled the detection of sialidase in clinical samples to determine bacterial vaginosis. This biosensing system has recently been used to determine relevant information on the kinetics of proteins involved in the biorecognition process, everything performed in real-time and in a single step.

**KEYWORDS:** wash-free biosensing, nanophotonics, graphene-related materials, fluorescence quenching, protein detection.

**RESUMEN:** Los sistemas de biodetección son poderosas herramientas biotecnológicas que se aplican ampliamente en entornos médicos y ambientales. En este artículo, proporcionamos una descripción general de un sistema de biodetección óptica desarrollado recientemente, basado en las capacidades de extinción del óxido de grafeno y las biosondas fluorescentes. Se ha demostrado que esta plataforma de biodetección es una tecnología nanofotónica rápida, rentable y fiable. En particular, se ha aprovechado para detectar analitos relevantes en matrices reales, incluidos los anticuerpos contra *E. coli* y COVID-19 específicos de la próstata. Además, esta tecnología permitió la detección de sialidasa en muestras clínicas, para determinar la vaginosis bacteriana. Por último, este sistema de biodetección se ha utilizado recientemente para determinar información relevante sobre la cinética de las proteínas involucradas en el proceso de biorreconocimiento, todo realizado en tiempo real y en un solo paso.

**PALABRAS CLAVE:** biodetección sin lavado, nanofotónica, materiales relacionados con el grafeno, extinción de fluorescencia, detección de proteínas.

Received: January 31, 2023.

Accepted: May 4, 2023.

Published: June 1, 2023.

\* Centro de Investigaciones en Óptica, A. C. León, Guanajuato, México.

\*\* Universidad Nacional Autónoma de México, Centro de Física Aplicada y Tecnología Avanzada, Biophotonic Nanosensors Laboratory.

† Correspondence author: eden@fata.unam.mx

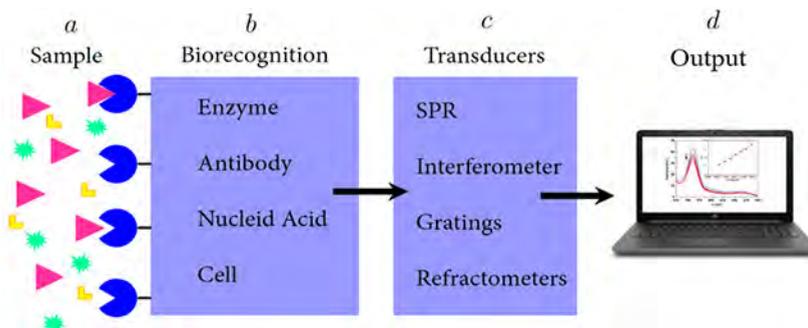


## Introduction

Biosensing systems are now a fundamental tool in healthcare, environmental monitoring, safety and protection. Nowadays, due to the pandemic outbreak generated by the SARS-CoV-2 virus, biosensors demonstrated a fundamental role offering reliable and low-cost results within a short response time to tackle such a pandemic scenario by means of timely diagnosis technologies (Huang *et al.*, 2017).

Biosensors are analytical tools that facilitate the detection of (bio)molecules with a high degree of specificity and sensitivity. The fundamental idea behind biosensors consists of three main blocks (figure 1), the first block consists of a biological recognition event or biorecognition event, which is extremely specific. The next block is the transduction and involves converting a biorecognition event into a measurable signal to acquire information related to the modulation of a specific physical phenomenon, such as fluorescence intensity, color change, etc. The resulting signal is then obtained and decoded (Srivastava *et al.*, 2018; Velasco-Soto *et al.*, 2015). It is important to note that biosensors with high sensitivity have the ability to produce a signal from smallest changes in analyte concentration. The limit of detection (LOD) of a biosensor, which is an indicator of analytical sensitivity, is determined by the smallest amount of analyte that the biosensor is able to detect (Vessman *et al.*, 2001).

**Figure 1.** Schematic representation of different blocks integrating a biosensor.



a) Sample. Substance to be analyzed in which is possible to detect the presence the target analyte. b) Bio-recognition. This stage requires elements with high affinity against the target analyte. c) Transducers. A device that converts the measured biological activity into an analytical signal. d) Output. Measurable signal indicating the presence of the analyte in the sample  
Source: Taken from Diana L. Mancera (2018).

Herein, we provide an overview on a nanophotonic biosensing technology developed by our team. The biosensing platform is based on fluorescence or Förster resonance energy transfer (FRET) that takes place between

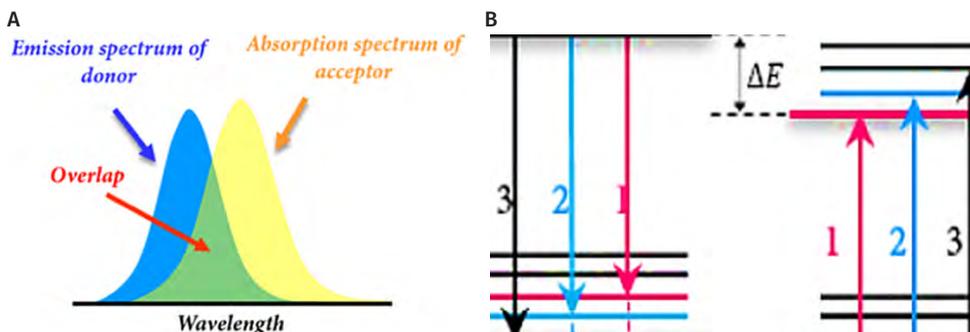
fluorescent bioprobes acting as donors and graphene oxide (GO), acting as an acceptor. Unlike enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) in which blocking, separation and washing steps must be performed, this new technology allows an immunoassay to be realized through the use of a single antibody. The response of this new biosensing system can be interrogated in real-time and is observable within a few minutes (e.g., 5 minutes). Additionally, this system works with diverse photoluminescent agents and analytes.

## FRET-GO based biosensor

### The biosensing mechanism

The operational mechanism of our FRET-GO based biosensing platform is based on fluorescence quenching generated by the non-radiative phenomenon known as FRET (figure 2A-B). In this non-radiative phenomenon, two materials are involved, a donor and an acceptor. FRET takes place when the emission spectrum of the donor overlaps the absorption spectrum of the acceptor. In addition, there must be certain distance between these molecules, particularly approximately 20 nm using graphene-related materials (Morales-Narváez y Merkoçi, 2018).

Figure 2. FRET mechanism. Schematic representation.

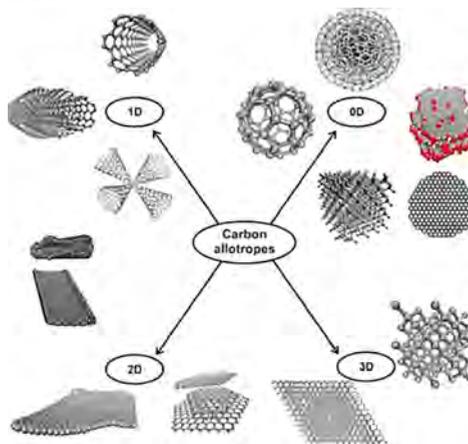


A. Overlapping between acceptor absorption spectrum and donor emission spectrum. B. Donor and acceptor molecular energy level schemes demonstrating correlated transitions. The vibrational transitions that occur in the donor molecule display the same energy as those that occur in the acceptor molecule. Source: Taken from Diana L. Mancera (2018).

### GO and its role in the biosensing platform system

Graphene is a carbon material. Due to its atomic thickness, it is considered a 2D material. It can be described as a planar sheet with several carbon atoms organized in a honeycomb arrangement which is the primary structure to build the others carbon allotropes (figure 3) (Vasilios *et al.*, 2015; Geim, Novoselov, 2007).

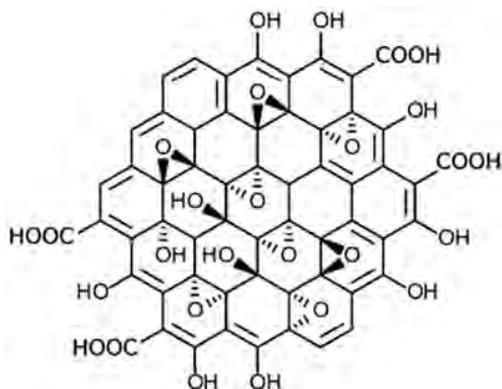
Figure 3. Allotropes of carbon.



Source: Taken with permission from Vasiliou *et al.* (2015). Copyright © 2015 American Chemical Society.

Besides, the oxidized version of graphene, graphene oxide (GO), possesses functional groups such as hydroxyl, epoxy, carbonyl, and carboxyl groups. Particularly, GO exhibits carboxyl groups onto the edges and the other oxygen-containing groups on the basal plane, as figure 4 shows (Morales-Narváez y Merkoçi, 2012).

Figure 4. Representation of the structure of GO.



Source: Adapted with permission from Sinclair y Coveney (2019). Copyright © 2019 American Chemical Society.

The Hummer approach is the most frequent method to produce GO. Importantly, ionic groups like  $O^-$  and  $COO^-$  found in GO enable this substance to engage electrostatically with proteins or DNA.

Literature reports the extraordinary optical properties of GO. For example, the wide spectral absorption range of GO is one of them. Hence, GO can be exploited as a universal acceptor in FRET (Forster, 1946). The proposed biosensing platform is featured by a surface coated with GO (FRET acceptor) and a fluorescent bioprobe (FRET donor). We discovered that the GO-coated surface has a strong affinity against those bioprobes that do not interact with the analyte, thus the respective fluorescence is quenched when no analyte is present in the sample; whereas, those fluorescent bioprobes interacting with the analyte are not quenched since such a complex (bioprobes-analyte) have no affinity against the GO-coated surface and the analyte also represents a spacer between the GO-coated surface and the bioprobes (Fluorophore-labelled antibody), as figure 5 shows.

**Figure 5.** Operational mechanism of the biosensing platform.



The GO-coated surface has a strong affinity against those bioprobes that do not interact with the analyte, thus the respective fluorescence is quenched when no analyte is present in the sample; whereas, those fluorescent bioprobes interacting with the analyte are not quenched since such a complex (bioprobes-analyte) have no affinity against the GO-coated surface and the analyte also represents a spacer between the GO-coated surface and the bioprobes.

Source: Reproduced with permission from Ortiz-Riaño *et al.* (2020). © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved.

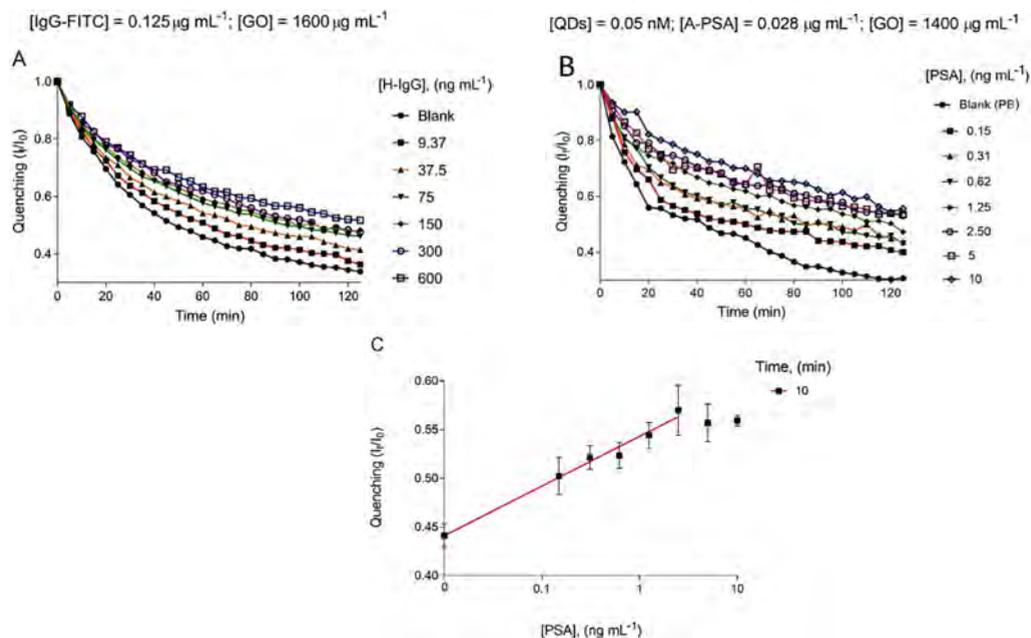
## FRET-GO based biosensor implementations

The proposed technology has been demonstrated to be a technically sound immunosensing platform. In general, microwell plates have been coated with GO to implement this novel technology (Ortiz-Riaño *et al.*, 2020).

Costar 3603 are the microwell plates employed.<sup>1</sup> The microwells surface is characterized to be hydrophilic, negatively charged, and consisting of 9–17% oxygen atoms (Li, 2008). Hence, the surface of these microwells is able to attach GO via hydrophilic contacts and hydrogen bonding given the aforementioned oxygen-containing groups of GO.

As a proof of concept, the FITC-labeled anti-human IgG antibodies (IgG-FITC) with different concentrations of human IgG (H-IgG) were combined into GO-coated microwells (GO $\mu$ W) and their photoluminescent response was explored in real-time. Figure 6A displays the optimal performance of this novel immunoassay targeting H-IgG. This analysis indicates that this immunodetection platform effectively reports the presence of the analyte by showing that the fluorescence levels ( $I_f/I_0$ ) are proportional to the concentration of the analyte. In addition, to evaluate the performance of this biosensing platform in a real matrix, human urine samples doped with different concentrations of prostate-specific antigen (PSA) were analyzed within 10 minutes, see figure 6B-C.

**Figure 6.** Analytical performance of the immunosensing platform targeting H-IgG and PSA.



A. Real-time analysis of different concentrations of H-IgG and a blank sample. B. Real-time analysis of different concentrations of PSA and a blank sample. C. Calibration curve resulting at 10 minutes of the proposed immunoassay (PSA detection).

Source: Adapted with permission from Ortiz-Riaño et al. (2020). © 2020 Elsevier B.V. All rights reserved

<sup>1</sup> Costar® 96-well tissue culture treated black plate with clear flat bottom, with low evaporation lid. <https://certs-ecatalog.corning.com/life-sciences/product-descriptions/3603.pdf>.

In addition, this immunodetection platform was reported to exhibit an analytical sensitivity that is comparable to that of ELISA, with acceptable precision and accuracy (table 1). Besides, other relevant advantages of this innovative immunodetection platform is that it can be interrogated in real-time, works with a single antibody and avoids washing, blocking and separation steps.

**Table 1.** Comparison of this approach with ELISA in terms of assay time and LOD.

| Analyte             | Method     | Assay time (min) | LOD (ng mL <sup>-1</sup> )                 | Reference  |
|---------------------|------------|------------------|--|--|
| H-IgG               | ELISA      | 360              | 1.60                                       | ("IgG (Total) Human Uncoated ELISA Kit - Invitrogen")* |
|                     | GO $\mu$ W | 45               | 2.56                                       | Ortiz-Riaño <i>et al.</i> (2020)                       |
| PSA                 | ELISA      | 360              | 0.10                                       | Najeeb <i>et al.</i> (2017)                            |
|                     | GO $\mu$ W | 90               | 0.02                                       | Ortiz-Riaño (2020)                                     |
| E. Coli             | ELISA      | 180              | 3  | (E. coli HCP ELISA Kit, 2G (F1020)**                   |
|                     | GO $\mu$ W | 30               | 2 CFU mL <sup>-1</sup>                     | Avila-Huerta <i>et al.</i> (2020)                      |
| SLD                 | ELISA      | 360              | 0.031                                      | Cortés-Sarabia <i>et al.</i> (2020)                    |
|                     | GO $\mu$ W | 120              | 0.012                                      | Rodríguez-Nava <i>et al.</i> (2020)                    |
| COVID-19 Antibodies | ELISA      | (25-43)          | pg mL <sup>-1</sup> to ng mL <sup>-1</sup> | Steiner <i>et al.</i> (2020)                           |
|                     | GO $\mu$ W | 42               | 0.003                                      | Avila-Huerta <i>et al.</i> (2021)                      |

\* IgG (Total) Human Uncoated ELISA Kit – Invitrogen.

[https://www.thermofisher.com/mx/es/home/life-science/antibodies/immunoassays/elisa-kits.html?gclid=EAlaIqobChMI\\_tzqdeO\\_wlVhQ99Ch0vsAKvEAAAYASAAEgJG2PD\\_BwE&ef\\_id=EAlaIqobChMI\\_tzqdeO\\_wlVhQ99Ch0vsAKvEAAAYASAAEgJG2PD\\_BwE:G:s&s\\_kwcid=AL!3652!3!415798135406!p!g!!iinvitrogen%20elisa!9205681679!93387333557&cid=bid\\_pca\\_iel\\_r01\\_co\\_cp1359\\_pjt0000\\_bid00000\\_0se\\_gaw\\_bt\\_pur\\_con](https://www.thermofisher.com/mx/es/home/life-science/antibodies/immunoassays/elisa-kits.html?gclid=EAlaIqobChMI_tzqdeO_wlVhQ99Ch0vsAKvEAAAYASAAEgJG2PD_BwE&ef_id=EAlaIqobChMI_tzqdeO_wlVhQ99Ch0vsAKvEAAAYASAAEgJG2PD_BwE:G:s&s_kwcid=AL!3652!3!415798135406!p!g!!iinvitrogen%20elisa!9205681679!93387333557&cid=bid_pca_iel_r01_co_cp1359_pjt0000_bid00000_0se_gaw_bt_pur_con).

\*\* E. coli HCP ELISA Kit, 2G (F1020). <https://www.abcam.com/products/elisa/e-coli-hcp-elisa-kit-host-cell-protein-ab240997.html>.

Source: Author's elaboration.

Taking advantage of the versatility of this novel GO $\mu$ Ws-based technology, a nanophotonic immunoassay was developed for the diagnosis of bacterial vaginosis (BV), which is an infectious vaginal disease caused by the overgrowth of bacteria naturally found in the vagina, which disrupts its natural balance (Wu *et al.*, 2019). The evaluation of the Amsel criteria (Amsel *et al.*, 1983) and the Nugent score (Nugent *et al.*, 1991) are typically used to make a clinical diagnosis of BV. Both approaches rely on observations made by highly qualified professionals who have even undergone extensive training. In BV infection, the enzyme known as sialidase (SLD) plays a very important role since several studies have found a close relationship between its production and the development of BV infection. Hence, SLD has been introduced as a potential biomarker of BV infection (Van de Munckhof *et al.*, 2019).

In this context, a one-step quantitative biodetection system was designed to detect SLD concentrations. For this purpose, a monoclonal antibody (mAb)

against SLD, developed by our colleagues in Universidad Autónoma de Guerrero, was exploited. Several immunological methods have shown that this mAb can recognize sialidase with high sensitivity (Cortés-Sarabia *et al.*, 2020). Hence, in our immunoassay, mAb-decorated quantum dots (mAb-QD) were employed as a fluorescent bioprobe to interrogate the presence of SLD and GO $\mu$ Ws were also employed. A schematic representation of our nanophotonic immunoassay targeting SLD is shown in figure 7A. With this nanophotonic immunoassay, 162 clinical samples were analyzed with a clinical sensitivity/specificity accounting for c.a. 96%. Besides, it was demonstrated as a simple and cost-effective tool to detect BV, especially when compared with conventional techniques such as indirect ELISA (Rodríguez-Nava *et al.*, 2021).

Food safety is another field in which having an efficient, fast, economical and at the same time reliable biosensing system is of greatest importance since late detection of pathogenic bacteria can be a great threat to human health as well as to the ecosystem. Exploiting the same nanophotonic technology, we reported a rapid pathogen detection platform (Avila-Huerta *et al.*, 2020). Particularly, our biosensing platform was used to detect *Escherichia coli*, even in cauliflower extracts, see figure 7B.

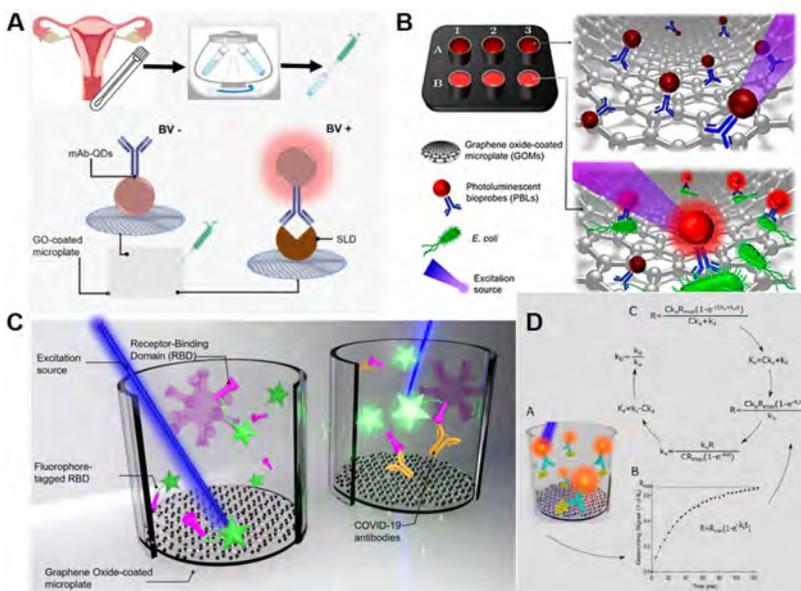
The aforementioned configuration provided an optimum analytical performance at 30 minutes. As a result, the developed bacterial detection platform was shown to be quick and extremely sensitive, with a limit of detection of around 2 CFU mL<sup>-1</sup>.

Our nanophotonic immunoassay was also adapted to offer a useful tool in the recent pandemic scenario. In fact, we engineered an immunoassay targeting COVID-19 antibodies. Particularly, based on the fact that the fluorophore-tagged recombinant SARS-CoV-2 spike receptor binding domain protein (F-RBD) can act as a bioprobe that emits fluorescence upon detection of the COVID-19 antibody, a biosensing system for determination of COVID-19 seroconversion was developed (figure 7C). The cost of this test is about 0.5 USD per unit (laboratory scale). In addition, the biosensing system provides optimal results within 42 min. With the intention of proving that this technology is technically sound in a relevant environment, 34 human serum samples were examined, as well (Avila-Huerta *et al.*, 2021).

So far, our biosensing platform has been discussed as a versatile, low-cost, efficient and advantageous tool, especially when compared with conventional techniques such as ELISA. However, the most recent work in which this system is involved concerns the study of the macromolecular association between the biorecognition probe and the corresponding analyte. It is known that macromolecular association is crucial in drug development, diagnostics and gene editing, however macromolecular association study requires expensive instrumentation and complicated procedures (Patel *et al.*, 2017). Since the developed nanophotonic immunoassay operates in real-time, binding constants displayed during protein-protein association can also be determined by means of our innovative technology. Figure 7D shows a schematic representa-

tion of this innovative technology to determine protein kinetics. This one-step platform was used to determine the binding data for three protein pairings, and the results were compared to data provided by suppliers or the literature, indicating that this approach is comparable with existing methods. These pairs consist of: 1) human immunoglobulin G (H-IgG)-fluorophore-tagged anti-H-IgG; 2) prostate-specific antigen (PSA)-quantum dot-tagged anti-PSA, and, 3) recombinant anti-RBD protein-fluorophore-tagged SARS-CoV-2 spike receptor-binding domain. Additionally, an open-source software that determines protein binding kinetic constants was offered (Edwin *et al.*, 2022).

**Figure 7.** Graphical representation of real-time biosensing platform in different approach and analytes detection.



**A.** SLD Immunoassay diagram. **B.** Scheme of the biosensing platform targeting *E. coli*. **C.** Biosensing system for COVID-19 seroconversion. **D.** Schematic representation of the measurement of binding kinetics constants. Source: A: Adapted with permission from Rodríguez-Nava *et al.* (2021). Copyright © 2021, American Chemical Society. B: Adapted with permission from Avila-Huerta *et al.* (2020). Copyright © 2020 American Chemical Society. C: Adapted with permission from Avila-Huerta *et al.* (2021). Copyright © 2021, American Chemical Society. D: Adapted with permission from Edwin *et al.* (2022). Copyright © 2022, American Chemical Society.

## Conclusions and outlook

We discussed that graphene oxide-coated microwells, GO $\mu$ Ws, combined with photoluminescent bioprobes are a powerful tool for the implementation of an advantageous biosensing system, which can be considered a highly transformative immunoassay in a standard format (the 96-microwell format). More-

over, it is important to note that, due to the universal fluorescence quenching ability of GO, it is possible to engineer a photoluminescent immunodetection platform operating at different wavelengths, which may be useful for future multiplexed applications. Besides, the proposed nanophotonic immunoassay can be transferred to on-site applications using miniaturized technologies involving microfluidics and/or paper-based analytical devices. In addition, to improve the clinical sensitivity and specificity of our biosensing system, computational tools such as artificial intelligence can be employed.

## References

- Amsel, R., Totten, P. A., Spiegel, C. A., Chen, K. C., Eschenbach, vD., and Holmes, K. K. (1983). Nonspecific vaginitis. Diagnostic Criteria and Microbial and Epidemiologic Associations. *Am. J. Med.*, 74(1): 14-22.
- Avila-Huerta M. D, Ortiz-Riaño, E. J., Mancera-Zapata, D. L., Cortés-Sarabia, K., and Morales-Narváez, Eden. (2021). Facile determination of Covid-19 seroconversion via nonradiative energy transfer. *ACS Sens.* <https://doi.org/10.1021/acssensors.1c00795>.
- Avila-Huerta, M. D., Ortiz-Riaño, E. J., Mancera-Zapata, D. L., Morales-Narváez, E. (2020). Real-time photoluminescent biosensing based on graphene oxide-coated microplates: a rapid pathogen detection platform. *Anal. Chem.* 2020. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.0c02200>.
- Cortés-Sarabia, K., Rodríguez-Nava, C., Medina-Flores, Y., Marta-Ruiz, O., López-Meza, J. E., Gómez-Cervantes, M. D., Parra-Rojas, I., Illades-Aguiar, B., Flores-Alfaro, E., and Vences-Velázquez, A. (2020). Production and characterization of a monoclonal antibody against the *Sialidase* of *Gardnerella Vaginalis* using a synthetic peptide in a MAP8 format. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, 104: 6173-6183.
- Forster, Th. (1946). Energiewanderung und Fluoreszenz. *Naturwissenschaften*, 33(6): 166-175. <https://doi.org/10.1007/BF00585226>.
- Geim, A. K., Novoselov, K. S. (2007). The rise of graphene. *Nature Materials*, 6(3): 183-191. <https://doi.org/10.1038/nmat1849>.
- Huang, A., Li, W., Shi, S., Yao, T. (2017). Quantitative fluorescence quenching on antibody-conjugated graphene oxide as a platform for protein sensing. *Scientific Reports*, 7(1): 40772. <https://doi.org/10.1038/srep40772>.
- Li, D., Müller, M. B., Gilje, S., Kaner, R. B., Wallace, G. G. (2008). Processable aqueous dispersions of graphene nanosheets. *Nat. Nanotechnol.*, 3: 101. <https://doi.org/10.1038/nnano.2007.451>
- Mancera-Zapata, Diana L. (2018). *Reduction of graphene oxide and its impact on the performance of a biosensing system*. Unpublished Master's thesis. Centro de Investigaciones en Óptica, A.C. CIO Repositorio. <http://cio.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1002/1187>.
- Morales-Narváez, E., A. Merkoçi. (2012). Graphene oxide as an optical biosensing platform. *Advanced materials*, 24: 3298. [Front cover article, highly cited paper]. <https://doi.org/10.1002/adma.201200373>.



- Morales-Narváez, E., Merkoçi, A. (2018). Graphene oxide as an optical biosensing platform: progress report. *Adv. Mater.*, 31(6): 1805043. <https://doi.org/10.1002/adma.201805043>.
- Najeeb, M. A., Ahmad, Z., Shakoor, R. A., Mohamed, A. M. A., Kahraman, R. (2017). *Talanta*, 168: 52-61. <https://doi.org/10.1016/j.talanta.2017.03.022>.
- Nugent, R. P., Krohn, M. A., and Hillier, S. L. (1991). Reliability of diagnosing bacterial vaginosis is improved by a standardized method of Gram Stain interpretation. *J. Clin. Microbiol.*, 29 (2): 297-301.
- Ortiz-Riaño, E. J., Avila-Huerta, M. D., Mancera-Zapata, D. L., Morales-Narváez, E. (2020). Microwell plates coated with graphene oxide enable advantageous real-time immunosensing platform. *Biosens. Bioelectron.*, 165: 112319. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112319>.
- Ortiz-Riaño, Edwin J., Diana L. Mancera-Zapata, Martha Ulloa-Ramírez, Fernando Arce-Vega, and Eden Morales-Narváez. (2022). Measurement of protein kinetics using a liquid phase-based biosensing platform. *Analytical Chemistry*, Article ASAP. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.2c03305>.
- Patel, K., Halevi, S., Melman, P., Schwartz, J., Cai, S., Singh, B. R. (2017). *Biosensors*, 7(3): 32. <https://doi.org/10.3390/bios7030032>.
- Rodríguez-Nava, C., Cortés-Sarabia, K., Avila-Huerta, M. D., Ortiz-Riaño, E. J., Estrada-Moreno, A. K., Alarcón-Romero, L. C., Mata-Ruiz, O., Medina-Flores, Y., Vences-Velazquez, A., Morales-Narváez. (2021). Nanophotonic sialidase immunoassay for bacterial vaginosis diagnosis. *ACS Pharmacol. Transl. Sci.* <https://doi.org/10.1021/acspsci.0c00211>.
- Sinclair, Robert C., and Peter V. Coveney. (2019). Modeling nanostructure in graphene oxide: inhomogeneity and the percolation threshold. *J. Chem. Inf. Model*, 59, 6, 2741-2745. <https://doi.org/10.1021/acs.jcim.9b00114>.
- Srivastava, S., Senguttuvan, T. D., Gupta, B. K. (2018). Highly efficient fluorescence quenching with chemically exfoliated reduced graphene oxide. *Journal of Vacuum Science & Technology B*, 36(4): 04G104. <https://doi.org/10.1116/1.5026170>.
- Steiner, D. J., Cognetti, J. S., Luta, E. P., Klose, A. M., Bucukovski, J., Bryan, M. R., Schmuke, J. J., Nguyen-Contant, P., Sangster, M. Y., Topham, D. J., Miller, B. L. (2020). Array-based analysis of SARS-CoV-2, other coronaviruses, and influenza antibodies in convalescent COVID-19 patients. *Biosens. Bioelectron*, 169: 112643. <https://doi.org/10.1016/j.bios.2020.112643>.
- Van den Munckhof, E. H. A., van Sitter, R. L., Boers, K. E., Lamont, R. F., Te Witt, R., le Cessie, S., Knetsch, C. W., van Doorn, L.-J., Quint, W. G. V., Molijn, A., and Leverstein-Van Hall, M. A. (2019). Comparison of amsel criteria, nugent score, culture and two CE-IVD marked quantitative real-time PCRs with microbiota analysis for the diagnosis of bacterial vaginosis. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, 38(5): 959-966.
- Vasilios Georgakilas, Jason A., Perman, Jiri Tucek, and Radek Zboril, (2015). Broad family of carbon nanoallotropes: classification, chemistry, and applications of fullerenes, carbon dots, nanotubes, graphene, nanodiamonds, and combined superstructures. *Chem. Rev.*, 115(11): 4744-4822. <https://doi.org/10.1021/cr500304f>.

- Velasco-Soto, M. A., Pérez-García, S. A., Alvarez-Quintana, J., Cao, Y., Nyborg, L., Licea-Jiménez, L. (2015). Selective band gap manipulation of graphene oxide by its reduction with mild reagents. *Carbon*, 93: 967-973. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2015.06.013>.
- Vessman, J., Stefan, R. I., Staden, J. F. V., Danzer, K., Lindner, W., Burns, D. T., Fajgelj, A., Müller, H. (2001). *Selectivity in analytical chemistry: (IUPAC Recommendations 2001)*. <https://doi.org/10.1515/iupac.73.0808>.
- Wu, S., Lin, X., Hui, K. M., Yang, S., Wu, X., Tan, Y., Li, M., Qin, A.-Q., Wang, Q., Zhao, Q., Ding, P., Shi, K., and Li, X. J. (2019). A bioluminescent sialidase assay for diagnosis of bacterial vaginosis. *Sci. Rep.*, 9, 20024.

# POLÍTICA EDITORIAL

Vol. 16, Núm. 31, julio–diciembre 2023 / <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2023.31>

## Objetivo y alcance

*Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* es una publicación científica de acceso abierto que no cobra cuotas por procesamiento de artículos. Todos los textos que se postulan para su posible publicación son previamente revisados por pares, bajo la modalidad doble ciego. Tiene como objetivo dar a conocer los avances y principales resultados de investigación en el área, incluyendo sus implicaciones sociales, ambientales, éticas y legales, así como de aspectos regulatorios. Por su naturaleza, es una publicación de alcance internacional pero con mayor incidencia en Iberoamérica. Publica exclusivamente artículos de investigación y revisiones del campo de conocimiento de interés, escritos en español, inglés o portugués. La revista cuenta con un código de ética basado en los lineamientos del Comité de Ética en Publicaciones (COPE, por sus siglas en inglés) al cual se suscribe.

Se publica dos veces al año (aparece los meses de enero y julio), en formato electrónico, editada y patrocinada desde 2008, de forma ininterrumpida, por la Universidad Nacional Autónoma de México.

## Secciones de la revista

### Editorial

Esta sección es escrita por los editores. Tiene como objeto destacar las temáticas abordadas en cada fascículo, haciendo énfasis en las principales tendencias de investigación en el área. De igual forma, es un espacio donde se presentan los avances y logros de la revista, así como los temas de interés editorial.

### Presentación

Esta sección, escrita por los(as) editores(as) invitados, da cuenta, de manera breve, del estado del arte del tema abordado, y no es objeto de dictamen académico.

### Artículos de investigación

Artículos de alto nivel, producto de investigaciones originales e inéditas dentro del campo de las nanociencias y la nanotecnología, incluyendo sus implicaciones sociales, ambientales, éticas y legales, así como de aspectos regulatorios. Hallazgos o resultados originales de proyectos de investigación que evidencien una postura teórica, metodología clara, resultados, discusión y conclusiones. Todas las colaboraciones dirigidas a esta sección serán sometidas a dictamen académico bajo la modalidad de revisión por pares doble ciego.

### Artículos de revisión

Por invitación de los editores o del Comité Editorial, incluyen avances y controversias en el campo de las nanociencias y la nanotecnología, con una amplia revisión bibliográfica, destacando puntos de vista analíticos. Su principal propósito es ofrecer una actualización integral acerca de los temas que trata la revista. Todas las colaboraciones solicitadas para esta sección serán sometidas a dictamen académico bajo la modalidad de revisión por pares doble ciego.

## Sistema de arbitraje

### Dictamen editorial

Los autores que postulen un artículo para su posible publicación en *Mundo Nano* deberán remitir —completa y en su versión final— la documentación que se indica en normas para autores(as), en la sección: requisitos para la pos-

tulación de originales, además del formato de originalidad disponible en el siguiente enlace:

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-declaratoria-de-originalidad.docx>

Una vez que el equipo editorial acredite que el envío cumple con todos los requisitos de postulación, el texto será remitido a dictamen editorial el cual contempla las siguientes etapas:

1. Acreditar una revisión bajo el *software* IThenticate aprobada por el Comité Editorial para detección de plagio, solo posterior a ello será posible continuar con las siguientes etapas del dictamen editorial.
2. Se verificará que el texto postulado guarde relación con el enfoque y alcance de la revista. No se considerarán aquellos trabajos que no contemplen explícitamente como componente relevante la dimensión nano.
3. Se revisará que el texto cumpla con todas y cada una de las indicaciones señaladas en las normas para autores(as) y en los requisitos para la postulación y entrega de originales.
4. Se revisará que la bibliografía a la que se recurre sea pertinente y actualizada, y que esté debidamente estandarizada según la norma Chicago, véase:

[http://www.chicagomanualofstyle.org/tools\\_citationguide.html](http://www.chicagomanualofstyle.org/tools_citationguide.html)

5. De acuerdo con los lineamientos de política editorial aprobados por el Comité Editorial, se dará prioridad a los textos cuya bibliografía se entregue gestionada electrónicamente y con hipervínculos activos a los DOI (Digital Object Identifier) respectivos, en los casos que así corresponda.

Una vez que el artículo postulado acredite el dictamen editorial, se notificará formalmente al autor de contacto el registro e inicio del proceso de dictamen académico.

### Dictamen académico

Los artículos deberán acreditar favorablemente el proceso de dictamen académico, el cual operará bajo la modalidad de revisión por pares doble ciego, donde la identidad tanto de los autores como de los dictaminadores permanecerán en anonimato, para ello se tomarán en consideración los siguientes lineamientos:

1. Los artículos que acrediten el dictamen editorial serán enviados a académicos expertos en la misma área disciplinar y temática que las del texto postulado. Los revisores serán seleccionados de la cartera de árbitros —integrada por especialistas de instituciones nacionales e internacionales— quienes emitirán comentarios acerca de la pertinencia y calidad académica del texto propuesto y determinarán la factibilidad de la publicación del texto en cuestión.
2. Los dictaminadores tendrán bajo su responsabilidad revisar y analizar la pertinencia académica, teórica y metodológica de todos y cada uno los artículos que les sean asignados. Serán ellos los responsables de revisar la presencia explícita del apartado teórico-metodológico, así como su congruencia respecto del campo de estudios, la coherencia entre el aporte académico y la relevancia de los hallazgos descritos, así como la actualidad y oportunidad de la bibliografía a la que se recurre.

3. Todos los textos serán remitidos a dos expertos —ads-critos a una institución distinta de la adscripción de los autores— quienes emitirán sus comentarios. En caso de discrepancia en los dictámenes, se recurrirá a un tercer evaluador para que dirima la diferencia.
4. Finalmente, con base en las recomendaciones de los revisores, la decisión de los editores de *Mundo Nano* será:
  - a. Recomendar su publicación sin modificaciones.
  - b. Recomendar su publicación con cambios menores, y que no hacen necesaria una segunda revisión por parte de los árbitros.
  - c. Condicionar su publicación a la realización de cambios importantes, lo que obliga a una nueva revisión por parte de los revisores. Este proceso se puede repetir hasta un máximo de tres rondas, si a este punto el documento aún no es recomendado para su publicación, el artículo será rechazado sin opción a un nuevo envío.
  - d. No recomendar su publicación.
5. Para que un texto sea aprobado para su publicación es indispensable que al menos dos de los tres dictámenes sean positivos.
6. Los editores garantizarán, en todos los casos, que los dictámenes entregados a los autores contengan argumentos sólidos que respalden la decisión editorial.
7. Los resultados del proceso de dictamen académico serán inapelables en todas las circunstancias.
8. La evaluación de los árbitros seleccionados tomará como guía el formato de dictamen disponible en el siguiente enlace:

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Formato-de-dictamen.docx>

9. En caso de recibir observaciones, el autor tendrá un plazo de quince días naturales para hacer llegar al editor en jefe la nueva versión del trabajo. De hacerlo fuera de este plazo el documento iniciará un nuevo proceso de dictamen.
10. El tiempo para que el documento sea turnado a dictamen estará en función del número de artículos en la lista de espera. Los árbitros, una vez recibido el artículo, tendrán cuatro semanas para realizar la revisión y entregar el resultado.
11. Los documentos aceptados para su publicación iniciarán el proceso de producción editorial: corrección de estilo, verificación de metadatos, formación, marcado de archivos XML, maquetación de archivos HTML, generación de archivos e-PUB, verificación de números DOI por artículo y fascículo completo.
12. La corrección de estilo de los textos en un idioma distinto al español (inglés y portugués) será responsabilidad de los autores.
13. Una vez concluido el proceso de producción editorial y con el visto bueno de los editores de la revista y los editores invitados, el artículo se publicará en línea: publicación continua (en el portal de la revista), en tanto se integra el contenido completo del fascículo.

## Política de acceso abierto

Esta revista es de acceso libre inmediato a su contenido, bajo el principio de hacer disponible al público gratuitamente las investigaciones publicadas.

Los autores que publiquen en *Mundo Nano* aceptan las siguientes condiciones:

1. De acuerdo con la legislación de derechos de autor, *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* reconoce y respeta el derecho moral de los autores, así como la titularidad del derecho patrimonial, el cual será transferido —de forma no exclusiva— a la revista, para su difusión en acceso abierto.
2. *Mundo Nano* no realiza cargos a los autores por enviar y procesar artículos para su publicación.
3. Todos los textos publicados por *Mundo Nano* —sin excepción— se distribuyen amparados bajo la licencia [Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional](#), la cual permite a terceros utilizar lo publicado siempre que mencionen la autoría del trabajo y a la primera publicación en esta revista.



Esta obra está bajo una licencia *Creative Commons Atribución-NoComercial 4.0 Internacional*.

4. Los autores pueden realizar otros acuerdos contractuales independientes y adicionales para la distribución no exclusiva de la versión del artículo publicado en *Mundo Nano*, por ejemplo, incluirlo en un repositorio institucional o darlo a conocer en otros medios en papel o electrónicos, siempre que indique clara y explícitamente que el trabajo se publicó por primera vez en *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología*.

Para todo lo anterior, los autores deben remitir el formato de carta de transmisión de derechos patrimoniales de la primera publicación debidamente requisitado y firmado disponible en el siguiente enlace:

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-transmision-de-derechos-patrimoniales.docx>

## Código de ética

*Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* se suscribe al código de ética para la actuación y desempeño de los actores involucrados en el proceso de publicación de esta revista (editores, comité editorial, comité científico, autores(as) y revisores(as)) establecido por el Comité de Ética en Publicaciones (COPE, por sus siglas en inglés), y disponible en:

<https://publicationethics.org/resources/code-conduct>

## Políticas de sanción a conductas antiéticas

El conjunto de conductas inadecuadas incluye: la falsificación de datos, la manipulación de datos a favor de ciertos resultados, la postulación de un artículo con información redundante o postulado previa o simultáneamente a otro espacio editorial, el uso indiscriminado de autocitas, así como también autoría injustificada o fantasma. En caso de identificar alguna de las prácticas mencionadas en algún artículo postulado, el Comité Editorial evaluará el caso y someterá a sanción de acuerdo con el tipo de falta.

## Detección de plagio

En *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología* se utiliza un *software* especializado para la

detección de plagio: IThenticate. Los textos recibidos serán sometidos a revisión antes de enviarlos a dictamen editorial y académico, se rechazarán si el porcentaje de similitud con otro texto publicado o disponible en Internet sea superior a 35%.

Si se detecta o sospecha el uso de información redundante o duplicada en un texto postulado, el procedimiento a seguir es el que el Comité de Ética de Publicaciones (COPE) resume en el siguiente diagrama:

<https://publicationethics.org/files/Spanish%20%281%29.pdf>

### Lineamientos y buenas prácticas editoriales

Estos lineamientos hacen referencia a las políticas de buenas prácticas editoriales del COPE y están disponibles en:

<http://publicationethics.org/resources/guidelines>

#### Funciones y responsabilidades del Comité Científico

- Promover entre la comunidad académica nacional e internacional la postulación de trabajos para su publicación en la revista.
- Sugerir lineamientos académicos para actualizar la política editorial de la revista.
- Promover la difusión de la revista en medios académicos nacionales e internacionales.
- Participar como dictaminadores de trabajos recibidos para su publicación o recomendar a otros expertos como dictaminadores.

#### Funciones y responsabilidades del Comité Editorial

- Promover entre la comunidad académica nacional e internacional la postulación de trabajos para su publicación en la revista.
- Apoyar en la selección de los dictaminadores para los trabajos recibidos, así como deliberar sobre las mejores opciones de dictaminadores en casos necesarios.
- Decidir sobre la pertinencia de publicación de los materiales recibidos, apoyándose en los dictámenes de expertos.
- Aprobar el contenido propuesto para cada número de la revista.
- Revisar y evaluar cada número publicado.
- Colaborar con las instancias correspondientes para mantener la periodicidad establecida para la publicación.

#### Funciones y responsabilidades del editor en jefe y editores

- Coordinar las acciones conducentes al cumplimiento de los objetivos de la revista.
- Procurar un alto nivel académico en el contenido que se publica.
- Recibir los trabajos propuestos para su publicación y solicitar los dictámenes académicos.
- Vigilar el cumplimiento de las recomendaciones de los dictaminadores.
- Informar a los autores la fase del proceso editorial en la que se encuentre el texto enviado.
- Informar al Comité Editorial sobre el proceso de arbitraje de todos los materiales recibidos, cuidando la confidencialidad.
- Proponer al Comité Editorial el contenido de cada número de la revista, a partir de los textos que estén corregidos y aprobados al momento.

#### Funciones y responsabilidad de los editores(as) invitados(as)

- El Comité Editorial podrá invitar a especialistas de un tema específico para coordinar, en colaboración con los editores de la revista, el contenido y orientación del tema a tratar en el fascículo correspondiente.
- Sus funciones incluyen invitar a potenciales autore(as), y dictaminadores, y colaborar con los editores de la revista en el proceso de dictamen académico, siempre garantizando su calidad y carácter de doble ciego.
- Elaborar un texto de presentación en el que posicionen la importancia temática del fascículo y presenten los trabajos que lo componen.

#### Funciones y responsabilidades del editor asociado

- Coordinar el proceso de dictamen editorial.
- Planificar y coordinar el proceso de producción editorial de la revista.
- Aplicar el software IThenticate para la detección de plagio.
- Supervisar el procesamiento técnico de los materiales aprobados por el Comité Editorial, una vez que hayan cubierto los requisitos académicos establecidos.
- Supervisar la corrección de estilo y la calidad técnica de la revista y cuidado de la edición.
- Colaborar para mantener la periodicidad establecida para la publicación de la revista y para que la difusión y distribución de cada número inicie durante el primer mes del periodo correspondiente.
- Mantener actualizada la información y procesos requeridos por los espacios en los que se encuentra indexada la revista, así como promover su incorporación a nuevos índices.

#### Funciones y responsabilidades del editor técnico

- Verificar los números DOI de cada artículo y el del fascículo correspondiente de la revista y actualizar, si es el caso, los metadatos de envío.
- Formación de los trabajos aprobados para su publicación.
- Incorporar correcciones a los trabajos formados.
- Gestión y actualización de contenidos y diseño de la plataforma OJS.
- Supervisar la elaboración de los archivos XML, HTML y ePUB de cada uno de los artículos y su incorporación a OJS.
- Supervisar el diseño de la portada y la página legal de cada número.

#### Responsabilidades de los autores

- Atender los requisitos de publicación de la revista relativos a: originalidad, que el texto sea inédito, pertinencia.
- Presentar sus resultados con honestidad y sin mentiras, falsificación o manipulación de datos.
- Asumir la responsabilidad colectiva, si es el caso, para el trabajo presentado y publicado.
- Las fuentes de financiamiento y los conflictos de interés pertinentes deben señalarse en el artículo.
- Citar el trabajo de los demás con precisión y solo referir publicaciones utilizadas en el texto.
- Los autores deben informar a los editores si los resultados han sido publicados con anterioridad o si varios informes o análisis múltiples de un mismo conjunto de datos están bajo consideración para su publicación en otro lugar. Los autores deben proporcionar copias de las publicaciones o trabajos afines presentados a otras revistas.

### Responsabilidades de los dictaminadores

- Aceptarán la revisión de textos que se ajusten a su área de especialidad, con el fin de realizar una evaluación adecuada.
- Declarará desde el inicio del proceso si existe conflicto de interés. Si sospecha la identidad del autor(es) notificar a la revista si este conocimiento plantea cualquier posible conflicto de intereses.
- Rechazarán la revisión de inmediato si no les es posible entregarla en el plazo acordado.
- Emitirán su evaluación basándose en la originalidad, la contribución del artículo a la temática, la metodología empleada, la pertinencia y actualidad de la bibliografía utilizada; el estilo, la coherencia y la calidad en la estructura y en la redacción del texto.
- Informarán al editor de la revista, o editores(as) invitados, de inmediato, si durante la evaluación encuentran o descubren que no tienen la experiencia necesaria para evaluar todos los aspectos del texto.
- Sus críticas serán objetivas, específicas y constructivas.
- Definirán con claridad la aprobación, rechazo o condicionamiento del texto.
- Emitirán su evaluación en el plazo acordado.
- Respetarán la confidencialidad durante y después del proceso de evaluación.
- No utilizarán contenido del texto revisado o en revisión.
- No involucrarán a otras personas en la revisión que les fue solicitada.
- Comunicarán al editor de la revista, o editores(as) invitados, si detectan similitud del texto con otro que hayan revisado o si identifican cualquier tipo de plagio.

No se permite transferir la responsabilidad de realizar un dictamen a ninguna otra persona, asistente o colaborador.

### Registro en directorios y bases de datos de contenido científico

|   |  |
|---|--|
|  | Directory of Open Access Journals  |
|  | Sistema Regional de Información en Línea para Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal (Latindex-Catálogo) |
|  | Red Iberoamericana de Innovación y Conocimiento Científico   |
|  | Índice de Revistas Latinoamericanas en Ciencias  |
|  | Bibliografía Latinoamericana   |
|  | Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología   |
|  | Scientific Electronic Library Online   |
|  | Portal de difusión de la producción científica hispana   |

### Garantizar una evaluación por pares anónima

Para asegurar la integridad de la evaluación por pares anónima para el envío a la revista, se debe intentar que los autores y los revisores desconozcan sus identidades entre ellos. Esto implica que los autores, editores y revisores (los cuales suben documentos como parte de su revisión) comprueben si los siguientes pasos se han seguido cuidadosamente en cuanto al texto y las propiedades del archivo:

1. Los autores del documento han eliminado sus nombres del texto, con "Autor/a" y el año que se usa en las referencias y en las notas a pie de página, en vez del nombre de los autores/as, el título del artículo, etcétera.
2. En los documentos de Microsoft Office, la identificación del autor también debe eliminarse de las propiedades del archivo.
3. En los PDFs, los nombres de los autores/as también deben ser eliminados de las propiedades del documento que se encuentran debajo de *Archivo* en el menú principal de Adobe Acrobat.

### Requisitos para la postulación de originales

Los artículos que sean postulados para su posible publicación en *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencia y Nanotecnología* deberán remitir la siguiente documentación completa y en su versión final, a través de la interfase Open Journal Systems. No se aceptarán postulaciones que no sean enviadas por este medio:

1. **Carta de originalidad y no postulación simultánea**, esta carta también deberá ser llenada con los datos del autor o autores, y, en el caso de artículos con dos o más autores, se deberán proveer los datos de todos y cada uno de ellos, incluyendo su número de identificador normalizado ORCID. Se deberá identificar al autor que firma como responsable del texto, así como el autor de correspondencia.

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-declaratoria-de-originalidad.docx>

2. **Formato de cesión de derechos patrimoniales**, deberá ser llenado y firmado con los datos del autor o autores. En el caso de artículos con dos o más autores, se deberán proveer los datos de todos y cada uno de ellos, y se deberá identificar al autor que firma como responsable del texto, así como al autor de correspondencia.

<https://www.ceiich.unam.mx/wp-content/uploads/Carta-de-transmision-de-derechos-patrimoniales.docx>

3. **Anexar el contenido completo** del artículo que se postula y los archivos adicionales, en su versión final. No se aceptarán cambios una vez iniciado el proceso.

### Requisitos para la entrega de originales

1. Entregar el contenido textual en archivos en formato electrónico para procesador de textos, sin clave de contraseña (el envío de archivos en PDF no es pertinente para el proceso editorial).
2. Entregar fotografías e imágenes en archivos electrónicos en formato TIFF y/o JPG, (o compatible) con al menos 300 dpi de resolución. Las imágenes de gráficas,

cuadros o tablas podrán estar en el texto, aunque es indispensable anexar las gráficas en archivo independiente. Las tablas o cuadros se deberán entregar también por separado en hoja de cálculo

3. Contar con los derechos de reproducción del material gráfico, imágenes, fotografías, obra artística, etcétera, ya sea por parte del propio autor (autores), o bien de terceros.
4. Una vez cumplidos los requisitos de postulación el texto será remitido a dictamen editorial.

## Política de recepción de materiales

1. **Exclusividad:** los trabajos enviados a Mundo Nano deberán ser inéditos y sus autores se comprometen a no someterlos simultáneamente a la consideración de otras publicaciones, por lo cual es necesario adjuntar este documento: Carta de originalidad y no postulación simultánea.
2. **Naturaleza de los trabajos:** las contribuciones que se reciban para su eventual publicación deben ser resultados originales derivados de un trabajo académico de alto nivel. Solo se aceptarán documentos vinculados con la nanociencia y la nanotecnología, incluyendo abordajes que destaquen sus implicaciones sociales, ambientales, éticas y legales, así como de aspectos regulatorios, con la condición de presentar de manera explícita y detallada las estrategias teórico-metodológicas a las que se recurre y enfatizar los hallazgos producto de su aplicación.
3. **Anonimato en la identidad de los autores:** los artículos no deberán incluir en el cuerpo del artículo, ni en las notas a pie de página, información que revele su identidad, ello con el fin de asegurar una evaluación anónima por parte de los pares académicos que realizarán el dictamen. El nombre de los autores, adscripción laboral, el número de identificación normalizado ORCID, agradecimientos, se incluirán en un archivo separado denominado "carta de presentación".
4. **Coautorías:** de acuerdo con la política editorial y respecto de la autoría colectiva, se aceptarán como máximo cuatro autores, si se postularan artículos con más autores se deberá justificar la razón y naturaleza de la coautoría, quedando a juicio del Comité Editorial la aceptación o rechazo editorial del documento. En todos los casos se deberá indicar el tipo de participación de cada uno de los autores. Por ningún motivo se aceptará cambio en el orden en que fueron presentados los autores al momento de la postulación, y no será posible omitir ni agregar ningún autor que no hubiese sido señalado desde el inicio, por lo cual será necesario identificar dicha información en los datos de registro.
5. **No se publicarán más de 2 trabajos del mismo autor(a) o coautor(a) en el mismo número de la revista.**
6. **Frecuencia de publicación:** cuando un autor(a) ha publicado en *Mundo Nano*, deberá esperar un año para publicar nuevamente. El Comité Editorial podrá autorizar la publicación consecutiva, de acuerdo con la pertinencia y relevancia del trabajo puesto a consideración.
7. **Idiomas de publicación:** se recibirán textos escritos en español, inglés o portugués. La revisión de estilo se hará solo en trabajos escritos en español.

## Presentación de originales

1. La **página de presentación** se deberá integrar en el siguiente orden:

- Título del artículo, de no más de 15 palabras, deberá incluirse tanto en español como en inglés, lo más descriptivo, claro y conciso posible.
- Es indispensable que todos y cada uno de los autores proporcionen su número de identificador normalizado ORCID. Para mayor información ingresar a [www.orcid.org](http://www.orcid.org).
- Se deberán indicar las instituciones de adscripción y país de todos y cada uno de los autores, evitando el uso de siglas o acrónimos. Asimismo, se evitará la traducción de los nombres de instituciones.
- En esta página, se precisará cuál es el autor que firma como responsable del texto, así como el autor de correspondencia. En caso de ser el mismo esto deberá ser aclarado explícitamente.
- Se deberá indicar el correo electrónico, solo en el caso del autor de correspondencia.
2. **Resumen estructurado:** en español e inglés, y deberá integrar los siguientes elementos en un máximo de 200 palabras:
  - Objetivo del artículo
  - Diseño y metodología
  - Principales resultados y conclusiones.
3. **Palabras clave:** en español e inglés, describiendo temática y analíticamente el objetivo del artículo.
4. **Extensión y formato:** los artículos de investigación podrán tener una extensión entre 8,000 y 10,000 palabras y las revisiones entre 5,000 y 8,000 palabras. Deberán estar escritos en procesador de texto, en tamaño carta con márgenes de 2.54 centímetros, en fuente Times New Roman de 12 puntos, interlineado doble, sin espacio entre párrafos. Las páginas deberán estar foliadas desde la primera hasta la última en el margen inferior derecho. La extensión total incluye abordaje textual, bibliografía, tablas, gráficas, figuras, imágenes y todo material adicional.
5. **Estructura de los artículos:** los artículos incluirán una introducción que refleje con claridad los antecedentes del trabajo, el método o estrategia de análisis a la que se recurre, discusión, resultados, conclusiones y bibliografía. Si así lo consideran los autores, se podrán presentar secciones y apartados propiamente jerarquizados y diferenciados solo con el uso de tipografía (sin usar números arábigos o romanos).
6. **Uso de siglas y acrónimos:** para el uso de acrónimos y siglas en el texto, la primera vez que se mencionen, se recomienda escribir el nombre completo al que corresponde y enseguida colocar la sigla entre paréntesis. Ejemplo: Petróleos Mexicanos (Pemex), después solo Pemex.
7. **Material suplementario:** refiere a información o figuras que son útiles para aquellos lectores interesados en mayores detalles, pero que no son imprescindibles para la comprensión de los principales resultados del artículo. El material suplementario debe ser claro, sintético y consistente con el artículo. Este será publicado, por separado, como archivo digital con su correspondiente DOI.
8. **Notas:** las notas deberán indicarse a pie de página, estar numeradas y ser las estrictamente necesarias. Las notas a pie de página se reservarán para ampliaciones al texto o aclaraciones, no podrán utilizarse para indicar bibliografía con locuciones latinas.
9. **Tablas y figuras:** podrán estar incluidas en el texto, o se anotarán con indicaciones precisas sobre su lugar en el texto. Por ejemplo: "tabla 1, aquí". La numeración de las tablas será consecutiva, en orden ascendente y con números arábigos. De la misma manera, el título se colo-

cará en la parte superior y la fuente completa en la parte inferior. Los autores tendrán la responsabilidad de verificar que la fuente de todas las tablas y figuras aparezca en la bibliografía final.

- Elementos gráficos:** todos los elementos gráficos, esquemas, mapas, etc., se nombrarán Figuras y tendrán una numeración consecutiva en números arábigos. El título se ubicará en la parte superior y la fuente completa a pie de cada figura. El autor tendrá la obligación de revisar que la fuente de todas las figuras estén indicadas en la bibliografía final. Además de poderlos incluir en el texto del artículo, todo elemento gráfico se entregará en archivo independiente en formato TIFF y/o JPG, con una resolución mínima de 300 dpi. Si las gráficas son elaboradas en Microsoft Excel, se deberá anexar el archivo fuente.
- Información adicional:** los artículos no incluirán epígrafes ni dedicatorias.
- Las referencias y citas bibliográficas:** al final del artículo deberán indicarse todas y cada una de las fuentes citadas en el cuerpo del texto (incluyendo notas, fuentes de las tablas y figuras). El autor debe revisar cuidadosamente que no haya omisiones ni inconsistencias entre las obras citadas y la bibliografía. Se incluirán en la lista de referencias solo las obras citadas en el cuerpo y notas del artículo. La bibliografía deberá presentarse estandarizada recurriendo a la norma Chicago, tomando como guía los siguientes ejemplos:

- Artículos en revistas (no se abrevien los títulos ni de los artículos ni de las revistas):  
Takeuchi, N. 1998. Cálculos de primeros principios: un método alternativo para el estudio de materiales. *Ciencia y Desarrollo*, 26(142): 18.
- Libros:  
Delgado, G. C. 2008. *Guerra por lo invisible: negocio, implicaciones y riesgos de la nanotecnología*. México: CEIICH, UNAM.
- Internet:  
NobelPrice.org. 2007. *The Nobel Prize in Physics 1986*. [http://www.nobelprize.org/nobel\\_prizes/physics/laureates/1986/press.html](http://www.nobelprize.org/nobel_prizes/physics/laureates/1986/press.html)

Se dará prioridad a los textos cuya bibliografía se entregue gestionada electrónicamente y con hipervínculos activos a los DOI respectivos, en todos los casos que así corresponda.

## Enviar un artículo

El registro y el inicio de sesión son necesarios para enviar elementos en línea y para comprobar el estado de los en-

víos recientes. Ir a [Entrar](#) para una cuenta existente o [Registrarse](#) para una nueva cuenta.

## Lista de comprobación de preparación de envíos

Como parte del proceso de envío, los autores/as están obligados a comprobar que su envío cumpla todos los elementos que se muestran a continuación. Aquellos envíos que no cumplan con estas directrices serán devueltos a los autores/as.

- El envío no ha sido publicado previamente ni se ha enviado previamente a otra revista.
- El archivo enviado está en porcesador de palabras, sin contraseña de lectura.
- Se ha incluido el número de identificación normalizado ORCID de los(as) autores(as).
- El texto tiene interlineado doble; el tamaño de fuente es 12 puntos; se usa cursiva en vez de subrayado (exceptuando las direcciones URL).
- Todas las ilustraciones, figuras y tablas podrán estar dentro del texto en el sitio que les corresponde, o indicar, por ejemplo: "Figura 1, aquí". Las imágenes, si las hay, se incluirán en archivos separados en formato TIFF o JPG. Es indispensable anexar las gráficas, tablas o cuadros en hoja de cálculo por separado.
- El texto cumple con los requisitos bibliográficos y de estilo indicados en las Normas para autores/as, que se pueden encontrar en la sección: Sobre la revista.
- Bibliografía gestionada electrónicamente y con hipervínculos activos a los DOI respectivos, en todos los casos que así corresponda.
- Si está enviando a una sección de la revista que se revisa por pares, asegurarse de que las instrucciones en garantizar una evaluación por pares anónima han sido seguidas.

## Declaración de privacidad

Los nombres y direcciones de correo-e introducidos en esta revista se usarán exclusivamente para los fines declarados por la revista y no estarán disponibles para ningún otro propósito u otra persona.

— o o o —

*Estos lineamientos, que actualizan los establecidos el 12 de febrero de 2018, fueron aprobados por el Comité Científico y el Comité Editorial de Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria en Nanociencias y Nanotecnología, el 18 de abril de 2022, y se reflejarán en los contenidos que se publiquen a partir del segundo semestre de 2022.*



