



BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA

POSGRADO EN CIENCIAS QUÍMICAS
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
CENTRO DE QUIMICA- INSTITUTO DE CIENCIAS

**“SÍNTESIS DE NANOMATERIALES HIBRIDOS CON
PROPIEDADES ANTIMICROBIANAS”**

“Tesis presentada para obtener el grado de: Doctor en Ciencias
Químicas en el área de Fisicoquímica”

PRESENTA:

M. C. MÓNICA CRUZ HERNÁNDEZ

DIRECTOR:

DR. GEOLAR FETTER

CODIRECTOR:

**DR. FRANCHESCOLI DIDIER VELÁZQUEZ
HERRERA**

DICIEMBRE DE 2025



BUAP

A QUIEN CORRESPONDA:

Por este conducto la Comisión Revisora formada por el D. C. Gerardo Landeta Cortés, D.C. María Griselda Corro Hernández, D.C. María Ana Pérez Cruz, D.C. Alicia Estela Sommer Márquez y la D.C. Silvia Patricia Paredes Carrera, informan haber leído y aprobado para su impresión, la tesis denominada "*Síntesis de nanomateriales híbridos con propiedades antimicrobianas*", que presenta la alumna M. en C. Mónica Cruz Hernández para obtener el grado de Doctora en Ciencias Químicas.

Se extiende la presente a los veinte días del mes de octubre del año dos mil veintidós.

ATENTAMENTE

D.C. Gerardo Landeta Cortés

D.C. María Griselda Corro Hernández

D.C. María Ana Pérez Cruz

D.C. Alicia Estela Sommer Márquez

D.C. Silvia Patricia Paredes Carrera

Agradecimientos



Este trabajo fue desarrollado en el Laboratorio de Materiales Bioactivos de la Facultad de Ciencias Químicas de la BUAP, donde se llevó a cabo las síntesis de los materiales y parte de la caracterización de éstos.



Parte de las caracterizaciones de los materiales se llevaron a cabo en la Universidad de Caxias do Sul, Brasil, bajo la supervisión del Dr. Marcelo Giovanela y de la Dra. Janaina da Silva Crespo.



Las pruebas microbiológicas se llevaron a cabo en la DiTCo, bajo la orientación del Dr. Gerardo Landeta Cortés.



CONAHCYT

CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS

Número de beca 797632

Dedicatorias

Dedico este trabajo principalmente a Dios, por haberme dado la vida, guiar mis pasos y permitirme llegar a este momento tan significativo en mi formación profesional.

A mi madre, pilar fundamental en mi vida, por su amor incondicional, su apoyo constante y sus sabios consejos, que me han inspirado a ser una mejor persona y a no rendirme ante las dificultades.

A mis hermanos y familia, quienes han sido una fuente inagotable de energía, alegría y fortaleza en los momentos que más lo he necesitado.

Dedico este trabajo con profundo agradecimiento al Dr. Geolar Fetter, por su paciencia inagotable y por haberme guiado con dedicación durante todo el desarrollo de esta tesis. Gracias por compartir su conocimiento con generosidad, por sus valiosos consejos y por fomentar en mí el espíritu de la investigación. Aprecio profundamente su amistad y apoyo constante.

A mis sinodales, por asumir la importante tarea de revisar y corregir este trabajo, por su interés, sus observaciones constructivas y su valiosa contribución al perfeccionamiento de esta investigación. Reciban mi más sincero agradecimiento por su tiempo y compromiso.

De manera muy especial, a Franchescoli, con profunda gratitud, por ser mucho más que un compañero de laboratorio: un verdadero amigo. Gracias por tu apoyo constante, por tu paciencia infinita y por compartir conmigo tu pasión por la ciencia. Tus consejos, tu guía y tu amistad han sido una fuente de inspiración. Gracias por enseñarme que aprender también puede ser disfrutar, y por estar presente en cada momento de este camino.

ÍNDICE

RESUMEN	4
ABSTRACT	5
JUSTIFICACIÓN	8
OBJETIVOS	10
General	10
1. GENERALIDADES	11
1.1. Bacterias	11
1.1.2. Bacterias Gram positivas	11
1.2. <i>Corynebacterium</i>	12
1.2.1. <i>Corynebacterium ammoniagenes</i>	13
1.3. Arcillas	14
1.3.1 Arcillas aniónicas	15
1.3.1.1. Fórmula general y estructura de las arcillas aniónicas	15
1.3.1.2. Naturaleza de los cationes	16
1.3.1.3. Naturaleza de los aniones	17
1.3.1.4. Características principales de las arcillas	18
1.3.1.5. Aplicaciones de las hidrotalcitas	18
1.3.2. Óxido de Zinc	21
3. Polímeros superabsorbentes	23
1.3.1. Poliacrilato de sodio	23
2. DESARROLLO EXPERIMENTAL	25
2.1. Síntesis de materiales híbridos hidrotalcita/ poliacrilato de sodio (HT/PA)	25
2.1.1. Síntesis de las hidrotalcitas de referencia	25
2.1.2. Preparación de los híbridos HT/PA por el método “ <i>in situ</i> ”	26
2.1.3. Preparación de híbridos HT/PA por cristalización vía ultrasonido	27
2.1.4. Preparación de híbridos HT/PA por cristalización <i>vía</i> microondas	28
2.2. Método de inhibición antimicrobiana por el método Kirby Bauer modificado	29
2.2. Híbridos óxido de zinc/poliacrilato de sodio (ZnO/PA)	30
2.2.1. Preparación de híbridos ZnO/PA por el método de mezcla mecánica	30
2.2.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria	31

2.3. Métodos de caracterización	32
2.3.1. Difracción de rayos X	32
2.3.2. Espectroscopia de infrarrojo.....	33
2.3.3. Fisisorción de nitrógeno	33
2.3.4. Microscopía electrónica de barrido y análisis de energía dispersiva de rayos X	33
2.3.5. Acidez y basicidad	33
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34
3.1. Muestras híbridas de HT/PA preparadas por tres métodos diferentes de cristalización con diferentes cantidades de agua.....	34
3.1.1. Caracterización	34
3.1.1.1. Difracción de rayos X (DRX)	34
3.1.1.2. Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	36
3.1.1.3. Fisisorción de nitrógeno	37
3.1.1.4. Microscopía electrónica de barrido	40
3.1.1.5. Análisis de energía dispersiva de rayos X.....	42
3.1.1.6 Análisis termogravimétrico	44
3.2. Muestras híbridas de HT/PA preparadas por tres métodos diferentes de cristalización	47
3.2.1. Caracterización	47
3.2.1.1. Difracción de rayos X (DRX)	47
3.2.1.2. Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR).....	48
3.2.1.3. Fisisorción de nitrógeno	50
3.2.1.4. Microscopía electrónica de barrido (MEB).....	54
3.2.1.5. Análisis de energía dispersiva de rayos X.....	55
3.2.1.6. Pruebas antimicrobianas	57
3.2.1.7. Mecanismo propuesto.....	61
3.3. Muestras híbridas de ZnO/PA preparadas con diferentes cantidades de agua	64
3.3.1. Caracterización.....	64
3.3.1.1. Difracción de rayos X	64
3.3.1.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)	65
3.1.1.3. Fisisorción de nitrógeno	67
3.3.1.4. Microscopía electrónica de barrido	69
3.3.1.5. Análisis de energía dispersiva de rayos X.....	71
3.3.1.6 Pruebas antimicrobianas	72

3.3.1.6.1. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del óxido de zinc....	72
3.3.1.6.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria de los materiales híbridos (ZnO/PA-AM y ZnO/PA-AC)	74
3.3.2. Mecanismo propuesto	78
Bibliografía.....	84

RESUMEN

Las bacterias patógenas son microorganismos unicelulares que llegan a representar un grave problema para la salud de los seres vivos. Las infecciones bacterianas se pueden tratar con antibióticos, los cuales se clasifican como bactericidas, si matan bacterias, o como bacterioestáticos, si solo detienen el crecimiento. Existen diversos agentes naturales que presentan propiedades bactericidas, como las arcillas catiónicas o las aniónicas de tipo hidrotalcita, de las que estas últimas representa un gran futuro en este campo. Este trabajo se dividió en dos partes: la primera se enfocó a la síntesis por coprecipitación y posterior tratamiento de ultrasonido de hidrotalcitas de ZnAl a relación molar M^{II}/M^{III} 3:1 para formar híbridos conformados por hidrotalcita y poliacrilato de sodio (sintetizado por diferentes métodos de cristalización) con una relación porcentual 70/30. La segunda parte del trabajo se enfocó a la síntesis de materiales híbridos a partir de óxido de zinc y poliacrilato de sodio resultando en sólidos para aplicación en medicina. Estos materiales fueron evaluados en la eliminación de la bacteria *Corynebacterium ammoniagenes* bacteria que se encuentra en la orina y que puede provocar infecciones urinarias. Los nuevos materiales híbridos obtenidos se caracterizaron por difracción de rayos X, por espectroscopia de infrarrojo con transformada de Fourier, microscopía electrónica de barrido, fisisorción de nitrógeno y análisis termogravimétrico.

Las pruebas antibacterianas demostraron que los materiales híbridos sintetizados presentaron actividad bactericida con concentraciones mínimas de 0.5 mg/mL y 2.5 mg/mL, respectivamente, indicando la alta actividad de la HT como del óxido de zinc. Debido a la eficiencia de estos híbridos se podrían usar en pañales para adultos para disminuir o eliminar las infecciones y los malos olores causados por esta bacteria.

ABSTRACT

Pathogenic bacteria are unicellular microorganisms that pose a significant threat to human and animal health. Bacterial infections are generally treated with antibiotics, which are classified as bactericidal, when they induce bacterial death, or bacteriostatic, when they inhibit microbial growth. In addition to conventional antibiotics, various natural agents have demonstrated bactericidal properties, including cationic clays and anionic hydrotalcite clays, the latter of which exhibit considerable potential for future biomedical applications. The present study was conducted in two stages. In the first stage, ZnAl hydrotalcites were synthesized by coprecipitation at a molar ratio of MII/MIII = 3:1, followed by ultrasound treatment, to obtain hybrid materials composed of hydrotalcite and sodium polyacrylate in a 70/30 proportion. Different crystallization methods were employed to optimize the synthesis process. In the second stage, hybrid materials based on zinc oxide and sodium polyacrylate were prepared, yielding solid systems with potential applications in the medical field.

The antibacterial performance of the synthesized hybrids was assessed against *Corynebacterium ammoniagenes*, a bacterium commonly present in urine and associated with urinary tract infections. Comprehensive characterization of the materials was carried out by X-ray diffraction (XRD), Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), scanning electron microscopy (SEM), nitrogen physisorption (BET), and thermogravimetric analysis (TGA).

Antibacterial evaluations revealed that the synthesized hybrid materials exhibited bactericidal activity at minimum inhibitory concentrations of 0.5 mg/mL and 2.5 mg/mL, respectively, evidencing the pronounced activity of both HT and zinc oxide. Given their effectiveness, these hybrid systems present potential for application in adult diapers, contributing to the prevention of infections and the reduction of unpleasant odors associated with this bacterium.

INTRODUCCIÓN

Las infecciones pueden afectar diferentes partes del cuerpo, como la piel, los ojos, los oídos, la garganta, los pulmones, el tracto urinario, el sistema digestivo y el sistema nervioso. Los síntomas varían según el tipo de infección y la parte del cuerpo afectada, pero comúnmente incluyen fiebre, dolor, inflamación, enrojecimiento, secreción y malestar general. La prevención juega un papel fundamental para evitar este tipo de enfermedades, siendo esenciales medidas como lavarse las manos regularmente, evitar el contacto cercano con personas enfermas y mantener una buena higiene personal (Arinzon et al. 2009). Toda la población es susceptible a desarrollar infecciones, sin embargo, algunas condiciones son más frecuentes en determinados grupos. La infección urinaria, por ejemplo, es una de las más comúnmente diagnosticada y tratada especialmente en mujeres de edad avanzada (Nicolle 1993). El tratamiento temprano es crucial, ya que incluso retrasos breves pueden aumentar la morbilidad y la mortalidad asociadas (Nicolle 1993; Nicolle 2001). Entre las opciones terapéuticas más utilizadas para combatir las infecciones se encuentran los antibióticos, los cuales suelen ser altamente eficaces, aunque no están exentos de efectos secundarios (Uddin et al., 2021). También han cobrado relevancias materiales alternativos no tóxicos con propiedades antimicrobianas. Un ejemplo de ello son las hidrotalcitas (HT), compuestos de carácter básico que contienen elementos con propiedades oligodinámicas, lo que les confiere una notable actividad biocida.

Muchas infecciones urinarias en personas de edad avanzada están asociadas al uso de pañales desechables. Estos productos están diseñados para absorber y mantener la higiene gracias a su capacidad de retención, la cual se debe al poliacrilato de sodio (PA), un polímero orgánico altamente eficiente debido a su elevada porosidad y capacidad de hinchamiento (Liu and Guo 2001). Aunque el PA puede retener grandes volúmenes de orina, pero no es capaz de eliminar ni reducir el mal olor que se genera tras su almacenamiento. Este olor desagradable se debe principalmente a la bacteria *Corynebacterium ammoniagenes* que está presente en la orina humana (Usuda et al. 2001). Además, dicha bacteria puede contribuir al desarrollo de infecciones secundarias como resultado de irritaciones cutáneas (Liu et al. 2011; Bigi et al. 2002). Una posible solución a este problema es la incorporación de compuestos antimicrobianos al poliacrilato. En particular, materiales como las hidrotalcitas y el óxido de zinc (ZnO) destacan por su eficacia antimicrobiana (León-Vallejo et al. 2019),

bajo costo y baja toxicidad para las células de la piel humana cuando se emplean en concentraciones adecuadas (Ma et al. 2019). La integración de la hidrotalcita u óxido de zinc en el poliacrilato podría dar lugar a nuevos materiales híbridos con potencial aplicación en productos para la incontinencia urinaria, como pañales o toallas sanitarias, capaces de reducir tanto los malos olores como el riesgo de infecciones dérmicas. Por lo cual, en este trabajo se desarrollaron dos bloques de muestras: el primero consistió en la incorporación de hidrotalcita al poliacrilato de sodio mediante tres métodos de síntesis diferentes, con el objetivo de estudiar cómo influye el método en las propiedades fisicoquímicas del material híbrido y evaluar su actividad frente a *C. ammoniagenes*. El segundo bloque consistió en la integración de óxido de zinc al PA empleando dos métodos de síntesis distintos. Estas muestras también fueron evaluadas por su eficacia antimicrobiana contra *C. ammoniagenes*.

JUSTIFICACIÓN

Las infecciones son provocadas por la invasión y proliferación de microorganismos patógenos en el organismo humano, entre los que se incluyen bacterias, virus, hongos y parásitos. Estos microorganismos pueden causar una amplia variedad de enfermedades, desde infecciones leves hasta desencadenar una amplia gama de enfermedades, que van desde cuadros clínicos leves hasta afecciones graves y potencialmente mortales (Torres-Pérez et al. 2010). Entre las infecciones más comunes se encuentran: infecciones respiratorias: como la gripe, la neumonía y la tuberculosis; infecciones de transmisión sexual: como la clamidia, la gonorrea, la sífilis y el VIH/SIDA; infecciones de la piel: como el acné, la celulitis, la tiña y la sarna; infecciones gastrointestinales: como la gastroenteritis, la salmonela y la hepatitis A; e infecciones urinarias (Chin et al. 2011). Estas patologías representan un problema de salud pública debido a su alta incidencia, posibilidad de transmisión y, en algunos casos, su resistencia a tratamientos antimicrobianos convencionales.

En particular, las hidrotalcitas (HT), un tipo de arcilla aniónica laminar, han mostrado una notable actividad bactericida cuando son funcionalizadas con clorofilina de cobre. Estas HT modificadas han sido efectivas contra bacterias como *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella enterica* y *Staphylococcus aureus*, entre otras. Su eficacia se atribuye, en parte, a su elevada área superficial, que favorece el contacto directo con los microorganismos, aunque el principal factor determinante es su composición química. Las hidrotalcitas contienen grupos hidroxilo que les confieren un carácter básico, así como metales oligodinámicos con propiedades antimicrobianas que potencian su acción biocida. El carácter básico de estas arcillas aniónicas facilita la generación de especies oxidantes altamente reactivas, las cuales contribuyen a la desactivación de los microorganismos. Por otra parte, el óxido de zinc (ZnO) también ha sido ampliamente estudiado por su eficacia como agente antimicrobiano (Kaur et al. 2021). Este compuesto se utiliza comercialmente en diversos productos farmacéuticos y de cuidado personal, como cosméticos, ungüentos, desodorantes y lociones, debido a su buena compatibilidad con tejidos humanos y su eficacia bactericida (Moezzi, McDonagh, and Cortie 2012).

Con el objetivo de mitigar los problemas de higiene y salud asociados al uso de productos para la incontinencia urinaria, en este trabajo se propone la síntesis de nuevos materiales compuestos mediante la incorporación de óxido de zinc (ZnO) o hidrotalcita (HT) en poliacrilato de sodio (PA). Estos materiales serán evaluados por sus propiedades antimicrobianas, en particular frente a la bacteria *Corynebacterium ammoniagenes*, con miras a su potencial aplicación en la fabricación de pañales o toallas sanitarias. La orina proveniente de la vejiga es retenida eficientemente por el poliacrilato de sodio debido a su capacidad de absorción, mientras que la HT o el ZnO actuarían como agentes antimicrobianos, inhibiendo o eliminando la presencia de *C. ammoniagenes*. De este modo, se busca evitar la aparición de irritaciones cutáneas y reducir la formación de compuestos responsables del mal olor.

OBJETIVOS

General

Sintetizar y caracterizar materiales híbridos compuestos por poliacrilato de sodio y óxido de zinc o hidrotalcita, para evaluar su actividad antimicrobiana frente a *Corynebacterium ammoniagenes*, con el fin de emplearse como componentes funcionales en productos destinados al manejo de la incontinencia urinaria, como pañales o toallas sanitarias.

Particulares

- Sintetizar hidrotalcitas de Zn/Al con relación metálica molar de 3:1.
- Sintetizar dos bloques de materiales híbridos: A) óxido de zinc/poliacrilato de sodio y B) hidrotalcita/poliacrilato de sodio.
- Caracterizar las muestras obtenidas mediante varias técnicas analíticas como difracción de rayos X, espectroscopia infrarroja, microscopía electrónica de barrido, espectroscopia de dispersión de energía, fisisorción de nitrógeno y análisis térmicos.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de los materiales híbridos conformados por óxido de zinc/poliacrilato de sodio frente a la bacteria *Corynebacterium ammoniagenes* empleando el método de dilución en caldo y determinar la concentración mínima inhibitoria.
- Evaluar la actividad antimicrobiana de los materiales híbridos conformados por hidrotalcita/poliacrilato de sodio frente a la bacteria *Corynebacterium ammoniagenes* empleando el método Kirby Bauer modificado y determinar la concentración mínima inhibitoria.

1. GENERALIDADES

1.1. Bacterias

Son microorganismos procariotas que se caracterizan por poseer una pared celular compuesta por peptidoglucano, una estructura en forma de malla que rodea la membrana plasmática y proporciona protección frente al entorno. Como organismos procariotas, carecen de un núcleo definido, aunque algunas presentan variaciones estructurales. Existen bacterias que no poseen pared celular y, debido a esta carencia, solo pueden sobrevivir en el interior de células del huésped o en ambientes hipertónicos que compensen su fragilidad osmótica. A lo largo de la evolución, las estructuras y funciones bacterianas se han adaptado para sobrevivir en condiciones ambientales adversas.

La clasificación bacteriana puede realizarse de múltiples formas, ya sea en función de su capacidad patógena (patógenas o no patógenas), de su morfología (tamaño, forma y características de tinción), o de propiedades metabólicas, antigénicas y genéticas. La morfología, aunque variable, permite establecer ciertas generalidades: la mayoría de las bacterias presentan un tamaño que oscila entre 0.2 y 2.0 μm de diámetro y entre 0.4 y 14 μm de longitud. Las bacterias patógenas son aquellas capaces de causar enfermedades infecciosas, a diferencia de las no patógenas, que pueden formar parte de la microbiota normal.

Para la identificación de bacterias, una de las técnicas más empleadas es la tinción de Gram, la cual proporciona información relevante sobre la forma, el tamaño y especialmente, la estructura de la pared celular. Este método permite diferenciar entre bacterias Gram positivas y Gram negativas: las primeras retienen el colorante cristal violeta y se observan de color púrpura bajo el microscopio, mientras que las segundas se tiñen de rosa debido a la pérdida del colorante primario y la posterior absorción de la safranina. En el presente trabajo, se abordará exclusivamente el estudio de bacterias Gram positivas.

1.1.2. Bacterias Gram positivas

Una bacteria Gram positiva posee una pared celular que está compuesta por múltiples capas (hasta 25 capas) de peptidoglucano (150 a 500 Å) que rodea la membrana citoplásmica, con una estructura rígida y gruesa. El peptidoglucano actúa como un exoesqueleto en forma

de malla, lo suficientemente poroso como para permitir la difusión de metabolitos hacia la membrana plasmática. Además de ser un componente estructural esencial, desempeña un papel clave en la replicación y la supervivencia de las bacterias en entornos generalmente hostiles (Murray, P. R, 2009). Durante los procesos infecciosos, el peptidoglucano puede interferir con la fagocitosis y desencadenar diversas respuestas inmunitarias, incluyendo reacciones pirogénicas (capaces de inducir fiebre). El peptidoglucano puede ser degradado mediante la acción de la lisozima, una enzima presente en secreciones humanas como la mucosidad y las lágrimas, en concentraciones que oscilan entre 3,000 y 5,000 µg/ml. La lisozima contribuye a la protección del organismo frente a bacterias y virus (Tenovuo 2002; Samaranayake et al. 2009).

Además del peptidoglucano, las bacterias Gram positivas pueden contener otros componentes importantes, como los ácidos teicoicos, los ácidos lipoteicoicos y diversos polisacáridos. Los ácidos teicoicos son polímeros hidrosolubles de fosfato de polirol unidos covalentemente al peptidoglucano. Estos compuestos son esenciales para la viabilidad celular. Los ácidos lipoteicoicos, que contienen un ácido graso, se anclan a la membrana citoplasmática y actúan como antígenos de superficie frecuentes. Desempeñan un papel importante en la diferenciación de serotipos bacterianos y favorecen la adherencia tanto a otras bacterias como a receptores específicos en células de mamíferos, constituyendo así factores de virulencia (Madigan et al., 2021).

Dentro de la diversidad de bacterias Gram positivas, nos centraremos en *Corynebacterium ammoniagenes*, un habitante común del tracto intestinal humano. Este microorganismo se distingue de otras bacterias de la microbiota intestinal por su capacidad de producir amoníaco y sus derivados. La producción de amoníaco a partir de la urea presente en el intestino se debe a la acción de la enzima ureasa, que hidroliza la urea en dióxido de carbono y amoníaco (Ni, J., et al. 2017). Este último es un compuesto altamente irritante, responsable tanto del mal olor como de la inflamación cutánea cuando existe un contacto prolongado con orina, especialmente en contextos como la incontinencia o el uso de pañales.

1.2. *Corynebacterium*

El género *Corynebacterium* fue descrito por Lehmann & Neumann (1907), con el objetivo de clasificar taxonómicamente a los bacilos responsables de la difteria. Su

denominación se basa en características morfológicas: el término "Corynebacterium" proviene del griego κορυνή (corunē), que significa bastón nudoso, y βακτηρίου (bacterion), bastoncillo (Dicks & Holzappel, 2015). En general, las corinebacterias son bacilos Gram positivos, no esporulados, aerobios o anaerobias facultativas. Esta última característica implica que pueden fermentar carbohidratos produciendo ácidos, pero sin generar gas como subproducto (Dicks & Holzappel, 2015). Presentan una morfología bacilar con longitudes variables y engrosamientos frecuentes en los extremos, con un tamaño que oscila entre 2 y 6 μm de largo y aproximadamente 0.5 μm de diámetro.

El género incluye especies tanto fermentativas como no fermentativas (oxidativas). Algunas especies son lipófilas, lo que significa que requieren lípidos para su crecimiento en medios de cultivo (Tauch and Burkovski 2015).

Desde un punto de vista quimiotaxonómico, las bacterias del género *Corynebacterium* se caracterizan por poseer en su pared los azúcares arabinosa y galactosa, así como ácido meso-diaminopimélico. Además, contienen ácidos micólicos de cadena corta, compuestos por entre 22 y 36 átomos de carbono.

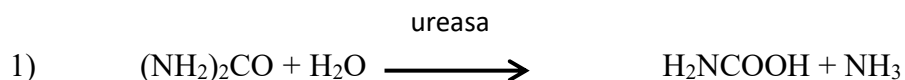
1.2.1. *Corynebacterium ammoniagenes*

Corynebacterium ammoniagenes (anteriormente *Brevibacterium ammoniagenes*) es una bacteria perteneciente a la familia de las corynebacterias. Se trata de un bacilo Gram positivo, no patógeno. Esta bacteria es conocida por su capacidad para producir grandes cantidades de aminoácidos esenciales y por presentar un alto contenido de guanina-citosina (GC) en su ADN. Morfológicamente, presenta una superficie lisa y forma de barra (Hou et al. 2019). Su tamaño varía entre 0.6 y 1.2 μm de diámetro, y entre 1.0 y 4.5 μm de longitud.

Los lípidos presentes en la pared celular de esta especie representan más del 60 % del peso seco de dicha estructura, la cual contiene glucolípidos específicos denominados ácidos micólicos. Estos componentes contribuyen a la rigidez y resistencia de la envoltura celular.

Corynebacterium ammoniagenes es un saprófito común del tracto intestinal y del sistema inmunológico en humanos y otros mamíferos. A diferencia de otras bacterias presentes en la microbiota gastrointestinal humana, esta especie se distingue por su capacidad para producir compuestos nitrogenados, principalmente amoníaco y trietilamina, así como

otros derivados secundarios (ver Ecuación 1). La producción de amoníaco a partir de la urea presente en el intestino se debe a la acción de la enzima ureasa, que cataliza la hidrólisis de la urea, generando amoníaco como producto principal (Starkenmann 2017).



Los orines, al ser un desecho corporal, pueden favorecer el crecimiento de microorganismos en la ropa, lo que genera olores desagradables, irritación, inflamación e incluso infecciones cutáneas. Una de las bacterias involucradas en estos efectos es *Corynebacterium ammoniagenes*. El crecimiento de esta bacteria puede ser controlado mediante el uso de agentes bactericidas, entre los cuales destacan ciertas arcillas aniónicas, como las hidrotalcitas, que en su estructura permiten la incorporación de iones metálicos, como el zinc, un elemento ampliamente reconocido por sus propiedades antimicrobianas (Slavin et al. 2017).

1.3. Arcillas

Las arcillas son minerales naturales que se originan a partir del proceso de erosión de rocas. Están compuestas principalmente por silicatos hidratados de aluminio, magnesio y hierro, y pueden incorporar diversos iones como sodio, calcio, potasio, entre otros (Murray 2006). Estos compuestos forman parte de un grupo conocido como minerales de arcilla, dentro del cual se destacan los caolines, esmectitas, illita, clorita, paligorskita y sepiolita. Su morfología puede adoptar diversas formas, como tubos, láminas o esférulas (Hashizume 2015). Las partículas que conforman las arcillas son extremadamente finas, con un tamaño inferior a 2 μm (Di Cosimo et al. 1998). Este tipo de materiales arcillosos son muy abundantes y económicos, que pueden presentar un comportamiento ácido o básico, una buena estabilidad térmica, capacidad adsorbente y propiedades catalíticas. Las arcillas adsorben, de manera natural, los nutrientes que alimentan a las plantas, pero retener contaminantes como plaguicidas o metales pesados. Las arcillas presentan una elevada capacidad de adsorción e intercambio catiónico, lo que les permite fijar nutrientes esenciales para el crecimiento vegetal. (Sampieri et al. 2007). Una de las propiedades más relevantes de las arcillas es su capacidad de intercambio iónico, la cual permite clasificarlas en dos grandes grupos: arcillas catiónicas y arcillas aniónicas.

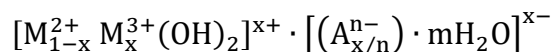
1.3.1 Arcillas aniónicas

Las hidrotalcitas (HT), también conocidas como "hidróxidos dobles laminares", son materiales de origen natural o sintético que presentan una estructura laminar cargada positivamente. Entre sus láminas se alojan aniones intercambiables que compensan dichas cargas positivas (León-Vallejo et al. 2019; Jobbágy and Regazzoni 2011). En estas estructuras, los cationes divalentes presentes en capas similares a la brucita son parcialmente sustituidos por cationes trivalentes, lo que genera el desequilibrio de carga compensado por los aniones interlaminares.

La hidrotalcita propiamente dicha puede identificarse como un polvo blanco, de apariencia similar al talco, que fue descubierta en Suecia en 1842. Se compone de una mezcla hidroxicarbonatada de magnesio y aluminio. Posteriormente, se descubrió una variante compuesta por una mezcla hidroxicarbonatada de magnesio y hierro, la cual fue denominada *piroaurita*. Este nombre se le asignó debido a que, al ser calentada, adquiere un característico color dorado (Trujillano, 2022).

1.3.1.1. Fórmula general y estructura de las arcillas aniónicas

Las arcillas aniónicas representan una clase de materiales de gran utilidad en diversos campos científicos, especialmente en la catálisis y la medicina. Son materiales cristalinos sintéticos o naturales, que presentan una estructura laminar con carga positiva. En la región interlaminar alojan aniones intercambiables y moléculas de agua, que contribuyen a su funcionalidad y versatilidad (Ping et al. 2004). Su fórmula general es:



Donde:

M²⁺ y M³⁺: Representa cationes divalentes y trivalentes.

Aⁿ⁻: Es el anión interlaminar con carga n.

x: Es la fracción molar del catión trivalente (entre 0.20 y 0.33).

m: Es el agua de cristalización.

La Figura 1.1 muestra una representación esquemática de una hidrotalcita. En esta estructura, la sustitución parcial de cationes divalentes (M²⁺) por cationes trivalentes (M³⁺)

dentro de las capas genera una carga positiva neta. Esta carga es compensada por la presencia de aniones interlaminares (A^{n-}), como los nitratos, que usualmente se encuentran en forma hidratada.

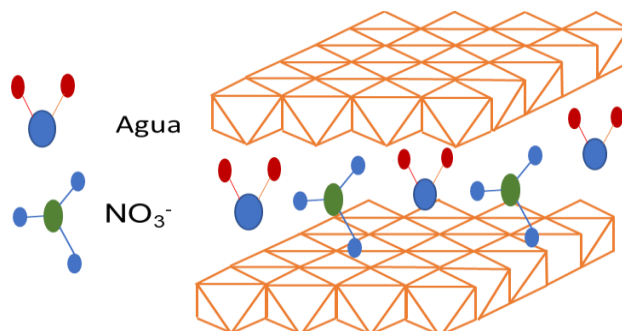


Figura 1.1. Representación estructural de una hidrotalcita. [Elaboración propia].

Las propiedades fisicoquímicas de las hidrotalcitas están determinadas por diversos factores, entre ellos la naturaleza de los cationes, la relación M^{2+}/M^{3+} , el método de síntesis y otras condiciones experimentales (He et al. 2004). Estas estructuras laminares pueden modificarse mediante la introducción de diferentes compuestos en la región interlaminar, a través de un proceso conocido como intercalación (Duan et al. 2006). Es posible sustituir el anión presente en la hidrotalcita (generalmente inorgánico) por otros aniones inorgánicos u orgánicos. La sustitución por aniones inorgánicos se puede llevar a cabo mediante un proceso de intercambio ácido-base (Iyi et al. 2011), mientras que la intercalación de moléculas orgánicas puede considerarse una reacción controlada por difusión (Benito et al. 2006).

1.3.1.2. Naturaleza de los cationes

Dado que los cationes divalentes (M^{2+}) y trivalentes (M^{3+}) se encuentran incorporados en la estructura laminar de una hidrotalcita, la modificación en la naturaleza de estos cationes puede influir significativamente en propiedades como la basicidad del material y la distancia entre cationes en la red cristalina (He et al. 2004).

La sustitución de estos cationes está principalmente determinada por su radio iónico. Sin embargo, la estructura de las hidrotalcitas es lo suficientemente flexible como para permitir la incorporación de cationes trivalentes, divalentes o monovalentes en los huecos

octaédricos. En general, los radios iónicos aceptados para los cationes divalentes oscilan entre 0.65 y 0.76 Å para cationes divalentes y entre 0.54 y 0.69 Å para cationes trivalentes como se muestra en la Tabla 1.

Tabla 1. Radios iónicos en Å de algunos cationes empleados en hidrotalcitas.

Cación		Radio iónico				
M^{2+}	Mg	Cu	Ni	Co	Zn	Fe
	0.65	0.69	0.72	0.74	0.74	0.76
M^{3+}	Al	Ni	Co	Fe	Mn	Cr
	0.54	0.62	0.63	0.64	0.66	0.69

1.3.1.3. Naturaleza de los aniones

En las arcillas aniónicas se pueden incorporar una amplia variedad de aniones en su estructura (Tabla 2). No existe limitación estricta respecto a la naturaleza de los aniones. Sin embargo, un desafío común en la preparación de compuestos que contengan aniones distintos al carbonato radica en la alta afinidad de este último por la estructura de las hidrotalcitas, lo que dificulta la obtención de materiales libres de carbonatos (Bontchev et al. 2003).

Para evitar la presencia de carbonatos y obtener hidrotalcitas puras con otros aniones, es fundamental llevar a cabo la síntesis utilizando precursores libres de carbonato, así como agua desmineralizada y descarboxilada.

Tabla 2. Aniones que pueden situarse entre las láminas de hidrotalcitas (Duan et al. 2006).

Halogenuros	Oxo-aniones	Complejos metálicos	Aniones orgánicos	Polímeros
F ⁻	CO ₃ ²⁻	[Fe(CN) ₆] ³⁻	Alquilsulfonatos	Polietilenglicol
Cl ⁻	NO ₃ ⁻	[PtCl ₆] ²⁻	Ftalocianinas	Poliacrilato

El espesor de la lámina de la hidrotalcita es constante y corresponde a (4.8 Å). Si los aniones interlaminares son de naturaleza orgánica, el espacio interlaminar tiende a incrementarse en función del número de átomos de carbono presentes y en los aniones inorgánicos aumenta o disminuye dependiendo del radio iónico del anión incorporado

(Bontchev et al. 2003; Evans and Slade 2005). El espacio interlaminar se calcula como la diferencia entre el valor de la distancia entre láminas (d), menos 4.8 Å que corresponde al espesor de la lámina. En la Tabla 3 se presentan y comparan algunos valores de distancia (d) obtenidos por la intercalación de ciertos aniones.

Tabla 3. Distancia interlaminar d(Å) en HT intercaladas con diferentes aniones (Duan et al. 2006).

Anión	OH ⁻	(CO ₃) ²⁻	F ⁻	Cl ⁻	Br ⁻	I ⁻
d (Å)	7.55	7.65	7.66	7.86	7.96	8.16

Se ha encontrado que las HT que contienen aniones divalentes en su estructura interlaminar presentan una elevada estabilidad, lo que dificulta los procesos de intercambio iónico. Por esta razón, si se desea realizar un intercambio iónico, se recomienda utilizar como precursores hidrotalcitas que contengan aniones monovalentes, como el NO₃⁻ (Fernández-Calviño et al., 2011).

1.3.1.4. Características principales de las arcillas

Las principales características de las arcillas son (Duan et al. 2006):

- Están formadas por cristales muy pequeños.
- Tienen la capacidad de intercambiar iones.
- Son capaces de variar su composición química interna.
- Pueden alojar moléculas en el interior de su espacio interlaminar.
- Superficie laminar con actividad química considerable.
- Los cambios físicos de la estructura laminar son reversibles si se somete al sólido intercalado a un tratamiento térmico o fisicoquímico, el material recuperará su forma original cuantas veces se repita el ciclo.

1.3.1.5. Aplicaciones de las hidrotalcitas

Estas arcillas presentan un buen potencial en una amplia variedad de aplicaciones, entre las que se incluyen: absorbentes, catalizadores, soporte para catalizadores, adsorbentes,

intercambiadores aniónicos, estabilizador de PVC, tratamiento de aguas, transportador de moléculas bioactivas y en aplicaciones farmacéuticas (Wiyantoko et al. 2015).

Además de las arcillas, otros compuestos de origen mineral, como el óxido de zinc, también presentan propiedades relevantes para esta investigación, debido a su actividad antimicrobiana y su versatilidad en aplicaciones tecnológicas y biomédicas.

1.3.1.6. Antecedentes del Laboratorio de Materiales Bioactivos

Las arcillas son materiales con múltiples aplicaciones en distintos campos, de los cuales, su empleo como agentes antimicrobianos es el que se ha desarrollado muy poco, por lo cual nuestro grupo de trabajo es el pionero en este campo microbiológico. Rocha Oliveira y col., 2015 reportaron la actividad de hidrotalcitas impregnadas con clorofilina de Cu en la eliminación de *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella entérica* y *Staphylococcus aureus*. León-Vallejo y col., (2019 y 2017) demostraron que las hidrotalcitas de ZnAl y CuZn adicionadas a las fibras de algodón, permitieron que estas obtuvieran propiedades bactericidas, por ejemplo, para empleo en accesorios y vestuario hospitalario. La integración de hidrotalcitas bactericidas a la hidroxiapatita dio como resultado compósitos hábiles para tratamientos óseos, como implantes o rellenos, previniendo así, los tan frecuentes problemas de infecciones post-operatorias (Segura-Pérez et al. 2020). En otro estudio, (Lobo-Sánchez et al. 2018) observaron que las hidrotalcitas de Zn, tanto solas como en combinación con aceite esencial de eucalipto, presentaron una destacada actividad bactericida incluso a bajas concentraciones, logrando eliminar cepas multirresistentes. (Velázquez-Herrera et al. 2018) reportaron una elevada eficacia fungicida de hidrotalcitas de ZnAl, ZnMgAl y ZnCuAl, sintetizadas mediante distintos métodos, frente a *Aspergillus niger*, un hongo altamente resistente que contribuye al deterioro de edificaciones y monumentos históricos.

La Tabla 4 reporta de forma resumida una selección de estudios relevantes, tanto de nuestro grupo como de otros equipos de investigación, que han explorado el uso de hidrotalcitas como agentes antimicrobianos.

Tabla 4. Resumen de datos de la literatura referente a hidrotalcitas empleadas como agentes antimicrobianos.

Material	Resultados	Referencia
Matriz de arcilla aniónica de plata de como conjuntos nanoestructurados con actividad antimicrobiana (contra bacterias como <i>Escherichia coli</i>)	La HT Ag mostró una gran actividad antimicrobiana.	(Carja et al. 2009)
HT CuMgAl y clorofilina de Cu (contra bacterias como <i>Salmonella entérica, Staphylococcus aureus</i>)	La HT fue muy activa formando halos de inhibición grandes	(Rocha Oliveira et al. 2015)
HT ZnAl con aceite de eucalipto (bacterias <i>Staphylococcus epidermidis</i> y <i>Staphylococcus aureus</i>)	Alta actividad bactericida con muestras que contenían aceite de eucalipto	(Lobo-Sánchez et al. 2018)
HT ZnAl, ZnMgAl y ZnCuAl (contra hongo como <i>Aspergillus niger</i>)	La hidrotalcita de Zn presentó mejor actividad biocida	(Velázquez-Herrera et al. 2018)
HT de ZnAl (bacteria <i>Corynebacterium amonigenesis</i>)	La HT presentó actividad bactericida a una concentración mínima de 20 mg/mL	(León-Vallejo et al. 2019)
Nanomaterial de hidrotalcita con conversión fototérmica altamente eficiente y su aplicación en terapia antibacteriana y tumoral (bacterias como <i>Corynebacterium amonigenesis</i>)	HT-Au presentó menor actividad bactericida en comparación que cuando se irradiaba con láser infrarrojo.	(Ma et al. 2019)
Propiedades antimicrobianas eficientes de HT ensamblado con metales de transición a través de un método de preparación fácil (bacterias como <i>E. coli</i> y <i>S.aureus</i>)	Las HT de CuAl, NiAl y MgAl fueron las que presentaron buena actividad bactericida.	(Li et al. 2019)
HT CuMgAl y HT CuZnAl con hidroxipiatita (<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>epidermis</i>)	Las HT presentaron actividades bactericidas a una concentración mínima de 0.5 mg/mL	(Segura-Pérez et al. 2020)
Hidrotalcita de Zn ₂ Al-CO ₃ : adsorción, citotoxicidad y rendimiento antibacteriano (<i>Bacillus cereus, Streptococcus lactis</i>)	La muestra de HT de ZnAl presentó buena actividad antimicrobiana contra bacterias Gram positivas y Gram negativas.	(Dutta et al. 2020)
Efecto del cobre y eucaliptol sobre la actividad bactericida de HT de ZnAl- y MgAl (<i>Staphylococcus aureus. Pseudomonas aeruginosa</i>)	Las HT ZnAl y MgAl con la adición de cobre presentaron mejor actividad biocida.	(Velázquez-Herrera, Lobo-Sánchez, and Fetter 2021)
Liberación de metales divalentes y efectos antimicrobianos de hidrotalcita. (<i>S. aureus</i> y <i>E.coli</i>)	Las HT de ZnAl y CuAl fueron las que presentaron efecto bactericida.	(Awassa et al. 2022)

1.3.2. Óxido de Zinc

Es un compuesto inorgánico ampliamente utilizado como semiconductor y que se encuentra de forma natural. Se caracteriza por propiedades físicas y químicas excepcionales, como una alta estabilidad química, un elevado coeficiente de acoplamiento electroquímico, amplio rango de absorción de radiación y alta foto estabilidad (Segets et al. 2009). Cristaliza en una estructura tipo wurtzita que consiste en una red hexagonal. Aunque es insoluble en agua, pero es soluble en ácidos y bases diluidos. Su punto de fusión es 1975 ° C temperatura a la que también se descompone. Tiene diversas aplicaciones, entre ellas como ingrediente como talco, en cremas para la rozadura, bases de maquillaje, polvos faciales, champú anticaspa y en aplicaciones antimicrobianas para tratar infecciones (Jin et al. 2009).

Una de las principales ventajas del uso de óxidos inorgánicos frente a los agentes antimicrobianos orgánicos es su mayor estabilidad. Diversos óxidos inorgánicos han demostrado actividad antimicrobiana, entre ellos el dióxido de titanio TiO_2 , ZnO , MgO , CaO , CuO , Al_2O_3 , Ag_2O y CeO_2 por mencionar algunos (Stoimenov et al. 2002). La Tabla 5 resume estudios relevantes del óxido de zinc como agente antimicrobiano.

Tabla 5. Resumen de datos de la literatura referente a óxido de zinc empleado como agente antimicrobiano.

Material	Resultados	Referencia
Materiales de poliamida y polietileno con óxido de zinc (bacterias <i>S. aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , hongo <i>A niger</i>)	Los materiales presentaron una buena actividad antimicrobiana	(Droval et al., 2008)
Aceite de óxido de zinc (<i>S. aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>E. faecalis</i>)	El aceite de óxido de zinc mostro una gran actividad antimicrobiana.	(Thosar et al. 2018)
Óxido de grafeno/óxido de zinc (<i>S.aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>E. faecalis</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>C. albicans</i> , <i>A. flavus</i>)	El material inhibe eficazmente el crecimiento	(Archana et al 2018)
Óxido de zinc (<i>S. aureus</i> , <i>Escherichia coli</i>)	Inhibición del 90% de la bacteria.	(Yang et al 2019)
Nanopartículas de Óxido de Zinc Funcionalizadas con Salicilalchitosán (<i>S. aureus</i> , <i>Staphylococcus bacillus</i> , <i>Candida albicans</i> y hongo <i>Aspergillus niger</i>)	Los materiales tuvieron mejor actividad antimicrobiana ya que el Salicilalchitosán proporciona mayor actividad antimicrobiana.	(Jayandran at al. 2016)
Hidrogel de quercetina de cáscara de cebolla cargado de quitosano-celulosa con nanopartículas de óxido de zinc (<i>S. aureus</i> y hongo <i>Trichophyton rubrum</i>)	El hidrogel de cáscara de cebolla con nanopartículas de óxido de zinc presentó una buena actividad bactericida y fungicida.	(George et al., 2019)
Óxido de zinc con poliacrilato de sodio (<i>Corynebacteriumn amoniagenesis</i>)	El óxido de zinc presentó actividad antimicrobiana contra la bacteria.	(Cruz-Hernández et al. 2025)

.3. Polímeros superabsorbentes

Son compuestos con una estructura polimérica tridimensional capaces de absorber y retener agua u otros líquidos en cantidades que pueden superar varias centenas de veces su propia masa (Hamid et al. 2021). Este tipo de gel polimérico, conocido como polímero superabsorbente, fue desarrollado por primera vez en la década de 1970 por un grupo de investigadores del Laboratorio de Investigación Regional del Norte del Departamento de Agricultura de Estados Unidos (Rifi et al.2005). Su extraordinaria capacidad de absorción ha permitido su aplicación en diversos campos, tales como almohadillas desechables, sábanas y toallas para cirugía, incontinencia de adultos y productos de higiene femenina. Aunque originalmente fueron desarrollados para aplicaciones agrícolas con el fin de mejorar la capacidad de retención de agua en los suelos y favorecer la germinación de semillas y el crecimiento de plantas, también se han empleado en sistemas de administración de fármacos actuadores de gel, productos higiénicos, deshidratación de carbón, cosméticos, nieve artificial, gránulos para retener la humedad del suelo en zonas áridas, pañales desechables y toallas femeninas, donde pueden capturar la orina y la sangre (Zhao et al. 2015). Estos polímeros pueden absorber hasta 500 veces su propio peso en agua; sin embargo, su capacidad de absorción disminuye notablemente en soluciones salinas diluidas (Zhang et al. 2008). Las propiedades de los polímeros superabsorbentes se deben a la naturaleza de su estructura y al método de síntesis utilizado. Estos materiales se producen principalmente mediante dos técnicas: el método gel-polímero y la polimerización por suspensión inversa. El primero da lugar a partículas de forma irregular, mientras que el segundo genera partículas esféricas (Sütekin et al., 2021).

Entre los polímeros superabsorbentes más utilizados a nivel comercial destacan los poliacrilatos reticulados de forma covalente, como el poliacrilato de sodio. Gracias a su estructura tridimensional interconectada, este material es capaz de absorber grandes cantidades de agua sin llegar a disolverse (Ahmed, 2013).

1.3.1. Poliacrilato de sodio

En su estructura, el poliacrilato de sodio contiene grupos carboxilato de sodio ($-\text{COONa}$) (Figura 1.2). Al ponerse en contacto con el agua, los iones de sodio se ionizan dejando libres grupos carboxilato COO^- con carga negativa. Esta repulsión electrostática

entre cargas iguales provoca que la cadena polimérica se "desenrolle", facilitando la absorción de agua. Con una masa molar de 94 g/mol, este polímero no se disuelve en agua, sino que gelifica, debido a su carácter hidrofílico y a su estructura reticulada. Además, presenta una alta estabilidad térmica, ya que no se descompone por debajo de 300 °C. En general, el poliacrilato de sodio es considerado un polímero súper absorbente de agua y se usa a menudo para formular membranas que se hinchan de igual manera con agua (Wu et al. 2001).

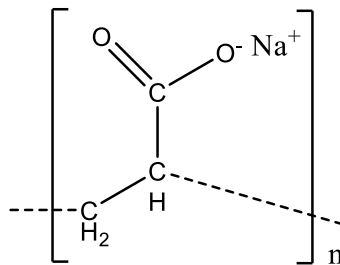


Figura 1.2. Representación estructural del poliacrilato de sodio.

2. DESARROLLO EXPERIMENTAL

2.1. Síntesis de materiales híbridos hidrotalcita/ poliacrilato de sodio (HT/PA)

En la Figura 2.1 se observan las muestras sintetizadas en este proyecto.

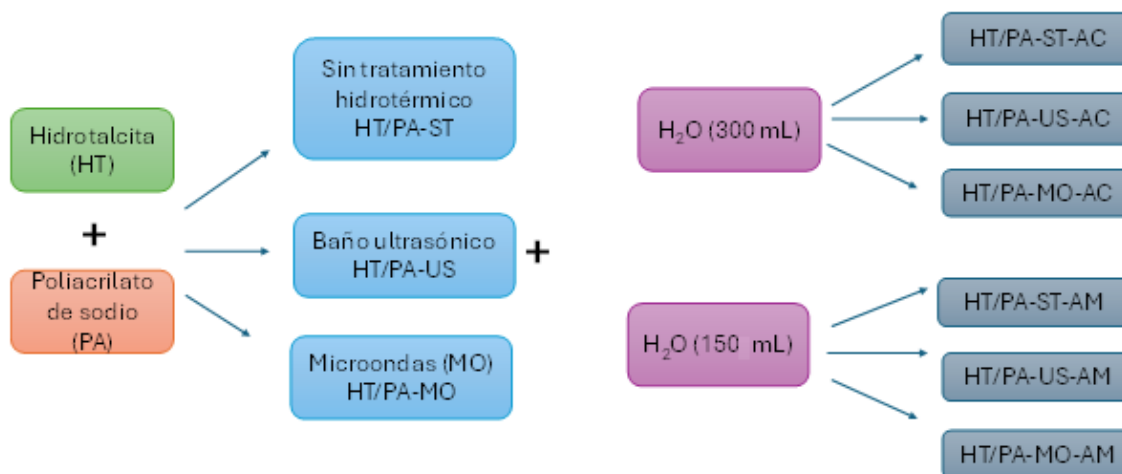


Figura 2.1. Flujograma de los procedimientos de síntesis y claves de las muestras híbridas HT/PA.

2.1.1. Síntesis de las hidrotalcitas de referencia

La hidrotalcita con composición Zn/Al y una relación molar M^{2+}/M^{3+} de 3:1 se sintetizó siguiendo el siguiente procedimiento: se preparó una solución 2.5 M a partir de nitratos de zinc y aluminio. También se preparó una solución de NaOH 2 M, como agente precipitante. Ambas soluciones se colocaron en buretas y se adicionaron lentamente y simultáneamente a un vaso de precipitado que contenía 50 mL de agua destilada, bajo agitación constante. Durante el proceso de coprecipitación, se controlaron los flujos de ambas soluciones para mantener el pH constante en 11.

Una vez finalizada la adición de las sales metálicas, la mezcla se sometió a un baño ultrasónico (Branson 5510, 135 W, 50 Hz) durante 30 minutos. Tras la sonicación, los sólidos formados se recuperaron por decantación, se lavaron con agua destilada (250 mL/g) y se dejaron reposar por 24 horas para permitir la sedimentación. Posteriormente, se decantó nuevamente la solución y se continuó lavando hasta alcanzar un pH constante en 9.

El sólido se recuperó por decantación y se secó en una estufa a 70 °C durante 24 horas, y finalmente se pulverizó en un mortero. El material resultante se almacenó en un frasco etiquetado con la clave HT. El procedimiento de síntesis se ilustra en la Figura 2.2.

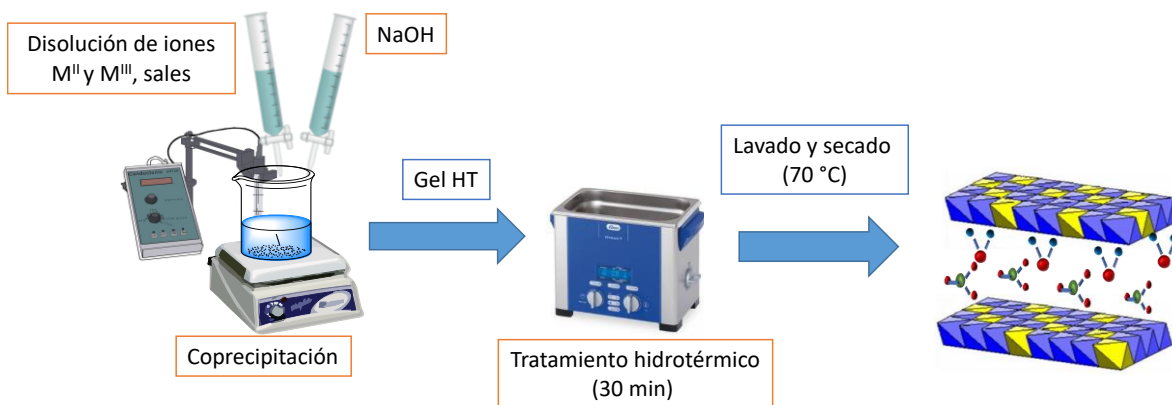


Figura 2.2. Esquema del procedimiento de síntesis de las hidrotalcitas de referencia.

2.1.2. Preparación de los híbridos HT/PA por el método “*in situ*”

La síntesis de los materiales híbridos HT/ PA se realizó en un vaso de precipitado que contenía 25 mL de hidróxido de sodio. Se añadieron 600 mg de poliacrilato de sodio y la mezcla se mantuvo bajo agitación constante durante 30 minutos. Transcurrido este tiempo, se incorporaron las sales metálicas y se continuó la agitación hasta obtener una mezcla homogénea. Posteriormente, la mezcla fue lavada con abundante agua desionizada y se dejó precipitar durante 24 horas en un vaso de precipitado. El sólido se recuperó por decantación que se encuentra en estado húmedo se secó en una estufa, y finalmente se pulverizó en un mortero Finalmente, los sólidos obtenidos se almacenaron en frascos herméticos (muestra HT/PA-ST).

La muestra identificada como HT/PA-ST-AC se preparó siguiendo el mismo procedimiento descrito en el apartado 2.1.2 con la diferencia de que, tras los lavados, se añadieron 300 mL de agua destilada. La mezcla se colocó en una estufa durante 24 horas. El sólido se recuperó por decantación que se encuentra en estado húmedo se secó en una estufa, y finalmente se pulverizó en un mortero.

La muestra HT/PA-ST-AM se obtuvo mediante el mismo procedimiento que la HT/PA-ST-AC, con la única diferencia de que se añadieron 150 mL de agua destilada en lugar de 300 mL.

2.1.3. Preparación de híbridos HT/PA por cristalización vía ultrasonido

La síntesis del material híbrido por cristalización asistida por ultrasonido se realizó en dos etapas. En la primera, se llevó a cabo la síntesis de hidrotalcita siguiendo el mismo procedimiento descrito en el apartado 2.1.2. En la segunda etapa, una vez finalizada la agitación, la mezcla se sometió a un baño ultrasónico (Elmasonic P30H, 390 W, 80 kHz) durante 30 minutos. Posterior a la sonicación, los sólidos fueron recuperados por decantación y se lavaron con agua destilada (250 mL/g). Posteriormente, se dejaron reposar durante 24 horas en un vaso de precipitado para favorecer la sedimentación. Después, se decantó la solución y se realizaron lavados sucesivos hasta alcanzar un pH constante en 11. El sólido que se encuentra en estado húmedo se secó en una estufa, y finalmente se pulverizó en un mortero y se almacenó en un frasco identificado con la clave HT/PA-US. El procedimiento de síntesis se ilustra en la Figura 2.3.

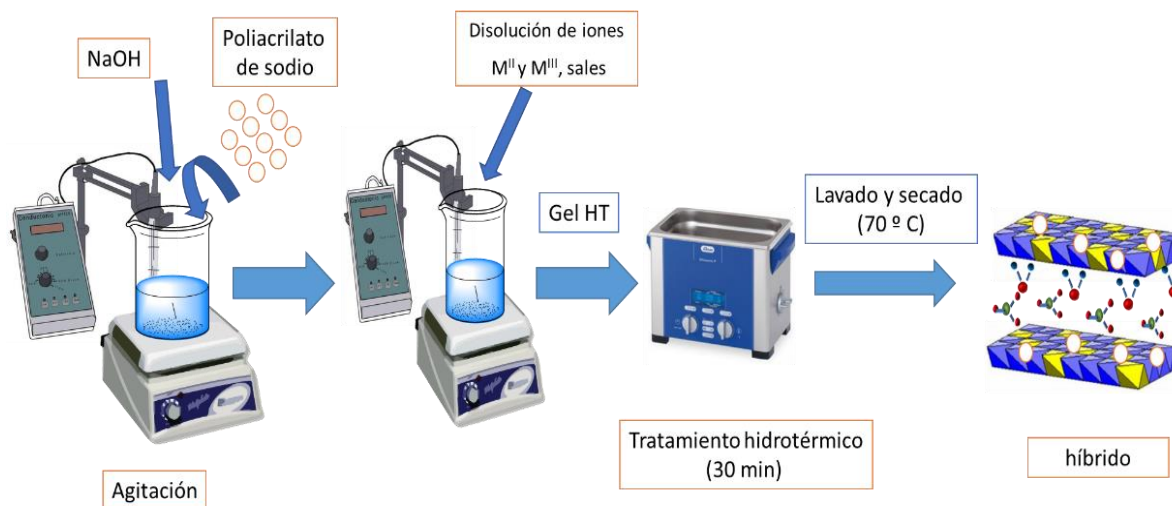


Figura 2.3. Esquema del procedimiento de síntesis de los híbridos vía cristalización con ultrasonido.

La muestra identificada como HT/PA-US-AC se preparó siguiendo la metodología descrita en el apartado 2.1.3, con la única diferencia de que, tras los lavados, se añadieron 300 mL de agua destilada antes del secado. El sólido que se encuentra en estado húmedo se

secó en una estufa, y finalmente se pulverizó en un mortero y se almacenó en un frasco identificado con la clave HT/PA-US-AC.

La muestra HT/PA-US-AM se preparó de manera análoga a la muestra HT/PA-US-AC, con la diferencia de que se añadieron 150 mL de agua destilada en lugar de 300 mL.

2.1.4. Preparación de híbridos HT/PA por cristalización *vía* microondas

La síntesis del material híbrido por cristalización asistida por microondas se llevó a cabo en dos etapas. La primera etapa se realizó siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.1.2. En la segunda etapa, una vez concluido el tiempo de agitación, la mezcla se sometió a irradiación en un horno de microondas durante 20 minutos (Figura 2.4). Posteriormente los sólidos fueron recuperados de la solución por decantación y lavados con agua destilada (250 mL/g). Luego, la mezcla se dejó reposar durante 24 horas en un vaso de precipitado para favorecer la sedimentación, el sólido fue recuperado por decantación. Finalmente, se secó en una estufa a 70 °C durante 24 horas, se pulverizó en un mortero y se almacenó en un frasco con la clave HT/PA-MO.

La muestra identificada como HT/PA-MO-AC se sintetizó siguiendo el procedimiento descrito en la sección 2.1.4, con la única diferencia de que, tras los lavados, se añadieron 300 mL de agua destilada antes del secado. El sólido se encuentra en estado húmedo se secó en una estufa, y finalmente se pulverizó en un mortero y se almacenó en un frasco identificado con la clave HT/PA-MO-AC.

La muestra HT/PA-MO-AM se preparó de manera similar a la muestra HT/PA-MO-AC, con la diferencia de que se agregaron 150 mL de agua destilada en lugar de 300 mL.



Figura 2.4. Esquema del procedimiento de síntesis de los híbridos *vía* cristalización con microondas.

2.2. Método de inhibición antimicrobiana por el método Kirby Bauer modificado

La actividad antimicrobiana de la hidrotalcita de referencia, del poliacrilato de sodio y de los híbridos HT/PA se evaluó mediante el método Kirby Bauer ([Sacsquispe and Velázquez., 2002](#)) modificado, el cual permite determinar la capacidad inhibitoria de una muestra frente a un microorganismo, a través de la formación de halos de inhibición.

El procedimiento experimental se desarrolló en dos etapas. En la primera, se preparó un pre-inóculo de la bacteria *Corynebacterium ammoniagenes* (ATCC 6871) en caldo Luria Bertani, el cual se incubó durante 24 horas en condiciones controladas.

La segunda etapa del procedimiento se llevó a cabo de la siguiente manera: en una caja Petri estéril se depositaron 70 μ L del pre-inóculo obtenido en la etapa anterior, correspondiente a una concentración de aproximadamente 1.5×10^8 unidades formadoras de colonias (según la escala de McFarland). A continuación, se añadieron 20 mL de agar LB, asegurándose de que la cepa bacteriana se distribuyera uniformemente antes de la gelificación del medio.

Una vez solidificado el agar, se realizaron pozos en la superficie del medio utilizando una varilla de vidrio estéril. En cada uno de los pozos se colocaron 50 mg de muestra. Las placas se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

Posterior al tiempo de incubación (24 h) las placas se examinaron visualmente para determinar las actividades antimicrobianas a través del espesor de los halos de inhibición (Figura 2.5). Los ensayos se realizaron colocando cinco muestras en 3 placas y los resultados se reportan con el promedio de los valores (Figura 2.5).

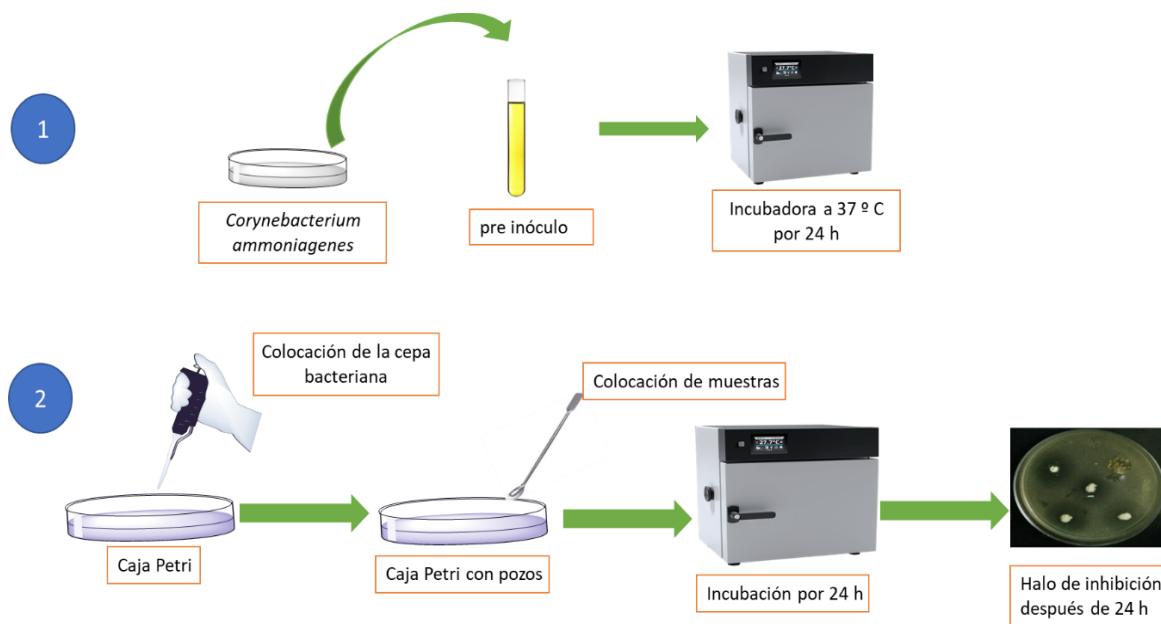


Figura 2.5. Esquema de evaluación antimicrobiana de los híbridos por el método Kirby Bauer.

2.2. Híbridos óxido de zinc/poliacrilato de sodio (ZnO/PA)

2.2.1. Preparación de híbridos ZnO/PA por el método de mezcla mecánica

La síntesis de los nuevos materiales híbridos se realizó según el procedimiento: en un vaso de precipitado se disolvieron 300 mg de óxido de zinc, tras lo cual se añadieron 700 mg de poliacrilato de sodio. La mezcla se mantuvo bajo agitación constante a temperatura ambiente. Posteriormente, se incorporaron 150 mL o 300 mL de agua destilada, dando lugar a dos modalidades distintas de síntesis.

Después de un tiempo de agitación de una hora, la mezcla se secó en una estufa a 70 °C durante 24 horas. Los sólidos obtenidos se pulverizaron en un mortero y se almacenaron en frascos herméticos.

A la muestra preparada con 150 mL de agua (equivalente a la mitad del volumen necesario para saturar el poliacrilato) se le asignó la clave ZP-AM, mientras que la muestra sintetizada con 300 mL de agua (volumen total necesario para alcanzar la saturación del poliacrilato) se identificó con la clave ZP-AC.

2.2.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria

La actividad antimicrobiana de los materiales híbridos se evaluó mediante el método de dilución en caldo, el cual permite determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) es decir, la menor concentración del compuesto capaz de inhibir el crecimiento visible de la bacteria en estudio. Esta metodología proporciona información sobre la eficacia del material frente a microorganismos específicos, permitiendo identificar la posible sobrevivencia bacteriana en presencia del agente antimicrobiano.

La prueba antimicrobiana se llevó a cabo en dos etapas. En la primera, se preparó un pre-inóculo de la cepa *Corynebacterium ammoniagenesis* (ATCC 6871), el cual fue incubado durante 24 horas a 37 °C para garantizar un crecimiento adecuado.

En la segunda etapa, se emplearon cuatro matraces Erlenmeyer para realizar las pruebas con los materiales (óxido de zinc o material híbrido) a diferentes concentraciones (8, 10, 12, 25 y 50 mg/mL). Asimismo, se incluyeron controles positivos y negativos.

Como control negativo se utilizaron:

- caldo LB (Luria Bertani) sin bacterias, y
- caldo LB con el material en estudio (óxido de zinc o material híbrido), sin inoculación bacteriana.

Como control positivo se consideraron:

- la cepa *C. ammoniagenes* (70 µL del preinóculo), y
- la cepa *C. ammoniagenes* (70 µL) en presencia del material (óxido de zinc o híbrido).

Todos los matraces fueron colocados en una incubadora orbital a 37 °C y 110 rpm durante 24 horas (Figura 2.7). Transcurrido este tiempo, se realizó la medición de la densidad óptica (DO) a 625 nm, siguiendo el procedimiento descrito por [\(León-Vallejo et al. 2019\)](#).

Los ensayos se realizaron por cada concentración y se llevaron a cabo por triplicado.

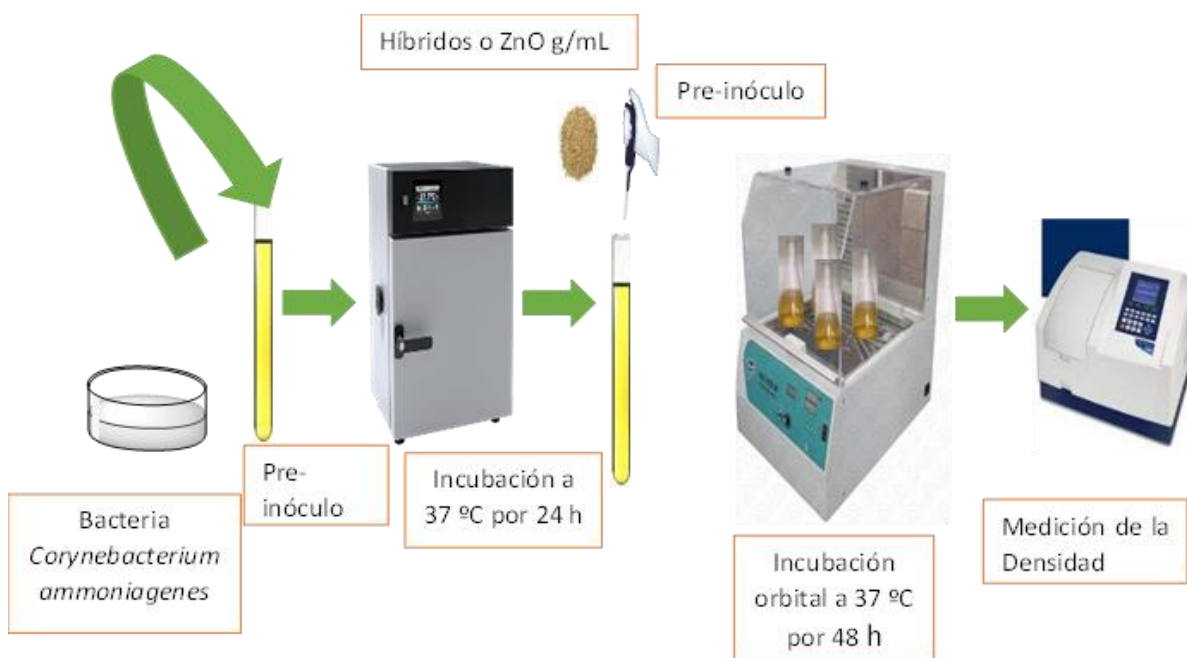


Figura 2.7. Representación del procedimiento de evaluación antimicrobiana de los materiales (óxido de zinc/materiales híbridos frente a *C. ammoniagenes*).

2.3. Métodos de caracterización

Las muestras sintetizadas fueron caracterizadas mediante diversas técnicas analíticas: incluyendo difracción de rayos X (DRX), espectroscopia infrarroja (FTIR), análisis de adsorción-desorción de nitrógeno y microscopía electrónica de barrido (MEB). En el apartado siguiente se presenta una descripción general de cada técnica utilizada, así como las condiciones experimentales bajo las cuales se operaron los equipos correspondientes para llevar a cabo la caracterización estructural, química, textural y morfológica de los materiales obtenidos.

2.3.1. Difracción de rayos X

Este análisis permite identificar y determinar los parámetros estructurales de los materiales. Se realizaron utilizando un equipo Bruker D8 Discover, equipado con un detector LynxEye, con un rango de escaneo angular de 5 a 70° (20).

2.3.2. Espectroscopia de infrarrojo

Esta técnica permite identificar las bandas de adsorción correspondientes a los grupos funcionales característicos de los materiales. Las mediciones se realizaron en un equipo Digilab Excalibur FTS 3000, con un rango de escaneo de 4000 a 400 cm^{-1} . Para el análisis, se utilizaron pastillas compactadas formadas por 1 mg de muestra y 29 mg de KBr.

2.3.3. Fisisorción de nitrógeno

Mediante esta técnica se determinaron las áreas superficiales específicas BET y la distribución del tamaño de poros de los materiales. El análisis se llevó a cabo en un equipo Micromeritics ASAP 2020. Las muestras, de aproximadamente 0.2 g, fueron pretratadas a 80 °C durante 2 horas y posteriormente a 150 °C durante 8 horas bajo una presión de vacío de 30 μmHg . Tras el pretratamiento, se evaluaron los materiales en intervalos de presión relativa (P/P_0) entre 0.0005 y 0.99, con una presión de desgasificación de 5 μmHg .

2.3.4. Microscopía electrónica de barrido y análisis de energía dispersiva de rayos X

Esta técnica suministra información sobre la morfología, el tamaño de partícula y la composición química de los materiales. Para los análisis de las muestras se utilizó un microscopio electrónico de barrido JEOL JSM-6610LV, equipado con un detector de dispersión de energía de rayos X (EDS) para la determinación de la composición química elemental.

2.3.5. Acidez y basicidad

La evaluación de los sitios ácidos de los materiales se realizó de la siguiente manera: se introdujo un electrodo potenciométrico en 20 mL de una disolución de NaOH 0.05 M. Posteriormente, se añadió 1 g de muestra a la solución básica, monitoreando la evolución del pH hasta alcanzar el equilibrio. Los resultados indicaron una acidez prácticamente nula, con valores de cero, lo que sugiere que los materiales no poseen grupos funcionales capaces de donar protones (H^+) al medio. Esta característica podría tener implicaciones importantes en su interacción con microorganismos.

Los sitios básicos se determinaron mediante un método similar al empleado para las mediciones de acidez, con la diferencia de que se utilizó HCl en lugar de NaOH.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Muestras híbridas de HT/PA preparadas por tres métodos diferentes de cristalización con diferentes cantidades de agua

3.1.1. Caracterización

3.1.1.1. Difracción de rayos X (DRX)

Los difractogramas de rayos X de las muestras HT, PA, HT/PA-ST-AC, HT/PA-US-AC, HT/PA-MO-AC, HT/PA-ST-AM, HT/PA-US-AM, HT/PA-MO-AM, se muestran en la Figura 3.1. La muestra de hidrotalcita (HT) presenta los picos característicos correspondientes a los planos de difracción (003), (006), (012), (110), (113) (Sommer et al. 2010). Dichos picos se identificaron de acuerdo con el patrón de referencia JCPDS 00-014-0191 (Bergadà et al. 2007;Liu et al. 2011). El poliacrilato de sodio (PA) no presenta ningún pico, lo cual confirma la estructura predominantemente amorfa de la muestra.

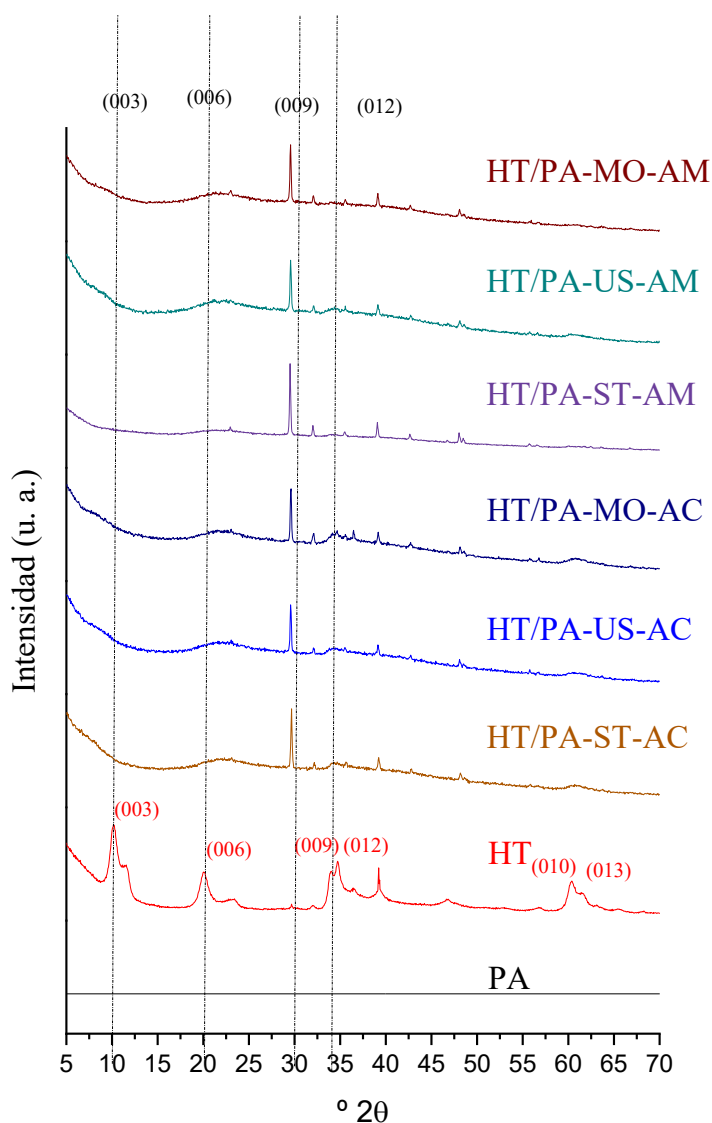


Figura 3.1. Patrones de difracción de rayos X de la hidrotalcita (HT), el poliacrilato (PA) y muestras híbridas de HT/PA con diferente cantidad de agua.

Los difractogramas de rayos X obtenidos de los materiales híbridos no muestran los picos característicos ni de la hidrotalcita ni del poliacrilato de sodio, presentando en su lugar patrones amorfos o sin señales definidas que permitan identificar con claridad las fases presentes. Como consecuencia, no es posible confirmar la formación de materiales híbridos bajo estas condiciones de síntesis mediante esta técnica.

3.1.1.2. Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La Figura 3.2 muestra los espectros FTIR correspondientes a las muestras de referencia de poliacrilato de sodio, hidrotalcita y los materiales híbridos. En el espectro de la muestra de hidrotalcita (HT), se observa una banda en 3500 cm^{-1} , atribuida a las vibraciones de estiramiento de los grupos OH presentes en las láminas (Novak & Grdadolnik, 2021).

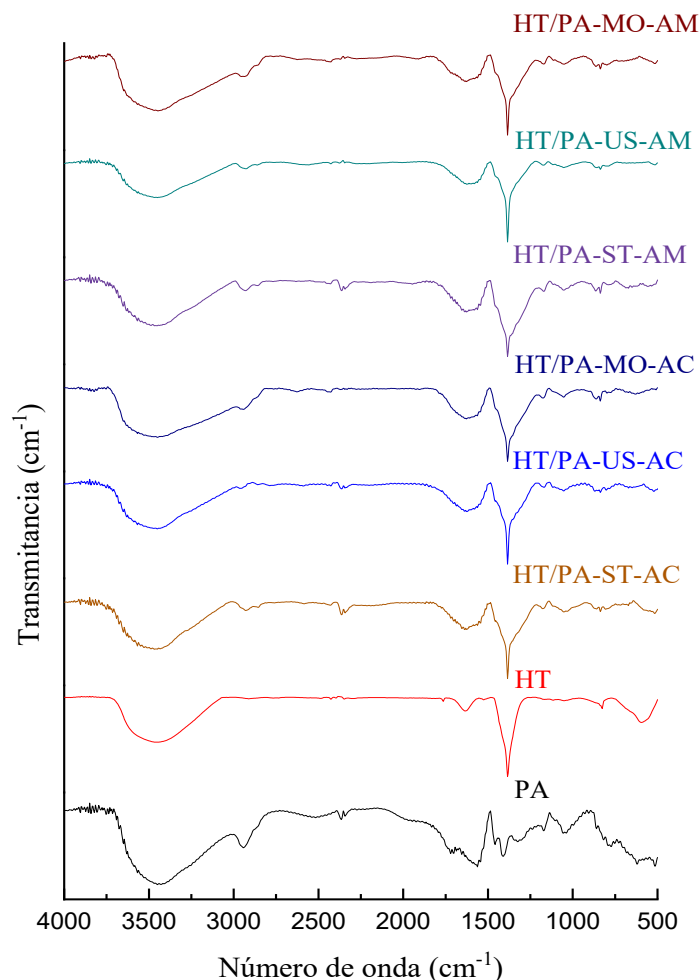


Figura 3.2. Espectros de infrarrojo de la hidrotalcita (HT), del poliacrilato (PA) y de las muestras híbridas HT/PA con diferentes cantidades de agua.

La zona del espectro de infrarrojo comprendida entre 500 y 1000 cm^{-1} es característica de los octaedros que forman la lámina; en esta zona se presentan bandas entre 881 y 420 cm^{-1}

¹, correspondientes a las vibraciones de estiramiento y flexión de los enlaces Mg-OH, Zn-OH, Cu-OH y Al-OH de la red cristalina octaédrica de la hidrotalcita (Frost et al., 2002).

La banda en 2939 cm⁻¹ se asocia a las vibraciones del enlace C-H (Lei et al. 2013) y las bandas a 766 cm⁻¹ se atribuyen a las vibraciones de flexión del mismo enlace, mientras que para el enlace CH₂ las bandas presentes se encuentran en 1410 y 1311 cm⁻¹. Finalmente, la banda en 1045 cm⁻¹ corresponde a la vibración de flexión del enlace O-Na, característica del poliacrilato (Khanlari and Dubé 2015).

En los espectros correspondientes a las muestras híbridas HT/PA-ST-AC, HT/PA-US-AC, HT/PA-MO-AC, HT/PA-ST-AM, HT/PA-US-AM y HT/PA-MO-AM, se presentan ligeras variaciones en las bandas, atribuibles a la superposición de los grupos funcionales característicos de la hidrotalcita y del poliacrilato de sodio. La banda en 3500 cm⁻¹ indica la presencia de grupos OH del agua, característicos de la hidrotalcita. Asimismo, la señal en 1559 cm⁻¹ corresponde al grupo carboxílico del poliacrilato de sodio, mientras que la banda en 2922 cm⁻¹ se asocia a la vibración del enlace -CH, lo que confirma la presencia de este polímero (Grabowska & Holtzer, 2009). El traslape de las bandas principales de ambos compuestos sugiere la coexistencia de las fases originales en los materiales híbridos, aunque esta interpretación será corroborada mediante otras técnicas de caracterización complementarias.

3.1.1.3. Fisisorción de nitrógeno

Las isothermas de fisisorción de nitrógeno para las muestras HT, PA, HT/PA-ST-AC, HT/PA-US-AC, HT/PA-MO-AC, HT/PA-ST-AM, HT/PA-US-AM y HT/PA-MO-AM se presentan en la Figura 3.3. Para el PA las isothermas de fisisorción de nitrógeno no evidenciaron adsorción para el componente PA, lo cual es consistente con la presencia exclusiva de macroporos, los cuales no pueden ser detectados mediante esta técnica. En contraste, la HT mostró una isoterma de tipo IV, junto con un perfil de histéresis tipo H3, característico de poros en forma de hendidura, típicos de materiales laminares (Cavani et al., 1991).

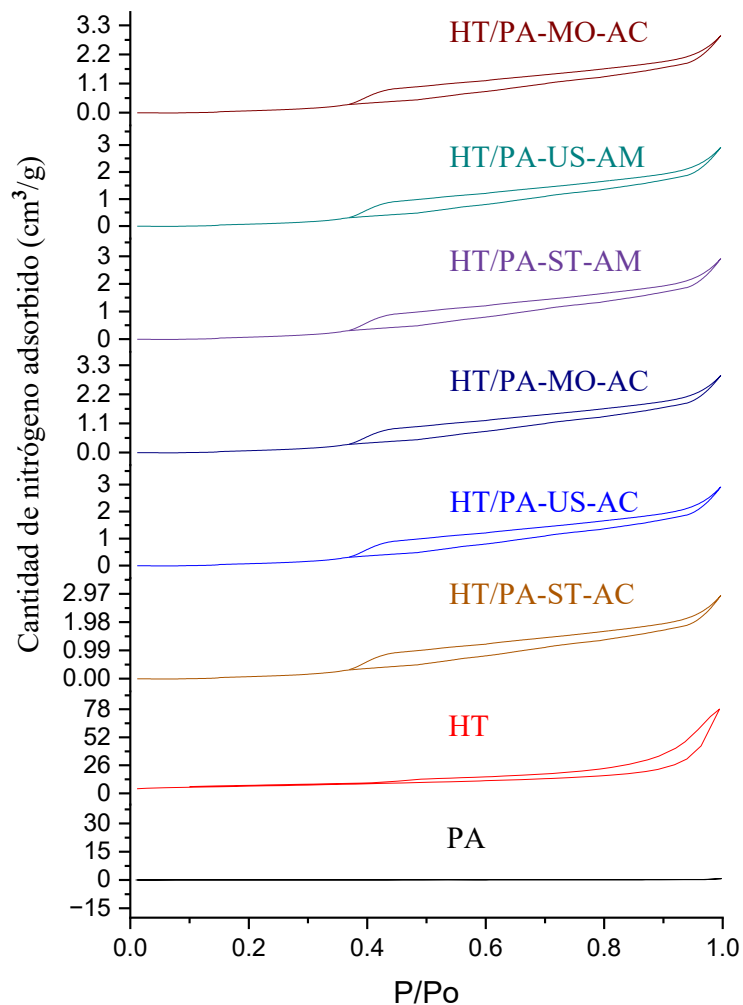


Figura 3.3. Isothermas de adsorción de la hidrotalcita (HT), el poliacrilato (PA) y muestras híbridas de HT/PA con diferente cantidad de agua.

Las muestras HT/PA-ST-AC, HT/PA-US-AC, HT/PA-MO-AC, HT/PA-ST-AM, HT/PA-US-AM y HT/PA-MO-AM presentaron isothermas tipo IV con lazos de histéresis H3 características de materiales mesoporosos según la clasificación de la IUPAC (Sing et al., 1985). La presencia del lazo de histéresis indica la existencia de poros de tamaño intermedio (2–50 nm), típicos de estructuras mesoporosas con cavidades abiertas.

El área superficial revela que el PA mostró un área superficial prácticamente nula, mientras que la muestra de HT presentó un valor de $3.2 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. En contraste, las muestras HT/PA-ST-AC $1.8 \text{ m}^2/\text{g}$, HT/PA-US-AC $0.9 \text{ m}^2/\text{g}$, HT/PA-MO-AC $1.9 \text{ m}^2/\text{g}$, HT/PA-ST-AM $1.8 \text{ m}^2/\text{g}$, HT/PA-US-AM $0.9 \text{ m}^2/\text{g}$, HT/PA-MO-AM $1.9 \text{ m}^2/\text{g}$ presentaron áreas superficiales

Estos resultados indican que, a pesar de utilizar la misma cantidad de agua en las muestras con clave AC (300 mL) y AM (150 mL), el método de síntesis también influye en la estructura porosa del material final. En general, una menor cantidad de agua parece favorecer la formación de una estructura con mayor área superficial, posiblemente debido a una menor agregación de partículas durante la síntesis y una distribución más eficiente del polímero en la hidrotalcita.

En la Figura 3.4 se presenta la distribución del tamaño de poro de las muestras analizadas. El poliacrilato de sodio no exhibe picos característicos asociados a micro o mesoporos; este comportamiento es consistente con su naturaleza predominantemente macroporosa, cuyos poros no pueden determinarse mediante esta técnica ([Cruz Hernández et al., 2025](#)). Por su parte, la hidrotalcita muestra un único pico estrecho centrado en aproximadamente 45 \AA , correspondiente al intervalo típico de los mesoporos.

En las muestras híbridas HT/PA-ST-AM y HT/PA-MO-AM se observa un pico intenso cercano a 45 \AA , similar al registrado para la hidrotalcita, lo que sugiere que esta conserva parcialmente su estructura porosa original. No obstante, se identifican varios picos adicionales en el intervalo de 45 a 80 \AA , lo que indica la presencia de interacciones entre ambos componentes. La muestra HT/PA-US-AC presenta un comportamiento similar, reproduciendo el rango de poros observado en las muestras HT/PA-ST-AC y HT/PA-MO-AC, aunque con una mayor intensidad de los picos. Este efecto podría deberse a que el tratamiento térmico por microondas, o incluso la ausencia de tratamiento, favorece la formación de partículas de tamaño nanométrico, tal como ha sido reportado por [Velázquez et al., 2020](#) para hidrotalcitas depositadas en SBA15, lo que promovería una mayor interacción con el poliacrilato. En contraste, las muestras sometidas a tratamiento por ultrasonido presentan una menor interacción con el polímero.

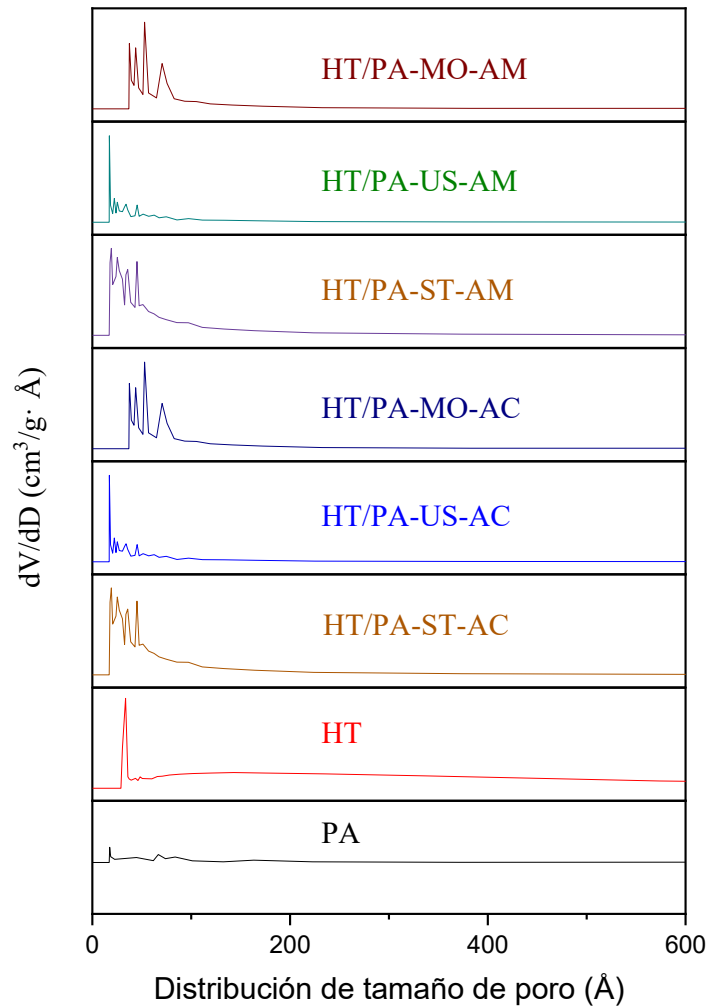


Figura 3.4. Distribución de diámetro de poro de la hidrotalcita (HT), del poliacrilato (PA) y de las muestras híbridas HT/PA con diferente cantidad de agua.

En conjunto, estos resultados indican que tanto el método de síntesis como la cantidad de agua influyen significativamente en las propiedades texturales de los materiales híbridos, afectando su porosidad y área superficial.

3.1.1.4. Microscopía electrónica de barrido

Las micrografías obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) para la hidrotalcita, el poliacrilato de sodio y los materiales híbridos se presentan en la Figura 3.5.

En la imagen correspondiente a la hidrotalcita, se observa una morfología característica en forma de hojuelas, con un tamaño promedio de aproximadamente 500 nm de diámetro, lo cual es típico de materiales laminares como las arcillas (Velázquez-Herrera et al. 2018).

En cuanto a los materiales híbridos, la muestra HT/PA-ST-AC muestra una distribución heterogénea, donde se distinguen claramente partículas de poliacrilato (Hamid et al., 2021) rodeadas de aglomerados de hidrotalcita. En contraste, las muestras HT/PA-US-AC y HT/PA-MO-AC, mostradas en la Figura 3.5, presentan una distribución más homogénea de la hidrotalcita entre las partículas del poliacrilato, lo que sugiere una mejor dispersión del componente inorgánico cuando se emplean métodos de síntesis asistidos por ultrasonido o microondas. Por otro lado, en las muestras HT/PA-ST-AM, HT/PA-US-AM y HT/PA-MO-AM, también se observa una distribución heterogénea de las partículas de hidrotalcita dentro del poliacrilato. La morfología obtenida indica que tanto el método de síntesis como la cantidad de agua utilizada durante la preparación influyen notablemente en el grado de impregnación y dispersión de la fase inorgánica.

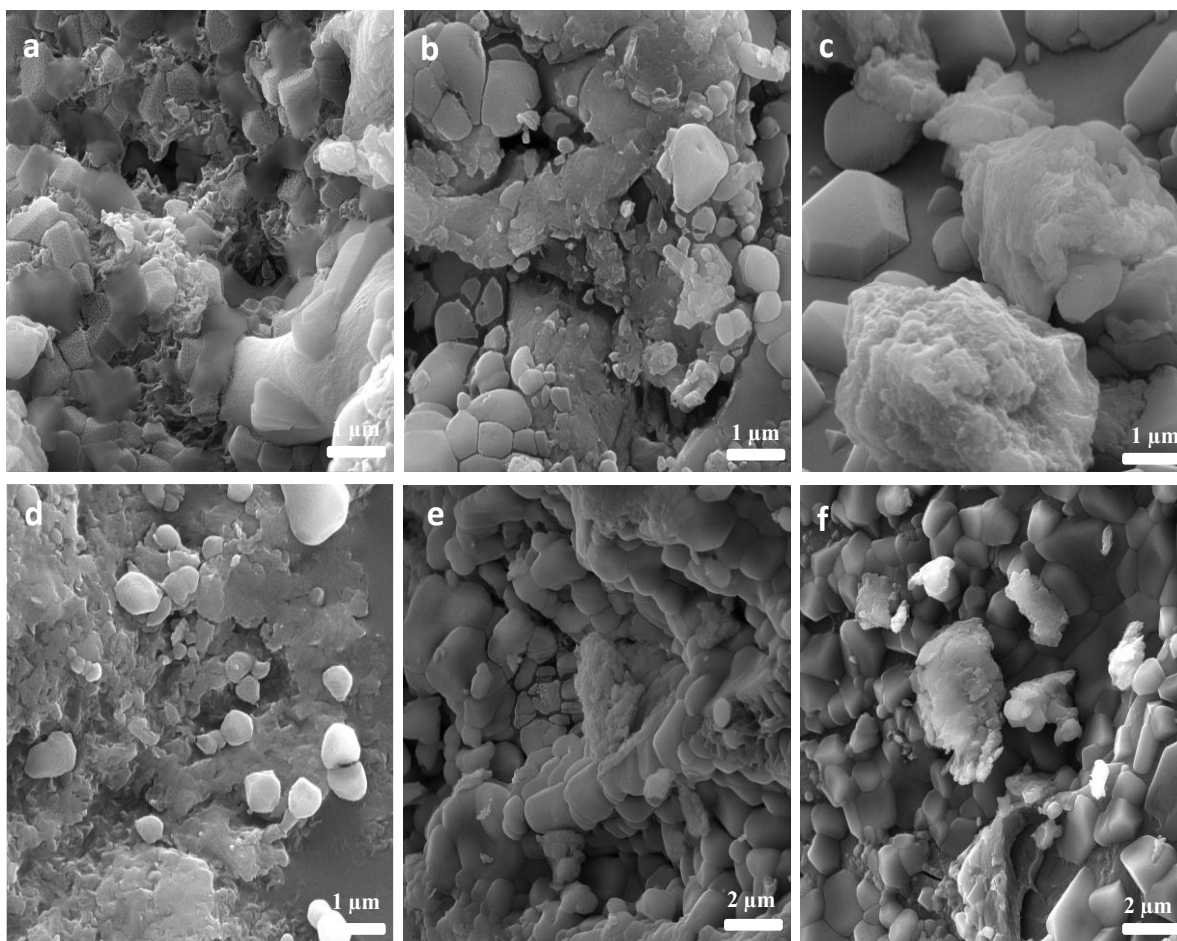


Figura 3.5. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de las muestras híbridas con diferentes métodos de síntesis a) HT/PA-ST-AC, b) HT/PA-US-AC, c) HT/PA-MO-AC, d) HT/PA-ST-AM, e) HT/PA-US-AM y f) HT/PA-MO-AM.

3.1.1.5. Análisis de energía dispersiva de rayos X

Las composiciones químicas elementales semicuantitativas de Zn, O, Al y C para la hidrotalcita y los materiales híbridos HT/PA-ST-AC, HT/PA-US-AC, HT/PA-MO-AC, HT/PA-ST-AM, HT/PA-US-AM y HT/PA-MO-AM se presentan en la Tabla 6. Estos resultados corresponden a análisis realizados en regiones puntuales de cada muestra.

Tabla 6. Composiciones elementales semicuantitativas superficiales (%) en peso de los materiales híbridos.

Muestra	Composición elemental %masa				Relación metálica molar
	Zn	O	C	Al	
HT	48	42	---	14	3:1
HT/PA-ST-AC	39	37	38	12	3:1
HT/PA-US-AC	19	41	27	6	3:1
HT/PA-MO-AC	12	38	21	4	3:1
HT/PA-ST-AM	15	45	17	5	3:1
HT/PA-US-AM	17	38	32	5	3:1
HT/PA-MO-AM	13	41	34	4	3:1

En la muestra de hidrotalcita pura (HT) se observa una proporción elevada de Zn, Al y O, lo cual concuerda con su estructura laminar típica, formada por capas octaédricas de cationes metálicos.

Asimismo, se observa una ligera disminución en los porcentajes de Zn y Al en los híbridos en comparación con la HT pura, lo que podría deberse tanto al efecto de dilución causado por el polímero como a una menor exposición de las fases inorgánicas al haz del detector durante el análisis puntual (Balayeva, 2021).

En cuanto al efecto del método de síntesis, los materiales obtenidos por microondas (HT/PA-MO, HT/PA-MO-AC, HT/PA-MO-AM) muestran una mayor variación en el contenido de carbono, lo que sugiere una interacción más eficiente entre el polímero y la fase inorgánica, posiblemente debido a la rápida transferencia de energía que favorece la dispersión del PA (Hussain et al., 2006). En contraste, los híbridos obtenidos por síntesis directa presentan proporciones más conservadoras de Zn y Al, lo que podría indicar una menor modificación estructural o una interacción menos intensa entre las fases.

En cuanto a las muestras HT/PA-ST-AC, HT/PA-US-AC, HT/PA-MO-AC, HT/PA-ST-AM, HT/PA-US-AM y HT/PA-MO-AM, correspondientes a las regiones puntuales 110, 109, 21, 63, 36, 43 y 74, respectivamente, se observaron concentraciones elevadas de Zn y O, lo que confirma la presencia de ZnO en la estructura del poliacrilato. Además, se detectó una mayor cantidad de Zn en estas muestras en comparación con las anteriores, lo que sugiere

una mayor proporción de hidrotalcita en la superficie del poliacrilato de sodio. Este comportamiento podría estar relacionado con una mejor dispersión del óxido o una interacción más eficiente entre ambos componentes (Foster et al., 2022), posiblemente favorecida por la modificación química y las condiciones específicas de síntesis.

3.1.1.6 Análisis termogravimétrico

La variación de la masa con respecto al tiempo de los materiales fue analizada mediante análisis termogravimétrico (TGA) y análisis térmico diferencial (DTA) con el objetivo de evaluar la estabilidad térmica de las muestras (Figura 3.6). En la muestra de hidrotalcita (HT) se identificaron tres etapas principales de pérdida de masa. La primera, entre 25 y 200 °C, muestra una pérdida del 15 %, atribuida a la eliminación del agua adsorbida en la superficie del sólido, lo cual se confirma mediante la curva derivada de pérdida de masa (dm/dT). La segunda etapa, entre 180 y 380 °C, presenta una pérdida adicional del 20 %, asociada a la deshidroxilación parcial de la estructura laminar (Zhang et al., 2010). Finalmente, entre 400 y 700 °C, se observa una pérdida del 5 %, correspondiente a la descomposición completa de la estructura de la hidrotalcita y la formación de óxidos mixtos como ZnO y ZnAl₂O₄ (López et al., 1997). Estas etapas son corroboradas por los picos en la curva dm/dT. Los perfiles de pérdida de masa de los materiales híbridos mostraron comportamientos similares entre sí, con ligeras variaciones atribuibles a la presencia del poliacrilato de sodio.

En el caso de la muestra HT/PA-ST-AC, se identificaron cinco etapas diferenciadas de pérdida de masa. La primera, entre 50 y 200 °C, muestra una pérdida aproximada del 10 %, asociada a la eliminación del agua superficial o agua ligada (Mahon et al. 2020), evidenciada por un pico en la curva dm/dT. La segunda etapa, entre 350 y 400 °C, presenta una pérdida del 15 %, atribuida a reacciones de deshidratación intermolecular y procesos iniciales de despolimerización. En la tercera etapa, entre 400 y 500 °C, se observa una pérdida del 10 %, correspondiente a la despolimerización progresiva y ruptura de enlaces cruzados ocurren porque, a altas temperaturas, la energía térmica es suficiente para romper los enlaces covalentes que mantienen unidas las cadenas y los puentes entre ellas. Esto genera fragmentos más pequeños y disminuye la integridad estructural del polímero. La cuarta etapa, con una pérdida del 10 %, se asocia con la destrucción de la matriz compuesta debido a procesos de deshidroxilación y degradación estructural de la arcilla. Finalmente, en la quinta

etapa, se registra una pérdida del 5 %, correspondiente a la etapa final de degradación del polímero (Ng et al., 2018). Todas estas transiciones térmicas se reflejan claramente en las curvas dm/dT .

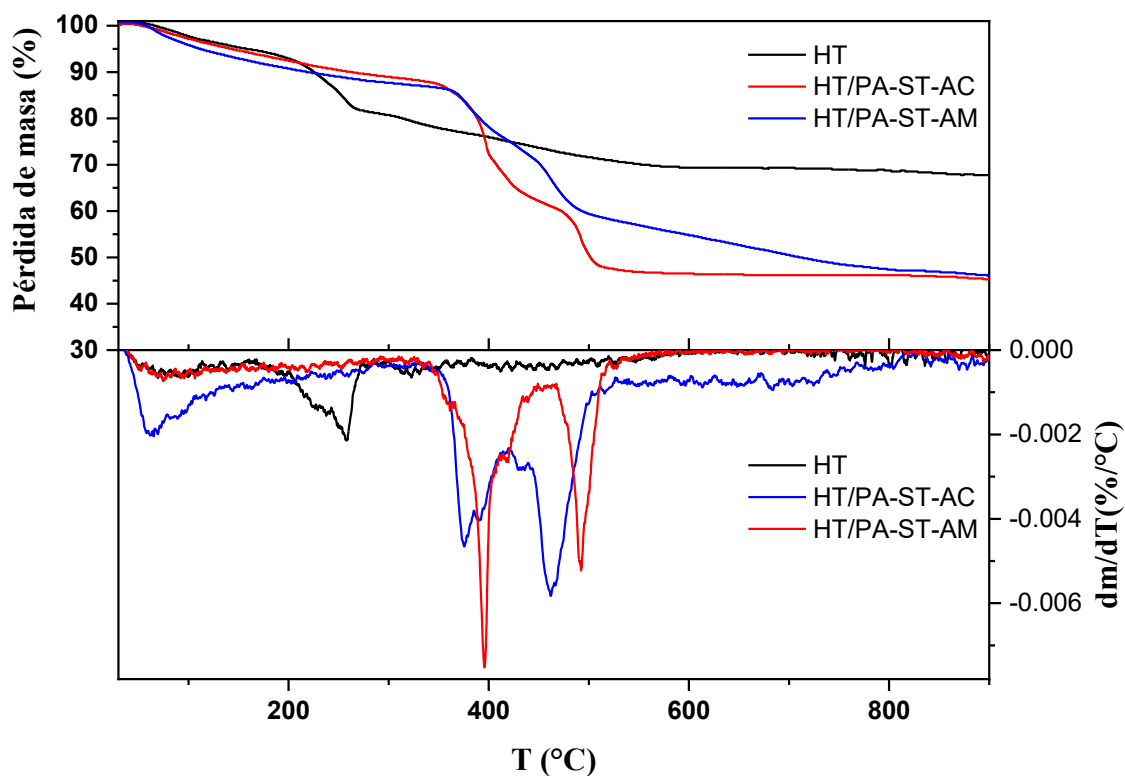


Figura 3.6. Perfiles TGA y DTA de las muestras de hidrotalcita (HT) y de los materiales híbridos (HT/PA-ST-AC y HT/PA-ST-AM).

Para la muestra HT/PA-ST-AM, los perfiles TG fueron muy similares a los observados en HT/PA-ST-AC, mostrando también cinco etapas de pérdida de masa. La primera, entre 30 y 380 °C, muestra una pérdida del 12 %, correspondiente al agua adsorbida, con un máximo en la curva dm/dT alrededor de los 50 °C (Mahon et al., 2019). La segunda etapa, entre 380 y 420 °C, presenta una pérdida del 10 %, asociada a reacciones de deshidratación, con un pico máximo en la curva dm/dT a 380 °C. En la tercera etapa, entre 400 y 430 °C, se registra una pérdida adicional del 5 %, atribuida a procesos de despolimerización y ruptura de enlaces cruzados entre cadenas poliméricas (Kang et al. 2017; Falcón et al. 2015). La cuarta etapa, entre 480 y 520 °C, muestra una pérdida del 10 %, correspondiente a la

degradación estructural de la arcilla por deshidroxilación. Finalmente, la quinta etapa, con una pérdida del 3 %, representa la etapa final de degradación del polímero. Estos eventos térmicos están bien definidos en las respectivas curvas dm/dT .

Además, se observa que el volumen de agua utilizado en la síntesis (150 mL vs. 300 mL) influye en la distribución térmica de las etapas. Las muestras preparadas con menor volumen de agua (AM) tienden a presentar pérdidas de masa más definidas y desplazamientos en las temperaturas de degradación, lo que podría estar relacionado con una mayor proximidad de los reactivos y, por ende, una mejor interacción entre las fases. Igualmente, los métodos de síntesis (síntesis directa, ultrasonido o microondas) pueden modificar el grado de dispersión del polímero, afectando la estabilidad térmica del material final.

En conjunto, estos resultados confirman la formación de materiales híbridos con un comportamiento térmico distintivo, en el cual la interacción entre las fases juega un papel importante. La caracterización térmica permite no solo verificar la incorporación del polímero, sino también evaluar la influencia de las condiciones de síntesis en la estabilidad del sistema, aspecto fundamental para aplicaciones que involucren procesos térmicos o ambientes de alta temperatura.

3.2. Muestras híbridas de HT/PA preparadas por tres métodos diferentes de cristalización

3.2.1. Caracterización

3.2.1.1. Difracción de rayos X (DRX)

Los difractogramas de rayos X correspondientes a las muestras HT, PA, HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO se presentan en la Figura 3.7. La muestra de poliacrilato de sodio (PA) no muestra picos de difracción definidos, lo que confirma su naturaleza predominantemente amorfa.

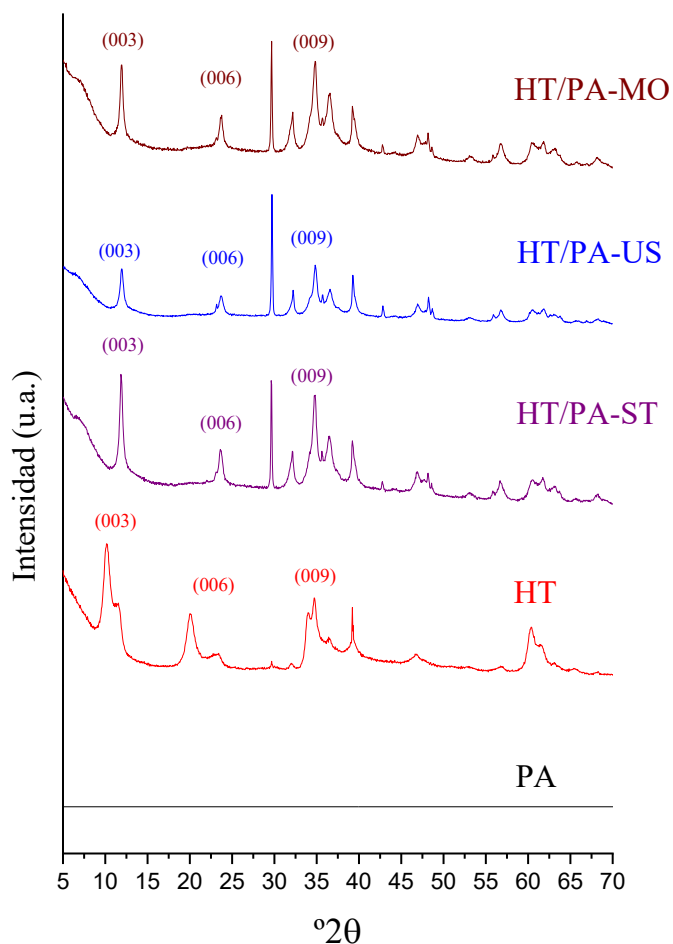


Figura 3.7. Patrones de difracción de rayos X de la hidrotalcita (HT), del poliacrilato (PA) y de las muestras híbridas HT/PA (HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO).

En contraste, la muestra de hidrotalcita (HT) exhibe una serie de picos bien definidos que corresponden a los planos cristalográficos (003), (006), (012), (110) y (113), localizados aproximadamente en $2\theta = 11.5, 23.0, 34.5, 60.5$ y 62.0 , respectivamente. Estos valores coinciden con lo reportado por (Sommer et al. 2010) y se identificaron conforme al patrón de referencia JCPDS 00-014-0191 (Bergadà et al. 2007;Liu et al. 2011).

En las muestras híbridas HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO, se conservan los picos característicos de la hidrotalcita, aunque se observan ligeras variaciones en su intensidad y en el ancho a media altura. Estas modificaciones pueden atribuirse a la dispersión de las fases cristalinas dentro del poliacrilato y a posibles alteraciones en el orden estructural provocadas por los distintos métodos de síntesis utilizados.

Además, se observa un ligero desplazamiento hacia valores mayores de 2θ en los picos correspondientes a los planos (003), (006) y (012) en las muestras híbridas, en comparación con la hidrotalcita pura. Este desplazamiento podría estar asociado a un proceso de segregación aniónica, posiblemente provocado por la obstrucción de la movilidad de los aniones interlaminares debido a la presencia del poliacrilato, como ha sido reportado por Velázquez-Herrera and Fetter (2020). Este efecto indica una posible interacción entre el polímero y las capas de la hidrotalcita, lo que sugiere cierta modificación estructural del material original como resultado del proceso de hibridación.

3.2.1.2. Espectroscopía Infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

La Figura 3.8 muestra los espectros FTIR correspondientes a las muestras de referencia de poliacrilato de sodio, hidrotalcita y los materiales híbridos. En el espectro del poliacrilato de sodio, se observan bandas características a 1719 cm^{-1} y 1564 cm^{-1} , las cuales se atribuyen a las vibraciones de estiramiento del enlace carbonilo (C=O) en sus modos asimétrico y simétrico, respectivamente. Asimismo, las señales en 3453 cm^{-1} y 800 cm^{-1} corresponden a las vibraciones de estiramiento de los grupos hidroxilo (–OH), asociados al agua absorbida por el polímero. La banda en 2939 cm^{-1} se asocia a las vibraciones de estiramiento del enlace carbono-hidrógeno (C–H) (Lei et al. 2013), mientras que la señal en 766 cm^{-1} corresponde a las vibraciones de flexión del mismo tipo de enlace. Para el grupo metileno (–CH₂–), se identifican bandas en 1410 cm^{-1} y 1311 cm^{-1} , atribuibles a sus modos de vibración de flexión. Adicionalmente, la banda observada en 1045 cm^{-1} se relaciona con la vibración de flexión

del enlace oxígeno-sodio (O-Na), característica del poliacrilato de sodio (Khanlari and Dubé 2015).

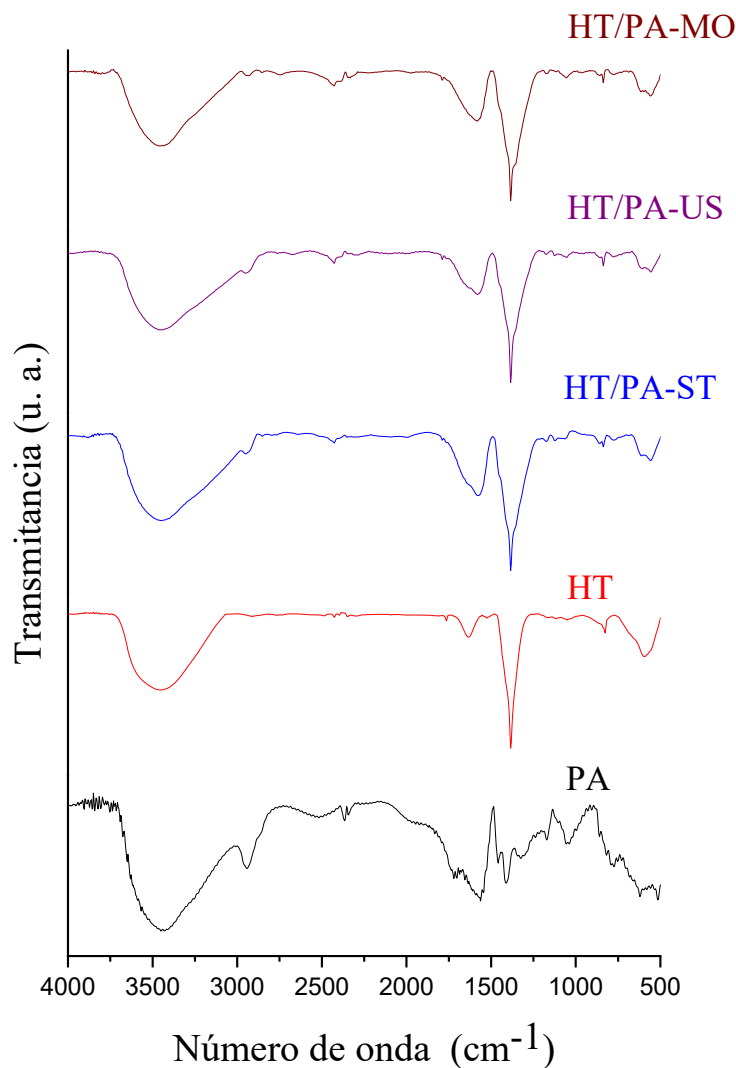


Figura 3.8. Espectros de infrarrojo de la hidrotalcita (HT), del poliacrilato (PA) y de las muestras híbridas HT/PA (HT/PA-ST, HT/PA-US, HT/PA-MO).

El espectro de la hidrotalcita presenta una banda ancha en la región de 3500 cm⁻¹, atribuida a las vibraciones de estiramiento de los grupos hidroxilo (-OH) estructurales presentes en las láminas, así como del agua interlamilar (Hernandez-Moreno et al. 1985). Un hombro alrededor de 3000 cm⁻¹ sugiere la formación de enlaces por puente de hidrógeno entre las moléculas de agua y los aniones interlaminares. Las bandas situadas en 1628 cm⁻¹

y 1645 cm^{-1} se asignan a la vibración de flexión angular (δHOH) del agua interlaminar. Por otro lado, las señales en 1383 cm^{-1} y 1353 cm^{-1} corresponden a los modos de vibración de los aniones interlaminares, siendo la banda en 1383 cm^{-1} atribuida al estiramiento antisimétrico (ν_3) de los aniones nitrato. En la región de $500\text{--}1000\text{ cm}^{-1}$, se identifican las vibraciones características de los enlaces metal–hidroxilo (Mg–OH , Zn–OH , Al–OH y Cu–OH), correspondientes a los octaedros que conforman la red cristalina de la hidrotalcita (Melián-Cabrera et al. 2002).

En los espectros de los materiales híbridos (HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO), se observan bandas correspondientes a ambas fases, lo cual indica la presencia de tanto de la hidrotalcita como del poliacrilato de sodio. La banda en 3500 cm^{-1} se mantiene, corresponde a los grupos –OH de la hidrotalcita, mientras que la señal en 1559 cm^{-1} es característica del grupo carboxilato del poliacrilato de sodio. Asimismo, la banda en 2922 cm^{-1} , atribuida a la vibración del enlace C–H , confirma la incorporación del polímero en la matriz híbrida. La superposición de las principales bandas de ambos materiales sugiere la formación efectiva de un sistema híbrido, aunque será necesario complementar esta información con otras técnicas de caracterización para confirmar posibles interacciones químicas entre las fases.

3.2.1.3. Fisisorción de nitrógeno

Las isothermas de fisisorción de nitrógeno correspondientes a las muestras HT, PA, HT/PA-ST, HT/PA-US, HT/PA-MO se muestran en la Figura 3.9. En el caso del PA, las isothermas de fisisorción de nitrógeno no mostraron evidencia de adsorción, lo que concuerda con la presencia exclusiva de macroporos, los cuales no pueden ser detectados mediante esta técnica. Por otro lado, la muestra de HT presentó una isoterma de tipo IV, acompañada de un perfil de histéresis tipo H3, característico de poros en forma de hendidura, típicos de materiales laminares (Thommes et al., 2015).

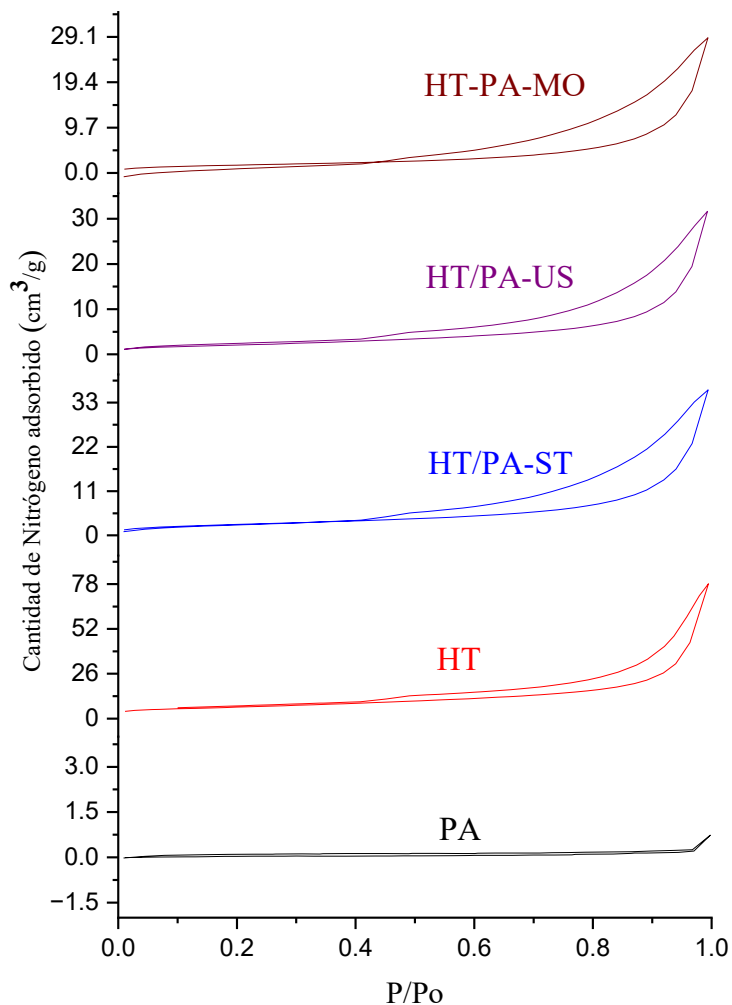


Figura 3.9. Isothermas de adsorción de la hidrotalcita (HT), el poliacrilato (PA) y muestras híbridas de HT/PA (HT/PA-ST, HT/PA-US, HT/PA-MO).

Las muestras HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO presentan isothermas de adsorción similares a la hidrotalcita pura, aunque con lazos de histéresis ligeramente más amplios, lo que indica un incremento en la mesoporosidad del material. Este comportamiento sugiere que el PA modificó el proceso de adsorción de la HT, al favorecer la formación de estructuras más abiertas como resultado de la cristalización in situ de la hidrotalcita dentro del poliacrilato.

El polímero PA mostró un área superficial prácticamente nula, mientras que la muestra de HT presentó un valor de $3.2 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$. En contraste, las muestras HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO presentaron áreas superficiales de 9.4, 7.3 y $5.8 \text{ m}^2 \cdot \text{g}^{-1}$, respectivamente. Estas variaciones en el área superficial entre los híbridos se atribuyen a diferencias en el tamaño, la morfología y la distribución de las partículas de HT dentro del PA. Estos resultados indican que el método de síntesis por agitación convencional favorece una mayor exposición de superficie activa en comparación con los métodos asistidos por ultrasonido o microondas.

En la Figura 3.10, se muestra la distribución del tamaño de poro de las diferentes muestras. El poliacrilato de sodio como era de esperar no presenta picos. En cambio, la hidrotalcita exhibe un único pico estrecho en 34 \AA , dentro de un rango de 20 a 100 \AA , característico de materiales mesoporosos organizados.

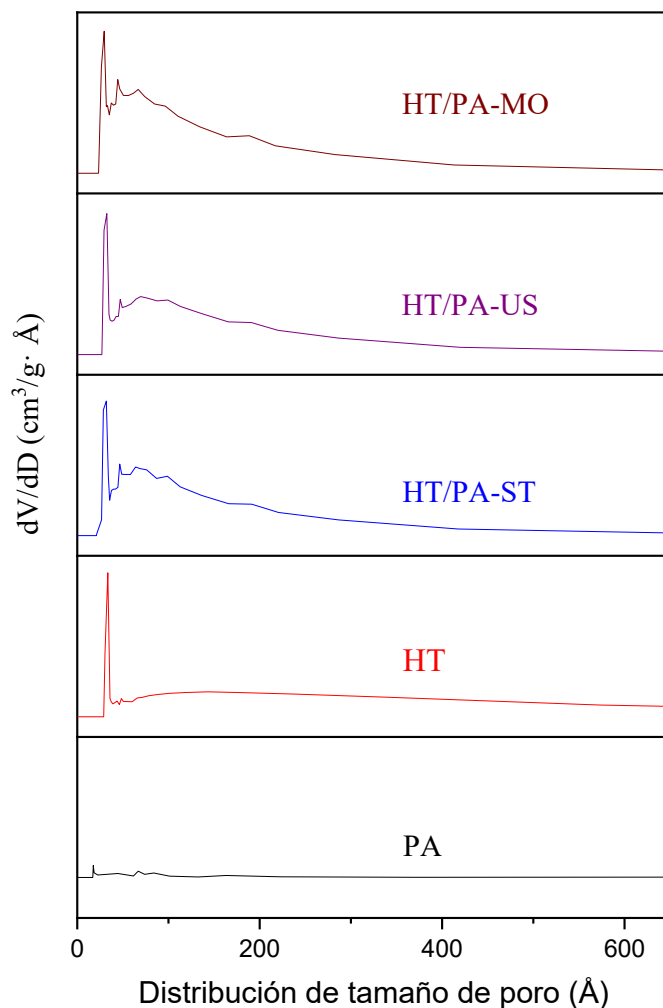


Figura 3.10. Distribución de tamaño de poro de la hidrotalcita (HT), del poliacrilato (PA) y de las muestras híbridas HT/PA (HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO).

Las muestras híbridas HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO muestran un pico intenso alrededor de 45 Å, similar al de la hidrotalcita, aunque con un leve desplazamiento hacia menores diámetros de poro, lo cual sugiere cierta modificación estructural provocada por la incorporación del poliacrilato. La muestra HT/PA-US muestra un pico adicional en 70 Å, como en el caso del poliacrilato puro, lo que sugiere que una fracción de la hidrotalcita se encuentra incorporada dentro de la estructura polimérica, posiblemente formando dominios internos o alojamientos dentro de la matriz del poliacrilato.

La cristalización de la HT dentro del PA confirió características mesoporosas a los materiales híbridos, evidenciadas por la presencia de poros con diámetros entre 50 y 150 Å, corroborados además mediante las mediciones de área superficial.

3.2.1.4. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Las micrografías obtenidas mediante microscopía electrónica de barrido (SEM) de la hidrotalcita, el poliacrilato de sodio y los materiales híbridos se presentan en la Figura 3.11. En la muestra de hidrotalcita, se observa una morfología característica en forma de hojuelas con un tamaño promedio de aproximadamente 500 nm de diámetro, típica de materiales laminares como las arcillas ([Velázquez-Herrera et al. 2018](#)).

Para los híbridos HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO se muestra que la forma de impregnación es diferente por cada muestra, la morfología de la muestra HT/PA-ST presenta un arreglo homogéneo del poliacrilato con las láminas de la hidrotalcita, mientras que en la muestra HT/PA-US se observa distribución heterogénea de las láminas de hidrotalcita en el poliacrilato.

Respecto a los materiales híbridos:

- En la muestra HT/PA-ST, se observa un arreglo relativamente homogéneo entre las láminas de hidrotalcita y el de poliacrilato, lo que indica una buena dispersión del componente inorgánico.
- La muestra HT/PA-US presenta una distribución heterogénea, donde las láminas de hidrotalcita se encuentran dispersas de manera irregular entre el poliacrilato.
- En HT/PA-MO, la distribución de la hidrotalcita también es heterogénea, aunque menos definida, lo que sugiere una menor interacción entre ambas fases durante la síntesis.

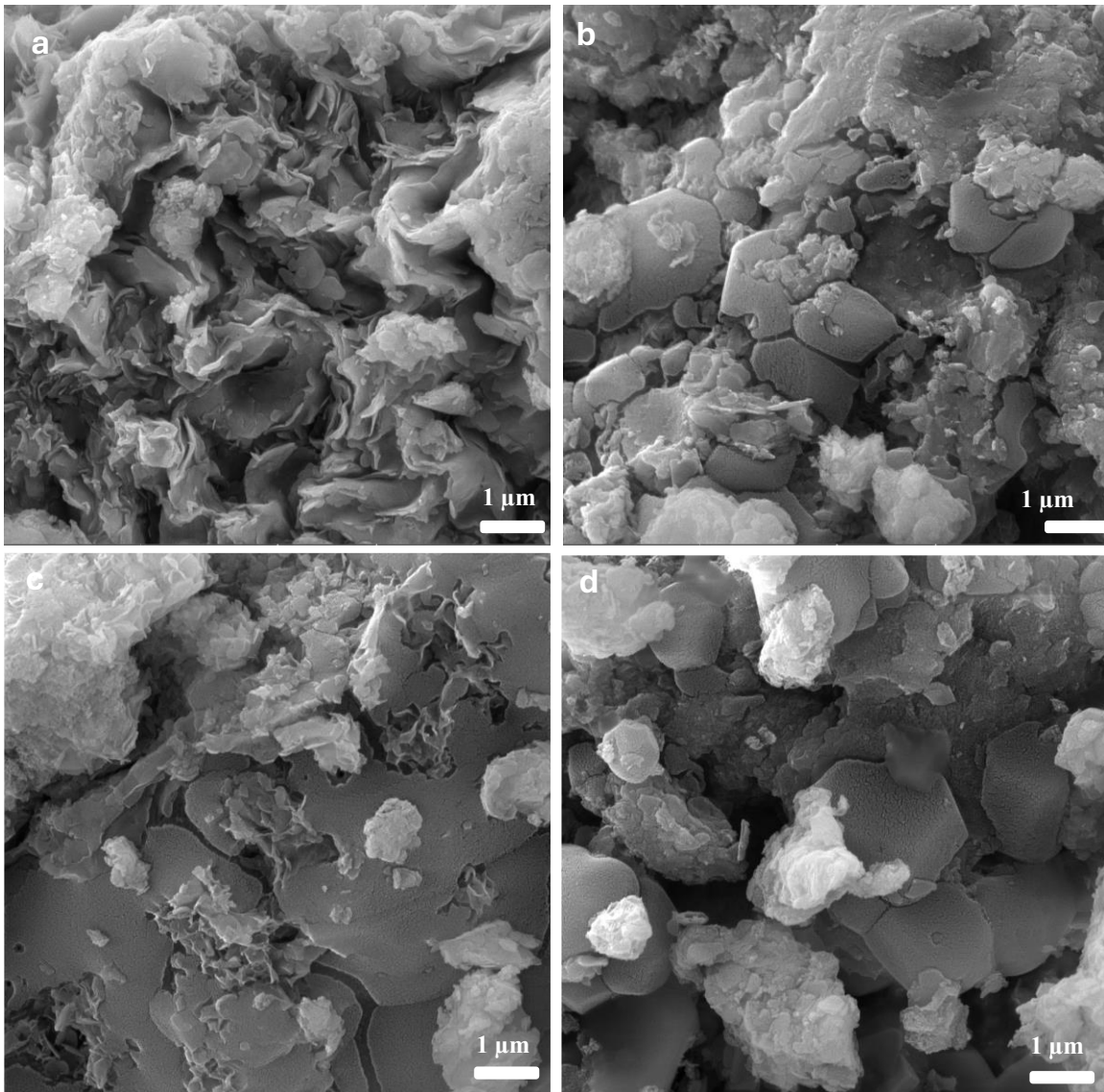


Figura 3.11. Imágenes de microscopía electrónica de barrido de las muestras HT y de las muestras híbridas (HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO).

3.2.1.5. Análisis de energía dispersiva de rayos X

Las composiciones químicas elementales semicuantitativas de Zn, O, Al y C se observan en la Tabla 7 para las muestras híbridas HT/PA-ST, HT/PA-US, HT/PA-MO. Estos resultados corresponden a análisis realizados en regiones puntuales de cada muestra.

Tabla 7. Composiciones elementales semicuantitativas superficiales (% en peso) de los materiales híbridos.

Muestra	Composición elemental %masa				Relación metálica molar
	Zn	O	C	Al	
HT	48	42	---	14	3:1
HT/PA-ST	42	39	17	12	3:1
HT/PA-US	29	36	15	9	3:1
HT/PA-MO	45	32	30	13	3:1

En la muestra de hidrotalcita pura (HT), se observa una mayor proporción relativa de Zn, Al y O, lo cual es coherente con su estructura laminar característica compuesta por capas metálicas octaédricas.

En los materiales híbridos, se detecta un aumento significativo en el contenido de carbono (C), especialmente en comparación con la muestra de HT. Este incremento se atribuye a la presencia del poliacrilato de sodio (PA) en la matriz del material, lo que confirma la incorporación del componente polimérico.

En la muestra HT/PA-ST, las regiones puntuales 107 y 28 mostraron una elevada concentración de zinc (Zn) y oxígeno (O), lo que sugiere una dispersión efectiva del ZnO en el poliacrilato de sodio. De manera similar, en las muestras HT/PA-US y HT/PA-MO se identificaron composiciones ricas en Zn y O en las regiones puntuales 14, 13, 113 y 115, observadas como partículas blancas, lo que también indica la presencia de ZnO asociado al poliacrilato. Además, las regiones 55 y 56 mostraron resultados coherentes con esta distribución, reforzando la evidencia de una integración homogénea del óxido de zinc.

El análisis EDX mostró relaciones molares Zn/Al de 2.8, 2.9 y 3.1 para las muestras HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO, respectivamente, valores que se aproximan al nominal de 3.0. La distribución de la HT en la muestra HT/PA-ST se visualizó mediante un mapeo elemental de C, Na, Zn y Al (Figura 3.12). En este análisis, el Zn y el Al fueron atribuibles al HT, mientras que el C y el Na correspondieron al PA (Mehrani et al., 2015). La localización de Zn y Al confirmó la presencia del componente HT y la baja señal de C y Na en esas regiones fue consistente con una disposición de los cristales de LDH principalmente sobre la superficie del PA.

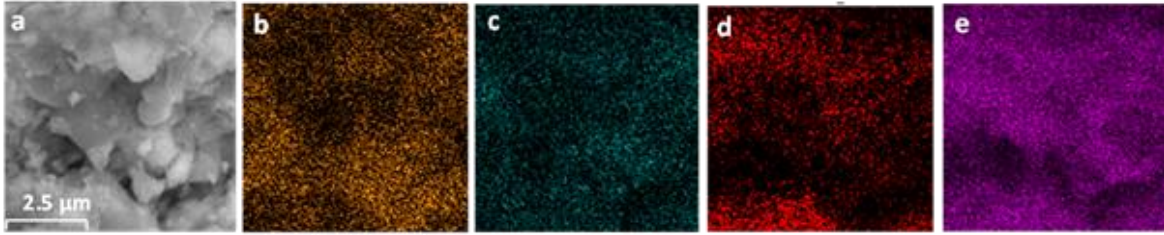


Figura 3.12. a) Micrografía elemental de una región de la muestra HT/PA-ST a un aumento de 1.000X y mapeos elementales de b) zinc, c) aluminio, d) carbono y e) sodio.

Estos resultados, junto con la modificación observada en el tamaño y la disposición de las partículas de HT dentro del PA, sugieren la posible existencia de interacciones entre ambos componentes. Al hidratarse el PA, los iones Na^+ se liberan al medio acuoso, lo que permite que los grupos metoxi del PA, ahora cargados positivamente, atraigan iones Al^{3+} y/o Zn^{2+} presentes en los bordes de las nanopartículas de HT. Esta atracción podría dar lugar a la formación de enlaces químicos, en un mecanismo similar al propuesto por Cruz-Hernández et al. 2021 para materiales híbridos de HT/melanina.

3.2.1.6. Pruebas antimicrobianas

La evaluación de la actividad antimicrobiana de las muestras se realizó mediante dos métodos: dilución en caldo y el método de Kirby-Bauer modificado, utilizando la cepa bacteriana *Corynebacterium amoniagenesis*, con el objetivo de determinar la concentración mínima inhibitoria (CMI) como se muestra en la Figura 3.13.



Figura 3.13. Placa Petri con los resultados de los halos de inhibición en las muestras a) HT, b) PA, c) HT/PA-ST, d) HT/PA-US y e) HT/PA-MO.

De todas las muestras sintetizadas, se seleccionaron para las pruebas antimicrobianas aquellas que presentaron mayor uniformidad en su caracterización estructural: HT/PA-ST-AC, HT/PA-US y HT/PA-MO. En la Tabla 8 se presentan los resultados obtenidos, expresados como diámetros de los halos de inhibición, los cuales permiten evaluar la eficacia de cada material frente a la inhibición del crecimiento bacteriano.

Tabla 8. Diámetros en (mm) de los halos de inhibición de las muestras PA, HT, HT/PA-ST, HT, HT/PA-US y HT/PA-MO frente a *Corynebacterium ammoniagenes*.

Muestras					
	PA	HT	HT/PA-ST	HT/PA-US	HT/PA-MO
Halo de inhibición (mm)	0	23	21	19	18

Las muestras HT, HT/PA-ST, HT/PA-US y HT/PA-MO mostraron actividad antimicrobiana contra la bacteria *Corynebacterium ammoniagenesis*. De las muestras híbridas, la muestra HT/PA-ST presentó el mayor halo de inhibición, con un diámetro de 21 mm. (Awassa et al. 2022) la estructura laminar de la hidrotalcita favorece interacciones electrostáticas y enlaces de Van der Waals con biomoléculas que poseen carga negativa, especialmente a pH neutro o básico. Estas interacciones permiten la adsorción bacteriana mediante mecanismos como el intercambio aniónico o la sustitución de grupos OH⁻ en la superficie de la hidrotalcita por grupos funcionales presentes en la pared celular bacteriana. Esto explicaría el mayor efecto antimicrobiano observado en la muestra HT/PA-ST, también puede atribuirse a las condiciones del método de síntesis, ya que este factor influye directamente en la distribución de los componentes activos, así como en la morfología y porosidad del material (Djebbi et al. 2016; Mishra et al. 2018).

La menor actividad antimicrobiana fue registrada por la muestra HT/PA-MO, con un halo de inhibición de 18 mm. Esta diferencia puede deberse a un menor grado de interacción entre la HT y el PA durante la síntesis por microondas, lo que podría limitar la exposición o liberación del componente activo.

La variación en la actividad antimicrobiana está relacionada con diferencias en la morfología, área superficial y distribución del agente antimicrobiano dentro del PA, así como con la interacción química entre la hidrotalcita y el poliacrilato (Sai et al., 2018). Estos factores influyen en la capacidad del material para liberar iones o compuestos activos que inhiben el crecimiento bacteriano.

De los resultados obtenidos, la muestra que presentó el mayor halo de inhibición fue la hidrotalcita pura, pero entre los materiales híbridos el que presentó mayor actividad fue el material híbrido HT/PA-ST. Por esta razón, se procedió a determinar su concentración mínima inhibitoria (CMI) mediante el método de dilución en caldo. Para ello, se prepararon cultivos en medio nutritivo Luria Bertani (LB) inoculado con la bacteria *Corynebacterium ammoniagenes*, variando la concentración del material entre 0.5, 1, 2 y 3 mg/mL.

En la Figura 3.14 se muestra el crecimiento de *C. ammoniagenes* expresado en UFC/mL para la muestra HT/PA-ST a concentraciones de 0.5, 1, 2 y 3 mg/mL, en comparación con el control positivo (bacteria sin material). A las 16 h, todas las concentraciones evaluadas redujeron el crecimiento bacteriano aproximadamente cuatro veces respecto al control positivo. A partir de ese tiempo, se observa que el efecto inhibitorio aumenta proporcionalmente con la concentración del material, como era de esperarse. Dado que la mínima concentración probada fue de 0.5 mg/mL, esta resulta ser la concentración mínima inhibitoria (CMI) del material.

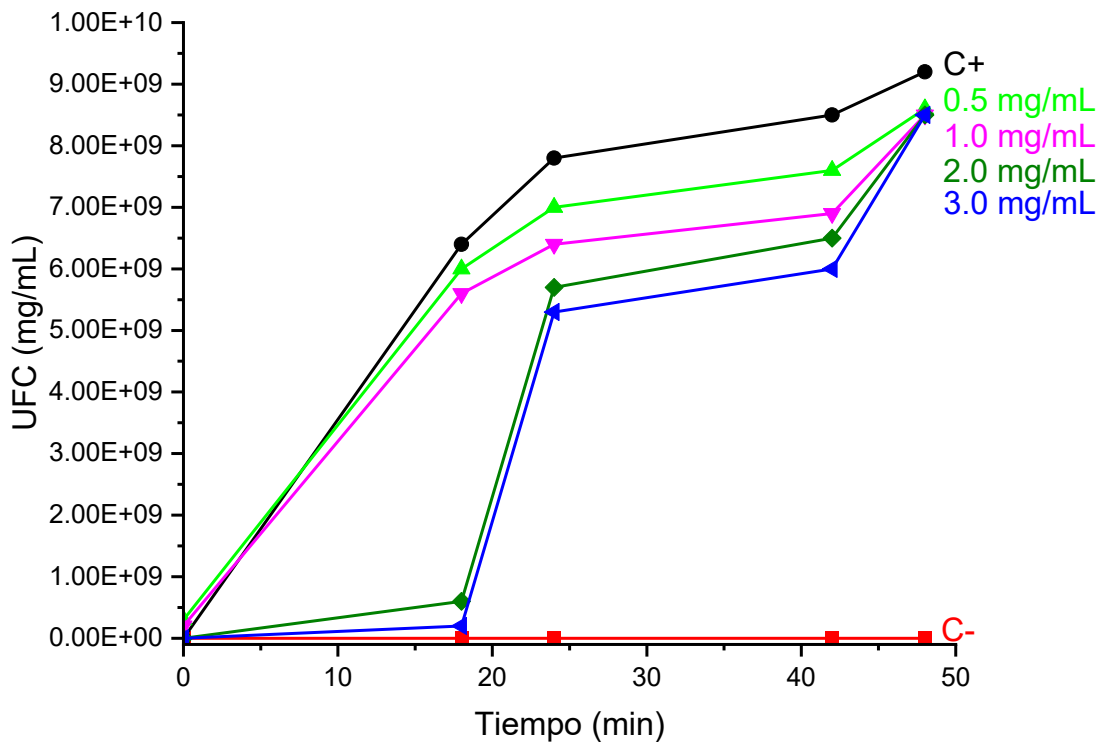


Figura 3.14. Crecimiento de *C. ammoniagenes* en función del tiempo en presencia de HT/PA-ST evaluados a concentraciones de a) 0.5 mg/mL, b) 1 mg/mL, c) 2 mg/mL y d) 3 mg/mL, junto con el control positivo (C+) y control negativo (C-).

La actividad antimicrobiana podría atribuirse a la presencia de iones Zn^{2+} , conocidos por su efecto oligodinámico, así como a la acción de los grupos hidroxilo presentes en la estructura del material. Dado que la superficie bacteriana presenta una carga neta negativa, esta interacción ocasiona alteraciones en la permeabilidad de la membrana y promueve la liberación de sustancias intracelulares (Khan et al., 2012). Asimismo, una concentración elevada de Zn puede inducir toxicidad celular, ya que este catión compite con otros iones metálicos esenciales, interfiriendo en su absorción y en los procesos metabólicos dependientes de ellos (Plum et al., 2010).

Las HT por su superficie específica y por el intercambio iónico tienen la capacidad de absorber diversos nutrientes presentes en el medio de cultivo (Li et al. 2019; Ryu et al. 2010). Esta adsorción reduce la disponibilidad de dichos nutrientes para las bacterias, lo que

puede inhibir su crecimiento. Sin embargo, los mecanismos biológicos que regulan el comportamiento y rendimiento de las células aún no se comprenden completamente.

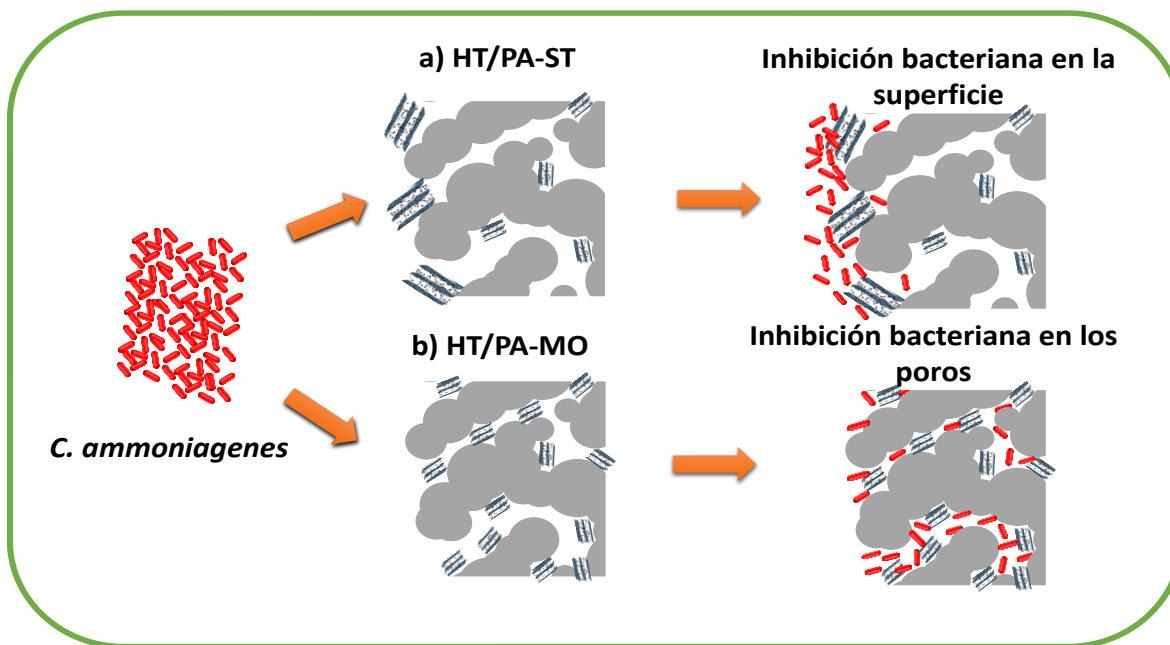
3.2.1.7. Mecanismo propuesto

Los materiales híbridos HT/PA sintetizados presentaron una notable actividad antibacteriana frente a *C. ammoniagenes*, comparable a la observada con la HT pura, a pesar de contener solo un 30 % de este componente en los materiales híbridos. Aunque todas las muestras mostraron capacidad de inhibición bacteriana, se observaron diferencias significativas entre ellas. La actividad antibacteriana aumentó en el siguiente orden: HT/PA-MO < HT/PA-US < HT/PA-ST, lo cual se atribuye a las variaciones en los métodos de síntesis, que influyen en el tamaño de las partículas de HT y en su distribución sobre el PA, afectando los mecanismos de acción antimicrobiana.

La mayor eficacia de la muestra HT/PA-ST podría explicarse por la cobertura superficial del PA con partículas de HT, lo que facilitaría el contacto directo con las bacterias. En un contexto hipotético de aplicación en productos para la incontinencia urinaria, *C. ammoniagenes* presentes en la orina entrarían en contacto inicialmente con el recubrimiento antibacteriano de HT, quedando inhibidos antes de alcanzar y ser adsorbidos por el PA, lo que contribuiría a prevenir el desarrollo de olores e infecciones (Esquema 1).

En contraste, en la muestra HT/PA-MO, la HT se encuentra predominantemente dentro de los poros del PA, lo que retrasa su interacción con las bacterias y reduce ligeramente su eficacia antimicrobiana. La muestra HT/PA-US representa un caso intermedio, con HT distribuida tanto en la superficie como en las entradas de los poros.

Finalmente, la presencia de nitrato en las muestras híbridas no representa un inconveniente para su uso en productos para incontinencia, ya que esta se disocia en iones Na^+ y NO_3^- en presencia de orina, los cuales no son tóxicos para el ser humano (Butler and Feelisch, 2008).



Esquema 1. Modelos de interacción de *C.ammoniagenes* con los híbridos HT/PA-ST y HT/PA-MO.

3.2.3 Medición de la acidez y la basicidad

Esta técnica permitió determinar la concentración de grupos hidroxilo superficiales responsables de la basicidad del material HT/PA-ST. Los valores obtenidos fueron de 3.9×10^4 sitios básicos/g para la hidrotalcita y entre 4.3 y 4.5×10^4 centros básicos/g para los materiales híbridos, lo cual confirma una alta presencia de sitios básicos en todos los sistemas analizados.

La presencia de sitios básicos en estos materiales puede influir directamente en su comportamiento frente a bacterias. Las superficies con tendencia básica pueden interactuar con los componentes ácidos de las paredes celulares bacterianas, como los fosfatos y ácidos teicoicos, favoreciendo procesos de adsorción o inmovilización bacteriana (Sirelkhatim et al., 2015). Sin embargo, en algunos casos, esta misma interacción puede generar un entorno desfavorable para ciertos microorganismos, alterando su gradiente de protones y afectando funciones esenciales como la síntesis de ATP, lo cual se traduce en un efecto antimicrobiano potencial (Hong & Brown, 2009).

Por otro lado, no se detectó la presencia de sitios ácidos en la muestra HT/PA-ST. La ausencia de sitios ácidos evita la acidificación local del entorno, lo que podría limitar el desarrollo de bacterias acidófilas, favoreciendo en cambio el uso de estos materiales en contextos donde se requiera mantener un pH estable o ligeramente alcalino.

La caracterización ácido-base de los materiales sintetizados no solo proporciona información fundamental sobre su comportamiento químico superficial, sino que también abre la posibilidad de explorar nuevas aplicaciones en el campo de la salud y al medio ambiente, específicamente en el diseño de materiales con propiedades antimicrobianas (Hu et al., 2020).

3.3. Muestras híbridas de ZnO/PA preparadas con diferentes cantidades de agua

En la Tabla 9 se reporta la clave de las muestras con las cantidades de agua utilizadas en el proceso de impregnación de óxido de zinc en el poliacrilato.

Tabla 9. Condiciones de síntesis.

Clave	Composición	Cantidad de agua
ZnO/PA-AM	ZnO/PA	150 mL
ZnO/PA-AC	ZnO/PA	300 mL

3.3.1. Caracterización

3.3.1.1. Difracción de rayos X

Los difractogramas de rayos X de las muestras PA, ZnO y los materiales híbridos (ZnO/PA-AC y ZnO/PA-AM) se muestran en la Figura 3.16. El poliacrilato de sodio (PA) no presenta ningún pico característico, lo cual confirma la estructura predominantemente amorfa de la muestra (Asimakopoulos et al. 2021). Para la muestra de ZnO, se observan picos estrechos muy intensos que aparecen a 32, 35 y 36° (2 θ) asignados a los planos (100), (002), (101) identificados con la tarjeta JCPDS 36-1451 correspondiente al ZnO (Bechambi et al. 2015).

Para los materiales híbridos, los difractogramas resultaron similares al patrón de óxido de zinc; confirmando que las muestras se sintetizaron de manera exitosa ya que en su estructura contienen óxido de zinc, mientras que los picos correspondientes al poliacrilato no se percibieron, debido a su carácter amorfo. Estos resultados indican que la incorporación de ZnO al poliacrilato de sodio no modificó su carácter amorfo, lo que confirma una integración del óxido de zinc en el poliacrilato. Con esta técnica no se observan diferencias estructurales para las muestras híbridas.

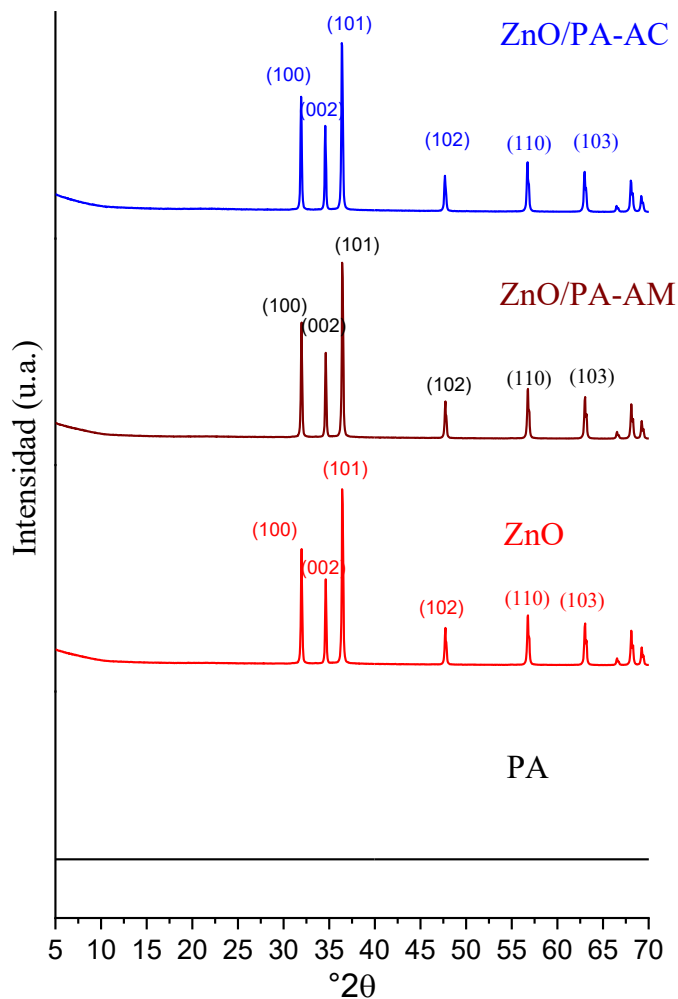


Figura 3.16. Patrones de difracción de rayos X del óxido de zinc (ZnO), del poliacrilato (PA) y de las muestras híbridas ZnO/PA (ZnO/PA-AC y ZnO/PA-AM).

3.3.1.2. Espectroscopía infrarroja por transformada de Fourier (FTIR)

En la Figura 3.17 se observan los espectros FTIR de las muestras ZnO, PA y de los materiales híbridos (ZnO/PA-AC y ZnO/PA-AM). El espectro del poliacrilato de sodio presenta una banda a 1719 y a 1564 cm^{-1} correspondiente a la vibración del enlace asimétrico y simétrico del enlace de carbonilo, respectivamente. Las bandas visualizadas a 3453 y 800

cm^{-1} se atribuyen a las vibraciones de estiramiento de los grupos hidroxilos del agua absorbida por el poliacrilato.

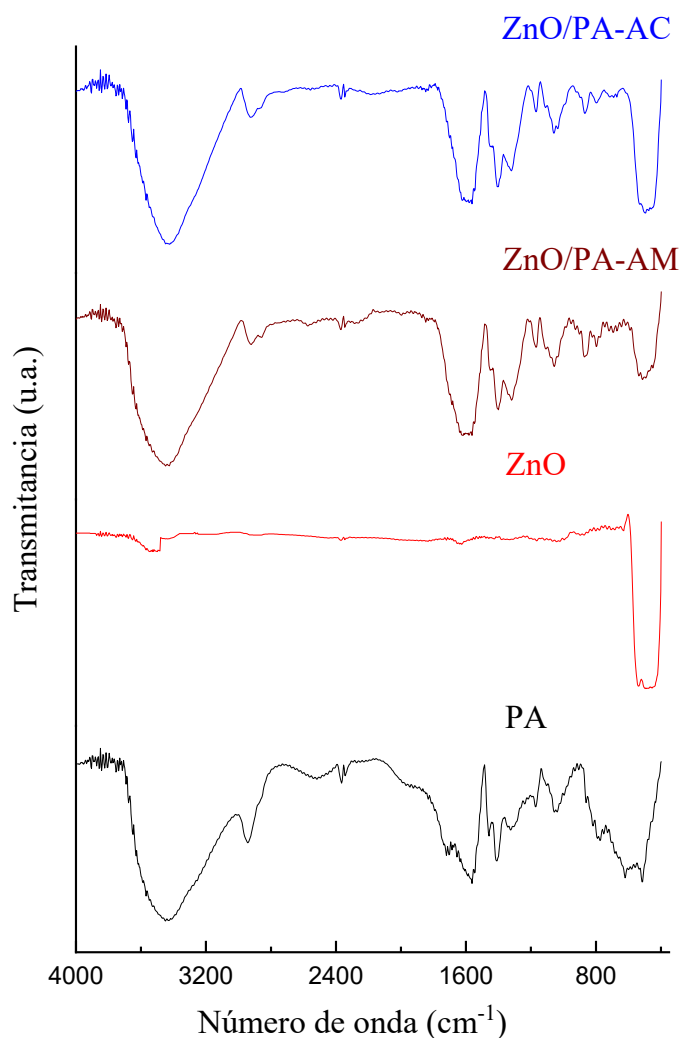


Figura 3.17. Espectros de infrarrojo del óxido de zinc (ZnO), del poliacrilato (PA) y muestras híbridas de ZnO/PA (ZnO/PA-AC y ZnO/PA-AM).

Las bandas a 2939 cm^{-1} corresponden a las vibraciones del enlace carbono-hidrógeno (Lei et al. 2013) y las bandas a 766 cm^{-1} se atribuyen a las vibraciones de flexión del mismo enlace, mientras que para el enlace CH_2 las bandas presentes se encuentran en 1410 y 1311 cm^{-1} . La banda que se observa en 1045 cm^{-1} corresponde al enlace de flexión de O-Na (Khanlari and Dubé 2015) característico del poliacrilato.

El espectro de ZnO muestra una banda intensa a 490 cm^{-1} correspondiente al enlace Zn-O y una pequeña banda a 3500 cm^{-1} atribuida a grupos OH del agua adsorbida (Becheri et al. 2008). Para las muestras híbridas (ZnO/PA-AC y ZnO/PA-AM), los espectros FTIR muestran las bandas características similares a los compuestos PA y ZnO, con la diferencia de que la intensidad presente en la banda de 490 cm^{-1} se debe a la cantidad de óxido de zinc presente en las muestras.

3.1.1.3. Fisisorción de nitrógeno

Las isothermas de adsorción-desorción de nitrógeno y distribución de tamaño de poro de las muestras se observan en la Figura 3.18. La isoterma de adsorción-desorción de nitrógeno de la muestra de ZnO resultó del tipo IV característico de un sólido denso no poroso con ciclo de histéresis H3 (Bechambi et al. 2015). Por el contrario, la isoterma del PA mostró la ausencia de adsorción de nitrógeno, lo que confirma su estructura macroporosa del poliacrilato.

Las isothermas del ZnO/PA AC y del ZnO/PA-AM eran similares, pero distintas de las del ZnO y del PA, ya que aparecieron bucles significativos de adsorción-desorción, lo que indica la formación de mesoporosidad. Las curvas de distribución del tamaño de los poros reflejan esta mesoporosidad. Como era de esperar, el PA no muestra picos correspondientes a poros con diámetros en los rangos microporoso o mesoporoso. En el caso del ZnO, aparecen dos picos en los diámetros de poro de 34 y 80 Å, que se atribuyen a la porosidad formada entre las partículas [25].

La muestra ZnO/PA-AM presentó una isoterma similar a la del PA, lo que indica que la incorporación del ZnO no modificó significativamente la estructura porosa del material. Esto puede atribuirse a que dicha muestra fue sintetizada utilizando una menor cantidad de agua, lo que provocó una difusión limitada de las partículas de ZnO hacia el interior de los poros del PA. Como consecuencia, la interacción entre el ZnO y el poliacrilato fue mínima, por lo cual la estructura del PA no sufrió alteración. La muestra ZnO/PA-AC, sintetizada con mayor contenido de agua, presentó una isoterma más parecida a la del ZnO puro, lo cual sugiere una mayor interacción de las partículas de ZnO en la estructura del PA. Estos resultados evidencian que la cantidad de agua empleada durante la síntesis influye de manera

significativa en la distribución y efectividad de incorporación del ZnO en el poliacrilato de sodio.

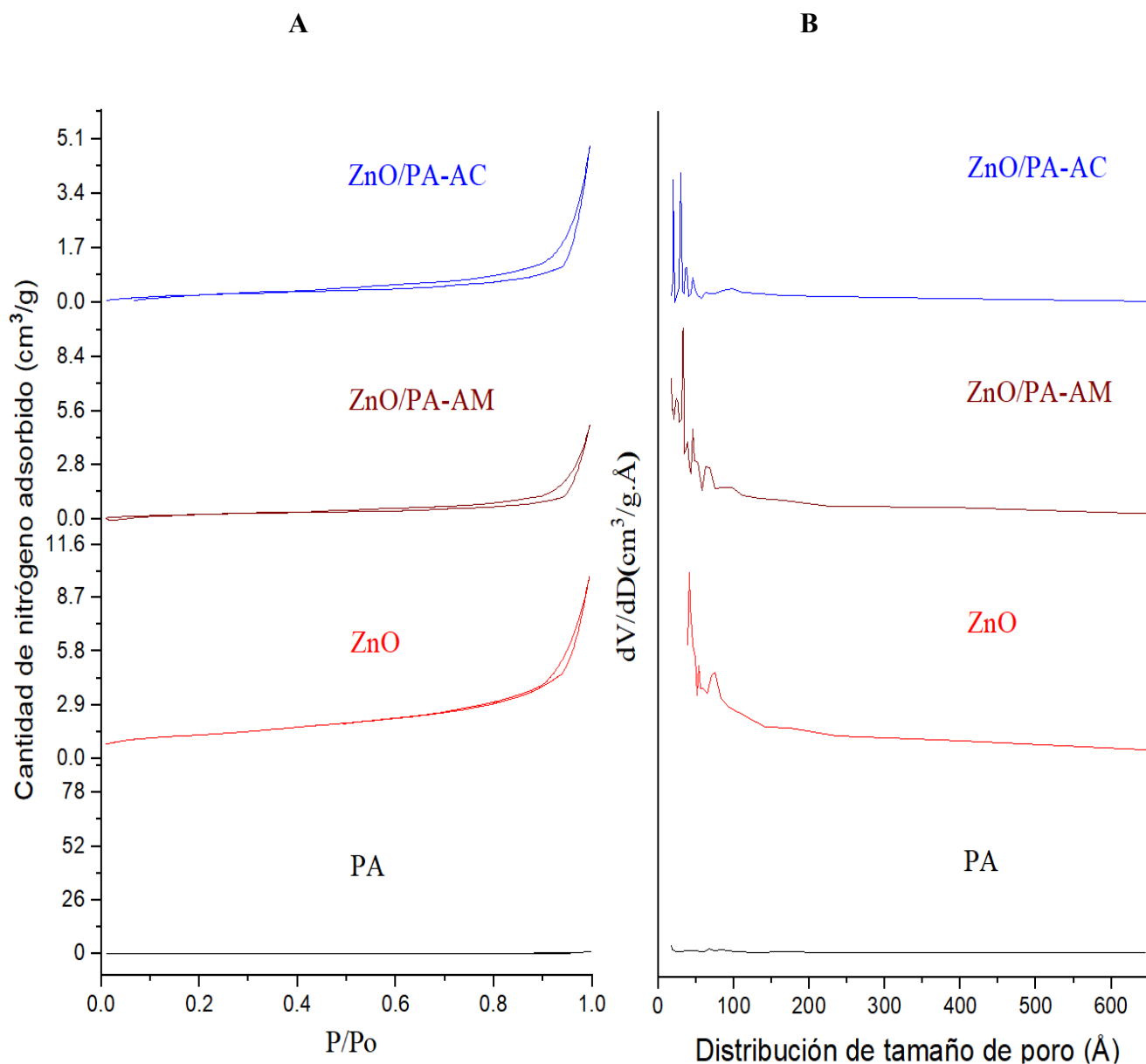


Figura 3.18. A) Isothermas de adsorción y B) Curvas de distribución de diámetro de poro de las muestras ZnO, PA, ZnO/PA-AC y ZnO/PA-AM.

La muestra de ZnO puro mostró una mayor capacidad de adsorción de nitrógeno en comparación con las muestras compuestas de ZnO y poliacrilato de sodio. Se observó que la muestra preparada con mayor cantidad de agua presentó una adsorción de nitrógeno reducida.

Esto sugiere que el contenido de agua influye significativamente en la dispersión del ZnO dentro de la matriz polimérica, generando un bloqueo parcial de los poros. Por el contrario, las muestras con menor contenido de agua durante la síntesis permitieron una mejor dispersión del ZnO, resultando en una mayor accesibilidad porosa y, por ende, mayor adsorción de nitrógeno.

Por el contrario, las isotermas de los materiales ZnO/PA-AC pueden explicarse por una mejor difusión de las partículas de ZnO dentro de los poros de PA facilitada por una mayor cantidad de agua. Estos hallazgos se pueden correlacionar directamente con las áreas superficiales específicas de los materiales. El PA y ZnO/PA-AM presentaron las áreas más bajas de 0.1 y 0.8 m²/g, mientras que las muestras de ZnO/PA-AC y ZnO tuvieron 2.5 y 4.4 m²/g. Sabiendo que la estructura amorfa del PA puede adsorber una gran cantidad de agua u otros solventes, su porosidad está formada principalmente por macroporos que no pueden evaluarse mediante la técnica mencionada. Los resultados aquí expuestos sirvieron para sustentar el hecho de que ambos híbridos no solo tienen estructuras diferentes, sino también texturas diferentes (Figura 3.18A). En la distribución de tamaño de poro, el poliacrilato de sodio y el óxido de zinc mostraron dos máximos: uno centrado a 50 Å y otro delgado a 70 Å, mientras que las muestras híbridas presentaron solo un máximo centrado a 50 Å, en el rango de 20 a 100 Å. Esto indica que los materiales híbridos tienen el mismo tamaño de poro que el óxido de zinc (Figura 3.18 B). Las áreas superficiales más reducidas de los compuestos en comparación con el ZnO puro pueden atribuirse a la interacción entre las partículas de ZnO y el soporte de PA. Cuando las partículas de ZnO se adhieren a la superficie del PA, ya sea en los poros o en la superficie exterior, las áreas de las partículas de ZnO que entran en contacto con el PA ya no están disponibles para adsorber moléculas de nitrógeno, lo que da lugar a una disminución del área superficial específica.

3.3.1.4. Microscopía electrónica de barrido

Las micrografías de los híbridos se muestran en la Figura 3.19. Para el híbrido a base de zinc se observa una distribución homogénea entre partículas de poliacrilato. Para la muestra ZnO/PA-AC el ZnO se puede identificar por pequeñas partículas blancas que se encuentran heterogéneamente dispersadas sobre el poliacrilato de sodio, el cual se identifica por grandes bloques con superficie lisa con un color más oscuro. La micrografía puede

representar que algunas partículas de poliacrilato están completamente cubiertas de ZnO. Con los aumentos (20000 y 50000X) de la Figura 3.21, el ZnO revela su estructura cristalina, compuesta principalmente por varillas hexagonales (Yang et al., 2021), las cuales se interponen en la estructura del poliacrilato, mientras que otras se encuentran en el interior. Para la muestra ZnO/PA-AM la micrografía nos muestra que el ZnO se integró de forma diferente en el PA, ya que el ZnO cubre todas las superficies de los bloques del PA como se muestra en la Figura 3.4b1 con un aumento de 1000X. En la Figura 3.19a2 se observan aumentos más grandes (20000 y 50000X), donde se puede observar que las partículas de ZnO se aglomeran en un modo más denso sobre las superficies de PA, formando gruesas capas de partículas, dejando solo algunos espacios entre ellas en forma de grietas o cuevas. En este caso, no se puede apreciar la interacción de los componentes, pero se puede inferir que la interacción entre los componentes es pobre, porque gran parte del ZnO permanece en la superficie de PA.

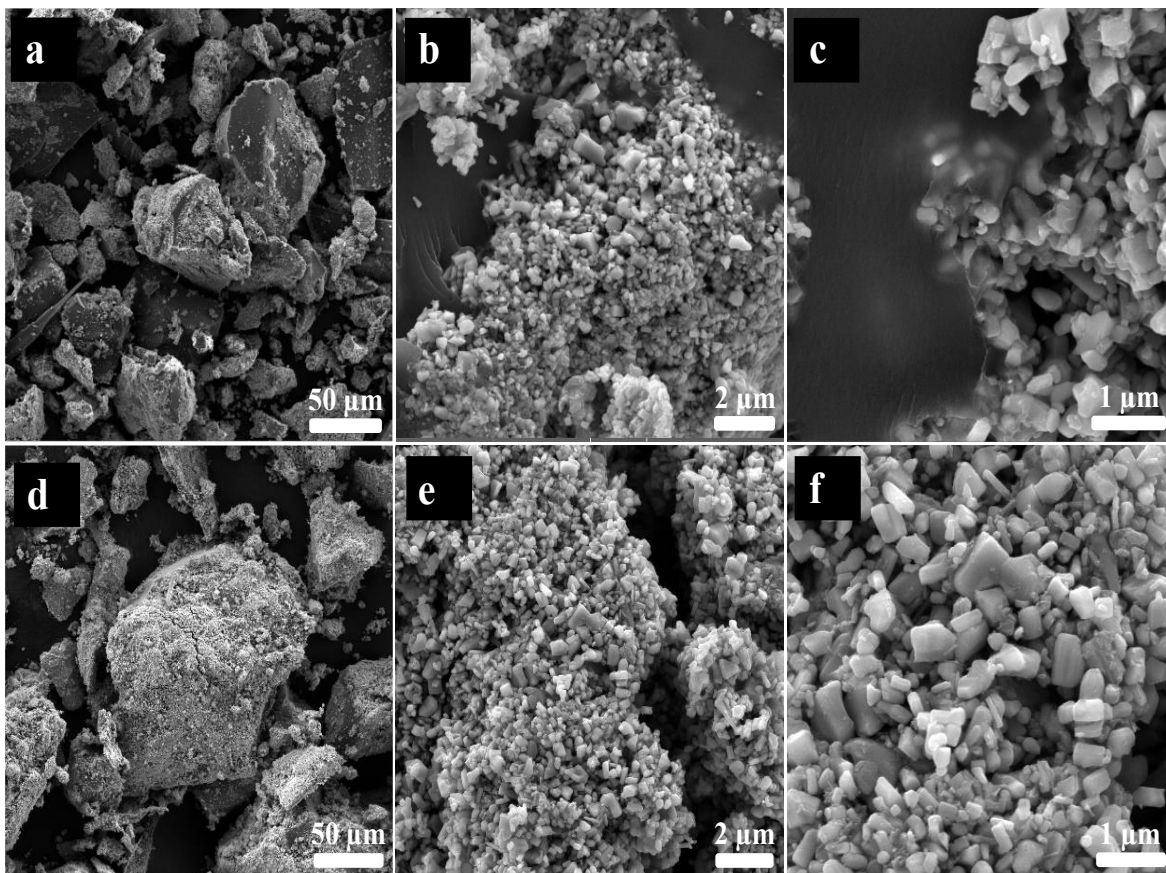


Figura 3.19. Micrografías de la muestra (a) ZnO/PA-AC: (a1)1000X, (a2) 20000X y (a3). 50000X, b) Micrografías de la muestra ZnO/PA-AM: (b1)1000X, (b2) 20000X y 50000X (b3).

3.3.1.5. Análisis de energía dispersiva de rayos X

Las composiciones químicas elementales semicuantitativas de Zn, O y C se muestran en la Tabla 10. Composiciones elementales semicuantitativas superficiales (en peso%) de los materiales híbridos ZnO/PA-AM y ZnO/PA-AC obtenidos por la técnica de análisis de energía dispersiva de rayos X en regiones puntuales seleccionadas que se muestran en la Figura 3.20.

Tabla 10. Composiciones elementales de los materiales híbridos

Muestra	Composición elemental % masa		
	Zn	O	C
ZnO/PA-AC	81	31	40
ZnO/PA-AM	84	24	24

Para la muestra de ZnO/AP-AC las composiciones obtenidas de las regiones puntuales a y b (Figura 3.20), son ricas en Zn y O, confirmando que las partículas blancas son ZnO y se encuentran dispersas sobre la superficie orgánica del PA. En contraste, las regiones c y d mostraron composiciones con mayor proporción de C, asociadas principalmente al poliacrilato. De manera similar, en la muestra ZnO/PA-AM se observó que la región puntual e, ubicada en una zona elevada del relieve superficial, presentó la concentración más alta de Zn, lo que sugiere una deposición preferencial de ZnO en dichas áreas. Estos resultados indican que, en la muestra ZnO/PA-AM, el ZnO cubre el componente PA en mayor cantidad en comparación con el material ZnO/PA-AC, donde existen capas más delgadas de ZnO.

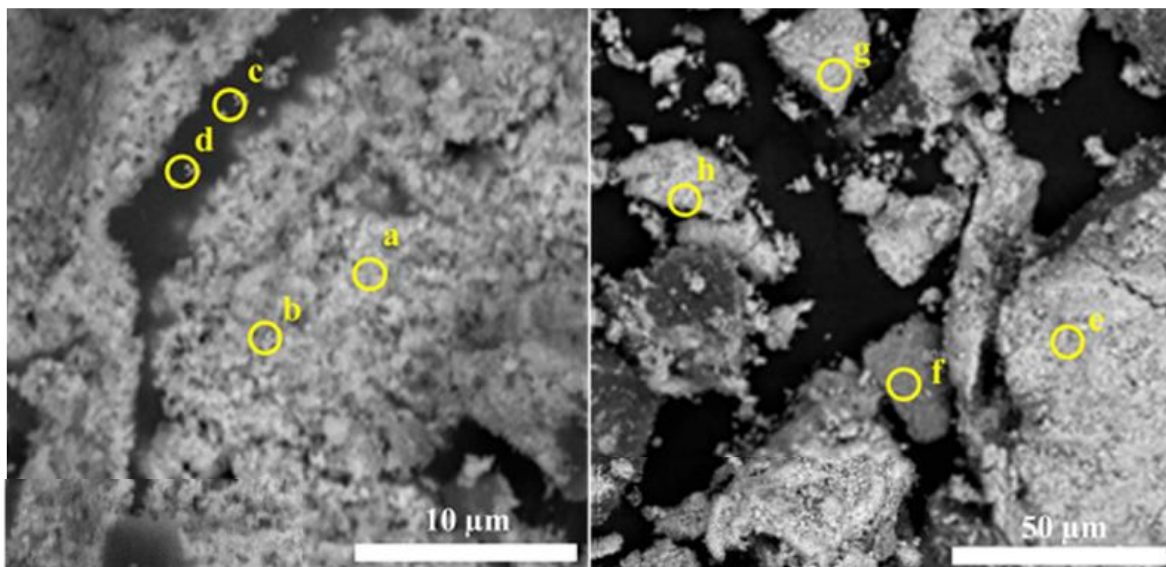


Figura 3.20. Micrografías de regiones puntuales seleccionadas para determinar las composiciones elementales semicuantitativas de las muestras (a) ZnO/PA-AC y (b) ZnO/PA-AM.

3.3.1.6 Pruebas antimicrobianas

3.3.1.6.1. Determinación de la concentración mínima inhibitoria del óxido de zinc

Antes de evaluar la actividad antimicrobiana de los híbridos frente a *Corynebacterium ammoniagenes*, se verificó la eficacia del óxido de zinc (ZnO) contra esta bacteria. Para la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) se llevó a cabo por el método de dilución en caldo en donde se varió la concentración de ZnO en caldo nutritivo Luria Bertani (LB) a 37°C en condiciones aerobias, durante 24 a 48 horas, con la bacteria *C. ammoniagenes* de 8 a 25 mg/mL. Los resultados se compararon en el compuesto de referencia conformado por *C. ammoniagenes*.

La Figura 3.21 presenta las curvas cinéticas de crecimiento bacteriano de *C. ammoniagenes* en presencia de ZnO a diferentes concentraciones: a) 8, b)10, c)12 y d) 25 mg/mL y como control positivo la cepa *C. ammoniagenes*. Las curvas de crecimiento bacteriano se llevaron a cabo midiendo la densidad óptica (DO) de los cultivos frente al tiempo.

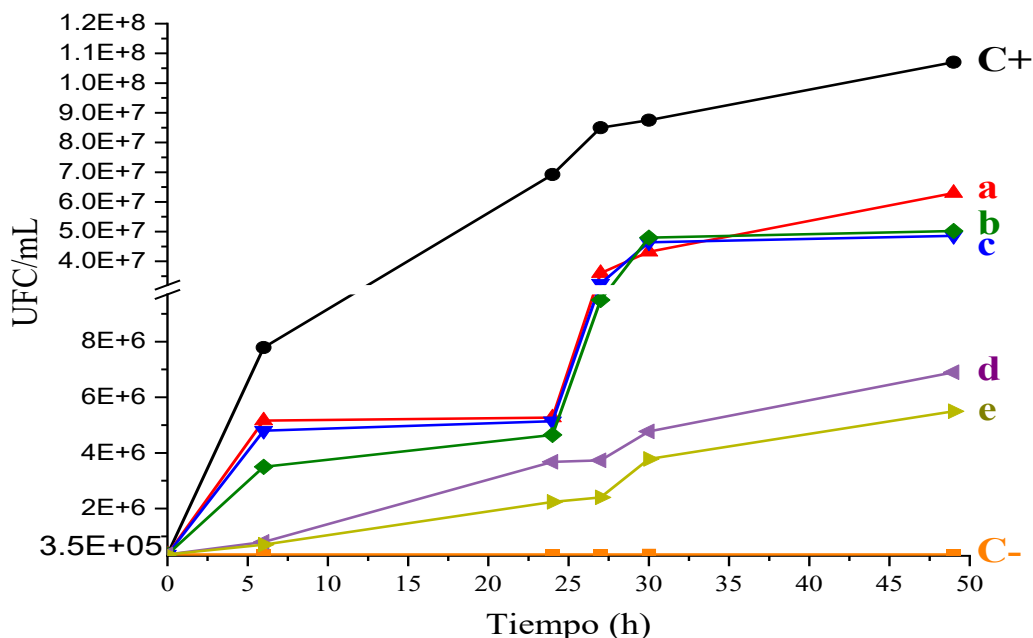


Figura 3.21. Crecimiento de *C. ammoniagenes* en función del tiempo en presencia de ZnO a diferentes concentraciones: (a) 8, (b) 10, (c) 12, (d) 25y (e) 50 mg/mL, en comparación con el control negativo (C-) y el control positivo (C+).

El comportamiento de la muestra de ZnO a diferentes concentraciones es exponencial, presenta una fase estacionaria hasta 30 h. Esto se debe a que el ZnO promueve muy levemente el crecimiento de la bacteria. Respecto de la bacteria, se observa que el crecimiento comienza a partir de las 3 horas y conforme aumenta el tiempo el crecimiento bacteriano se encuentra en la fase estacionaria, después de 30 horas el comportamiento bacteriano empieza con la muerte celular, esto se debe a que hay células muertas, lo que hace que la densidad óptica vaya en aumento. Estos resultados muestran que el aumento en la cantidad de ZnO a un mínimo de 10 mg/mL todavía era insuficiente para inhibir el crecimiento de la bacteria a un tiempo de 24 horas, por lo cual la concentración mínima inhibitoria fue la concentración de 12 mg/mL. Después de este periodo de tiempo la bacteria tiene crecimiento (fase estacionaria) por lo cual el material ya no las retiene. El aumento en la cantidad de ZnO a 25 mg/mL no resultó beneficioso, ya que la inhibición bacteriana solo ocurre en un período de 24 h. Después de este período la bacteria al parecer se adapta a las condiciones y continúa con crecimiento exponencial, aunque el crecimiento resultó más lento. La inhibición de todas

las concentraciones de ZnO confirma la actividad antimicrobiana del ZnO frente a esta bacteria.

La concentración mínima inhibitoria (CMI) se determinó como la concentración más baja de ZnO en la que no se observó crecimiento bacteriano, siendo esta de 0.16 mg/mL. Tal como se esperaba. Tras 48 horas de exposición, se requirieron concentraciones más elevadas de ZnO (0.50 y 1.00 mg/mL) para lograr una inhibición completa del crecimiento de *Corynebacterium ammoniagenes*, estableciéndose así una CMI de 0.50 mg/mL a las 48 horas.

Estos resultados sugieren que una concentración de 0.16 mg/mL es eficaz para inhibir el crecimiento bacteriano hasta por 24 horas, siendo adecuada para productos de uso urinario de corta duración. No obstante, para productos diseñados para un uso prolongado de hasta 48 horas, se requiere una concentración mínima de 0.50 mg/mL.

3.3.1.6.2. Determinación de la concentración mínima inhibitoria de los materiales híbridos (ZnO/PA-AM y ZnO/PA-AC)

Las muestras híbridas ZnO/PA-AC y ZnO/PA-AM conformadas por 30% de ZnO y 70% de poliacrilato, mostraron actividad antimicrobiana. En la Figura 3.22 se observan las curvas de crecimiento bacteriano, las cuales se realizaron midiendo la densidad óptica (DO) de los cultivos frente al tiempo. Se emplearon 83 mg/mL del material híbrido (ZnO/PA-AM y ZnO/PA-AC), esta concentración correspondió a 25 mg/mL de ZnO. Se observa que la curva de crecimiento de la bacteria con el material híbrido presentó comportamiento de crecimiento exponencial como la cepa bacteriana *C. ammoniagenesis* (control positivo), con la diferencia de que el crecimiento fue menor. Esto se observa en la densidad óptica ya que esta fue menor, el material solo inmovilizó a la bacteria en donde el desarrollo de crecimiento fue menor, por lo cual su comportamiento fue de manera exponencial.

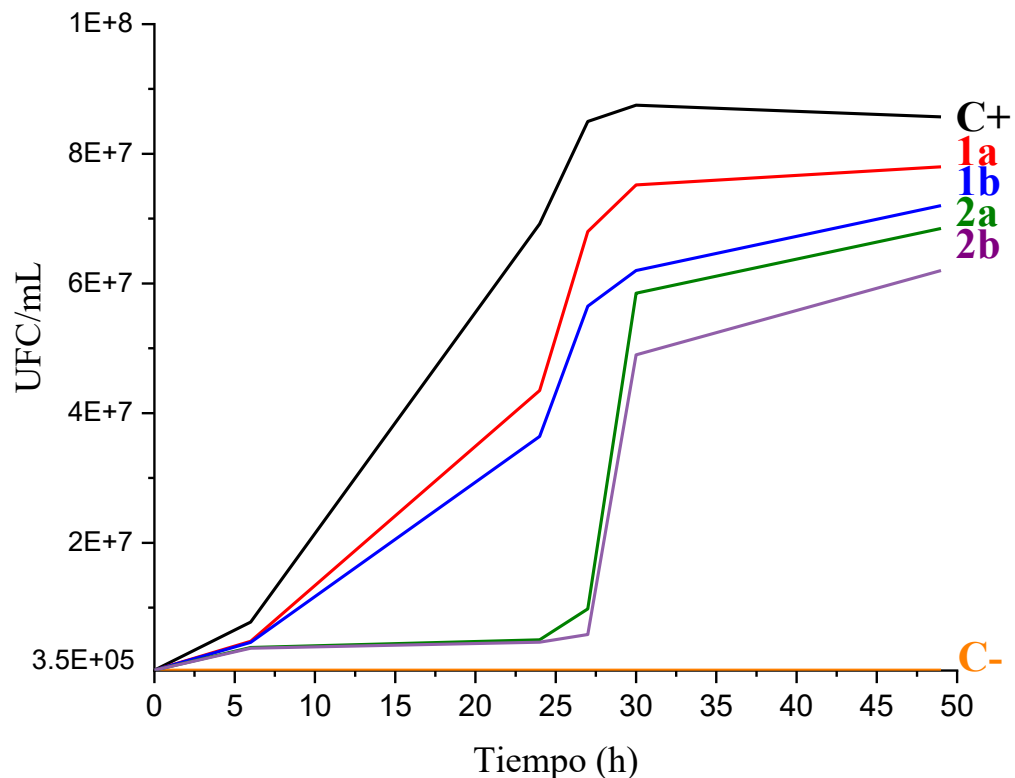


Figura 3.22. Crecimiento de *C. ammoniagenes* en función del tiempo en presencia de las muestras (1) ZnO/PA-AM y (2) ZnO/PA-AC, evaluadas a concentraciones de (a) 1.66 mg/mL y (b) 3.22 mg/mL, junto con el control positivo (C+) y control negativo (C-).

También se llevó a cabo el estudio del material ZnO/PA-AM a una concentración de 166 mg/mL del material híbrido correspondiente a 50 mg/mL de ZnO para conocer si esta concentración es la CMI. En la Figura 3.22 se observa la curva de crecimiento del material híbrido con la bacteria, el cual presentó un comportamiento exponencial con la diferencia que la inhibición se prolongó hasta un tiempo de 24 horas en comparación con el control positivo, esto se debe a que la cantidad de óxido de zinc ayudo a liberar el ion Zn, el cual interactúa con la bacteria pudiendo inhibir su crecimiento, por lo cual se observa que a una concentración mayor de óxido de zinc (100 mg/mL) es la concentración mínima inhibitoria.

La concentración mínima inhibitoria del óxido de zinc fue 12 mg/mL, mientras que con los materiales híbridos la CMI es mayor a 50 mg/mL, esto se debe a la forma de impregnación

del óxido de zinc en el poliacrilato ya que en uno se encuentra en la superficie del poliacrilato y en el otro entre, pudiendo liberarse mejor el que se encuentra en la superficie, ayudando a inhibir el crecimiento de la bacteria *C. ammoniagenesis*.

A las 24 horas, las curvas de crecimiento de *Corynebacterium ammoniagenes* en presencia del compuesto ZnO/PA-AM, a ambas concentraciones evaluadas (1,66 y 3,22 mg/mL), mostraron un comportamiento similar al del control. No obstante, se evidenció una reducción significativa en el número de colonias bacterianas, alcanzando aproximadamente 4.0×10^7 UFC/mL, lo que representa una disminución del 50 % en el crecimiento bacteriano.

Mientras que el compuesto ZnO/PA-AC mostró una eficacia significativamente mayor, logrando una inhibición completa del crecimiento bacteriano a las 24 horas para ambas concentraciones estudiadas (1.66 y 3.22 mg/mL), estableciendo así una CMI de 1.66 mg/mL.

Entre las 24 y 48 horas de incubación se observó un incremento significativo en el crecimiento bacteriano, alcanzando aproximadamente 5.0×10^7 UFC/mL en ambos compuestos y en las dos concentraciones evaluadas. Con base en estos resultados, se determinó una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 1.66 mg/mL para el compuesto ZnO/PA-AC a las 48 horas, la cual evidenció una reducción cercana al 33 % en el crecimiento bacteriano en comparación con el control.

Aunque ambos compuestos ZnO/PA-AC y ZnO/PA-AM presentan la misma composición química, es decir, la misma cantidad de ZnO incorporada en el PA, el método de impregnación del ZnO en el PA difiere de manera significativa. Esta variación en el procedimiento dio lugar a materiales con estructuras, morfologías y texturas claramente diferenciadas.

En el híbrido ZnO/PA-AC, la mayor parte de las partículas de ZnO se localizaron en el interior de los poros del PA, lo que sugiere una distribución más homogénea del ZnO. En contraste, en el híbrido ZnO/PA-AM, las partículas de ZnO se depositaron sobre la superficie externa del PA, evidenciando una menor penetración en la estructura porosa del polímero.

La única diferencia entre ambos métodos de síntesis fue el volumen de agua empleado durante la dispersión del PA. En el caso del ZnO/PA-AC, se utilizó un volumen de agua suficiente para saturar completamente la porosidad del polímero, lo que favoreció la difusión del ZnO hacia el interior de los poros. Por el contrario, en la síntesis del ZnO/PA-AM se

empleó solo la mitad del volumen de agua necesario, lo que limitó la difusión del ZnO y promovió su aglomeración en la superficie externa del PA.

La diferencia en la distribución del ZnO dentro del PA fue determinante para los distintos niveles de actividad antibacteriana observados frente a *Corynebacterium ammoniagenes*. Tanto la solubilidad como la eficacia bactericida del ZnO dependieron directamente del grado de impregnación del óxido dentro de la matriz polimérica.

El PA presenta un carácter ligeramente básico (Wu et al 2021), lo que favoreció una mayor disolución del ZnO en el compuesto ZnO/PA-AC, facilitando así una mayor disponibilidad del agente activo. Este comportamiento se reflejó en la elevada eficacia antimicrobiana de dicho compuesto, que logró una inhibición bacteriana completa tras 24 horas de exposición, con una CMI de 1.66 mg/mL.

El PA, por sí solo, no presentó actividad antimicrobiana frente a *C. ammoniagenes*, por lo que toda la actividad observada en los compuestos ZnO/PA debe atribuirse exclusivamente a la acción del ZnO. Este hallazgo es consistente con estudios previos (Raskova et al.,2016), en los cuales se ha reportado la inercia antimicrobiana del poliacrilato al ser evaluado frente a diversas bacterias y hongos. El ZnO es reconocido por su capacidad de oxidar moléculas de agua o aniones hidroxilos para generar especies reactivas de oxígeno (ROS), tales como radicales hidroxilos, hidroperóxido y aniones superóxido. Estos ROS desempeñan un papel fundamental en su actividad antimicrobiana (Sun et al. 2023).

El mecanismo antimicrobiano de las partículas de ZnO se basa en su adsorción sobre la superficie de las bacterias, donde forman diversos intermediarios y establecen interacciones electrostáticas con las membranas celulares. Estas interacciones inducen estrés oxidativo mediante la generación de ROS, lo que inhibe la síntesis de proteínas y la replicación del ADN, desestabiliza la carga de la membrana citoplasmática y provoca su ruptura (Mendes et al. 2022). Además, la disolución del ZnO libera iones Zn^{2+} , los cuales contribuyen a dañar aún más la membrana citoplasmática (Cardoso et al., 2022). Este mecanismo es especialmente eficaz en el caso de partículas de ZnO de pequeño tamaño, debido a su mayor capacidad de interacción electrostática con las células bacterianas.

3.3.2. Mecanismo propuesto

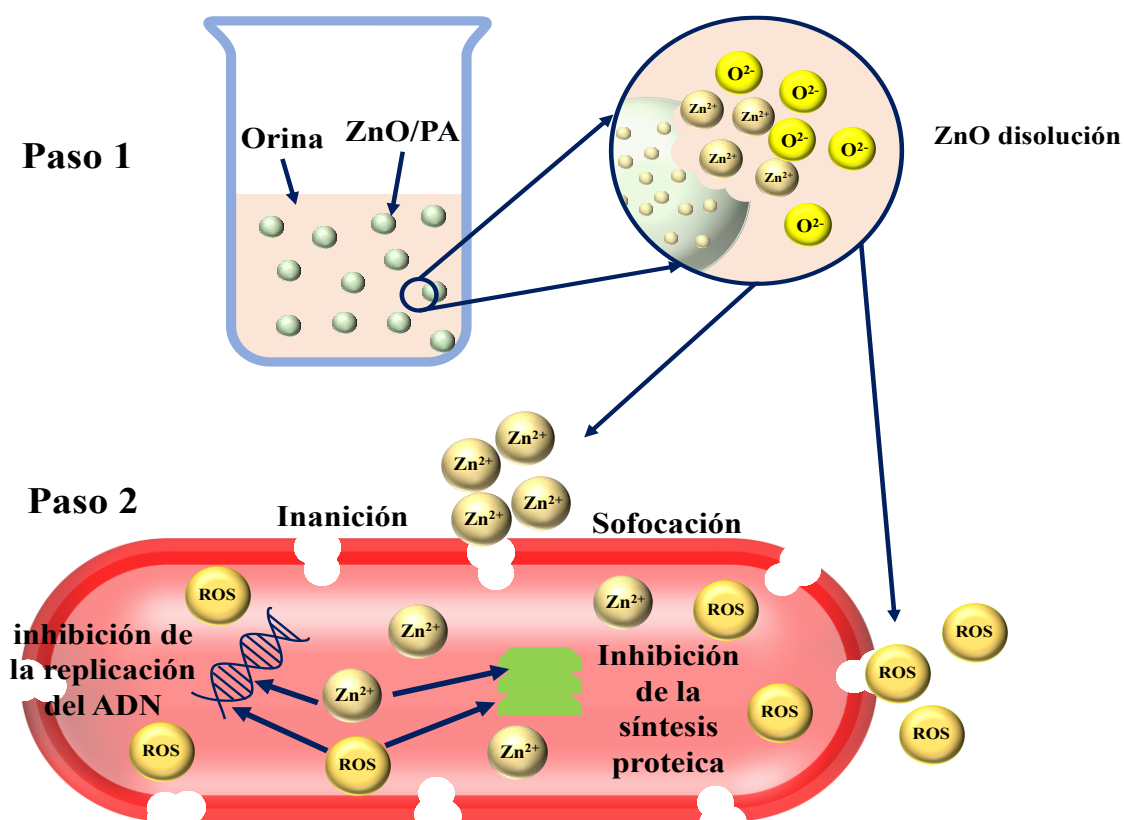
El ZnO es ampliamente reconocido por su naturaleza oxidante, capaz de oxidar moléculas de agua o aniones hidróxido para generar especies reactivas de oxígeno (ROS), tales como radicales hidroxilos, hidropéroxido y aniones superóxido, todos ellos fundamentales en su acción bactericida (Sun et al., 2023). El mecanismo antibacteriano de las nanopartículas de ZnO implica su adsorción sobre la superficie bacteriana, donde establecen diversos intermediarios e interacciones electrostáticas con las membranas celulares. Estas interacciones desencadenan un estrés oxidativo a través de la generación de ROS, lo que inhibe la síntesis de proteínas y la replicación del ADN, altera el equilibrio de cargas en la membrana citoplasmática y, en consecuencia, conduce a su ruptura (Mendes et al., 2022). De forma adicional, la disolución parcial de las nanopartículas de ZnO libera iones Zn^{2+} , que contribuyen al daño de la membrana citoplasmática (Cardoso et al., 2022).

No obstante, en este trabajo, las partículas de ZnO obtenidas fueron de mayor tamaño que las nanopartículas de Zn dentro del PA, lo que sugiere un mecanismo de acción antibacteriana distinto. Este comportamiento podría atribuirse a interacciones electrostáticas más débiles entre las membranas celulares bacterianas y las partículas de ZnO dentro del PA. Por tanto, se propone un mecanismo de acción en dos etapas para la actividad antimicrobiana de los híbridos ZnO/PA.

El primer paso del mecanismo consiste en la disolución del ZnO en medios acuosos. Aunque el ZnO presenta una solubilidad limitada en agua pura, esta se incrementa de manera significativa en condiciones ligeramente ácidas, como las de la orina humana, cuyo pH varía entre 5.5 y 6.0 (Martín-Gutiérrez et al., 2016). El contacto con la orina favorece la disolución del ZnO como su impregnación en el PA, lo que conduce a la liberación de iones Zn^{2+} y especies oxigenadas como O_2 . Los iones Zn^{2+} , conocidos por su efecto oligodinámico, ejercen una notable actividad antimicrobiana al interferir con diversas funciones celulares de los microorganismos (Da Silva et al. 2019). Paralelamente, las especies oxigenadas liberadas reaccionan con el agua presente en el medio, generando especies reactivas de oxígeno (ROS), las cuales contribuyen al daño oxidativo en las células bacterianas.

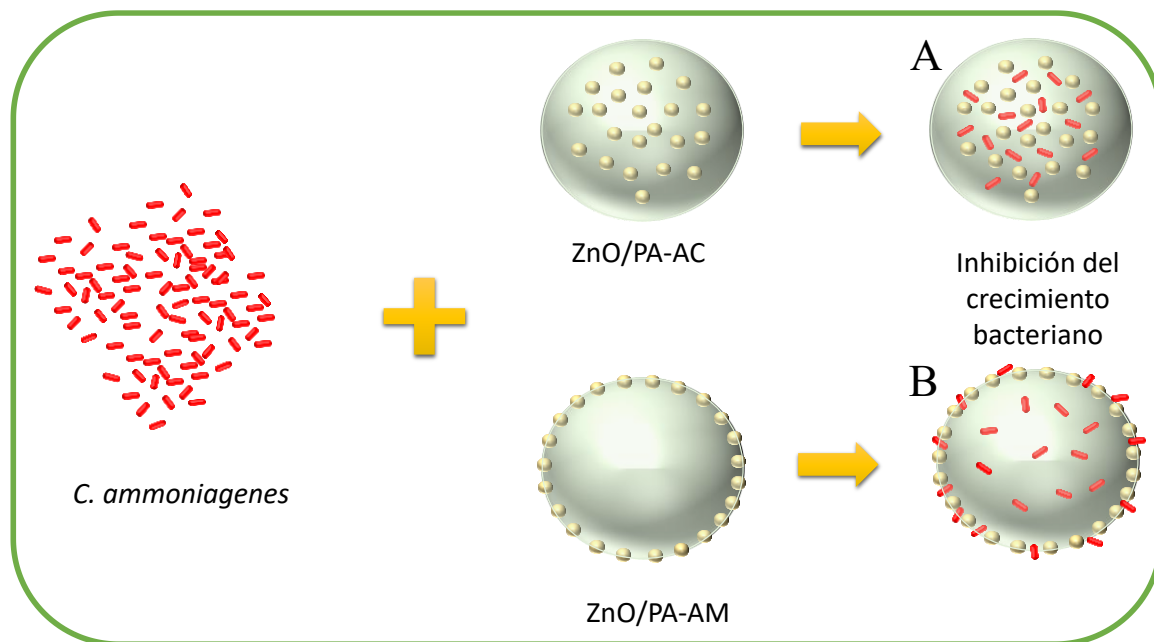
El segundo paso del mecanismo implica la interacción de los iones Zn^{2+} y de las especies reactivas de oxígeno (ROS) con la estructura bacteriana. Estas especies inducen un

intenso estrés oxidativo en el interior de la célula, interfiriendo en procesos biológicos esenciales como la síntesis de proteínas y la replicación del ADN (Agarwal et al., 2018). Adicionalmente, los iones Zn^{2+} bloquean los canales presentes en la membrana bacteriana, interrumpiendo el transporte de nutrientes y gases, lo que finalmente puede conducir a la muerte celular por inanición o asfixia (Rosenberg et al. 2020). El mecanismo de interacción propuesto entre los híbridos ZnO/PA y la bacteria *Corynebacterium ammoniagenes* se representa en el Esquema 1.



Esquema 1. Esquema del mecanismo de acción propuesto para la inhibición de *C. amoníagenes* de los compuestos ZnO/PA.

La mayor eficacia observada en el híbrido ZnO/PA-AC puede atribuirse a un contacto más eficiente entre las bacterias y las partículas de ZnO. Una explicación hipotética sugiere que esta mejora se relaciona con diferencias en la distribución y ubicación de las partículas de ZnO dentro del PA. En el contexto de su potencial aplicación en productos para la incontinencia urinaria, es posible proponer mecanismos específicos de interacción entre el material y las bacterias, los cuales se ilustran en el Esquema 2.



Esquema 2. Propuesta de mecanismo de acción de los híbridos ZnO/PA-AC y ZnO/PA-AM frente a *C.ammoniagenes* en condiciones simuladas de incontinencia urinaria.

En el híbrido ZnO/PA-AC, las bacterias *Corynebacterium ammoniagenes* presentes en la orina humana pueden difundirse a través de los poros del PA, lo que les permite alcanzar las partículas de ZnO en el interior del PA. Esta configuración favorece un contacto prolongado entre el ZnO y los microorganismos, proporcionando el tiempo necesario para la disolución del ZnO y la liberación efectiva de iones Zn^{2+} , responsables de la actividad antimicrobiana (Esquema 2 A).

Esta disolución acelerada conduce a una liberación más rápida de iones Zn^{2+} y especies reactivas de oxígeno (O_2), lo que incrementa significativamente la actividad antimicrobiana. (B) En el híbrido ZnO/PA-AM, la mayoría de las partículas de ZnO se encuentran en la superficie externa del PA. En este caso, la interacción entre la orina humana y las bacterias con las partículas de ZnO es limitada, lo que da lugar a una disolución más lenta del ZnO y, por ende, a una menor eficacia en la inhibición bacteriana.

En el compuesto ZnO/PA-AM, el ZnO se encuentra principalmente depositado en la superficie externa del PA. En este caso, se espera que el contacto entre los microorganismos y el ZnO sea rápido, ya que la orina fluye rápidamente sobre el PA, lo que limita el tiempo

de interacción y reduce la eficacia del proceso de disolución del ZnO (Esquema 1B). Además, la presencia de una capa gruesa de ZnO en la superficie puede dificultar la impregnación de las bacterias hacia el interior del PA, provocando su acumulación en la superficie del material. Esta capa actúa como una barrera física o “caparazón” que limita la difusión bacteriana y restringe la interacción del PA con el ZnO incorporado, reduciendo así la eficiencia del sistema antimicrobiano.

La cantidad de ZnO requerida para inhibir el crecimiento de *Corynebacterium ammoniagenes* fue considerablemente baja, con una concentración mínima inhibitoria (CMI) de 0.16 mg/mL (equivalente a 0.13 mg/mL de Zn). Esta concentración es significativamente menor en comparación con los 7.96 mg/mL de Zn contenidos en 20 mg/mL de la hidrotalcita de Zn reportados por León-Vallejo et al. 2019. El compuesto ZnO/PA-AC demostró ser más de 60 veces más activo que la hidrotalcita Zn, lo que evidencia su rendimiento excepcional como agente antimicrobiano.

Además de su alta eficacia, el proceso de síntesis del ZnO/PA-AC resulta potencialmente más económico, dado que el ZnO es más accesible y menos costoso que las hidrotalcitas de Zn. A esto se suma que el zinc presenta una baja citotoxicidad en organismos humanos (Pulit-Prociak et al. 2016) y considerando la pequeña cantidad incorporada en los compuestos, su uso en aplicaciones como contenedores urinarios se perfila como seguro y viable desde el punto de vista sanitario.

CONCLUSIONES

Se logró sintetizar hidrotalcita de Zn/Al con una relación molar 3:1, así como nuevos materiales híbridos compuestos por hidrotalcita (HT) y óxido de zinc en poliacrilato de sodio (PA) con distintos contenidos de agua. Los híbridos se obtuvieron mediante tres métodos de cristalización: irradiación por microondas, ultrasonido y síntesis sin tratamiento térmico.

La caracterización por difracción de rayos X (DRX) confirmó la formación de materiales híbridos mediante la interacción química entre ambos componentes, evidenciándose la presencia de fases correspondientes a HT y PA. Las micrografías revelaron que la distribución de los componentes sobre la matriz de poliacrilato varía según el método de síntesis, observándose morfologías homogéneas o heterogéneas. Esto resalta la importancia del proceso de obtención en el control de la microestructura del material, aspecto clave para su desempeño como agente antimicrobiano.

Las pruebas de actividad bacteriana frente a *Corynebacterium ammoniagenes* demostraron que los híbridos HT/PA presentaron buena actividad antimicrobiana. Aunque compartían composiciones y estructuras similares, las diferencias en el tamaño de partícula y en la distribución de la HT dentro del PA influyeron significativamente en la eficacia antimicrobiana. Entre los materiales evaluados, el híbrido HT/PA-ST obtenido por síntesis exhibió el mayor halo de inhibición (20.2 mm), posicionándose como la opción más prometedora por su alto rendimiento bactericida y un proceso de síntesis sencillo, económico y de bajo consumo energético. En cambio, los materiales preparados mediante ultrasonido (HT/PA-US) y microondas (HT/PA-MO) mostraron halos de inhibición menores, aunque mantuvieron una actividad considerable.

Por otro lado, se sintetizaron híbridos mediante la impregnación de ZnO en dispersiones de PA con distintos niveles de agua. En este caso, ambos materiales mostraron actividad antimicrobiana frente a *Corynebacterium ammoniagenes*; sin embargo, el híbrido ZnO/PA-AC elaborado con un mayor contenido de agua resultó ser más eficaz. Este presentó una concentración mínima inhibitoria (CMI) notablemente baja de 1.66 mg/mL a las 24 horas, logrando una inhibición bacteriana total, así como una inhibición parcial del 50 % a las 48 horas. Este efecto se atribuye a la mejor dispersión de las partículas de ZnO dentro de los poros del PA, lo que facilita su interacción con los microorganismos.

En conjunto, los materiales desarrollados en este estudio representan una alternativa innovadora y funcional para productos destinados al manejo de la incontinencia urinaria. No solo presentan capacidad de retención de líquidos, sino que también ofrecen protección contra infecciones y control de olores, mejorando el confort e higiene del usuario. Además, sus métodos de síntesis resultan viables desde el punto de vista económico y ambiental, lo que los convierte en candidatos atractivos para futuras aplicaciones comerciales.

No obstante, para garantizar su seguridad y eficacia clínica, es imprescindible realizar estudios adicionales que incluyan pruebas *in vitro* e *in vivo*, así como ensayos clínicos. Estos estudios permitirán evaluar su biocompatibilidad, estabilidad en condiciones reales de uso y posibles efectos a largo plazo sobre los tejidos humanos. Estos aspectos serán abordados en futuras investigaciones.

Bibliografía

- Ahmed, E. M. (2013). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal Of Advanced Research*, 6(2), 105-121. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2013.07.006>
- Agarwal, N. H., Menon, N. S., Kumar, S. V., & Rajeshkumar, S. (2018). Mechanistic study on antibacterial action of zinc oxide nanoparticles synthesized using green route. *Chemico-Biological Interactions*, 286, 60-70. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.03.008>
- Arinzon, Zeev, Alexander Peisakh, Ishay Shuval, Shay Shabat, and Yitshal N. Berner., (2009). "Detection of Urinary Tract Infection (UTI) in Long-Term Care Setting: Is the Multireagent Strip an Adequate Diagnostic Tool?" *Archives of Gerontology and Geriatrics* 48(2):227–31.
- Archana, S., Kumar, K. Y., Jayanna, B. K., Olivera, S., Anand, A., Prashanth, M. K., & Muralidhara, H. B., (2018). Versatile Graphene oxide decorated by star shaped Zinc oxide nanocomposites with superior adsorption capacity and antimicrobial activity. *Journal of Science Advanced Materials and Devices*, 3(2), 167–174. <https://doi.org/10.1016/j.jsamd.2018.02.002>
- Asimakopoulos, Georgios, Angeliki Karakassides, Maria Baikousi, Christina Gioti, Dimitrios Moschovas, Apostolos Avgeropoulos, Athanasios B. Bourlinos, Alexios P. Douvalis, Constantinos E. Salmas, and Michael A. Karakassides., (2021). "Nanoporous Carbon Magnetic Hybrid Derived from Waterlock Polymers and Its Application for Hexavalent Chromium Removal from Aqueous Solution." *C* 7(4):69.
- Awassa, Jazia, Damien Cornu, Samantha Soulé, Cédric Carteret, Christian Ruby, and Sofiane El-Kirat-Chatel., (2022). "Divalent Metal Release and Antimicrobial Effects of Layered Double Hydroxides." *Applied Clay Science* 216:106369.
- Balayeva, O. O. (2021). Synthesis and characterization of zinc-aluminum based layered double hydroxide and oxide nanomaterials by performing different experimental parameters. *Journal Of Dispersion Science And Technology*, 43(8), 1187-1196. <https://doi.org/10.1080/01932691.2020.1848580>

- Bechambi, Olfa, Sami Sayadi, and Wahiba Najjar., (2015). “Photocatalytic Degradation of Bisphenol A in the Presence of C-Doped ZnO: Effect of Operational Parameters and Photodegradation Mechanism.” *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 32:201–10.
- Becheri, Alessio, Maximilian Dürr, Pierandrea Lo Nostro, and Piero Baglioni., (2008). “Synthesis and Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles: Application to Textiles as UV-Absorbers.” *Journal of Nanoparticle Research* 10(4):679–89.
- Benito, P., F. M. Labajos, and V. Rives., (2006). “Microwave-Treated Layered Double Hydroxides Containing Ni²⁺ and Al³⁺: The Effect of Added Zn²⁺.” *Journal of Solid State Chemistry* 179(12):3784–97.
- Bergadà, Olga, Isabel Vicente, Pilar Salagre, Yolanda Cesteros, Francisco Medina, and Jesús E. Sueiras., (2007). “Microwave Effect during Aging on the Porosity and Basic Properties of Hydrotalcites.” *Microporous and Mesoporous Materials* 101(3):363–73.
- Bigi, A., E. Boanini, R. Botter, S. Panzavolta, and K. Rubini., (2002). “ α -Tricalcium Phosphate Hydrolysis to Octacalcium Phosphate: Effect of Sodium Polyacrylate.” *Biomaterials* 23(8):1849–54.
- Bontchev, Ranko P., Shirley Liu, James L. Krumhansl, James Voigt, and Tina M. Nenoff., (2003). “Synthesis, Characterization, and Ion Exchange Properties of Hydrotalcite Mg₆Al₂(OH)₁₆(A)_x(A')_{2-x}·4H₂O (A, A' = Cl⁻, Br⁻, I⁻, and NO₃⁻, 2 ≥ x ≥ 0) Derivatives.” *Chemistry of Materials* 15(19):3669–75.
- Butler, A. R., & Feelisch, M. (2008). Therapeutic Uses of Inorganic Nitrite and Nitrate. *Circulation*, 117(16), 2151-2159. <https://doi.org/10.1161/circulationaha.107.753814>
- Cardoso, D., Narcy, A., Durosoy, S., & Chevalier, Y., (2022). The pH dependence of dissolution kinetics of zinc oxide. *Colloids And Surfaces A Physicochemical And Engineering Aspects*, 650, 129653. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.129653>
- Carja, Gabriela, Yoshikazu Kameshima, Akira Nakajima, Cristian Dranca, and Kiyoshi Okada., (2009). “Nanosized Silver–Anionic Clay Matrix as Nanostructured Ensembles with Antimicrobial Activity.” *International Journal of Antimicrobial Agents* 34(6):534–

- Cavani, F., Trifirò, F., & Vaccari, A. (1991). Hydrotalcite-type anionic clays: Preparation, properties and applications. *Catalysis Today*, *11*(2), 173-301. [https://doi.org/10.1016/0920-5861\(91\)80068-k](https://doi.org/10.1016/0920-5861(91)80068-k)
- Chao Wang., (2012). “Antibacterial Effects of Zinc Oxide Nanoparticles on Escherichia Coli K88.” *African Journal of Biotechnology* *11*(44):10248–54.
- Chemingui, H., T. Missaoui, J. Chékir Mzali, T. Yildiz, M. Konyar, M. Smiri, N. Saidi, A. Hafiane, and H. C. Yatmaz., (2019). “Facile Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles (ZnO NPs): Antibacterial and Photocatalytic Activities.” *Materials Research Express* *6*(10):1050b4.
- Chin, Bum Sik, Myung Soo Kim, Sang Hoon Han, So Youn Shin, Hee Kyung Choi, Yun Tae Chae, Sung Joon Jin, Ji-Hyeon Baek, Jun Yong Choi, Young Goo Song, Chang Oh Kim, and June Myung Kim., (2011). “Risk Factors of All-Cause in-Hospital Mortality among Korean Elderly Bacteremic Urinary Tract Infection (UTI) Patients.” *Archives of Gerontology and Geriatrics* *52*(1):e50–55.
- Corro, G., Vidal, E., Cebada, S., Pal, U., Bañuelos, F., Vargas, D., & Guillemot, E., (2017). Electronic state of silver in Ag/SiO₂ and Ag/ZnO catalysts and its effect on diesel particulate matter oxidation: An XPS study. *Applied Catalysis B Environment And Energy*, *216*, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2017.05.059>
- Cruz-Hernández, M., Velázquez-Herrera, F. D., Villa-Ruano, N., Giovanela, M., Da Silva Crespo, J., & Fetter, G., (2021). High-performance antifungal nanohybrid materials composed of melanin-clays. *Applied Clay Science*, *211*, 106201. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2021.106201>
- Cruz-Hernández, M., Velázquez-Herrera, F. D., Landeta, G., Giovanela, M., Da Silva Crespo, J., & Fetter, G., (2025). Novel ZnO/polyacrylate composites with antibacterial activity against *C. ammoniagenes* to prevent skin infections. *Microbial Pathogenesis*, 107563. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107563>
- Da Silva, B. L., Abuçafy, M. P., Manaia, E. B., Oshiro, J. A., Junior, Chiari-Andréo, B. G.,

- Pietro, R. C. R., & Chiavacci, L. A., (2019). Relationship Between Structure And Antimicrobial Activity Of Zinc Oxide Nanoparticles: An Overview, *International Journal Of Nanomedicine, Volume 14*, 9395-9410. <https://doi.org/10.2147/ijn.s216204>
- Di Cosimo, J. I., V. K. Díez, M. Xu, E. Iglesia, and C. R. Apesteguía., (1998). “Structure and Surface and Catalytic Properties of Mg-Al Basic Oxides.” *Journal of Catalysis* 178(2):499–510.
- Dicks, L. M., & Holzapfel, W. H. (2015). *Oenococcus*. *Bergey's Manual Of Systematics Of Archaea And Bacteria*, 1-16. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.gbm00608>
- Djebbi, Mohamed Amine, Zaineb Bouaziz, Alae Elabed, Moulay Sadiki, Soumya Elabed, Philippe Namour, Nicole Jaffrezic-Renault, and Abdesslem Ben Haj Amara., (2016). “Preparation and Optimization of a Drug Delivery System Based on Berberine Chloride-Immobilized MgAl Hydrotalcite.” *International Journal of Pharmaceutics* 506(1–2):438–48.
- Droval, G., Aranberri, I., Bilbao, A., German, L., Verelst, M., & Dexpert-Ghys, J., (2008). Antimicrobial activity of nanocomposites: poly(amide) 6 and low density poly(ethylene) filled with zinc oxide. *e-Polymers*, 8(1). <https://doi.org/10.1515/epoly.2008.8.1.1467>
- Duan, X., D. G. Evans, J. He, Y. Kang, A. I. Khan, F. Leroux, B. Li, F. Li, D. O’Hare, R. C. T. Slade, C. Taviot-Gueho, M. Wei, and G. R. Williams., (2006). *Layered Double Hydroxides*. edited by David G. Evans and Xue Duan. Germany: Springer Berlin Heidelberg.
- Dutta, S., Tushar K. Jana, Suman K. Halder, Ramaprasad Maiti, Ankita Dutta, A. Kumar, and K. Chatterjee., (2020). “Zn₂Al-CO₃ Layered Double Hydroxide: Adsorption, Cytotoxicity and Antibacterial Performances.” *ChemistrySelect* 5(20):6162–71.
- Evans, David G. and Robert C. T. Slade., (2005). “Structural Aspects of Layered Double Hydroxides.” Pp. 1–87 in.
- Falcón, Jesus Marino, Tiago Sawczen, and Idalina Vieira Aoki., (2015). “Dodecylamine-Loaded Halloysite Nanocontainers for Active Anticorrosion Coatings.” *Frontiers in*

Materials 2(November):1–13.

- Fernández-Calviño, D., Bermúdez-Couso, A., Garrido-Rodríguez, B., Rodríguez, S. P., & Arias-Estévez, M. (2011). Copper release kinetics from a long-term contaminated acid soil using a stirred flow chamber: Effect of ionic strength and pH. *Journal Of Colloid And Interface Science*, 367(1), 422-428. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2011.09.057>
- Foster, C., Shaw, S., Neill, T. S., Bryan, N., Sherriff, N., Natrajan, L. S., Wilson, H., Lopez-Odriozola, L., Rigby, B., Haigh, S. J., Zou, Y., Harrison, R., & Morris, K. (2022). Hydrotalcite Colloidal Stability and Interactions with Uranium(VI) at Neutral to Alkaline pH. *Langmuir*, 38(8), 2576-2589. <https://doi.org/10.1021/acs.langmuir.1c03179>
- Frost, R. L., Martens, W. N., Duong, L., & Kloprogge, J. T. (2002). Evidence for molecular assembly in hydrotalcites. *Journal Of Materials Science Letters*, 21(16), 1237-1239. <https://doi.org/10.1023/a:1016542700574>
- George, D., Maheswari, P. U., & Begum, K. M. M. S., (2019). Synergic formulation of onion peel quercetin loaded chitosan-cellulose hydrogel with green zinc oxide nanoparticles towards controlled release, biocompatibility, antimicrobial and anticancer activity. *International Journal of Biological Macromolecules*, 132, 784–794. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2019.04.008>
- Grabowska, B., & Holtzer, M. (2009). Structural examination of the cross-linking reaction mechanism of polyacrylate binding agents. *Archives Of Metallurgy And Materials*, 427-437. <http://yadda.icm.edu.pl/yadda/element/bwmeta1.element.baztech-article-BSW3-0062-0019>
- Gupta, Ashish, Mayank Dwivedi, G. A. Nagana Gowda, Archana Ayyagari, A. A. Mahdi, M. Bhandari, and C. L. Khetrapal., (2005). “¹H NMR Spectroscopy in the Diagnosis of Pseudomonas Aeruginosa-Induced Urinary Tract Infection.” *NMR in Biomedicine* 18(5):293–99.
- Hamid, Abdul, Muhammad Khan, Fakhar Hussain, Amir Zada, Tiehu Li, Dang Alei, and Amjad Ali., (2021). “Synthesis and Physiochemical Performances of PVC-Sodium Polyacrylate and PVC-Sodium Polyacrylate-Graphite Composite Polymer Membrane.”

Zeitschrift Für Physikalische Chemie 235(12):1791–1810.

- Hashizume, H., (2015). “Adsorption of Nucleic Acid Bases, Ribose, and Phosphate by Some Clay Minerals.” *Life* 5(1):637–50. <https://doi.org/10.3390/life5010637>
- He, Q., S. Yin, and T. Sato., (2004). “Synthesis and Photochemical Properties of Zinc-Aluminum Layered Double Hydroxide/Organic UV Ray Absorbing Molecule/Silica Nanocomposites.” *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 65(2–3):395–402.
- Hernandez-Moreno, Maria J., María A. Ulibarri, J. L. Rendon, and Carlos J. Serna., (1985). “IR Characteristics of Hydrotalcite-like Compounds.” *Physics and Chemistry of Minerals* 12(1):34–38.
- Hong, Y., & Brown, D. G. (2009). Alteration of bacterial surface electrostatic potential and pH upon adhesion to a solid surface and impacts to cellular bioenergetics. *Biotechnology And Bioengineering*, 105(5), 965-972. <https://doi.org/10.1002/bit.22606>
- Hou, Yingshuo, Siyu Chen, Jianjun Wang, Guizhen Liu, Sheng Wu, and Yong Tao., (2019). “Isolating Promoters from *Corynebacterium Ammoniagenes* ATCC 6871 and Application in CoA Synthesis.” *BMC Biotechnology* 19(1):76.
- Hu, M., Li, S., & Wang, C. (2020). Substrate-imposed strain engineering of multiferroic properties in BCZT/LCMO bilayer heterostructures. *Applied Surface Science*, 509, 145314. <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2020.145314>
- Hussain, F., Hojjati, M., Okamoto, M., & Gorga, R. E. (2006). Review article: Polymer-matrix Nanocomposites, Processing, Manufacturing, and Application: An Overview. *Journal Of Composite Materials*, 40(17), 1511-1575. <https://doi.org/10.1177/0021998306067321>
- Iyi, Nobuo, Hirohisa Yamada, and Takayoshi Sasaki., (2011). “Deintercalation of Carbonate Ions from Carbonate-Type Layered Double Hydroxides (LDHs) Using Acid–Alcohol Mixed Solutions.” *Applied Clay Science* 54(2):132–37.
- Jayandran, M., Haneefa, M., & Balasubramanian, V., (2016). Biosynthesis and antimicrobial activity studies of salicylalchitosan functionalized zinc oxide nanoparticles and comparative studies with its non-functionalized form. *Oriental journal of*

chemistry, 32(1), 719–725. <https://doi.org/10.13005/ojc/320180>

- Jin, T., D. Sun, J. Y. Su, H. Zhang, and H. J. Sue., (2009). “Antimicrobial Efficacy of Zinc Oxide Quantum Dots against *Listeria Monocytogenes*, *Salmonella Enteritidis*, and *Escherichia Coli* O157:H7.” *Journal of Food Science* 74(1):M46–52.
- Jobbágy, Matías and Alberto E. Regazzoni., (2011). “Dissolution of Nano-Size Mg–Al–Cl Hydrotalcite in Aqueous Media.” *Applied Clay Science* 51(3):366–69.
- Kang, H., Liu, X., Zhang, S., and Li, J., (2017). “Functionalization of Halloysite Nanotubes (HNTs) via Mussel-Inspired Surface Modification and Silane Grafting for HNTs/Soy Protein Isolate Nanocomposite Film Preparation.” *RSC Advances* 7(39):24140–48. <https://doi.org/10.1039/c7ra02987j>
- Kaur, Tanvir, Chayanika Putatunda, Ashish Vyas, and Gaurav Kumar., (2021). “Zinc Oxide Nanoparticles Inhibit Bacterial Biofilm Formation via Altering Cell Membrane Permeability.” *Preparative Biochemistry & Biotechnology* 51(4):309–19.
- Khanlari, Samaneh and Marc A. Dubé., (2015). “Reaction Monitoring of in Situ Formation of Poly(Sodium Acrylate)-Based Nanocomposites Using ATR-FTIR Spectroscopy.” *Industrial & Engineering Chemistry Research* 54(21):5598–5603.
- Khan, S., Alam, F., Azam, A., Khan, A.U., 2012. Gold nanoparticles enhance methylene blue-induced photodynamic therapy: a novel therapeutic approach to inhibit *Candida albicans* biofilm. *Int. J. Nanomedicine* 7, 3245–3257. <https://doi.org/10.2147/IJN.S31219>.
- Lallo, Bruna, Marina Paiva Abuçafy, Eloisa Berbel Manaia, and Leila Aparecida Chiavacci., (2019). “Relationship Between Structure And Antimicrobial Activity Of Zinc Oxide Nanoparticles : An Overview.” 9395–9410.
- Lei, Caixia, Yu Liu, Han Zhou, Zude Feng, and Ronggui Du., (2013). “Photogenerated Cathodic Protection of Stainless Steel by Liquid-Phase-Deposited Sodium Polyacrylate/TiO₂ Hybrid Films.” *Corrosion Science* 68:214–22.
- León-Vallejo, A. M., Velázquez-Herrera, F. D., Sampieri, Á., Landeta-Cortés, G., & Fetter, G., (2019). “Study of Layered Double Hydroxides as Bactericidal Materials against

- Corynebacterium Ammoniagenes, a Bacterium Responsible for Producing Bad Odors from Human Urine and Skin Infections.” *Applied Clay Science* 180(January):105194. <https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.105194>
- León-Vallejo, Ana María, Geolar Fetter, Álvaro Sampieri, and Efraín Rubio-Rosas., (2017). “Synthesis of Cotton Fibers Impregnated with Bactericidal Hydrotalcites to Be Used in Medical Textile Supplies.” *MRS Advances* 1–9.
- Li, Mengxue, Yasmina Sultanbawa, Zhi Ping Xu, Wenyi Gu, Weiyu Chen, Jianyong Liu, and Guangren Qian., (2019). “High and Long-Term Antibacterial Activity against Escherichia Coli via Synergy between the Antibiotic Penicillin G and Its Carrier ZnAl Layered Double Hydroxide.” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 174:435–42.
- Liu, Jiao, Ping Yao, Zhe-Ming Ni, Yuan Li, and Wei Shi., (2011). “Jahn-Teller Effect of Cu-Mg-Al Layered Double Hydroxides.” 27(9):2088–94.
- Liu, Mingzhu and Tianhua Guo., (2001). “Preparation and Swelling Properties of Crosslinked Sodium Polyacrylate.” *Journal of Applied Polymer Science* 82(6):1515–20.
- Liu, Na, Xuemin Wang, and Mauricio Odio., (2011). “Frequency and Severity of Diaper Dermatitis with Use of Traditional Chinese Cloth Diapers: Observations in 3- to 9-Month-Old Children.” *Pediatric Dermatology* 28(4):380–86.
- Lobo-Sánchez, Marta, Gisel Nájera-Meléndez, Gilberto Luna, Verónica Segura-Pérez, José Angel Rivera, and Geolar Fetter., (2018). “ZnAl Layered Double Hydroxides Impregnated with Eucalyptus Oil as Efficient Hybrid Materials against Multi-Resistant Bacteria.” *Applied Clay Science* 153(October 2017):61–69.
- Lopez, T., Ramos, E., Bosch, P., Asomoza, M., & Gomez, R. (1997). DTA and TGA characterization of sol-gel hydrotalcites. *Materials Letters*, 30(4), 279-282. [https://doi.org/10.1016/s0167-577x\(96\)00214-5](https://doi.org/10.1016/s0167-577x(96)00214-5)
- Ma, Kun, Yawen Li, Zhenguo Wang, Yuzhi Chen, Xin Zhang, Chunyuan Chen, Hao Yu, Jia Huang, Zhiying Yang, Xuefei Wang, and Zhuo Wang., (2019). “Core–Shell Gold Nanorod@Layered Double Hydroxide Nanomaterial with Highly Efficient Photothermal Conversion and Its Application in Antibacterial and Tumor Therapy.”

ACS Applied Materials & Interfaces 11(33):29630–40.

Madigan, M. T., Bender, K. S., Buckley, D. H., Sattley, W. M., & Stahl, D. A. (2021). *Brock Biology of Microorganisms* (16th ed.).

Mahon, Ruissein, Yakubu Balogun, Gbenga Oluyemi, and James Njuguna., (2020). “Swelling Performance of Sodium Polyacrylate and Poly(Acrylamide-Co-Acrylic Acid) Potassium Salt.” *SN Applied Sciences* 2(1):117.

Martín-Gutiérrez, G., Rodríguez-Beltrán, J., Rodríguez-Martínez, J. M., Costas, C., Aznar, J., Pascual, Á., & Blázquez, J., (2016). Urinary Tract Physiological Conditions Promote Ciprofloxacin Resistance in Low-Level-Quinolone-Resistant *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*, 60(7), 4252-4258. <https://doi.org/10.1128/aac.00602-16>

Mehrani, A., Ahmadvand, P., Barforushi, M. M., & Mehrani, K. (2015). Double Functionalized Nanoporous Magnetic Gadolinium–Silica Composite for Doxorubicin Delivery. *Journal Of Inorganic And Organometallic Polymers And Materials*, 26(1), 226-232. <https://doi.org/10.1007/s10904-015-0302-6>

Melián-Cabrera, I., M. López Granados, and J. L. G. Fierro., (2002). “Thermal Decomposition of a Hydrotalcite-Containing Cu–Zn–Al Precursor: Thermal Methods Combined with an in Situ DRIFT Study.” *Physical Chemistry Chemical Physics* 4(13):3122–27.

Mendes, C. R., Dilarri, G., Forsan, C. F., De Moraes Ruy Sapata, V., Lopes, P. R. M., De Moraes, P. B., Montagnolli, R. N., Ferreira, H., & Bidoia, E. D. (2022). Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens. *Scientific Reports*, 12(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-022-06657-y>

Mishra, Geetanjali, Barsha Dash, Sony Pandey, Diptipriya Sethi, and Chityal Ganesh Kumar., (2018). “Comparative Evaluation of Synthetic Routes and Antibacterial/Antifungal Properties of Zn–Al Layered Double Hydroxides Containing Benzoate Anion.” *Environmental Engineering Science* 35(3):247–60.

Moezzi, Amir, Andrew M. McDonagh, and Michael B. Cortie., (2012). “Zinc Oxide

- Particles: Synthesis, Properties and Applications.” *Chemical Engineering Journal* 185–186:1–22.
- Murray, Haydn H., (2006). “Clays.” in *Ullmann’s Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Weinheim, Germany: Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.
- Murray, P. R., (2009) *Microbiología médica*, editorial Elsevier, 5 edición, 11-17.
- Ng, H. M., Saidi, N. M., Omar, F. S., Ramesh, K., Ramesh, S., & Bashir, S. (2018). Thermogravimetric Analysis of Polymers. *Encyclopedia Of Polymer Science And Technology*, 1-29. <https://doi.org/10.1002/0471440264.pst667>
- Ni, J., et al. (2017). A role for bacterial urease in gut dysbiosis and Crohn’s disease. *Science Translational Medicine*, 9(418), eaah6888. <https://doi.org/10.1126/scitranslmed.aah6888>. (Evidencia sobre cómo la ureasa bacteriana modifica el flujo de nitrógeno en intestino y se asocia a disbiosis).
- Nicolle, L. E., (1993). “Urinary Tract Infections in Long-Term Care Facilities.” *Infection Control and Hospital Epidemiology* 14(4):220–25.
- Nicolle, Lindsay E., (2001). “Urinary Tract Infections in Long-Term-Care Facilities.” *Infection Control & Hospital Epidemiology* 22(03):167–75.
- Novak, U., & Grdadolnik, J. (2021). Infrared spectra of hydrogen bond network in lamellar perfluorocarboxylic acid monohydrates. *Spectrochimica Acta Part A Molecular And Biomolecular Spectroscopy*, 253, 119551. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.119551>
- Ping Xu, Zhi, Paul Braterman, and Faith Yarberry., (2004). “Layered Double Hydroxides (Ldhs).” in *Handbook of Layered Materials*. CRC Press.
- Plum, L. M., Rink, L., & Haase, H. (2010). The Essential Toxin: Impact of Zinc on Human Health. *International Journal Of Environmental Research And Public Health*, 7(4), 1342-1365. <https://doi.org/10.3390/ijerph7041342>
- Pulit-Prociak, Jolanta, Jarosław Chwastowski, Arkadiusz Kucharski, and Marcin Banach., (2016). “Functionalization of Textiles with Silver and Zinc Oxide Nanoparticles.” *Applied Surface Science* 385:543–53.

- Raskova, Zuzana Kolarova, Martina Hrabalikova, and Vladimir Sedlarik., (2016). “Effect of Sodium Salicylate on the Viscoelastic Properties and Stability of Polyacrylate-Based Hydrogels for Medical Applications.” 2016.
- Rifi, El-Housseine, Dominique Lakkis, and J. F. Maurice Leroy., (2005). “Extraction de l’argent Par Des Gels d’acide Polyacrylique–Polyacrylate de Sodium. Application à l’élimination Des Ions Chlorures.” *Comptes Rendus Chimie* 8(5):917–21.
- Rocha Oliveira, Gabriele, Laricy Janaína Dias do Amaral, Marcelo Giovanela, Janaina da Silva Crespo, Geolar Fetter, José Angel Rivera, Alvaro Sampieri, and Pedro Bosch., (2015). “Bactericidal Performance of Chlorophyllin-Copper Hydrotalcite Compounds.” *Water, Air, and Soil Pollution* 226(9):226–316.
- Rosenberg, M., M. Visnapuu, H. Vija, V. Kisand, K. Kasemets, A. Kahru, and A. Ivask., (2020). “Selective Antibiofilm Properties and Biocompatibility of Nano - ZnO and Nano - ZnO / Ag Coated Surfaces.” *Scientific Reports* (0123456789):1–15.
- Ryu, Seung-Jin, Hyun Jung, Jae-Min Oh, Jin-Kyu Lee, and Jin-Ho Choy., (2010). “Layered Double Hydroxide as Novel Antibacterial Drug Delivery System.” *Journal of Physics and Chemistry of Solids* 71(4):685–88.
- Sacsaquispe Contreras R.E, Velásquez Pomar J., (2002). Manual de procedimientos anual para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión. Organismo Público Descentralizado de Sector Salud, 1-67.
- Sai, L., Liu, S., Qian, X., Yu, Y., & Xu, X. (2018). Nontoxic fluorescent carbon nanodot serving as a light conversion material in plant for UV light utilization. *Colloids And Surfaces B Biointerfaces*, 169, 422-428. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.05.047>
- Samaranayake, Y. H., B. P. K. Cheung, N. Parahitiyawa, C. J. Seneviratne, J. Y. Y. Yau, K. W. S. Yeung, and L. P. Samaranayake., (2009). “Synergistic Activity of Lysozyme and Antifungal Agents against Candida Albicans Biofilms on Denture Acrylic Surfaces.” *Archives of Oral Biology* 54(2):115–26.
- Sampieri, Álvaro, Geolar Fetter, Heriberto Pfeiffer, and Pedro Bosch., (2007). “Carbonate Phobic (Zn,Mn)-Al Hydrotalcite-like Compounds.” *Solid State Sciences* 9(5):394–403.

- Segets, Doris, Johannes Gradl, Robin Klupp Taylor, Vassil Vassilev, and Wolfgang Peukert., (2009). “Analysis of Optical Absorbance Spectra for the Determination of ZnO Nanoparticle Size Distribution, Solubility, and Surface Energy.” *ACS Nano* 3(7):1703–10.
- Segura-Pérez, Verónica, Marta Lobo-Sánchez, Franchescoli D. Velázquez-Herrera, Diego A. Frías-Vázquez, Eric Reyes-Cervantes, and Geolar Fetter., (2020). “Hydrotalcite/Hydroxyapatite Composites with High Bacterial Activity against Clinical Bacteria. A New Alternative to Prevent Osteomyelitis Diseases.” *Microporous and Mesoporous Materials* 298(January).
- Sing, K. S. W., Everett, D. H., Haul, R. A. W., Moscou, L., Pierotti, R. A., Rouquérol, J., & Siemieniewska, T., (1985). Reporting physisorption data for gas/solid systems with special reference to the determination of surface area and porosity. *Pure and Applied Chemistry*, 57(4), 603–619. <https://doi.org/10.1351/pac198557040603>
- Sirelkhatim, Amna, Shahrom Mahmud, and Azman Seeni., (2015). “Review on Zinc Oxide Nanoparticles : Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism.” *Nano-Micro Letters* 7:219–42.
- Slavin, Yael N., Jason Asnis, Urs O. Häfeli, and Horacio Bach., (2017). “Metal Nanoparticles : Understanding the Mechanisms behind Antibacterial Activity.” *Journal of Nanobiotechnology* 1–20.
- Sommer, Alicia E., Geolar Fetter, Pedro Bosch, and Victor H. Lara., (2010). “New Template Effect in Hydrotalcite Synthesis. Nodular VS. Layered Morphologies.” *Clays and Clay Minerals* 58(3):340–50.
- Starkenmann, Christian., (2017). “Analysis and Chemistry of Human Odors.” *Springer Handbooks* 121–22.
- Stoimenov, Peter K., Rosalyn L. Klinger, George L. Marchin, and Kenneth J. Klabunde., (2002). “Metal Oxide Nanoparticles as Bactericidal Agents.” *Langmuir* 18(17):6679–86.
- Sun, Y., Zhang, W., Li, Q., Liu, H., & Wang, X. (2023). Preparations and applications of

zinc oxide based photocatalytic materials. *Advanced Sensor And Energy Materials*, 2(3), 100069. <https://doi.org/10.1016/j.asems.2023.100069>

Sütekin, S. D., Demirci, S., Kurt, S. B., Güven, O., & Sahiner, N. (2021). Tunable fluorescent and antimicrobial properties of poly(vinyl amine) affected by the acidic or basic hydrolysis of poly(N-vinylformamide). *Journal Of Applied Polymer Science*, 138(42). <https://doi.org/10.1002/app.51234>

Tarasenka, Natalie, Vladislav Kornev, Xiaoming Cai, Ruibin Li, and Natalia Dudchik., (2023). “Nano-Structures & Nano-Objects Nanoceria and Hybrid Silver – Ceria Nanoparticles Fabricated by Liquid-Mediated Laser Ablation as Antimicrobial Agents.” *Nano-Structures & Nano-Objects* 34:100971.

Tauch, Andreas and Andreas Burkovski., (2015). “Molecular Armory or Niche Factors: Virulence Determinants of *Corynebacterium* Species.” *FEMS Microbiology Letters* fnv185.

Tenovuo, J., (2002). “Clinical Applications of Antimicrobial Host Proteins Lactoperoxidase , Lysozyme and Lactoferrin in Xerostomia : Ef ® Cacy and Safety.”

Thommes, M., Kaneko, K., Neimark, A. V., Olivier, J. P., Rodriguez-Reinoso, F., Rouquerol, J., & Sing, K. S. W., (2015). Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 87(9-10), 1051–1069. <https://doi.org/10.1515/pac-2014-1117>

Thosar, N. R., Chandak, M., Bhat, M., & Basak, S., (2018). Evaluation of Antimicrobial Activity of Two Endodontic Sealers: Zinc oxide with Thyme Oil and Zinc Oxide Eugenol against Root Canal Microorganisms- An in vitro study. *International Journal of Clinical Pediatric Dentistry*, 11(2), 79–82. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10005-1489>

Torres-Pérez, Fernando, R. Eduardo Palma, Brian Hjelle, Marcela Ferrés, and Joseph A. Cook., (2010). “Andes Virus Infections in the Rodent Reservoir and in Humans Vary across Contrasting Landscapes in Chile.” *Infection, Genetics and Evolution* 10(6):819–24.

- Trujillano, R. (2022). 30 Years of Vicente Rives' Contribution to Hydrotalcites, Synthesis, Characterization, Applications, and Innovation. *ChemEngineering*, 6(4), 60. <https://doi.org/10.3390/chemengineering6040060>
- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., Dhama, K., Ripon, M. K. H., Gajdacs, M., Sahibzada, M. U. K., Hossain, M. J., & Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal Of Infection And Public Health*, 14(12), 1750-1766. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>
- Usuda, Yoshihiro, Hisashi Kawasaki, and Takashi Utagawa., (2001). "Characterization of the Cell Surface Protein Gene of Corynebacterium Ammoniagenes." *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Gene Structure and Expression* 1522(2):138–41.
- Velázquez-Herrera, Franchescoli D., Geolar Fetter, Vilma Rosato, Andrea M. Pereyra, and Elena I. Basaldella., (2018). "Effect of Structure, Morphology and Chemical Composition of Zn-Al, Mg/Zn-Al and Cu/Zn-Al Hydrotalcites on Their Antifungal Activity against A. Niger." *Journal of Environmental Chemical Engineering* 6(2):3376–83.
- Velázquez-Herrera, Franchescoli Didier and Geolar Fetter., (2020). "Hydrotalcites with Heterogeneous Anion Distributions: A First Approach to Produce New Materials to Be Used as Vehicles for a Successive Delivery of Compounds." *Clay Minerals* 55(1):31–39.
- Velázquez-Herrera, Franchescoli Didier, Marta Lobo-Sánchez, and Geolar Fetter., (2021). "Effect of Copper and Eucalyptol on the Bactericidal Activity of ZnAl- and MgAl-LDH Clays." *MRS Communications* 11(6):955–61.
- Wiyantoko, Bayu, Puji Kurniawati, Tri Esti Purbaningtias, and Is Fatimah., (2015). "Synthesis and Characterization of Hydrotalcite at Different Mg/Al Molar Ratios." *Procedia Chemistry* 17:21–26.
- Wu, Jihuai, Jianming Lin, Guoqing Li, and Congrong Wei., (2001). "Influence of the COOH and COONa Groups and Crosslink Density of Poly(Acrylic Acid)/Montmorillonite Superabsorbent Composite on Water Absorbency." *Polymer International* 50(9):1050–

- Yang, T., Oliver, S., Chen, Y., Boyer, C., & Chandrawati, R., (2019). Tuning crystallization and morphology of zinc oxide with polyvinylpyrrolidone: Formation mechanisms and antimicrobial activity. *Journal of Colloid and Interface Science*, 546, 43–52. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2019.03.051>
- Yang, X., Tian, J., Guo, Y., Teng, M., Liu, H., Li, T., Lv, P., & Wang, X. (2021). ZnO Nano-Rod Arrays Synthesized with Exposed {0001} Facets and the Investigation of Photocatalytic Activity. *Crystals*, 11(5), 522. <https://doi.org/10.3390/cryst11050522>
- Zhang, Yatao, Lihai Fan, Pengzhan Zhao, Lin Zhang, and Huanlin Chen., (2008). “Preparation of Nanocomposite Superabsorbents Based on Hydrotalcite and Poly(Acrylic-Co-Acrylamide) by Inverse Suspension Polymerization.” *Composite Interfaces* 15(7–9):747–57.
- Zhang, J., Xu, Y. F., Qian, G., Xu, Z. P., Chen, C., & Liu, Q. (2010). Reinvestigation of Dehydration and Dehydroxylation of Hydrotalcite-like Compounds through Combined TG-DTA-MS Analyses. *The Journal Of Physical Chemistry C*, 114(24), 10768-10774. <https://doi.org/10.1021/jp103115q>
- Zhao, Xiyun, Jie Zhang, Binsong Wang, Amir Zada, and Muhammad Humayun., (2015). “Biochemical Synthesis of Ag/AgCl Nanoparticles for Visible-Light-Driven Photocatalytic Removal of Colored Dyes.” *Materials* 8(5):2043–53.
- Zhuo, Lai-bao, Yu-mei Liu, Yuhan Jiang, and Zhen Yan., (2024). “Zinc Oxide Nanoparticles Induce Acute Lung Injury via Oxidative Stress-Mediated Mitochondrial Damage and NLRP3 Inflammasome Activation : In Vitro and in Vivo Studies ☆.” *Environmental Pollution* 341(September 2023):122950.



Novel ZnO/polyacrylate composites with antibacterial activity against *C. ammoniagenes* to prevent skin infections

Mónica Cruz-Hernández^a, Franchescoli D. Velázquez-Herrera^{a,*}, Gerardo Landeta^b,
Marcelo Giovanela^c, Janaina da Silva Crespo^c, Geolar Fetter^{a,**}

^a Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Ciudad Universitaria, 72570, Puebla, PUE, Mexico

^b Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Dirección de Innovación y Transferencia de Conocimiento, Ciudad Universitaria, 72570, Puebla, PUE, Mexico

^c Universidade de Caxias do Sul, Área do Conhecimento de Ciências Exatas e Engenharias, Rua Francisco Getúlio Vargas, 1130, 95070-560, Caxias do Sul, RS, Brazil

ARTICLE INFO

Keywords:

Sodium polyacrylate
Zinc oxide
Urinary incontinence
Medical supplies
Bacteria

ABSTRACT

Much of the older population experiences urinary incontinence disorders and often relies on medical supplies such as diapers or pads. However, frequent use of these supplies can lead to unpleasant odors, skin irritations, and infections caused by a bacterium found in human urine called *Corynebacterium ammoniagenes*. To address the hygiene and health concerns associated with these supplies, novel composite materials consisting of zinc oxide impregnated on sodium polyacrylate were synthesized through diverse methods. These composites were then tested against the *C. ammoniagenes* bacterium to assess their viability as components of urinary incontinence supplies. Overall, the synthesized composites exhibited considerable efficacy against the targeted bacterium. Moreover, the sample synthesized with more water used in sodium polyacrylate dispersion demonstrated the highest level of inhibition. Complete bacterial inhibition was achieved within 24 h of contact, with a minimum inhibitory concentration of 1.66 mg/mL. The results indicate that the synthesized composites hold significant potential for addressing the hygiene and health concerns associated with urinary incontinence supplies, presenting a promising avenue for improving the quality of life of individuals affected by this condition.

1. Introduction

Urinary incontinence is a clinical disorder characterized by the involuntary leakage of urine. It is a common condition affecting millions, with older adults being the most susceptible. Various factors, such as stress, obesity, and post-pregnancy changes, can contribute to its onset [1]. Individuals with this disorder typically rely on medical supplies such as diapers, pads, or guards to manage their condition by retaining urine. Unfortunately, these supplies can become breeding grounds for bacteria, as they absorb urine and maintain moisture in the surrounding area for extended periods. Consequently, they often lead to unpleasant odors and skin irritation.

The unpleasant odors stem from byproducts of urinary ammonia derivatives produced by *Corynebacterium ammoniagenes*, a bacterium found in human urine. *C. ammoniagenes* is a resilient and robust Gram-positive bacterium belonging to the mycobacterial family within the *Corynebacterium* genus [2]. Moreover, this bacterium can exacerbate chronic inflammations associated with incontinence-associated

dermatitis (IAD) [3]. It breaks down urea present in urine, producing ammonia, which raises the skin's pH, weakening its protective barrier and making it more vulnerable [4]. As a result, the risk of secondary infections caused by fungi or pathogenic bacteria, such as *Staphylococcus aureus* or *Escherichia coli* [5,6], increases, especially when incontinence products are not changed frequently or are used for extended periods [7].

Identifying a material capable of retaining large amounts of urine while inhibiting the *C. ammoniagenes* microorganism is imperative to address these hygiene and health concerns. The primary component of urinary incontinence supplies is sodium polyacrylate (PA), an organic polymer widely recognized as a superabsorbent material. It can absorb approximately 30 times its weight in urine within its pores [8]. However, while PA effectively retains urine, it does not inhibit or eradicate microorganisms [9]. Therefore, incorporating an antibacterial compound into the PA polymer could yield a composite capable of both retaining urine and inhibiting the *C. ammoniagenes* bacterium simultaneously.

* Corresponding author.

** Corresponding author.

E-mail addresses: franchescoli.velazquezher@correo.buap.mx (F.D. Velázquez-Herrera), geolar.fetter@correo.buap.mx (G. Fetter).

<https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107563>

Received 13 December 2024; Received in revised form 1 April 2025; Accepted 7 April 2025

Available online 8 April 2025

0882-4010/© 2025 Published by Elsevier Ltd.

Among various antibacterial materials, zinc oxide (ZnO) emerges as a suitable candidate. This oxide is renowned for its potent bactericidal properties [10] and low human toxicity [11]. It offers greater durability, high stability, and selectivity compared to conventional organic antibacterial agents [12]. Moreover, since zinc contained in layered double hydroxide (LDH) clays has demonstrated significant activity against the *C. ammoniagenes* bacterium [13], it should be equally or even more effective when incorporated into ZnO. Indeed, ZnO nanoparticles (ZnONPs) are widely recognized as highly effective antimicrobial agents, as reported extensively in the literature [10,11,14–16]. However, no studies have specifically focused on commercially available powdered ZnO, which presents advantages in terms of easier acquisition and lower costs. Some authors [17–19] have investigated various methods for impregnating ZnONPs into polymers to evaluate the interaction between components and assess the dispersion of ZnONPs within the polymer supports. Their findings indicate that ZnONPs dispersion largely depends on the impregnation method used. Consequently, the arrangement and distribution of commercially available ZnO particles within a PA polymer may be also influenced by the impregnation method. In this study, ZnO particles were incorporated using different amounts of water, potentially leading to variations in their dispersion within the PA polymer. These variations may, in turn, impact ZnO dissolution and diffusion properties.

Therefore, this study focuses on synthesizing ZnO/PA composites under different synthesis conditions to evaluate their effectiveness against *C. ammoniagenes* and assess their potential application in urinary incontinence supplies.

2. Material and methods

2.1. Synthesis of the ZnO/PA composites

The ZnO/PA composites were synthesized by incorporating ZnO powder (hexagonal wurtzite structure, 99.6 % purity, Baker) into a deionized water dispersion of PA (100 % purity, Sigma-Aldrich). The dispersion was stirred continuously for 15 min. The volumes of water used in the dispersions were adjusted to saturate the porous volume of the PA polymer (i.e., the amount of deionized water needed to completely swell the PA pores) for one experiment, and half that volume for another experiment, resulting in samples labeled as ZnO/PA-FW (full water) and ZnO/PA-HW (half water), respectively. The pore swelling degree of the PA polymer was determined following the method reported by Mahon et al. [20]. Briefly, 700 mg of PA were placed in a beaker, and deionized water was added gradually until the polymer reached saturation. The polymer exhibited a maximum swelling capacity of 300 mL water resulting in a ratio of 0.43 L/g (full water retention capacity). This variation in water content aimed to investigate the distribution of ZnO particles within the PA polymer under both non-saturated and saturated conditions. The mass ratio of ZnO to PA was set at 30:70.

Subsequently, the resulting slurry mixture underwent ultrasonication using Elmasonic P30H equipment at 390 W and 80 kHz for 30 min. The solids were then recovered by decantation, thoroughly washed with deionized water, and dried in an oven at 60 °C overnight.

2.2. Materials characterization

2.2.1. X-ray diffraction

X-ray diffraction analysis was performed using a Bruker D8 Discover apparatus with a copper anode and a LynxEye-type detector. Diffraction data were collected in the Bragg–Brentano θ – 2θ geometry configuration. The scanning range covered 5°–70°, with a step angle of 0.025° and an integration time of 36 s.

2.2.2. Fourier transform infrared spectroscopy

A Digilab Excalibur FTS 3000 apparatus, equipped with a deuterated

triglycine sulfate detector, was used to obtain Fourier transform infrared (FTIR) spectra to identify the functional groups present in the ZnO, PA, and composites. The scanning range was set from 4000 to 400 cm^{-1} , with 52 scans performed at a resolution of 2 cm^{-1} . The analyses were conducted using wafers composed of 10 wt% of the sample mixed with KBr salt (spectroscopic grade).

2.2.3. Nitrogen physisorption

A Micromeritics ASAP 2020 apparatus was used to determine the textural characteristics of the ZnO, PA, and composites using the nitrogen physisorption technique. Prior to the analysis, samples were pre-treated at 150 °C for 6 h under a vacuum pressure of 30 μmHg . Subsequently, nitrogen adsorption measurements were conducted within the relative pressure range P/P_0 of 0.0005–0.99. The pore size distributions were determined using the Barrett–Joyner–Halenda (BJH) model applied to the nitrogen desorption isotherm.

2.2.4. Scanning electron microscopy with a field emission gun

The morphology of the composites was characterized using a Mira 3 Teacan scanning electron microscope equipped with a field emission gun (FEG-SEM). Prior to analysis, the samples were coated with gold to prevent charge buildup. Semi-quantitative local compositions were obtained via energy dispersive X-ray spectroscopy (EDS) using an X-Max 50 detector from Oxford Instruments, which features a silicon drift detector.

2.3. Antibacterial activity tests

The effectiveness of the ZnO/PA composites as antibacterial agents against *C. ammoniagenes* was assessed by determining the colony-forming units (CFUs) through serial dilution [13] to ascertain the minimum inhibitory concentration (MIC). Since no studies on the antibacterial activity of ZnO against the aforementioned bacterium existed, it was necessary to first evaluate its activity and determine the MIC. The test procedure was as follows: a pre-inoculum of the *C. ammoniagenes* strain (ATCC-6871; Científica Senna S.A. de C.V., Mexico) was prepared and incubated at 37 °C for 24 h. A positive control (C+) containing 70 μL of pre-inoculum with *C. ammoniagenes*, corresponding to 3.0×10^9 CFU/mL, and a negative control (C-) consisting of Luria-Bertani (LB) broth were placed in separate Erlenmeyer flasks and incubated in an orbital incubator at 110 rpm at 37 °C for 24 h.

Subsequently, aliquots of 1 mL were pipetted from the solution in each flask to measure their optical density at a wavelength of 625 nm (OD625) using a UV–Vis spectrophotometer (Velab, model VE-5600UV) at various intervals.

Tests with ZnO were conducted at concentrations of 0.16, 0.20, 0.25, 0.50, and 1 mg/mL in separate Erlenmeyer flasks. The flasks were then placed in an orbital incubator at 110 rpm and 37 °C for 48 h. Aliquots of 1 mL were taken from the solution in each flask at 6, 24, 27, 30, and 48 h to measure their optical density.

For the antibacterial evaluation of the ZnO/PA composites, the same procedure as for ZnO was followed, but with a concentration of 1.66 mg/mL. This concentration was based on the MIC of ZnO at 24 h (0.16 mg/mL). The amount of ZnO used to form the composite was 0.16 mg, with ZnO representing 30 % of the composite and the remaining 70 % corresponding to PA (1.50 mg). Similarly, a concentration of 3.22 mg/mL was calculated based on the MIC of ZnO at 48 h (0.50 mg/mL); therefore, 0.50 mg was taken with 30 % ZnO and 70 % PA (2.72 mg). For reproducibility, assays were performed in triplicate for each sample concentration.

3. Results

3.1. Samples characterization

3.1.1. X-ray diffraction

Fig. 1SM(a)(Supplementary Material) illustrates the XRD patterns of ZnO, PA, and the composites. As expected, no diffraction peaks were observed for PA, indicating its amorphous nature [21]. In contrast, ZnO exhibited diffraction peaks characteristic of this oxide, consistent with the Joint Committee on Powder Diffraction Standards Card 36-1451.

The X-ray diffractograms of the composites (ZnO/PA-HW and ZnO/PA-FW) were similar; the peaks attributed to the ZnO component matched those of the oxide. This result suggests that introducing ZnO into the PA did not alter the amorphous character of the polymer, confirming the successful incorporation of the oxide onto the polymer support.

3.1.2. FTIR spectroscopy

Fig. 1SM(b)(Supplementary Material) compares the FTIR spectra of ZnO and PA with those of the ZnO/PA-HW and ZnO/PA-FW composites. In the PA FTIR spectrum, an intense and broad band appears in the range of $3770\text{--}3070\text{ cm}^{-1}$, corresponding to the stretching vibrations of hydroxyl (-OH) groups from adsorbed water. The broadness of this band indicates the disordered arrangement of the adsorbed water molecules. Additionally, a band with a minimum at 2937 cm^{-1} correlates with C-H bonds, while the band at 1570 cm^{-1} corresponds to the symmetrical stretching vibrations of carboxylate (COO^-) ions. The band at 1043 cm^{-1} corresponds to O-Na bonds [22].

The ZnO FTIR spectrum reveals an intense band at 490 cm^{-1} , corresponding to Zn-O bonds, and a less intense band around 3500 cm^{-1} , attributed to -OH groups from adsorbed water [23]. The FTIR spectra of the ZnO/PA-HW and ZnO/PA-FW composites show characteristic bands corresponding to both PA and ZnO, confirming the formation of new

materials.

3.1.3. Scanning electron microscopy with field emission gun

Fig. 1 shows the FEG-SEM micrograph of the ZnO/PA-FW composite. At a magnification of $1\text{k} \times$ (Fig. 1a), ZnO, identified by small white particles, is heterogeneously dispersed over the PA, which appears as large blocks with very smooth surfaces and a darker color. Additionally, some PA particles are completely covered with ZnO. At higher magnifications (Fig. 1b and c), the ZnO reveals its crystalline structure, composed mainly of hexagonal plates or rods, some of which interpose the PA, while others are fully embedded within it.

The FEG-SEM micrographs of the ZnO/PA-HW composite reveal a notably different integration of ZnO with the PA support. At a magnification of $1\text{k} \times$ (Fig. 1d), ZnO extensively covers the surfaces of the PA blocks. At higher magnifications (Fig. 1e and f), the ZnO particles appear densely agglomerated over the PA surface, forming thick layers with minimal spacing between them, resembling cracks or crevices. In this case, the interaction between the components is less evident, suggesting a weaker bond between ZnO and PA, as the majority of ZnO particles are in contact with each other.

3.1.4. Energy dispersive X-ray spectroscopy

EDS analyses were conducted at selected points of the samples, as shown in the FEG-SEM micrographs in Fig. 2a for ZnO/PA-FW and Fig. 2b for ZnO/PA-HW. Table 1 presents the semi-quantitative elemental chemical compositions of Zn, O, and C at the surface for both composites.

For the ZnO/PA-FW composite, the compositions obtained from points a and b are rich in Zn and O, confirming that the white particles consist of ZnO and are dispersed on the PA surface, which is characterized by a higher concentration of C, as observed in points c and d. A similar behavior was observed for the ZnO/PA-HW composite; however, at the selected point b, situated at a higher relief, the Zn composition is

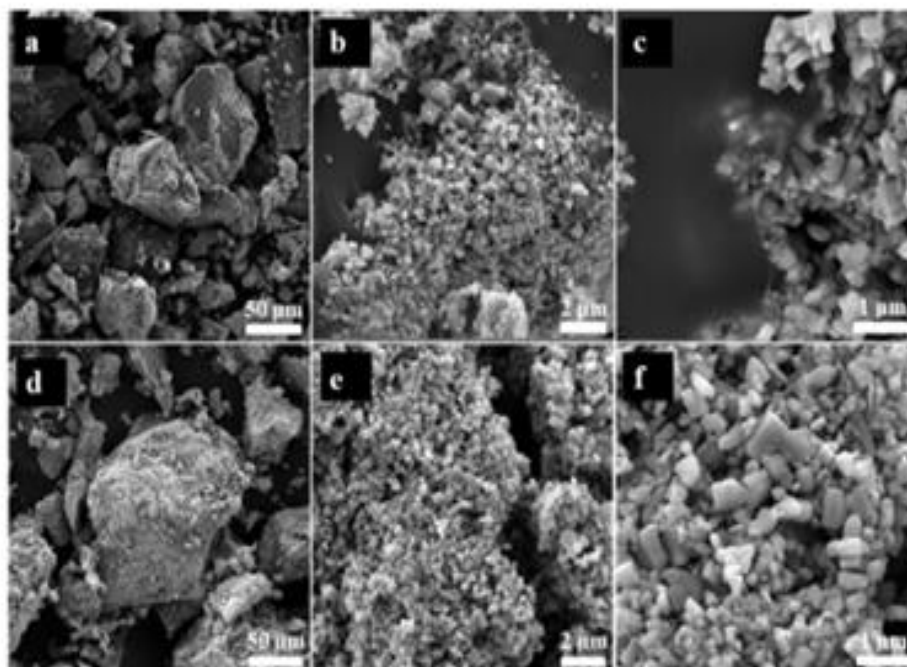


Fig. 1. FEG-SEM micrographs of the ZnO/PA-FW composite at magnifications of (a) $1\text{k} \times$, (b) $20\text{k} \times$, and (c) $50\text{k} \times$. FEG-SEM micrographs of the ZnO/PA-HW composite at magnifications of (d) $1\text{k} \times$, (e) $20\text{k} \times$, and (f) $50\text{k} \times$.

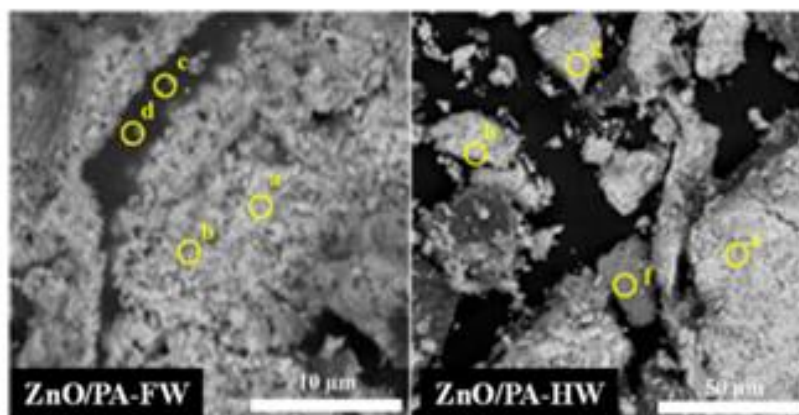


Fig. 2. Selected points in the FEG-SEM micrographs of the ZnO/PA-FW and ZnO/PA-HW composites, which underwent surface chemical analysis using EDS. The elemental compositions are reported in Table 1.

Table 1

Semi-quantitative surface elemental compositions (in wt%) of the ZnO/PA-HW and ZnO/PA-FW composites, obtained using the EDS technique at the selected points shown in Fig. 2.

Element	Selected points							
	ZnO/PA-FW				ZnO/PA-HW			
	a	b	c	d	e	f	g	h
Zn	84	78	18	12	73	60	62	95
O	10	14	30	33	16	39	15	6
C	5	5	44	35	9	10	11	4

maximal. This is consistent with the fact that, in the ZnO/PA-HW composite, most of the ZnO covers the surface of the PA, unlike the ZnO/PA-FW composite, where thinner ZnO layers cover the PA. Additionally, it can be inferred that the remaining ZnO is located within the porous channels of the PA.

3.1.5. Nitrogen physisorption

The nitrogen physisorption isotherm of ZnO (Fig. 2SM(a)) exhibited a profile characteristic of a dense, nonporous solid [24]. In contrast, the isotherm of PA showed the absence of nitrogen adsorption, confirming its macroporous structure. The isotherms of ZnO/PA-HW and ZnO/PA-FW were similar, but distinct from those of ZnO and PA, as significant adsorption-desorption loops appeared, indicating the formation of mesoporosity. The pore size distribution curves in Fig. 2SM(b) reflect this mesoporosity. As expected, PA does not show peaks corresponding to pores with diameters in the microporous or mesoporous ranges. For ZnO, two peaks appear at pore diameters of 34 and 80 Å, which are attributed to the porosity formed between particles [25].

Upon introducing ZnO into PA, the ZnO/PA-HW composite displays, on one hand, the same pore sizes between 34 and 80 Å, corresponding to the ZnO interparticle mesoporosity, and, on the other hand, the presence of peaks with pore diameters ranging from 20 to 25 Å, indicating microporosity. The ZnO/PA-FW composite, however, exhibits a more intense peak in the microporosity region and less intense peaks in the mesoporosity region, resulting in lower overall microporosity and mesoporosity compared to the ZnO/PA-HW composite.

The increase in microporosity for the composites compared to the pristine ZnO and PA correlates with the specific surface area measurements. As expected, the specific surface area of PA is zero, given that this compound lacks microporosity and mesoporosity. The specific surface

area of ZnO is 4.4 m²/g, while the ZnO/PA-HW and ZnO/PA-FW composites exhibit values of 0.8 and 2.5 m²/g, respectively. The lower surface areas of the composites compared to pristine ZnO can be attributed to the interaction between the ZnO particles and the PA support. When the ZnO particles anchor to the PA surface, either in the pores or on the outer surface, the areas of the ZnO particles that come into contact with the PA are no longer available to adsorb nitrogen molecules, resulting in a decrease in specific surface area.

Comparing the surface areas between the composites, the higher surface area found for ZnO/PA-FW may be due to the fact that, in this sample, most of the ZnO particles are located inside the PA pores, promoting an expansion of the PA chains. In contrast, for the ZnO/PA-HW composite, the ZnO particles remain mostly on the external surface of the PA and, therefore, cannot promote the expansion of the PA chains.

The characterization results presented thus far demonstrate that new composites can be successfully obtained using the employed synthesis methods. However, differences in structure, texture, and morphology were observed, which can be directly attributed to the amount of water used in the preparations. Specifically, for the ZnO/PA-HW composite, the ZnO particles remained mostly on the external surface of the PA, whereas, for the ZnO/PA-FW composite, most of the ZnO particles were located within the PA pores.

3.2. Antibacterial activity tests

Before evaluating the antibacterial activity of the composites against *C. ammoniagenes*, it was first necessary to determine whether ZnO was effective against this bacterium. If so, its MIC needed to be established, as this concentration would be incorporated into the PA component.

The MIC of pristine ZnO against *C. ammoniagenes* was determined using ZnO concentrations of 0.16, 0.20, 0.25, 0.50, and 1.00 mg/mL. Fig. 3a illustrates the bacterial growth in the positive control (*C.*, *C. ammoniagenes*), the negative control (*C.*, LB agar), and *C. ammoniagenes* exposed to different ZnO concentrations over time. In the absence of ZnO, *C. ammoniagenes* exhibited rapid growth, increasing from an initial concentration of 3.0×10^5 CFU/mL (in LB broth) to 9.0×10^7 CFU/mL within 24 h, followed by a slower increase to 1.1×10^8 CFU/mL at 48 h. This characteristic growth pattern — an initial rapid phase followed by a slower phase — is attributed to the progressive depletion of nutrients in the medium, as reported by Gonzalez and Aranda [26].

In the presence of ZnO particles, complete inhibition of *C. ammoniagenes* growth was observed at all tested concentrations

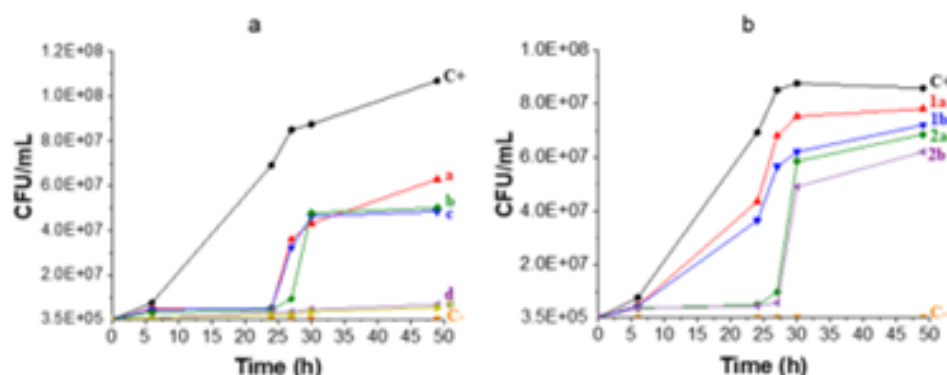


Fig. 3. (a) Growth of *C. amonitigenes* over time in the presence of ZnO at different concentrations: (a) 0.16, (b) 0.20, (c) 0.25, (d) 0.50, and (e) 1.00 mg/mL, compared to the negative control (C-) and positive control (C+). (b) Growth of *C. amonitigenes* over time in contact with (1) ZnO/PA-HW and (2) ZnO/PA-FW composite at concentrations of (a) 1.66 mg/mL and (b) 3.22 mg/mL, alongside the negative control (C-) and positive control (C+).

within 24 h. The MIC was determined as the lowest concentration at which no bacterial growth occurred, which in this case was 0.16 mg/mL. As expected, the negative control (LB agar) showed no bacterial inhibition throughout the study period. After 48 h of exposure, higher ZnO concentrations of 0.50 and 1.00 mg/mL were required for complete bacterial inhibition, establishing a MIC of 0.50 mg/mL at 48 h.

These findings suggest that for ZnO to be effective in urinary incontinence products, a concentration of 0.16 mg/mL is sufficient to inhibit *C. amonitigenes* growth for up to 24 h. However, for products designed for 48 h use, a higher concentration of 0.50 mg/mL is required.

For the composite concentrations of 1.66 and 3.22 mg/mL, the ZnO/PA-FW and ZnO/PA-HW composites were studied. These concentrations were chosen based on the MICs of 0.16 and 0.50 mg/mL determined for pristine ZnO at 24 and 48 h, respectively. At the 24 h mark, the growth curve of *C. amonitigenes* mirrored the previously reported behavior; however, after 24 h, the colony concentration stabilized at approximately 8.0×10^7 CFU/mL.

At 24 h, the growth profiles of *C. amonitigenes* in the presence of the ZnO/PA-HW composite at both concentrations (1.66 and 3.22 mg/mL) resembled that of the control. However, a significant reduction in bacterial colony growth was observed, reaching approximately 4.0×10^7 CFU/mL, corresponding to a 50 % decrease in bacterial growth. In contrast, the ZnO/PA-FW composite was significantly more effective, achieving complete inhibition at 24 h for both studied concentrations (1.66 and 3.22 mg/mL), establishing an MIC of 1.66 mg/mL.

From 24 to 48 h, bacterial growth increased significantly, reaching approximately 5.0×10^7 CFU/mL for both composites at both concentrations. Therefore, an MIC of 1.66 mg/mL can be considered for the ZnO/PA-FW composite at 48 h, corresponding to an approximate 33 % reduction in bacterial growth.

4. Discussion

Although both ZnO/PA composites had the same chemical composition — the same amount of ZnO incorporated into the PA — the method of impregnating the ZnO into the polymeric matrix differed significantly. This resulted in samples with distinct structures, morphologies, and textures. In the ZnO/PA-FW composite, the majority of ZnO particles were located inside the macropores of the PA. Conversely, in the ZnO/PA-HW composite, most of the ZnO particles were found on the external surface of the PA. The only difference in the synthesis methods was the amount of water used for PA dispersion. In the case of ZnO/PA-FW, the water volume was sufficient to completely fill the PA pores, facilitating ZnO diffusion into them. In contrast, the ZnO/PA-HW

composite was synthesized with only half the amount of water required to fill the PA pores, hindering ZnO diffusion and causing most of the ZnO to agglomerate on the external surface of the PA.

Thus, the disparity in ZnO distribution within the PA matrix was responsible for the differing levels of antibacterial activity against *C. amonitigenes*. In fact, the solubility and bactericidal efficacy of ZnO depended on its degree of impregnation within the material. The polymeric matrix has a basic pH [27], which promoted greater ZnO dissolution in the ZnO/PA-FW material. Notably, the most effective composite was ZnO/PA-FW, which achieved complete bacterial inhibition after 24 h of contact, with an MIC of 1.66 mg/mL. The PA itself exhibited no inherent antibacterial activity against *C. amonitigenes*; therefore, all observed antibacterial effects in the ZnO/PA composites must be attributed to the ZnO. It is worth noting that other authors [28] have demonstrated the antimicrobial inertness of the PA polymer when tested against various bacteria and fungi.

ZnO is known for its strong oxidizing nature, capable of oxidizing water molecules or hydroxide anions to generate reactive oxygen species (ROS), including hydroxyl radicals, hydroperoxide radicals, and superoxide radical anions, all of which are key to its bactericidal action [29].

The antibacterial mechanism of ZnONPs involves adsorption onto the bacterial surface, forming various intermediates and electrostatic interactions with bacterial cell membranes. These interactions induce oxidative stress in bacteria via ROS generated by the ZnONPs, inhibiting protein synthesis and DNA replication, destabilizing cytoplasmic membrane charges, and causing membrane rupture [30]. Additionally, the dissolution of ZnONPs releases Zn^{2+} ions, damaging the cytoplasmic membrane [31]. This mechanism is particularly effective with small ZnO particles due to their significant electrostatic interactions.

In the present study, however, the ZnO particles were larger than ZnONPs, and they were embedded within the PA, suggesting a different mechanism of antibacterial action, likely due to weaker electrostatic interactions between the cell membranes and the ZnO particles within the PA matrix. Thus, we propose a two-step mechanism for bacterial inhibition by ZnO/PA composites.

- (i) The first step is the dissolution of ZnO in aqueous media: ZnO dissolves slowly in water but more readily in acidic conditions, similar to human urine, which typically has a pH ranging from 5.5 to 6.0 [32]. Contact with urine promotes the dissolution of ZnO within the PA, releasing Zn^{2+} and O^{2-} ions. Zn^{2+} ions, known for their oligodynamic effect, exhibit significant activity against various microorganisms [33]. Meanwhile, the O^{2-} ions react with water to form ROS.

- (ii) The second step is the interaction of Zn^{2+} ions and ROS with the bacterial structure: the generated ROS and Zn^{2+} ions induce oxidative stress within the bacterial cell, inhibiting protein synthesis and DNA replication [34]. Furthermore, Zn^{2+} ions can obstruct the membrane pores of the bacteria, leading to cell death by starvation or suffocation [35]. The interaction mechanism between the ZnO/PA composites and *C. amnis* bacteria is depicted in Scheme 1.

The higher efficacy exhibited by the ZnO/PA-FW composite can be attributed to an improved mode of contact between the bacteria and ZnO. A hypothetical explanation for this contact mode considers the differences in the locations of ZnO particles within the PA. When evaluating their use as urinary container supplies, potential interaction mechanisms can be proposed (Scheme 2).

In the ZnO/PA-FW composite, *C. amnis* bacteria present in human urine diffuse through the PA pores to interact with the ZnO stored inside, allowing sufficient time for decomposition and the release of ions necessary to attack the bacteria (Scheme 2A). Conversely, in the ZnO/PA-HW composite, contact between the microorganisms and the ZnO located on the external surface of the PA is expected to be brief, as urine rapidly flows over the superficial ZnO through the polymer's macropores, resulting in insufficient contact time for ZnO decomposition (Scheme 2B). Additionally, the ZnO/PA-HW composite, with a thick ZnO layer on the external surface of the PA, may hinder bacterial diffusion into the PA pores, leading to microorganism accumulation on the PA particle surface. This ZnO layer acts as a shell, preventing PA interaction with the inhibitory component.

The amount of ZnO required to inhibit *C. amnis* was remarkably low, with a MIC of 0.16 mg/mL (equivalent to 0.13 mg/mL of Zn), compared to the 7.96 mg/mL of Zn contained in 20 mg/mL of the LDH material reported by León-Vallejo et al. [13]. The ZnO/PA-FW composite was more than 60 times more active than Zn-LDH clay, highlighting the exceptionally high performance of the novel composite presented in this work. Moreover, the synthesis process of this composite may be more economically attractive, as ZnO is less expensive than

Zn-LDH clays. Also, Zn exhibits low cytotoxicity in humans [36], and given the small amount present in the composites, it could likely be used safely in urinary container supplies.

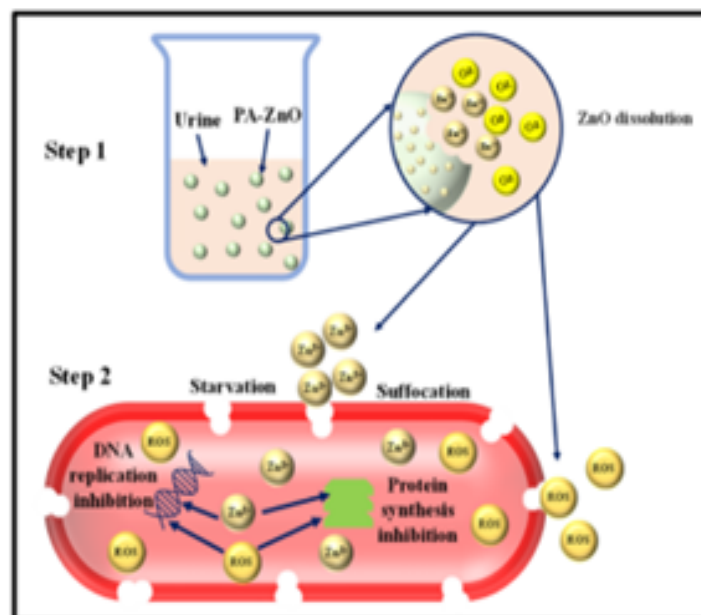
Indeed, one of the main concerns when using ZnO in medical devices is its potential cytotoxicity. While ZnO has shown promising antimicrobial activity, studies have indicated that high concentrations or prolonged exposure to ZnO may result in cell damage, inflammatory responses, or oxidative stress [37,38]. However, when embedded in polyacrylate, the release of ZnO particles can be controlled, mitigating these risks. Moreover, the polymer matrix does not harm the skin [39] and, furthermore, limits the direct interaction between the ZnO particles and surrounding tissues, thereby reducing the potential for adverse reaction.

Additionally, the biocompatibility of ZnO/polyacrylate composites depends on the synthesis methods and the concentration of ZnO used. Research has shown that low to moderate concentrations of ZnO tend to exhibit favorable skin biocompatibility, while higher concentrations may provoke immune responses [40]. Therefore, the ZnO contents found in this work to integrate the composites were crucial for achieving a balance between antimicrobial efficacy and safety.

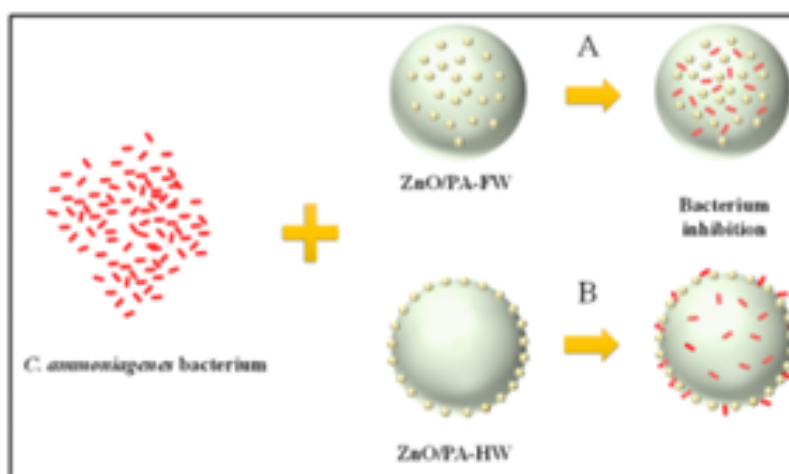
Although the developed materials demonstrate high efficacy against *C. amnis*, their performance in urinary incontinence supplies for retaining human urine may be reduced. This is because their adsorption capacity could be affected by the ionic composition and organic content of the fluid, which may induce electrostatic anion repulsion and unfavorable osmotic gradients at the polymer-solution interface. Moreover, the composition of urine varies significantly between individuals, which may further influence these effects [20].

5. Conclusions

Two novel composites were synthesized by impregnating ZnO into PA dispersions with different water contents and tested against *C. amnis* bacterium for potential use in urinary incontinence products. Although both composites exhibited antibacterial activity, ZnO/PA-FW — synthesized with higher water content — was more



Scheme 1. Proposed mechanism of action for bacteriostatic inhibition by the ZnO/PA composite.



Scheme 2. Diagram of the bacterial inhibition mechanism for ZnO/PA-FW and ZnO/PA-HW composites: (A) ZnO particles located within the PA pores (ZnO/PA-FW) enhance ZnO dissolution in the presence of human urine, leading to a faster release of Zn^{2+} and O^{2-} ions and, consequently, higher antimicrobial activity; (B) in ZnO/PA-HW, where most ZnO particles are positioned on the external surface of the PA, the interaction between human urine and bacteria is minimal, resulting in low ZnO dissolution and weaker bacterial inhibition.

effective, showing a remarkably low MIC of 1.66 mg/mL at 24 h with total bacterial inhibition and 50 % partial inhibition at 48 h. Its superior antimicrobial activity was attributed to enhanced interactions between microorganisms and ZnO, facilitated by the dispersion of ZnO particles within the PA pores.

The composites introduced in this study, particularly the one synthesized with highly diluted PA, present a novel approach to combat *C. ammoniigenes* microorganisms. These composites have the potential to eliminate odors, prevent allergies and inflammation, and reduce the risk of secondary skin infections when used in the formulation of urinary incontinence supplies. Nevertheless, from a clinical perspective, careful monitoring of ZnO/PA composites synthesized in this work is needed to ensure their safety. *In vitro* and *in vivo* studies, as well as clinical trials, should be conducted to evaluate the long-term effects of these materials on human tissues. These aspects will be studied in future research.

CRediT authorship contribution statement

Mónica Cruz-Hernández: Writing – original draft, Validation, Methodology, Investigation. **Franchescoli D. Velázquez-Herrera:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Validation, Supervision, Methodology, Investigation, Conceptualization. **Gerardo Landeta:** Writing – review & editing, Validation, Methodology, Investigation, Conceptualization. **Marcelo Giovanela:** Writing – review & editing, Validation, Methodology, Conceptualization. **Janaina da Silva Crespo:** Writing – review & editing, Validation, Methodology, Conceptualization. **Geolar Fetter:** Writing – review & editing, Writing – original draft, Visualization, Validation, Supervision, Investigation, Conceptualization.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Acknowledgements

Financial support from the VIEP/BUAP project is acknowledged. M. Cruz-Hernández and F. D. Velázquez-Herrera express their gratitude to CONACYT (Mexico) for the fellowships. J. S. Crespo and M. Giovanela

gratefully acknowledge financial support from CNPq.

Appendix A. Supplementary data

Supplementary data to this article can be found online at <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2025.107563>.

Data availability

Data will be made available on request.

References

- [1] L.E. Nicolle, Urinary tract infections in long-term care facilities, *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 14 (1989) 220–225, <https://doi.org/10.1017/S0149732>.
- [2] V. Hsu, S. Chen, J. Wang, G. Liu, S. Wu, Y. Tao, Isolating promoters from *Corynebacterium ammoniigenes* ATCC 6871 and application in CoA synthesis, *BMC Biotechnol.* 19 (2019) 76, <https://doi.org/10.1186/s12896-019-0568-9>.
- [3] M. Gray, J.M. Black, M.M. Baharwal, D.Z. Ellis, J.C. Cobelli, M. Goldberg, K. L. Kennedy-Evans, S. Logan, C.R. Radtke, Moisture-associated skin damage, *J. Wound, Ostomy Cont. Nurs.* 38 (2011) 233–241, <https://doi.org/10.1097/WON.0b013e3182157996>.
- [4] D. Voegelé, Incontinence-associated dermatitis: new insights into an old problem, *Br. J. Nurs.* 25 (2016) 256–262, <https://doi.org/10.12968/bjon.2016.25.5.256>.
- [5] M.A. Farago, K.W. Miller, E. Berardesca, H.I. Malhotra, Incontinence in the aged: contact dermatitis and other cutaneous consequences, *Contact Dermatitis* 57 (2007) 211–217, <https://doi.org/10.1111/j.1409-0506.2007.01199.x>.
- [6] C. Li, X. Zhu, Y. Dai, Diaper dermatitis: a survey of risk factors for children aged 1–24 Months in China, *J. Int. Med. Res.* 40 (2012) 1752–1760, <https://doi.org/10.1177/03000665124490514>.
- [7] R. Ozal, L.H. Skornos, U. Ronald, A. Balda, A. Myklesas, E. Kubry, Pad per day usage, urinary incontinence and urinary tract infection in nursing home residents, *Age Aging* 39 (2010) 549–554, <https://doi.org/10.1093/ageing/afq082>.
- [8] V. Buchta, A. Grolli, F. Dorziel, A. Benmansour, M. Bernold, A new approach for assessing the absorption of disposable baby diapers and superabsorbent polymers: a comparative study, *Results Mater.* 9 (2020) 100156, <https://doi.org/10.1016/j.results.2020.100156>.
- [9] E. Turos, J.-Y. Shin, Y. Wang, K. Greenhalgh, G.S.K. Reddy, S. Dickey, D.V. Lim, Antibiotic-conjugated polycrylate nanoparticles: new opportunities for development of anti-MRSA agents, *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 17 (2007) 53–56, <https://doi.org/10.1016/j.bmcl.2006.09.048>.
- [10] Y. Xie, Y. He, P.L. Irwin, T. Ju, X. Shi, Antibacterial activity and mechanism of action of zinc oxide nanoparticles against *Campylobacter jejuni*, *Appl. Environ. Microbiol.* 77 (2011) 2325–2331, <https://doi.org/10.1128/AEM.02449-10>.
- [11] H. Mohd Yusof, R. Mohamad, U.H. Zakaria, N.A. Abdul Rahman, Microbial synthesis of zinc oxide nanoparticles and their potential application as an antimicrobial agent and a feed supplement in animal industry: a review, *J. Anim. Sci. Biotechnol.* 10 (2019) 57, <https://doi.org/10.1186/s40104-019-0368-z>.

- [12] U.O. Akhbar, D.A. Gellera, Green synthesis of metal oxide nanoparticles, and their various applications, *J. Hazard. Mater. Adv.* 13 (2024) 100401, <https://doi.org/10.1016/j.jhama.2024.100401>.
- [13] A.M. León-Villalón, F.D. Velázquez-Herrero, Á. Sanjaqui, G. Landeta-Camde, G. Ferrer, Study of layered double hydroxides as bactericidal materials against *Caryophacterium ananostomum*, a bacterium responsible for producing bad odors from human urine and skin infections, *Appl. Clay Sci.* 180 (2019) 105194, <https://doi.org/10.1016/j.clay.2019.105194>.
- [14] V.S. Priyanka, M.K. Murai, M.A. Rahman, Biocidal properties of zinc oxide-titanium dioxide-graphene oxide nanocomposites via one-pot facile precipitation method, *Biotechnology* 12 (2022) 41–48, <https://doi.org/10.1007/s12668-021-00919-1>.
- [15] S.N. Bhatia, Y. Zhang, Recent advances of zinc-based antimicrobial materials, *Chem. Asian J.* 16 (2021) 2548–2595, <https://doi.org/10.1002/asia.202100656>.
- [16] M. Yazdani Eshkolaki, E. Mousavi Jeurkayeh, M. Foadi Ghassami, H. Zaremi, H. Zahraei-Nia, R. Razi, ZnO-Rutile nanostructure as a potent antibiofilm agent against *Pseudomonas aeruginosa*, *Microb. Pathog.* 198 (2025) 107156, <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2024.107156>.
- [17] H. Auner, S.-K. Kim, J.-M. Oh, H. Park, Y.-M. Jo, ZnO-impregnated polyacrylonitrile nanofiber films against various phases of air pollutants, *Nanomaterials* 11 (2021) 2313, <https://doi.org/10.3390/nano11092313>.
- [18] A. Pal, T.K. Dey, A. Singhal, R.C. Mandal, P.K. Tewari, Nano-ZnO impregnated inorganic-polymer hybrid thin film nanocomposite nanofiltration membranes: an investigation of variation in structure, morphology and transport properties, *RSC Adv.* 5 (2015) 34134–34151, <https://doi.org/10.1039/C4RA14854A>.
- [19] A.M. Asiri, V. Pugliese, G. Coppola, S.R. Khan, K.A. Almarry, S.Y. Alfaraj, H. M. Marwani, M.M. Alotaibi, F. Pennino, S. Chakraborty, Zinc oxide nanoparticles immobilized on polymeric porous matrix for water remediation, *Emergent Mater.* 7 (2024) 1531–1544, <https://doi.org/10.1007/s42447-024-00728-6>.
- [20] R. Mahon, Y. Biliqun, G. Olajemi, J. Njaguna, Swelling performance of sodium polyacrylate and poly(acrylamide-co-acrylic acid) potassium salt, *SN Appl. Sci.* 2 (2020) 117, <https://doi.org/10.1007/s42447-020-1874-5>.
- [21] G. Arinopoulos, A. Karakostas, M. Balkoui, C. Gioti, D. Moschou, A. Angelopoulos, A.B. Rozafinos, A.P. Douzalis, C.E. Sotiras, M.A. Karakostas, Nanoporous carbon magnetic hybrid derived from waterlock polymer and its application for hexavalent chromium removal from aqueous solution, *Chimia* 7 (2021) 68, <https://doi.org/10.2590/20440694>.
- [22] S. Khandai, M.A. Dabó, Reaction monitoring of in situ formation of poly(sulfamerylate)-based nanocomposites using ATR-FTIR spectroscopy, *Ind. Eng. Chem. Res.* 54 (2015) 5598–5603, <https://doi.org/10.1021/acs.iecr.5b09415>.
- [23] A. Beheri, M. Dier, P. Lo Nostro, P. Baglioni, Synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles: application to textiles as UV-absorbers, *J. Nanoparticle Res.* 10 (2008) 679–689, <https://doi.org/10.1007/s11051-007-9318-3>.
- [24] G. Becharri, S. Sayadi, H. Najjar, Photocatalytic degradation of bisphenol A in the presence of C-doped ZnO: effect of operational parameters and photodegradation mechanism, *J. Ind. Eng. Chem.* 32 (2015) 201–208, <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2015.06.017>.
- [25] Y. Zhang, J. Cheng, J. Luo, J. Myeong, S. Lin, Synthesis of ZnO nanospheres with uniform nanosize by a hydrothermal process, *J. Phys. Chem. Solid.* 72 (2011) 1549–1553, <https://doi.org/10.1016/j.jpc.2011.04.016>.
- [26] J.M. Gonzalez, B. Aranda, Microbial growth under limiting conditions: future perspectives, *Microorganisms* 11 (2023) 1640, <https://doi.org/10.3390/micro11071640>.
- [27] D. Wu, Y. Shi, K. Li, B. Wei, Y. Zhu, H. Yin, Y. Feng, Tunable viscoelastic properties of sodium polyacrylate solution via CO₂-responsive switchable worm, *Molecules* 26 (2021) 3840, <https://doi.org/10.3390/molecules26113840>.
- [28] Z. Kolarova Radkova, M. Hrabalkova, V. Sedlárik, Effect of sodium acrylate on the viscoelastic properties and stability of polyacrylate-based hydrogels for medical applications, *Int. J. Polym. Sci.* 2016 (2016) 1–6, <https://doi.org/10.1155/2016/5614687>.
- [29] Y. Sun, W. Zhang, Q. Li, H. Liu, X. Wang, Preparation and applications of zinc oxide based photocatalytic materials, *Adv. Sol. Energy Mater.* 2 (2022) 189869, <https://doi.org/10.1016/j.solmat.2022.100969>.
- [30] C.R. Mendes, G. Dilani, C.F. Farias, V. de M.R. Sampa, P.R.M. Lopes, P.R. de Moraes, R.N. Monteggia, H. Fereira, E.D. Bidoia, Antibacterial action and target mechanisms of zinc oxide nanoparticles against bacterial pathogens, *Sci. Rep.* 12 (2022) 20268, <https://doi.org/10.1038/s41598-022-04657-y>.
- [31] D. Cardoso, A. Nancy, S. Durony, Y. Chevaller, The pH dependence of dissolution kinetics of zinc oxide, *Colloids Surface A Physicochem. Eng. Asp.* 450 (2022) 128653, <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2022.128653>.
- [32] G. Martín-García, J. Rodríguez-Beltrán, J.M. Rodríguez-Martínez, C. Casas, J. Anar, A. Pascual, J. Blázquez, Urinary tract physiological conditions promote rifampicin resistance in low-level-quinolone-resistant *Escherichia coli*, *Antimicrob. Agents Chemother.* 60 (2016) 4252–4258, <https://doi.org/10.1128/AAC.00802-16>.
- [33] R. Lallo de Silva, M.F. Abuqafy, E. Berbel Manóia, J.A. Odório Junior, E.G. Chiari-Andrie, R.C.K. Pietro, L.A. Chiavacci, Relationship between structure and antimicrobial activity of zinc oxide nanoparticles: an overview, *Int. J. Nanomed.* 14 (2019) 9295–9410, <https://doi.org/10.2147/IJN.S216204>.
- [34] Haggay Agarwal, Seemay Meena, S. Venkat Kumar, S. Rajeshkumar, Mechanistic study on antibacterial action of zinc oxide nanoparticles synthesized using green route, *Chem. Biol. Interact.* 286 (2018) 60–70, <https://doi.org/10.1016/j.cbio.2018.03.008>.
- [35] M. Rosenberg, M. Vinograd, H. Ylfa, V. Kizorad, K. Kuzmen, A. Kibru, A. Iroak, Selective antibiofilm properties and biocompatibility of nano-ZnO and nano-ZnO/Ag coated surfaces, *Sci. Rep.* 10 (2020) 13478, <https://doi.org/10.1038/s41598-020-70169-w>.
- [36] J. Pali-Prociak, J. Chwamowski, A. Kucharski, M. Borach, Functionalization of textiles with silver and zinc oxide nanoparticles, *Appl. Surf. Sci.* 385 (2016) 543–553, <https://doi.org/10.1016/j.apsusc.2016.05.167>.
- [37] J. Fajkova, M. Telega, H. Hashimoto, Y. Fujita, N. Nishimoto, T. Yasuda, H. Takahata, Pro-inflammatory responses and oxidative stress induced by ZnO nanoparticles in vivo following intravenous injection, *Eur. Rev. Med. Pharmacol. Sci.* 19 (2015) 4920–4926.
- [38] L.-R. Zhao, Y.-M. Liu, Y. Jiang, Z. Yan, Zinc oxide nanoparticles induce acute lung injury via oxidative stress-mediated mitochondrial damage and NLRP3 inflammasome activation in vivo and in vivo emulsi, *Environ. Pollut.* 341 (2024) 122958, <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.122958>.
- [39] L.F. Santana, M.M.U. Chowdhury, P. Gouzeri, S. Dawe, S.A. Ghaffar, A. Haworth, C. R. Holden, A. Hollywood, G.A. Johnston, S. Kirk, A.A. Maghul, D.I. Omos, R. Parker, A. Rajeev, K. Scharrat, A. Shiba, N.M. Stone, D. Thompson, S. Wakella, H. Whitehouse, C. Wootton, D.A. Buckley, Sensitization to the acrylate-co-polymer glyceryl acrylate/acrylic acid co-polymer, sodium polyacrylate and acrylate/C10-20 alkyl acrylate cross-polymer (Carbopol®) is rare, *Contact Dermat.* 91 (2024) 491–496, <https://doi.org/10.1111/cod.14679>.
- [40] R. Fari, R.K. Moha, S. Mohanty, A. Padhi, M. Sengupta, B. Venusharan, C. Goswami, A. Samanta, Topical application of zinc oxide nanoparticles reduces bacterial skin infection in mice and exhibits antibacterial activity by inducing oxidative stress response and cell membrane disintegration in macrophages, *Nanosci. Nanotechnol. Biol. Med.* 10 (2014) 1105–1208, <https://doi.org/10.1016/j.nsnb.2014.02.012>.



Synthetic hydroxyapatites as high-performance fertilizers for lettuce plant growth

Mónica Cruz-Hernández, Franchescoli D. Velázquez-Herrera, Geolar Fetter*

Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, Facultad de Ciencias Químicas, Ciudad Universitaria, 72570, Puebla, PUE, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Lettuce
Hydroxyapatites
Porous materials
Plant nutrition

ABSTRACT

Although bone residues, constituted mainly by hydroxyapatite, have been used as fertilizers at a small scale for a long time, few studies have focused on their use as plant growth promoters. In this study, synthetic hydroxyapatites of varying compositions were produced and tested as fertilizers to promote lettuce growth in water. The results show that all synthetic hydroxyapatites, containing Ca, Ca and Mg, or Ca and K, increased lettuce height between 275 and 350% in 30 days compared to the control. The hydroxyapatite containing 30% of K was the most effective as it promoted best plants growth.

Chemical fertilizers are inorganic products, most commonly composed of nitrates, phosphates, and potassium minerals, that benefit agriculture by making nutrients readily available to plants due to their high water solubility. However, chemical fertilizers pose environmental risks, as any nutrients not immediately taken up by plants can run off causing soil acidification or leach into bodies of water, promoting eutrophication and reducing the efficiency of the applied fertilizer (Aryal et al., 2021). Other kind of compounds that are more stable in water, and hence, deliver nutrients more slowly, could be an environmentally safer alternative. Hydroxyapatite (HAp), the inorganic component of bones (Choumane et al., 2017), has a chemical formula: $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ and holds strong potential as a fertilizer due to its low water solubility and chemical composition that is rich in the plant macronutrients phosphorus and calcium (Elsayed et al., 2022). The nutrients are released from the HAp structure by decomposition in acid media, condition commonly found in soils. Also, hydroxyapatites are suitable agents for raising the soil pH and abating soil acidity (Biswas et al., 2021). Moreover, the chemical composition of HAp can be modified to introduce elements such as potassium or magnesium (Makshakova et al., 2022), which also serve as plant macronutrients and are especially important for lettuce (Lei and Engeseth, 2021). Thus, hydroxyapatites that could contain essential plant nutrients in their structures and could deliver the nutrients in a slow way so that nutrients are absorbed by plants according to their needs, could be use in replacement of the commercially inorganic fertilizers, with the advantage of being much more efficient in the retention of nutrients by the plants and, consequently, diminish or avoid environmental damages.

Thus, this work explores the synthesis of modified hydroxyapatites containing Ca and Mg or Ca and K in their structures, and the use of these hydroxyapatites as novel fertilizers for lettuce plants growth in aqueous systems.

The hydroxyapatite containing Ca only (Ca100 sample) was prepared by simultaneously mixing a 2 M $\text{Ca}(\text{OH})_2$ (Baker, 97%) solution and a 0.8 M H_3PO_4 (Baker, 95%) solution into a beaker and adjusting the flow of each solution to obtain a pH of 9. The resulting molar ratio (Ca:P) of the reactants was 1.67. The resulting mixture was sonicated in an ultrasound bath (Elmasonic P30H; Elma Schmidbauer GmbH; Singen, Germany) operating at 390 W and 80 kHz for 30 min. The solids were recovered by decantation, washed with deionized water, and dried in an oven at 70 °C for 24 h. The other samples were prepared with a similar procedure and conditions, with 15 or 30% of Ca by weight replaced by Mg (from $\text{Mg}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich, 98%) or K (from $\text{KNO}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, Sigma-Aldrich, 99%) to maintain the same (Ca + Mg or K)/P molar ratio, resulting in four samples labeled Ca85Mg, Ca70Mg, Ca85K and Ca70K, respectively.

To study the solubility behavior of the samples in water, 250 mg of material were added to 50 mL of a 0.05 M HCl (Baker, 37%) solution at a pH of 1.5. The acidic solution was used to accelerate hydroxyapatite dissolution. The mixture was maintained on a stirring plate and the pH of the solution was measured at intervals of 5 min until 130 min.

Powder X-ray diffraction patterns were determined with a diffractometer (Empyrean; Malvern Panalytical; Malvern, Worcestershire, United Kingdom), using $\text{CuK}\alpha$ radiation (1.54 Å), from 10 to 70° (2 θ) to identify the materials and their structures. The nitrogen physisorption

* Corresponding author.

E-mail address: geolar.fetter@correo.buap.mx (G. Fetter).

<https://doi.org/10.1016/j.rhisph.2023.100718>

Received 13 April 2023; Received in revised form 26 May 2023; Accepted 29 May 2023

Available online 30 May 2023

2452-2198/© 2023 Published by Elsevier B.V.

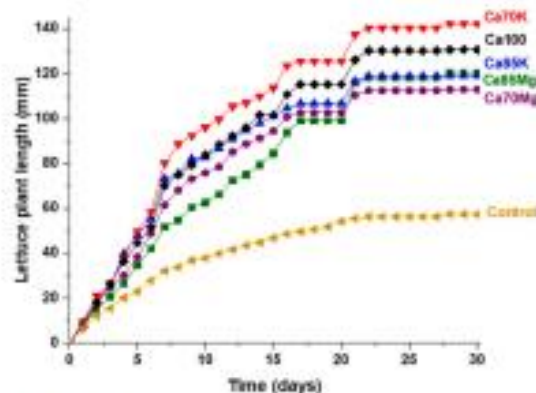


Fig. 1. Lettuce plant height (mm) over time when fertilized with hydroxyapatite of varying compositions and a control.

isotherm curves, pore size distributions, and specific surface area, determined by the BET equation, were obtained using an accelerated surface area and porosimetry system (ASAP 2020; Micromeritics, Norcross, Georgia, USA). All samples were pre-treated at 150 °C for 6 h under a high vacuum of 30 μ mHg. The pore size distributions were determined by the BJH model, as applied to the nitrogen desorption isotherm.

To evaluate the potential of the modified hydroxyapatite samples as fertilizers, one lettuce (*Lactuca sativa*) seed, purchased by Vita Nova; Querétaro, México, was germinated in a 10 mL test tube containing 1 mL of sterilized water and 15 mg of samples. The pH of the sterilized water was adjusted to 6.1 to promote the materials dissolution. The experiment was replicated ten times per hydroxyapatite composition and average values were reported. For comparison, a control sample was replicated ten times with a lettuce seed in sterilized water. Lettuce plant height, given by the shoot height, was measured daily for 30 days at ambient conditions (25/17 °C day/night temperature regime).

When lettuce seeds were grown with only sterilized water (control), the plant grew to a maximum height of 50 mm in 20 days, at which point no further growth was detected (Fig. 1). The plant growth was driven only by the nutrients stored in the seed (Tyler, 1998). Faster growth and larger lettuce plants occurred for the systems with modified samples than the control. The growth can be classified into four stages: (i) 0–15 days — fast growth fueled by nutrients from the seed and

hydroxyapatite; (ii) 15–20 days — stabilized growth due to the nutrient depletion from the seed; (iii) 20–23 days — fast growth fueled by nutrients from the hydroxyapatite samples only; and (iv) 23 and 30 days — stabilized growth due to nutrient depletion from the decreasing HAp samples dissolution rate.

Plant growth varied with the hydroxyapatite samples composition. Lettuce grown in Ca100 reached a height of 130 mm in 25 days, which remained constant until 30 days, while lettuce grew faster in Ca70K, reaching a height of 140 mm in 30 days. Lettuce growth was slower in Ca85K, Ca85Mg, and Ca70Mg, all reaching a height of approximately 110 mm in 30 days, although the lettuce grown in Ca85K had faster growth than lettuce grown in Ca85Mg or Ca70 Mg in the first 20 days. Overall, lettuce plant growth increased between 275 and 350% when grown in all hydroxyapatite samples compared to sterilized water.

The samples containing Ca and K favored more lettuce growth than those containing Ca and Mg, as higher lettuce plants were obtained in the former samples. Moreover, phenotypes characteristics as a more intense green color of the leaves or thickness of a plant stem were observed for the plants fertilized with the K containing samples, especially for the Ca70K material (Fig. 2).

The differences in the plant's development can be explained by the solubility degree of the hydroxyapatites that is dependent on structure and texture (Fig. 3). The samples containing K dissolved slower than

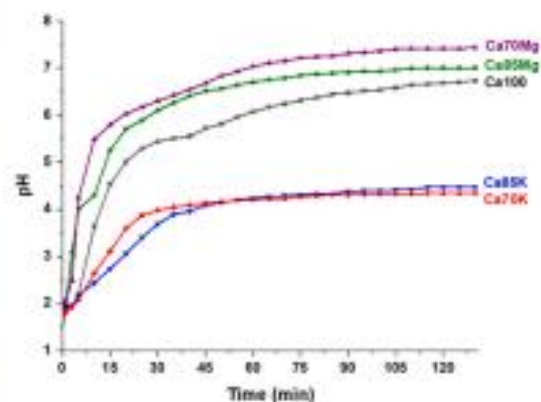


Fig. 3. Solubility curves of the hydroxyapatite samples of varying compositions in acidic medium.

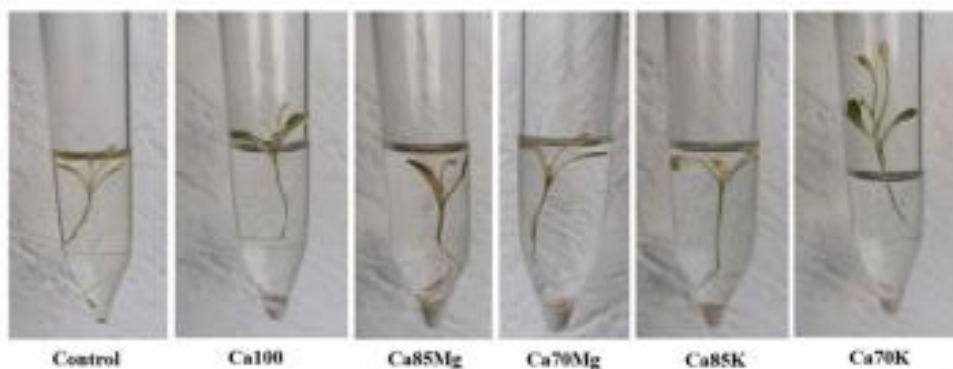


Fig. 2. Phenotypes characteristics of lettuce plants fertilized with the hydroxyapatite samples after 30 days of growth.

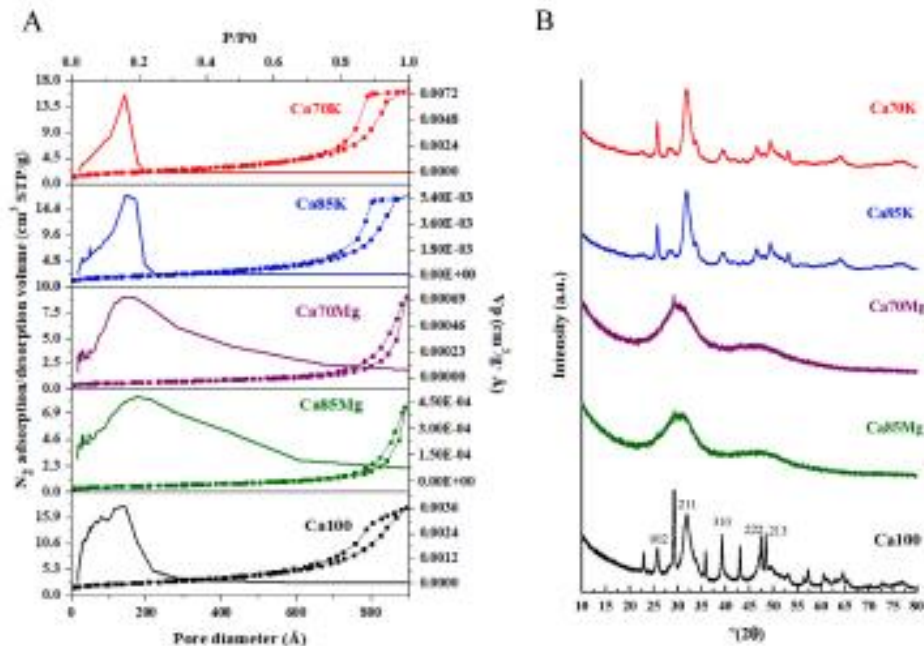


Fig. 4. A) Nitrogen physisorption isotherms and pore size distributions. B) X-ray diffraction patterns of the hydroxyapatite samples.

those containing Mg, and thus, a slower release of nutrients (P, Ca, and K) from the K containing hydroxyapatites were obtained. This promotes that the nutrients are uptake by the plants as their needs, favoring their growth.

The faster dissolution of the Mg containing samples and, hence, an easier nutrients release can be attributed mainly by their more open structures and textures, as verified by the nitrogen physisorption data (Fig. 4A).

The samples containing K exhibited type II isotherms with H4 hysteresis, corresponding to a mesoporous bottle neck shape, while those containing Mg exhibited type IV isotherms with H3 hysteresis, corresponding to slit shape pores that are characteristic of open textures. Open textures promote solubility, as water can more easily diffuse through the pores. However, the specific surface areas contradicted previous results. In decreasing order, the surface areas were 191 m²/g for Ca100, 163 m²/g for Ca70K, 152 m²/g for Ca85K, 49 m²/g for Ca70Mg, and 48 m²/g for Ca85Mg. The differences in surface area between samples containing Mg or K can be explained by the pore sizes distributions (Fig. 4A) and the crystallization degree of the materials (Fig. 4B). For the samples containing Ca only or Ca and K, the pore size diameters were between 30 and 200 Å, while those containing Mg were between 30 and 600 Å, confirming that the latter are constituted by soft textures (Fig. 4A). In these structures, the diffusion of water molecules is facilitated, and solid dissolution occurs.

The main X-ray diffraction peaks for samples Ca100, Ca85K and Ca70K occurred at 25.7°, 31.8°, 39.8°, 46.8°, and 49.5° (2θ), corresponding to the (002), (211), (310), (222), and (213) structural planes, characteristic of a polycrystalline HAp material (JCPDS card 09-0432) (Fig. 4B). However, Ca85Mg and Ca70Mg showed different diffractograms with two broad, low-intensity peaks centered at approximately 32 and 47° (2θ), which corresponded to the (211) and (222) HAp planes, implying the formation of hydroxyapatite constituted by very small

(likely nano scale) particles. In all cases, a peak appearing at 29.2° (2θ), which is more intense for sample Ca100, reveals the presence of calcite as an impurity, but no other crystalline compounds were detected, denoting that the Mg and K ions were integrated into the hydroxyapatite network. The difference in crystallinity can be attributed to the nature of the ions that replace Ca in the HAp structure. For K ions, whose diffractograms were similar to that of Ca100, the substitution of K⁺ (133 pm) for Ca²⁺ (99 pm) can occur to a low extent due to charge and ionic radius effects (Carreira et al., 1996). However, the charge difference, with the concomitant creation of anion vacancies, could limit the solubility of HAp. For Mg²⁺ (65 pm), the difference in ionic radius inhibited the formation of HAp, thus preventing crystal growth (Carreira et al., 1996) and justifying the formation of small particles in samples containing Mg.

The results found in this work provide evidence of synthetic hydroxyapatites as promising fertilizers to promote lettuce growth in aqueous media since they increased lettuce height between 275 and 350% in 30 days compared to sterilized water. Some differences exist in the hydroxyapatite structures, textures, and compositions, with the hydroxyapatite containing 30% of K the most effective for promoting lettuce growth, property assigned to a lower dissolution of this kind of modified hydroxyapatite, result of having better crystallized structure and closer porosity.

Synthesized hydroxyapatites can benefit agriculture because they are non-toxic to biotystems, and their use could be extended to hydroponic systems and soils for the production of multiple crops.

Credit author statement

The authors contributed equally to this work.

Declaration of competing interest

The authors declare that they have no known competing financial interests or personal relationships that could have appeared to influence the work reported in this paper.

Data availability

No data was used for the research described in the article.

Acknowledgements

M. Cruz-Hernández and F. D. Velázquez-Herrera thank CONACYT for the fellowships.

References

- Aryal, J.P., Sapkota, T.R., Krapak, T.J., Rehat, D.R., Jos, M.L., Stirling, C.M., 2021. Factors affecting farmers' use of organic and inorganic fertilizers in South Asia. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28, 51460–51496. <https://doi.org/10.1007/s11356-021-12671-7>.
- Brown, P.P., Liang, B., Turner-Walker, G., Rathod, J., Lee, Y.-C., Wang, C.-C., Chang, C.-K., 2021. Systematic changes of trace hydroxyapatite along a charring temperature gradient: an integrative study with dissolution behavior. *Sci. Total Environ.* 766, 142601. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.142601>.
- Choumane, F.Z., Bouguella, B., Mouchou, R., Saadi, M., 2017. Valorization of a biofloculant and hydroxyapatite as coagulation-flocculation adjuncts in wastewater treatment of the steppes in the Wilaya of Saida (Algeria). *Environ. Eng.* 107, 152–159. <https://doi.org/10.1016/j.environeng.2017.07.011>.
- Correa, R.N., Magalhães, M.C.F., Marques, P.A.A.P., Senoz, A.M.R., 1996. Wet synthesis and characterization of modified hydroxyapatite powders. *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 7, 581–585. <https://doi.org/10.1007/BF00792642>.
- Ehsayed, A.A.A., El-Gohary, A., Taha, E.E., Farag, H.M., Hussein, M.S., Abu-Atbeh, K., 2022. Hydroxyapatite nanoparticles as novel nano-fertilizer for production of rosemary plants. *Sci. Hort.* (Amsterdam). 295, 110851. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110851>.
- Lei, C., Engwerth, M.J., 2021. Comparison of growth characteristics, functional qualities, and texture of hydroponically grown and soil-grown lettuce. *Lett 150*, 111931. <https://doi.org/10.1016/j.let.2021.111931>.
- Mishra, G.N., Gafarov, M.R., Goldberg, M.A., 2022. The mutual incorporation of Mg²⁺ and CO₃²⁻ into hydroxyapatite: a DFT study. *Materials* 15, 9046. <https://doi.org/10.3390/ma15249046>.
- Tyler, G., 1998. Plant needs as mineral nutrient resource for seedlings—a comparison of plants from calcareous and siliceous soils. *Ann. Bot.* 81, 455–464. <https://doi.org/10.1093/oxfor.1997.0561>.