BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA

FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA GENERAL

TESIS:

"ACTIVIDAD DEL ÓXIDO DE ZIRCONIO NANOMÉTRICO CON EXTRACTO DE *Arlomo* EN *S. aureus*"

PARA OBTENER EL TITULO DE LICENCIATURA EN QUÍMICO

PRESENTA

JOSÉ GUADALUPE CARRERA MÉNDEZ

DIRECTOR DE TESIS.

Ph. D. JOSÉ ALBINO MORENO RODRIGUEZ
Depto. de Quím. Gral. FCQ. BUAP

CODIRECTOR DE TESIS.
Dr. ALFONSO DANIEL DÍAZ FONSECA
Depto. de Farmacia. BUAP

NOVIEMBRE 2022

Índice General.

I. Introducción **07**
1.0 Materiales 07
1.1 Nanomateriales 07
1.2 Propiedades de los nanomateriales 08
1.2.1 Propiedades físicas de los nanomateriales..... 08
II. Antecedentes **9**
2.1. Hierva o planta de arlomo, Nyctaginaceae boerhavia erecta L. 9
2.2. Usos y aplicación de la planta de arlomo 10
2.3. Zirconio 11
2.4. Zircon 11
2.5. Óxido de zirconio 12
2.6. Baddeleyita 12
2.7. Propiedades químicas y físicas del ZrO_2 13
2.8. Aplicación del óxido de zinc 16
2.9. Nanomateriales 16
2.10. Staphylococcus aureus 18
III. Planteamiento del problema **20**
IV. Justificación **20**
V. Hipótesis **20**
VI. Objetivos **20**
6.1. Objetivo general 20
6.2. Objetivo particular 20
VII. Parte experimental **21**
7.1. Obtención del extracto alcohólico concentrado al 90% de Arlomo 21
7.2. Síntesis del nanocatalizador de ZrO_2 21
7.3. Nanocatalizador de ZrO_2 22
7.4. Obtención del nanomaterial Ar/ZrO_2-5-30 23
7.5. Método de inhibición del Staphylococus 23
7.6. Medio de cultivo 24
VIII. Resultados y discusión **26**
8.1. Espectroscopia infrarroja (FTIR) 26

8.2. Espectroscopia electrónica de barrido (SEM) 28
8.3. Espectrómetro de energía dispersa (EDS) 30
8.4. Inhibición de la stpahylococus aureus con el nanoreservorio Ar/ZnO_2-5-30 31
8.4.1 Método de difusión de disco 31
IX. conclusiones **33**
X. perspectivas **33**
XI. bibliografía **33**

Índice de Figuras.

Figura 1: Materiales 07
Figura 2: Nanomateriales 08
Figura 3: Algunas aplicaciones del ZrO_2 en la sociedad 09
Figura 4: Descripción de planta Arlomo 09
Figura 5: Distribución de la planta de arlomo en el continente Américano 10
Figura 6: Zirconio, metal 11
Figura 7: Mineral de Zircón 12
Figura 8: Mineral de baddeleyita 13
Figura 9: Estructura cristalina cúbica del ZrO_2 14
Figura 10: Estructura cristalina de la fluorita 15
Figura 11: Estructura cristalina ortorrómbica del ZrO_2 16
Figura 12: Nanotubos de carbono 17
Figura 13: Soporte nanométrico con partículas de SiO_2 17
Figura 14: Nanocompuesto de carbono 18
Figura 15: Nanocompuesto de tubo de carbono sobre Si 18
Figura 16: Bacteria de Staphylococcus 19
Figura 17: Obtención del extracto alcohólico concentrado de Ar-90 21
Figura 18: Equipo de síntesis de los nanomateriales a 303.15 K 22
Figura 19: Síntesis del nanomaterial Ar/ZrO_2-5-30 22
Figura 20: Extracción del solvente del nanocatalizador 23
Figura 21: Nanomaterial de Ar/ZrO_2-5-30 obtenido por sol-gel 23
Figura 22: Método de Kirby-Bauer 24
Figura 23: Espectros de FTIR del extracto Ar-90 y de nanomateriales 27
Figura 24: Micrografía de SEM del ZrO_2-30 29
Figura 25: Micrografía de SEM del Ar/ZrO_2-5-30 29
Figura 26: Estructura cristalina baddeleyita, monoclínica de ZrO_2 29
Figura 27: Posible interacción física del extracto concentrado con el nanoreservorio 31
Figura 28: Método de difusión de disco en Agar Mullen-Hilton de los nanomateriales 32
Figura 29: Método de difusión de disco en Agar Mullen-Hilton del extracto alcohólico 32

Índice de tablas.

Tabla 1: Datos taxonómicos de la planta Arlomo 10
Tabla 2: Minerales que contienen Oxido de Zirconio, precursores de hafnio 12
Tabla 3: Propiedades Físicas del ZrO_2 13
Tabla 4: Resultados del estudio de EDS del ZrO_2-30 30
Tabla 5: Resultados del estudio de EDS del Ar/ZrO_2-5-30..... 30

Simbología y abreviaturas utilizadas en este manuscrito.

UE-2011/696: Comunidad europea y la Unidad europea.
nm: nanómetro.
Zr: zirconio.
ZrO_2: dióxido de circonio, óxido de circonio (IV), óxido circónico.
cm: centímetros.
msnm: metros sobre el nivel del mar.
CCD: cromatografía de capa delgada
CAPE: ester fenetílico del ácido cafeico.
$ZrSiO_4$: zircón, circón.
CaF_2: fluoruro de calcio.
µm: micrómetro.
EPA: agencia de protección ambiental.
Au: oro
Ag: plata
Si: silicio.
Ar/ZrO_2-5-30: nanomaterial arlomo-oxido de zinc.
Ar-90: extracto alcohólico concentrado al 90% de la planta de arlomo.
FTIR: espectroscopia infrarroja.
SEM: espectroscopia electrónica de barrido.
EDS: espectrómetro de energía dispersiva.

ACTIVIDAD DEL ÓXIDO DE ZIRCONIO NANOMÉTRICO CON EXTRACTO DE *Arlomo* EN *S. aureus*.

I. INTRODUCCIÓN.

1.0 Materiales.

El concepto de materiales se desarrolla del concepto de materia. La materia es un término que se usa para referirse a aquellas cuestiones inherentes a la realidad material objetiva[1-5].

La materia está considerada como aquello que formará la parte sensible de los objetos que pueden ser vistos y detectados a través de medios físicos ya que ocupan un espacio determinado. La materia se puede ver, tocar, sentir, medir, entre otras posibilidades.

Dentro de las propiedades físicas más representativas de la materia es que ocupa un determinado lugar en el espacio, presenta masa y tiene una duración en el tiempo.

Respecto a lo anterior, se puede establecer que el material, proviene del término latino “materialis” y hace referencia a lo que tiene que ver con la materia. De todos los conceptos de material en ciencia, un material es cualquier conglomerado de materia o masa[1-5].

En ingeniería, un material es una sustancia (elemento o compuesto químico) con alguna propiedad útil, sea mecánica, eléctrica, óptica, térmica o magnética.

Figura 1. Materiales.

1.1 Nanomateriales.

En el año 2011, la comunidad europea y la unidad europea (UE-2011/696), se establece que un nanomaterial, es cualquier tipo de material natural, accidental o manufacturado que contiene partículas, en un estado unido o como un agregado o como un aglomerado y el que el 50% o más de las partículas en la granulometría numérica presente una o más dimensiones externas está en el rango de tamaño 1 nm a 100 nm[1-5].

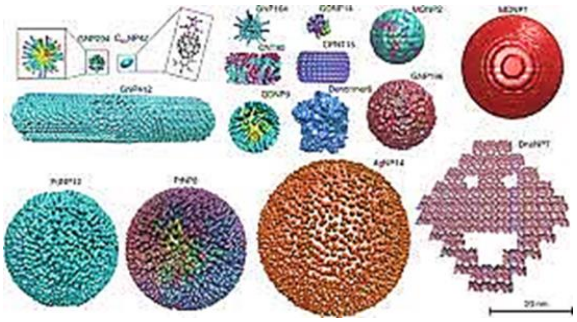


Figura 2. Nanomateriales.

1.2 Propiedades de los nanomateriales.

1.2.1 Propiedades Físicas de Nanomateriales.

De acuerdo con las dimensiones de la escala atómica y de las dimensiones normales, la materia exhibe algunas características específicas notables que son perceptiblemente diferentes de las características físicas de los materiales a granel[1-5].

Las características más comunes de los nanomateriales se relacionan con diversos factores:

1. Fracción de átomos superficiales.
2. Presentan una gran diferencia de energía superficial.
3. Confinamiento espacial.
4. Imperfecciones reducidas.

De acuerdo a lo anterior se establece que los nanomateriales:

a) Tienen una temperatura de fusión (o temperatura de transición de fase) significativamente más baja que el material en bulto, gracias a la enorme fracción de átomos superficiales.
b) Las propiedades mecánicas de los materiales se ven mejoradas con la disminución de tamaño, incluso, son capaces de llegar a la resistencia teórica, gracias a la baja probabilidad de defectos a nanoescala.
c) Las características ópticas de los nanomateriales pueden ser significativamente diferentes a las de los cristales en bulto. Por ejemplo, el máximo de la curva de absorción óptica de las nanopartículas semiconductoras cambia de lugar a una longitud de onda corta y el color de las nanopartículas metálicas cambia en función del tamaño de las mismas, debido a la resonancia del plasmón superficial.
d) La conductividad eléctrica disminuye en una dimensión reducida debido a la dispersión de la superficie. Sin embargo, la conductividad eléctrica de los nanomateriales puede también aumentar apreciablemente, debido al mejor ordenamiento de la estructura.

e) Las características magnéticas de materiales nanoestructurados son diferentes a las de los materiales a granel. En algunos materiales el ferromagnetismo desaparece al pasar a la nanoescala, y el súper paramagnetismo aparece debido a la enorme energía superficial.
f) La autopurificación es una característica termodinámica intrínseca de las nanoestructuras y de los nanomateriales. Cualquier tratamiento térmico aumenta la difusión de las impurezas, los defectos y las dislocaciones estructurales, desplazándolas fácilmente a la superficie más cercana, eliminándolas del nanomaterial.

Entre los nanomateriales, se encuentran aquellos que contienen ZrO_2 que es bastante atractivo pues es químicamente muy estable, no es tóxico y presenta un costo relativamente menor en comparación con otros óxidos metálicos[1-5].

Es así como la adición de nanopartículas de ZrO_2 a los materiales de la construcción, puede ayudar a la degradación de contaminantes hallados en el aire y en el agua, descomposición de bacterias (efecto bactericida) y efectos de autolimpieza que evitan que el polvo y las manchas se queden adheridas a las superficies de las construcciones[1-5].

Figura 3. algunas aplicaciones del ZrO_2 en la sociedad.

II. ANTECEDENTES.

2.1 Hierva o planta de A*rlomo*, *Nyctaginaceae Boerhavia erecta L*.

Es una planta herbácea que generalmente se le conoce como maleza o plaga para ciertos cultivos de interés social[6-9], figura 4.

Figura 4. Descripción de la plata *Arlomo.*

Se extiende y se localiza desde el sur de Estados Unidos, México y América Central.

Figura 5. Distribución de la planta de Arlomo en el continente Américano.

La planta A*rlomo*, descrita taxonómicamente por Bengt Anders Euphrasén, de acuerdo con la tabla 1.

Tabla 1. Datos taxonómicos de la planta A*rlomo*.

Reino:	Plantae
División:	Magnoliophyta
Clase:	Magnoliopsida
Orden:	Caryophyllales
Familia:	Amaranthaceae
Subfamilia:	Gomphrenoideae
Género:	*Iresine*
Especie:	*Iresine angustifolia* Euphrasén

El *Arlomo*, se reproduce de forma anual de verano, no presentan tallo aparente; puede crecer de 5 a 10 cm de alto, no obstante, sus raíces son muy cortas llegando a medir unos 8 centímetros como máximo, crece de 500 a 1500 msnm[6-9].

El análisis fitoquímico por cromatografía de capa delgada (CCD) de extractos hidroalcohólicos de las hojas de la planta, indica que contienen los siguientes metabolitos secundarios: flavonoides, quercetina, quercitrina, 7-hidroxiflavona, naringenina, ácido cafeico y CAPE[6-9].

2.2 Usos y aplicación de la planta de *Arlomo*.

Desde el punto tradicional, la planta de Arlomo y en particular las hojas se usan para aliviar cualquier tipo de golpes externos inflamados leves, a través de baños

o fomentos tópicos o darle al paciente de forma oral las hojas *Arlomo* en forma de infusión acuosa[6-9].

La raíz de la planta de *Arlomo* se usa tradicionalmente como: laxante, antídoto, emético, diuréticos, y expectorante, tratamiento del asma, orina escasa, edema, ascitis, anasarca, anemia, ictericia, y para la inflamación interna y en ciertas ocasiones como antídoto contra el envenenamiento por la mordida de serpiente.

De acuerdo a David J. Guzmán (1926), la raíz de Arlomo es utilizada como antiasmática y para el control de la epilepsia. El zumo de la planta es usado en casos de indigestiones, estreñimiento e ictericia[6-10].

2.3 Zirconio.

El zirconio (Zr), en la naturaleza es un mineral cristalino no puro, en forma de óxidos y de silicatos (silicato de zirconio), con una abundancia del 0.022% sobre la corteza terrestre, en toda clase de rocas, pero principalmente en granitos y sienitas.

En realidad, el zirconio es un elemento metálico representado en la tabla periódica en el bloque d o llamado metales de transición[11-13]. Figura 6.

Figura 6. Zirconio, metal.

El mineral de zirconio más abundante y más común es el zircón, cuya fórmula química es $ZrSiO_4$, cristaliza en forma tetragonal, a = 6.58, c = 5.93 Å, con cuatro moléculas por celda unidad. Otros minerales de circonio son zircón alterado o compuestos muy parecidos al circón, como la alvita, auerbachita, cirtolita y naegita[11-13].

2.4 Zircón.

El zircón o circón, ($ZrSiO_2$), es un mineral de sistema tetragonal. Presenta una clase 09.A de los nesosilicatos, de acuerdo a Strunz. El silicato de zirconio, se encuentra naturalmente en rocas ígneas, metamórficas y sedimentarias[14-16].

La identificación de una muestra que tenga zircón es mediante la coloración, que varía desde marrón, marrón rojizo, gris, verde o incoloro. Su densidad promedio es de 4.65 g/cm^3, presenta hábito prismático bipiramidal, brillo adamantino y una dureza de 7.5 en la escala de Mohs[14-16].

Por sus características físicas, el zircón se utiliza en joyería, como piedra preciosa[14-16].

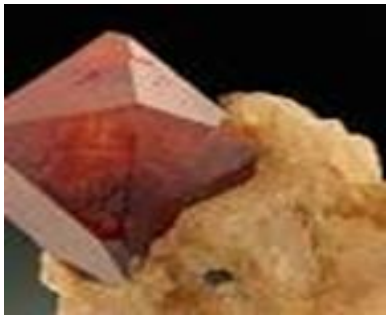


Figura 7. Mineral de zircón.

Todos los minerales de zirconio que contienen del 1% al 20% de óxido de hafnio, son los principales precursores del metal hafnio[14-17]. Tabla 2.

Tabla 2. Minerales que contienen óxido de zirconio, precursores de hafnio.

Mineral	% de HfO_2	Localidad
Alvita	16	Noruega
Cirtolita	9	USA
Naegita	7	Japón
Zircón	1.3	Brasil
Idem	1.3	Carolina del norte (USA)

2.5 Óxido de Zirconio.

El óxido de zirconio, naturalmente se presenta como óxido de zirconio, comúnmente llamado Baddeleyita (ZrO_2) y como silicato de zirconio conocido como Zircón ($ZrSiO_4$).

2.6 Baddeleyita.

Es un mineral de zirconio establecido como óxido (ZrO_2). Fue descubierto en 1892 por Joseph Baddeley. También se le conoce con el nombre de reitingerita. Figura 8.

Figura 8. Mineral de Baddeleyita.

El óxido de zirconio se puede presentar en la naturaleza en forma transparente, de incolora a amarilla, verde, pardo rojizo o de color negro hierro, dependiendo de la impureza que presenta.

Presenta brillo entre graso y vítreo, siendo casi submetálico en cristales negros. De dureza 6.5 en la escala de Mohs, su densidad está comprendida entre 5.4 y 6.02 g/cm^3. Es un mineral pleocroico: amarillo, pardo rojizo, verde oliva (X), verde oliva, pardo rojizo (Y) y pardo, pardo claro (Z). Con luz ultravioleta muestra cátodo luminiscencia azul-verde.

Cristaliza en el sistema monoclínico, clase prismática (2/*m*). Además de circonio que representa el 74% en peso de este mineral, suele llevar como impurezas calcio, hierro, hafnio, silicio y titanio, que le confieren distintas tonalidades de color. Forma parte del grupo mineralógico que lleva su nombre, grupo de la baddeleyita[10, 11].

2.7 Propiedades Químicas y Físicas del ZrO_2.

El óxido de zirconio finamente dividido (pulverizado), arder espontáneamente en contacto con el aire, reaccionando con nitrógeno y oxígeno, a temperaturas arriba de a 500°C. Es resistente a ácidos a excepción del ácido fluorhídrico[16-21].

Respecto a las propiedades físicas que presenta el óxido de zirconio, se muestran en la tabla 3.

Tabla 3. Propiedades físicas del ZrO_2.

Símbolo	ZrO_2
Masa Molecular	123.22 g/mol
Sistema Cristalino	Monoclínico
Estado de la materia	Sólido
Punto de fusión	2715°C
Punto de ebullición	4377°C
Apariencia	Sólido blanco
Densidad	5.8 g/cm^3 sólido

De las tres formas cristalinas del óxido de zirconio: ZrO, ZrO_2, ZrO_3, solo el óxido de zirconio es el más estable en a condiciones ordinarias de temperatura y presión. El monóxido de zirconio se observa en el horno del arco eléctrico[18-21].

De las propiedades biológicas que presenta el óxido de zirconio se considera fisiológicamente inerte para las plantas y los animales, además presenta una actividad anti insecticida.

De forma sintética el ZrO_2, es un metal blanco grisáceo, brillante, muy resistente a la corrosión y es más ligero que el acero.

El ZrO_2 se presenta en tres estructuras cristalinas diferentes: monoclínica (Baddeleyita), es la más común, tetragonal y cúbica, sin embargo, puede cristalizar en fluorita y ortorrómbica[18-21].

a) **Cúbica**.

Fase cúbica cristalina del mineral del ZrO_2, conocida como *circonita* o *zirconita*. El material sintetizado es duro, sin fallas ópticas, y generalmente incoloro, con diferente tipo de colores. No debe ser confundido con el zircón, que es un silicato de zirconio ($ZrSiO_4$).

La circonita sintetizada tiene un bajo costo, durabilidad y muy semejante al diamante. Su principal competencia como gema sintética es un material más recientemente cultivado, la moissanita sintética[18-21]. Figura 9.

Figura 9. Estructura cristalina cúbica del ZrO_2 (natural y sintética)

b) **Fluorita.**

En la literatura es común que se describa la celda tetragonal del óxido de zirconio en términos de la estructura tipo fluorita, también denominada espato flúor o fluorina, es un mineral del grupo III (halogenuros) según la clasificación de Strunz, formado por la combinación de los elementos calcio y flúor, de fórmula CaF_2 (fluoruro de calcio)[18-21].

Este mineral se presenta con hábito cúbico, octaédrico, rombododecaédrico. Desplegando una estructura cristalina en el sistema cúbico. Es un mineral que

presenta propiedades físicas de termoluminiscencia y fluorescencia (a los rayos ultravioleta). En la industria es empleado como fundente en la fundición de hierro y del acero. Se emplea igualmente como fuente de flúor y ácido fluorhídrico en la cerámica y en los vidrios ópticos[18-21]. Figura 10.

Figura 10. Estructura cristalina de la fluorita.

c) **Ortorrómbico**.

La fase ortorrómbica inestable (figura 11), también ha sido reportada a altas presiones y temperaturas para el óxido de zirconio. Es uno de los siete sistemas cristalinos existentes en cristalografía. Muchos minerales cristalizan en este tipo de red, como por ejemplo el olivino o el topacio.

El topacio es un mineral del grupo IX (silicatos), según la clasificación de Strunz. Su nombre deriva, según Plinio el Viejo, de la isla *Topazos* que se halla en el Mar Rojo. Sin embargo, los yacimientos de esta isla son de olivina, frecuentemente confundida con el topacio[18-21].

Es un aluminosilicato de fórmula química Al_2SiO_4 $(OH, F)_2$, indicando el paréntesis alrededor de OH^- y F^- que la proporción entre fluoruros (F^-) e hidróxidos (OH^-) puede variar en un amplio rango, aunque su suma siempre será constante.

Se utiliza a menudo como piedra preciosa y algunas veces ha sido confundido con el diamante: el llamado *Diamante de Braganza*, incluido como diamante en la corona portuguesa, es un topacio[18-21].

Su densidad es de 3.5 a 3.6 g/cm^3, el color generalmente es amarillo-amarronado; sin embargo, a menudo se pueden encontrar ejemplares con tonos de ocre, azul, violeta, rojo o, incluso, incoloro. Además, puede ser variado fácilmente con medios artificiales: aplicando rayos gamma o haces de electrones se consiguen tonalidades pardas o ligeramente verdosas y calentándolo se obtienen tonalidades azules o rojizas. Desde el siglo XIX es posible calentar el topacio incoloro y darle un color amarillo claro.

En la escala de Mohs le corresponde dureza de 8. Sin embargo, fractura fácilmente y por esta razón es difícil de trabajar. Comercialmente se intentan vender algunas variedades de cuarzo con denominación de topacio[18-21].

Figura 11. Estructura cristalina Ortorrómbica del ZrO_2.

2.8 Aplicación del óxido de zirconio.

En sus fases cristalinas el ZrO_2 se ha utilizado desde la antigüedad como fórmulas de abrasivos y pulidores; catalizadores (reacciones de esterificación en fase vapor), componente de aleaciones (resistencia al calor), aditivos de colores en cerámicos, en cuerpos dieléctricos, en resistencia de hornos eléctricos revestidos para caucho y plásticos, como agente luminoso por incandescencia, activador de luminóforos, pigmento en esmaltes y vidriados, agente de purificación (por adsorción), sustancia radiopaca para radiografía, materia prima para la fabricación de circonio metálico y de compuestos de zirconio, componente de refractarios, aislante térmico[22, 23].

2.9 Nanomateriales.

Los nanomateriales son materiales con propiedades morfológicas más pequeñas que un micrómetro (µm) en al menos una dimensión. A pesar del hecho de que no hay consenso sobre el tamaño mínimo o máximo de un nanomaterial, algunos autores restringen su tamaño entre 1 a 100 nm. Una definición lógica situaría la nanoescala entre la microescala[24-26].

De esta forma, muchas de las propiedades de los materiales dependen de cómo se comporten los electrones que se mueven en su seno o de cómo estén ordenados los átomos en la materia.

En un material nanométrico, el movimiento de los electrones está muy limitado por las dimensiones del propio material (confinamiento cuántico). Además, la proporción de átomos en la superficie con respecto al interior es con mucho, más alta que en materiales de tamaño más elevado[24-26].

Por consiguiente, si se reducen las dimensiones de un material, se modifican sus propiedades y en consecuencia se pueden diseñar nanomateriales con propiedades fisicoquímicas adecuadas para cualquier aplicación tecnológica del mismo, dichas propiedades son superiores a las del bulto del material[24-26].

Los nanomateriales se clasifican de acuerdo a la Agencia del Medio Ambiente (EPA):

a) **Basados en carbono.**

Estos nanomateriales están compuestos mayoritariamente por carbono y suelen adoptar formas como esferas huecas, elipsoides o tubos. Los nanomateriales de carbono con forma elipsoidal o esférica se conocen como fullerenos, mientras que los cilíndricos reciben el nombre de nanotubos (figura 12).

Estas partículas tienen muchas aplicaciones posibles, incluido el desarrollo de recubrimientos y películas mejoradas, materiales más ligeros y resistentes y diversas aplicaciones en el campo de la electrónica.

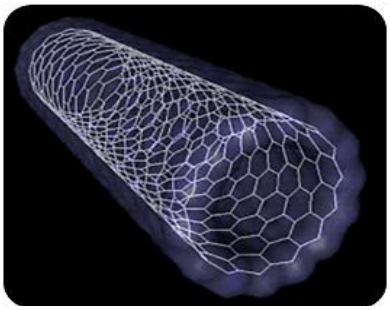


Figura 12. Nanotubos de carbono.

b) **Basados en metales.**

Estos nanomateriales incluyen puntos cuánticos, nanopartículas de oro (Au) y plata (Ag) y óxidos metálicos como el dióxido de titanio u óxido de zirconio[24-26], figura 13.

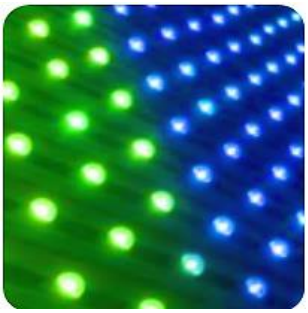


Figura 13. Soporte nanométrico con partículas de SiO_2.

c) **Dendrímeros.**

Estos nanomateriales son polímeros de tamaño nanométrico construidos a partir de unidades ramificadas (figura 14). La superficie de un dendrímero tiene numerosos extremos de cadena, que se pueden adaptar para desempeñar funciones químicas específicas.

Esta propiedad se podría utilizar también para la catálisis. Además, debido a que los dendrímeros tridimensionales contienen cavidades interiores en las que se pueden introducir otras moléculas, pueden ser útiles para la administración de fármacos[24-26].

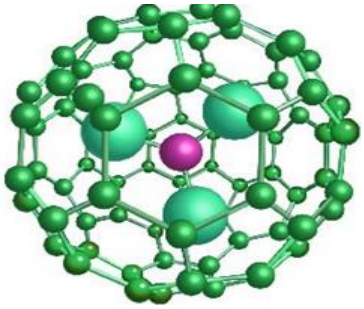


Figura 14. Nanocompuesto de carbono.

d) Compuestos.

Los compuestos combinan las nanopartículas con otras nanopartículas o con materiales de mayor tamaño (figura 15). Las nanopartículas, como arcilla a nano escala, ya se están añadiendo a numerosos productos, desde piezas de automóviles a materiales de empaquetado, para mejorar sus propiedades mecánicas, térmicas, protectoras, etc.[24-26].

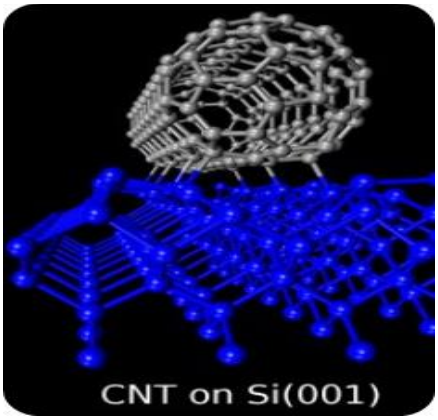


Figura 15. Nanocompuesto de tubo de carbono sobre Si.

2.10 Staphylococcus aureus.

Los estafilococos son bacterias grampositivas; el nombre staphylococcus deriva de la palabra griega staphyle (racimo de uvas) y fue impuesto por un cirujano escocés, Sir Alexander Ogdson, debido al característico ordenamiento microscópico ordenamiento en racimos[27-30].

Staphylococcus aureus, conocido comúnmente como estafilococo dorado, es una bacteria anaerobia grampositiva productora de coagulasa y catalasa. Es el

patógeno humano más importante que coloniza la piel de la mayoría de los seres humanos[27-30].

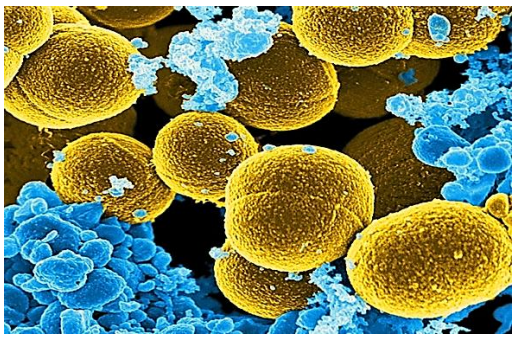


Figura 16. Bacteria de Staphylococcus aureus.

La ruptura de la piel o de las mucosas por traumatismos u operaciones puede dar origen a infecciones localizadas de la piel y de los tejidos blandos; en ocasiones los microorganismos invaden los linfáticos y la sangre y producen bacteriemia e infecciones diseminadas como la endocarditis, artritis, neumonía y abscesos profundos.

Este microorganismo puede afectar tanto a pacientes inmunocompetentes (en los que produce infecciones de la piel y tejidos blandos), como a individuos con una disminución de las defensas a causa de operaciones, quemaduras, adicción a drogas intravenosas o dispositivos médicos, como por ejemplo catéteres intravenosos[27-30].

Tres toxinas producidas por S. aureus pueden causar tres síndromes clínicos: intoxicación alimentaria estafilocócico, síndrome de la piel escaldada estafilocócica y síndrome del shock tóxico.

La intoxicación alimentaria estafilocócica se debe a la ingestión de alimentos que contienen enterotoxina B termoestable preformada. La toxina no se produce en el tracto gastrointestinal.

Entre 2 y 8 horas después de la ingestión el paciente comienza a presentar náuseas, vómitos y diarrea. La característica es que el paciente no presenta fiebre y la infección se autolimita.

El síndrome de la piel escaldada estafilocócico afecta con más frecuencia a los lactantes y a los niños pequeños. Suele comenzar con un eritema perioral y un rash sensible al tacto, similar a un eritema solar que se disemina por todo el cuerpo por dos a tres días[27-30].

La enfermedad es causada por cepas S. aureus productora de toxina (exfoliatina) y comienza con una infección cutánea localizada. La fiebre y la leucocitosis suelen ser leves y habitualmente hay recuperación.

El síndrome del shock tóxico es un trastorno multisistémico producido por cepas de S. aureus productora de toxina. La gran mayoría de los casos se observa en mujeres durante la menstruación y se asocian con el uso de tampones y un aumento del desarrollo de S. aureus intravaginal con producción aumentada de toxinas[27-30].

20% de los casos se presenta en mujeres que no están menstruando, en hombres y en niños y ha sido relacionado con infecciones localizadas por S. aureus tales como abscesos, osteomielitis, infecciones posquirúrgicas y neumonía pos influenza[27-30].

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

El Staphylococcus aureus, es una bacteria muy peligrosa para el ser humano y su entorno. Un ser humano que se infecte de Staphylococcus aureus si no tiene los cuidados requeridos, puede morir.

Además, el patógeno ha ido desarrollando múltiple resistencia contra los antibióticos, propiciando que cada vez sea mucho más difícil el tratamiento y la curación de las enfermedades ocasionadas por esta bacteria.

IV JUSTIFICACION.

Se ha demostrado que la bacteria de Staphylococcus aureus, a desarrollando múltiple resistencia contra los antibióticos y ha incrementado su resistencia ante ellos, se propone inhibir dicha bacteria utilizando la actividad que presenta el nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30.

V. HIPOTESIS.

El óxido de zirconio presenta una actividad importante en la inhibición de la bacteria *Staphyloccus aureus* (*S. aureus*).

VI. OBJETIVOS.

6.1 OBJETIVO GENERAL.

Inhibir la bacteria del *Staphyloccus aureus*.

6.2 Objetivo particular.

1. Obtener el extracto alcohólico concentrado al 90% de la planta de *Arlomo* por el método Soxhlet, a partir de las hojas, (*Ar*-90).

2. Realizar la síntesis del ZrO_2 por el proceso sol-gel a 303.15 K, (ZrO_2-40).

3. Encapsular el extracto alcohólico concentrado al 90% de la planta Arlomo en la matriz del óxido de zirconio a 303.15 K, (*Ar*/ZrO_2-5-30).

4. Caracterizar el extracto alcohólico concentrado de Arlomo por FTIR.

5. Caracterizar los nanomateriales de ZrO_2-30 y *Ar*/ZrO_2-5-30, por FTIR, SEM y EDS.

6. Demostrar que el extracto alcohólico concentrado al 90% de *Arlomo* se localiza en la malla del óxido de zirconio.

7. Estudiar la actividad inhibidora que presenta el nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30, sobre la bacteria de *Staphyloccus aureus*.

VII. PARTE EXPERIMENTAL.

7.1 Obtención del extracto alcohólico concentrado al 90% de *Arlomo.*

Las hojas de la planta de *Arlomo*, se enjuagan con 10 mL de una solución de hipoclorito de sodio al 1%, para limpiarlas de polvo y otras sustancias no deseadas. Las hojas se secan a temperatura ambiente por 0.5 h.

Las hojas limpias se pesan y se colocan en un cartucho de papel filtro (5 cm x 10.5 cm). Se instala el sistema Soxhlet, con agitación constante. En el matraz de bola (matraz colector), se colocan 80 mL de etanol anhidro y se eleva la temperatura hasta ebullición del solvente.

Figura 17. Obtención del extracto alcoholico concentrado de *Ar*-90

7.2 Síntesis del nanocatalizador de ZrO_2.

Se realiza las síntesis de nanocatalizador de óxido de zirconio a una temperatura de 303.15 K, a partir del alcóxido: n-butóxido de zirconio (80% Sigma-Aldrich), alcohol etílico anhidro (Sigma-Aldrich), agua destilada y PVP (360000 D, Sigma-Aldrich).

El equipo consiste en un sistema a reflujo a 303.15 K con una parrilla de calentamiento con agitación integrada, como se muestra en la figura 18.

Figura 18. Esquema del equipo de síntesis de los nanomateriales a 303.15 K.

7.3 Nanocatalizador de ZrO_2.

La obtención del nanomaterial de ZrO_2 a 303.15 K, consiste en la instalación del reactor de síntesis por el método sol-gel.

El procedimiento empleado, consiste en la adición por goteo (2 gotas por minuto en 3 horas) de 19.0 mL de n-butóxido de zirconio, como precursor de ZrO_2 en un sistema de reflujo a 303.15 K, a una solución previamente elaborada contenida en un reactor de vidrio de tres vías.

La solución acuosa está preparada por 80.0 mL de etanol anhidro, 10.0 mL agua destilada y 2.0 g de polivinilpirrolidona (PVP-360000 D, Sigma-Aldrich).

Cuando el reactor de tres bocas alcanza una temperatura de 303.15 K con una agitación constante, se adicionan 19.0 mL de la solución del alcóxido de zirconio durante 3 horas.

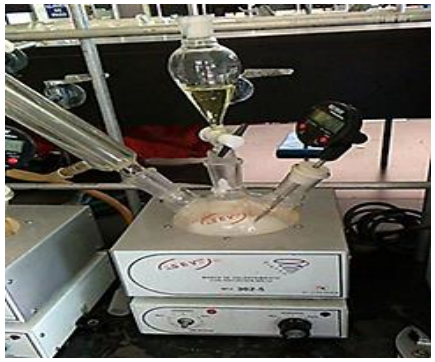


Figura 19. Síntesis del nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30

Posteriormente, el reactor de tres vías que contiene el nanomaterial gelificado se introduce en un recipiente que contiene agua fría (T = 276.15 K) por media hora.

La eliminación del solvente (agua y alcohol) se procede por extracción del solvente a presión reducida, en un rotavapor marca D402-2 de ESEVE Prendo, figura 20.

El nanocatalizador obtenido se etiqueta como ZrO_2-40. Figura 20.

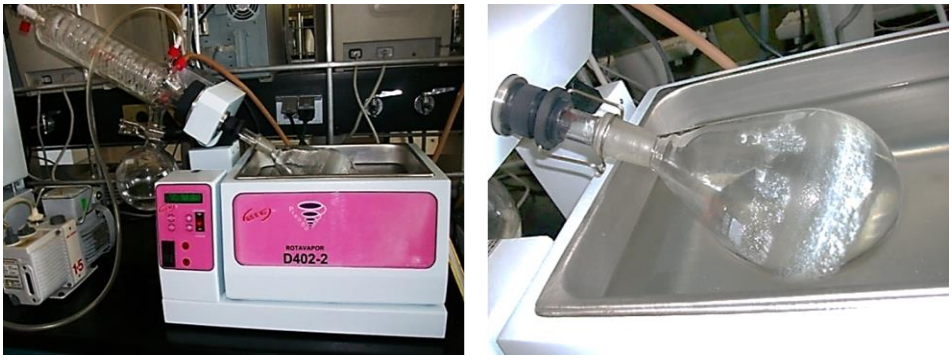


Figura 20. Extracción del solvente del nanocatalizador.

7.4 Obtención del Nanomaterial de *Ar*/ZrO_2-5-30.

Los nanomateriales de Ar/ZrO_2-5-30 se realiza de forma similar al redactado en el punto 7.3 (síntesis del nanoreservorio de ZrO_2-30). La diferencia es la adición de 5 mL del extracto alcohólico concentrado al 90% de *Arlomo* a la solución. Se siguieron los mismos pasos del punto 7.4

El nanomaterial obtenido se etiqueta como *Ar*/ZrO_2-5-30. Figura 21.

Figura 21. Nanomaterial de *Ar*/ZrO_2-5-30, obtenido por sol-gel.

7.5 Método de inhibición del *Staphylococcus aureus,* (S. a *aureus).*

El método Kirby-Bauer, llamado comúnmente método de difusión en agar, se emplea para determinar la sensibilidad de un agente microbiano frente a un antibiótico o quimioterápico[31-33].

Este método se basa en una prueba de susceptibilidad bacteriana frente a drogas específicas o un antibiograma.

El método de Kirby-Bauer, consiste en que sobre la superficie de una caja Petri, se coloca una placa de polisacárido compuesto por galactosa (azúcar simple) en forma de agar Müller-Hinton[31-33].

La placa de agar es el medio de cultivo rico, utilizado especialmente para hacer ensayos de sensibilidad, posteriormente se inocula una cantidad estandarizada de bacterias, sembrándolas de forma uniforme para obtener después de la inoculación un "césped" bacteriano.

A continuación, se colocan discos de papel de filtro impregnados con concentraciones conocidas de los diferentes antibióticos. La elección de los antibióticos a probar depende del germen y del foco de infección[31-33].

La figura 22, muestra algunos ejemplos del método de Kirby-Bauer.

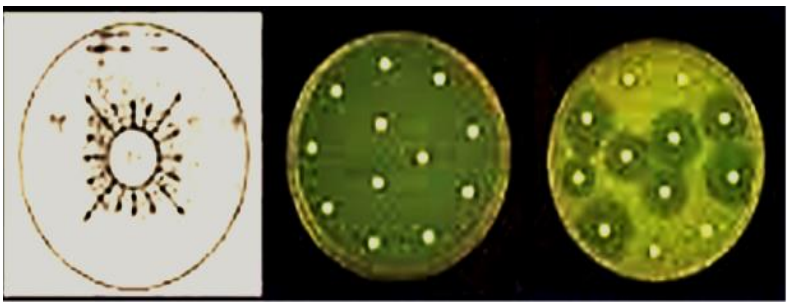


Figura 22. Método de Kirby-Bauer o método de difusión en agar.

El antibiótico difundirá desde el papel filtro al agar de forma radial. Se incuba la placa durante 18 h a 24 h a una temperatura promedio de 37°C, y después de cierto lapso, se miden los halos de inhibición de desarrollo, interpretándose de acuerdo a tablas confeccionadas previamente.

Los resultados se expresan como: Sensible (S), Intermedio o Moderadamente sensible (I) y Resistente (R).

El método de Kirby-Bauer, es un método cualitativo, orientado al tratamiento. No es aplicable a microorganismos de crecimiento lento ni a microorganismos anaerobios, como la polimixina o la vancomicina, porque no tienen buena difusión en agar[31-33].

7.6 Medio de cultivo.

El crecimiento de los microorganismos está ligado a la presencia de agua y de sustancias disueltas en ellas a partir de las cuales los microorganismos formarán su material celular y obtendrán energía[34-36].

Se pueden notar 11 macroelementos principales para el crecimiento de microorganismos: Carbono (C), Oxigeno (O), Hidrógeno (H), Nitrógeno (N), Azufre

(S), Fósforo (P), Potasio (K), Sodio (Na), Calcio (Ca), Magnesio (Mg), Hierro(Fe) los cuales están contenidos en todos los microorganismos.

Como parte de su nutrición muchos microorganismos requieren de suplementos ademas a los minerales, fuentes de carbono y energía, estas son sustancias pertenecientes a los componentes básicos de la célula y que no pueden sintetizarse a partir de componentes más sencillos, es decir aminoácidos, purinas y pirimidnas así como las vitaminas.

Los aminoácidos, purinas y pirimidinas son componentes de proteínas y los ácidos nucleicos, las vitaminas son componentes de coenzimas o grupos prostéticos, necesaria en cantidades muy pequeñas[34-36].

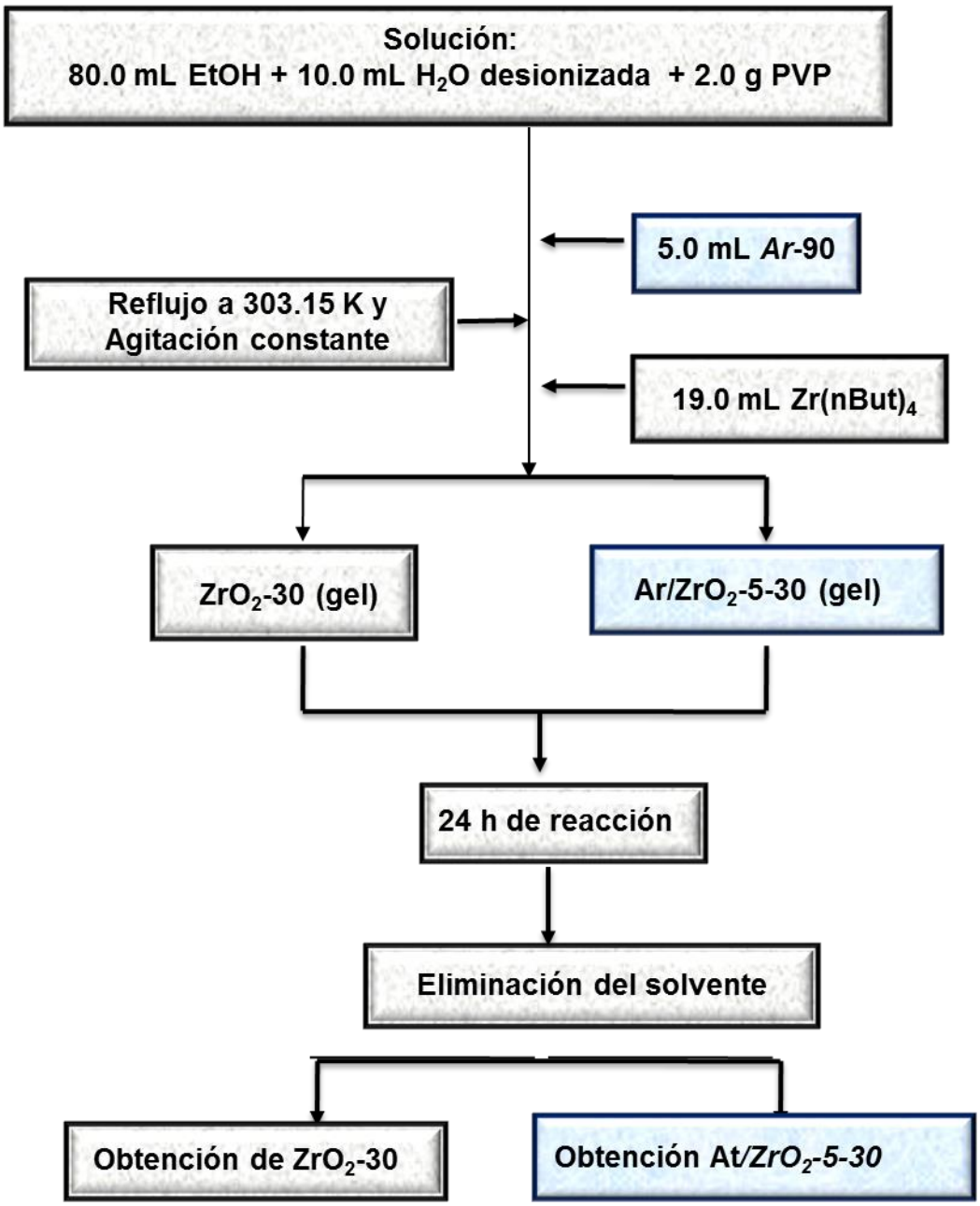
Para los microorganismos exigentes en los que no se conoce lo suficiente sus requerimientos nutritivos se cultivan en disoluciones que contienen extracto de levadura, autolisado de levadura, peptona o extracto de carne entre otros, a este tipo de medio de cultivo se denomina complejo o no definido. Para obtener medios de cultivo solido se añade a los caldos de cultivo sustancias solidificantes.

La gelatina la cual se licua a 26-30 °C y muchos microorganismos son capaces de licuara es usada en pocas situaciones. En 1883 Fanny Hesse, quien conocía las propiedades del agar (extracto de algas usado para solidificar jaleas y espesar caldos en clima cálido) propuso la introducción de este en la elaboración de los medios de cultivo sólido[34-36].

El agar es un polisacárido de composición compleja, se añade a disoluciones acuosas en una concentración de 15 a 20 g/L y se funde a 100°C, pero se mantiene líquido al enfriarse hasta 15°C. Cuando los medios sin medios orgánicos son necesarios, se utiliza el gel sílice como solidificante.

La temperatura optima de incubación para la mayoría de las bacterias se encuentra entre los 20 a 40°C, los minerales y los nutrientes orgánicos pueden permanecen en el cultivo a concentraciones suficientes para que estas crezcan por horas o incluso días[34-36].

El esquema 1, representa la síntesis de los nanomateriales de ZrO_2 y Ar/ZrO_2-3-30.



Esquema 1. Síntesis de los nanomateriales de ZrO_2 y Ar/ZrO_2-5-30.

VIII RESULTADOS Y DISCUSIÓN.

8.1 ESPECTROSCOPIA INFRARROJO (FTIR).

En la figura 23, se presentan los espectros de infrarrojo con Transformadas de Fourier del extracto alcohólico concentrado al 90% de *Arlomo* (*Ar*-90) y de los nanoreservorios de óxido de zirconio (ZrO_2-30) y del óxido de zirconio conteniendo el extracto de alcohólico concentrado al 90% de *Arlomo* (Ar*L*/ZrO_2-5-30).

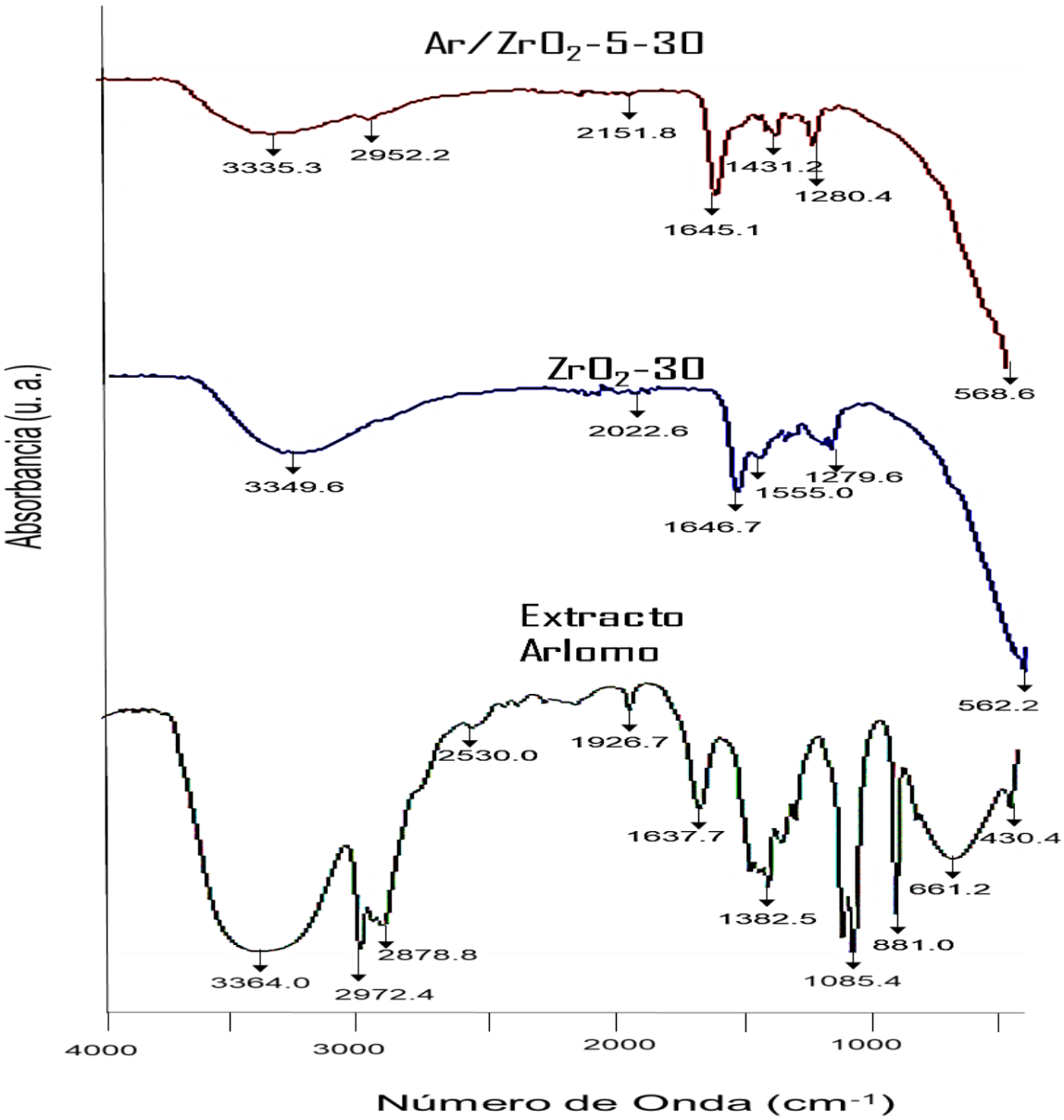


Figura 23. Espectros de FTIR del extracto *Ar*-90 y de los nanomateriales de ZrO_2-30 y *Ar*/ZrO_2-5-30.

El extracto alcohólico concentrado al 90% de *Arlomo* (Ar-90), presenta los modos de vibración (ν_{OH} y ν_{C-H}) de tipo alargamiento en 3364.0 cm^{-1} y los modos de vibración flexión, deformación ($\nu_{C=C}$, ν_{X-C}, ν_{CH3}, ν_{C-O}, ν_{C-O-O}, δ_{H2O}), representando a las moléculas de flavonoides como: quercetina, ácido cafeico, naringenina hidroxiflavona y rutina. Los modos de vibración tipo flexión, deformación (ν_{Csp2-H} y δ_{CH3}), ubicados en el número de onda igual a 2972.4 cm^{-1} y 2878.8 cm^{-1}, identifican los grupos metil y metilenos del extracto alcohólico concentrado de Ar-90.

Los números de onda desde el 1382.5 cm^{-1} al 1085.4 cm^{-1}, corresponden a los modos de vibración de alargamiento simétrico, de doblaje de deformación fuera de fase degenerado, deformación del agua, del tipo balanceo y de tensión deformación ($\nu^{as}_{C\text{-}O\text{-}O}$, δ^{as}_{CH3}, δ_{H2O}, $\nu^{s}_{C\text{-}O\text{-}O}$, ν_{CH2}, $\nu_{O\text{-}C\text{-}C}$, $\gamma_{O\text{-}H}$), de los metabólicos secundarios contenidos en el extracto alcohólico concentrado de Ar-90.

Las bandas absorción ubicadas en 881.0 cm^{-1} hasta 430.4 cm^{-1}, se identifican con los modos de vibración tipo doblaje fuera del plano ($\gamma_{C\text{-}H}$), de tensión y deformación ($\gamma_{O\text{-}H}$), así como de las interacciones metal-oxígeno ($\nu_{Me\text{-}O}$) de microelementos contenidos en el extracto alcohólico concentrado de Ar-90.

El espectro de infrarrojo del óxido de zirconio a 30°C (ZrO_2-30), presenta los modos de vibración ν_{OH} de tipo alargamiento (3349.6 cm^{-1}) y de tipo flexión, así como el modo de deformación del agua (1646.7 cm^{-1}), que identifican a los grupos oxhidrilo presentes en el ZrO_2 y trazas remanentes de los solventes.

En 2972.4 cm^{-1} y 2878.0 cm^{-1}, se presentan los modos de vibración ($\nu_{C\text{-}H}$, degenerando y $\nu_{C\text{-}H}$) de los grupos metil y etileno del remanente del alcóxido. La banda de Absorción ubicada en 2022.6 cm^{-1}, corresponde a los modos de vibración (ν_{CO2} y $\nu_{C\text{-}O}$), de la molécula del anhídrido carbónico.

Del número de onda 1555.0 cm^{-1} hasta el 1279.6 cm^{-1} se ubican los modos de vibración de alargamiento asimétrico ($\nu_{COO\text{-}}$) de os carboxilatos del alcóxido; tijera y flexión ($\delta_{CH3;}$ $\nu_{C\text{-}H}$; $\nu_{C\text{-}C}$; $\nu_{C\text{-}O}$), del remanente del alcóxido

La banda mostrada en la región de baja energía del espectro electromagnético (562.2 cm^{-1}) corresponde al modo de vibración $\nu_{Zr\text{-}O}$ de tipo flexión, de la interacción metal-oxígeno (Zr-O).

Al encapsular el extracto alcohólico concentrado al 90% de la planta de *Arlomo* en el nanomaterial de ZrO_2-30, se observan los mismos modos de flexión y de alargamiento que corresponden al nanomaterial de ZrO_2-30 y al extracto alcohólico de *Ar*-90.

Las bandas del espectro de FTIR del nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30, disminuyen de intensidad porque, el extracto de *Ar*-90 se encuentra encapsulado en la malla del ZrO_2-30.

8.2 Espectroscopia Electrónica de Barrido (SEM).

La micrografía del nanomaterial de ZrO_2-30, representada en la figura 24, muestra aglomerados de partículas amorfas, con un promedio de la partícula de 15 nm.

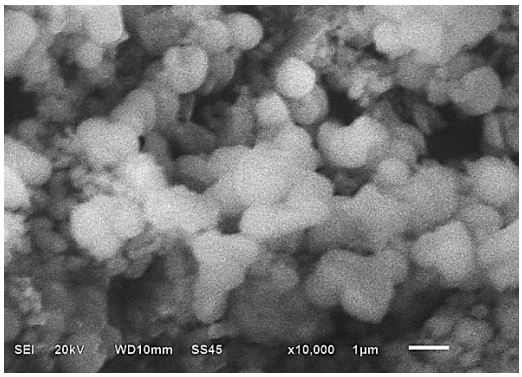


Figura 24. Micrografía de SEM del ZrO_2-30.

Al encapsular el extracto alcohólico concentrado al 90% en el material de ZrO_2-5-30, se observa una morfologia de aglomerados cristalinos semiesféricos de tipo baddeleyita, monoclínica, presentando un diámetro promedio de partícula de 29 nm.

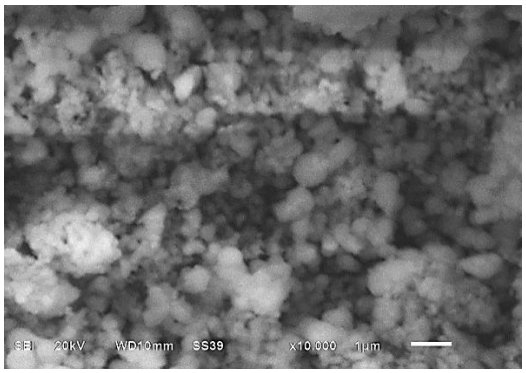


Figura 25. Micrografía de SEM del Ar/ZrO_2-5-30.

La baddeleyita tiene la simetría de grupo P21/c con cuatro ZrO_2 en la celda unitaria.

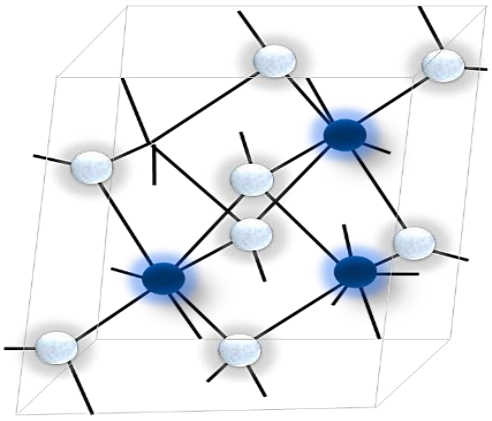


Figura 26. Estructura cristalina baddeleyita, monoclínica de ZrO_2.

El incremento en el diámetro promedio de la partícula en le nanomaterial de *Ar*/ZrO_2-5-30, puede deberse al encapsulamiento del extracto alcohólico concentrado de Ar-90 en los poros del nanomaterial de ZrO_2-30.

8.3 Espectrómetro de energía dispersiva (EDS).

Los resultados por SEM-DES muestran de forma semicuantitativa el porcentaje de cada elemento (átomos) presente en los nanoreservorios sintetizados a 30°C (ZrO_2 -30 y *Ar*/ZrO_2-5-30).

La tabla 4. muestra los resultados del estudio de EDS del nanoreservorio de ZrO_2-30. El nanomaterial de ZrO_2, muestra un porcentaje en masa del zirconio de 47.62% y del oxígeno de 31.56%. El porcentaje en peso de cada átomo que forma el óxido de zirconio origina una formula empírica. Esta fórmula empírica concuerda con el nanomaterial de óxido de zirconio hidratado.

Tabla 4. Resultados del estudio de EDS del ZrO_2-30.

Elemento	Masa (%) en peso
Carbono (C)	20.81
Oxígeno (O)	31.56
Zirconio (Zr)	47.62
Total	100.00 %

La presencia de carbono en el nanomaterial de ZnO_2, es debido a las características del estudio de EDS. El porta muestras del equipo presenta una tira de carbono para ser procesada.

Se identifica la presencia del extracto concentrado de *Ar*-90 en el nanoreservorio de óxido de zirconio, sintetizado a 30°C, de acuerdo con el incremento en el porcentaje de masa de oxígeno, respecto al nanomaterial de ZrO_2-30 de la tabla 4; como lo muestran los resultados plasmados en la tabla 5.

Tabla 5. Resultados del estudio de EDS del *Ar*/ZrO_2-5-30.

Elemento	Masa (% en peso)
Carbono (C)	16.85
Oxígeno (O)	35.23
Zirconio (Zr)	47.91
Total	100.00 %

En la tabla 5, se observa un incremento del 3.7% del porcentaje en masa para el átomo de oxígeno, indicando la presencia del extracto concentrado de *Ar*-90.

El notable aumento en el porcentaje en masa para el átomo de oxígeno, respecto al estudio de EDS del nanoreservorio de ZrO_2-30, se debe a la interacción del extracto concentrado de *Ar*-90, sobre los grupos funcionales presentes en la superficie de las cavidades del ZrO_2-30 y el aumento en el porcentaje en masa

para los átomos zirconio respecto al estudio de EDS del nanoreservorio ZrO_2-30, se puede explicar por la poca interacción física de los átomos de zirconio en la superficie del nanoreservorio (ZrO_2), con los grupos funcionales del extracto concentrado de Ar-90.

La figura 27. presenta la interacción de tipo físico de los grupos funcionales presentes en el extracto concentrado *Ar*-90 y los grupos funcionales presentes en la superficie del nanoreservorio de ZrO_2-30.

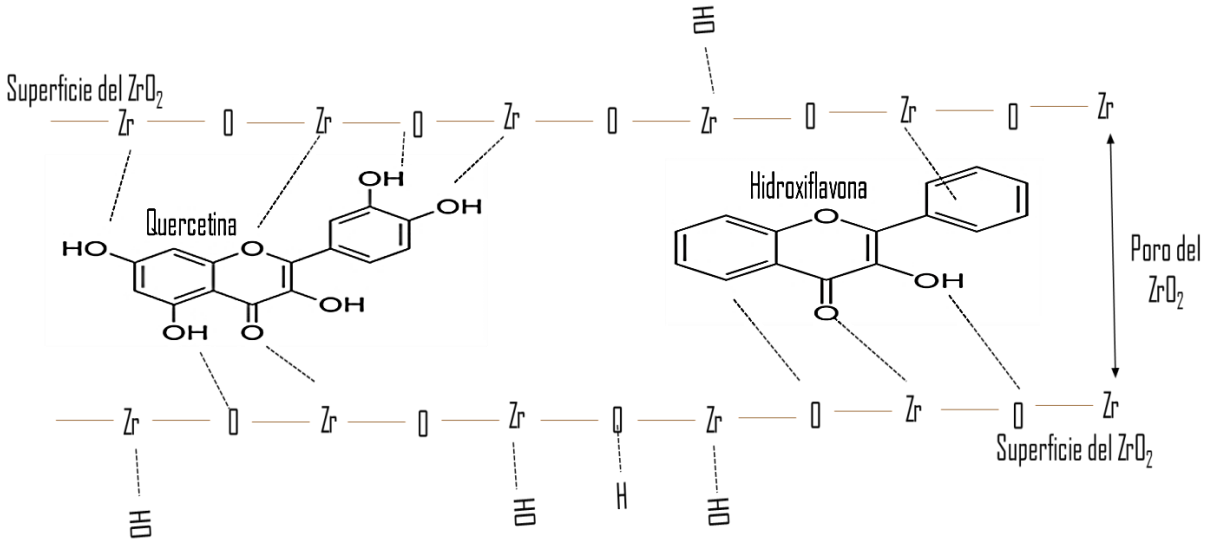


Figura 27. Posible interacción física del extracto concentrado de *Ar*-90 con el nanoreservorio de ZrO_2 -30.

8.4 Inhibición de la *Staphylococcus aureus* con el nanoreservorio de *Ar*/Zn_2O-5-30.

8.4.1 MÉTODO DE DIFUSION DE DISCO

Por medio del método de difusión de disco en Agar Muller-Hilton se muestra que el nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30, inhibe la bacteria *S. Aureus*, muy poco, presentando un aro de inhibición de apenas 1 milímetro de circunferencia; esto puede deberse a la liberación gradual y lenta del extracto alcohólico concentrado de *Ar*-90, de la malla del nanomaterial de ZrO_2-30, como se muestra en la figura 28.

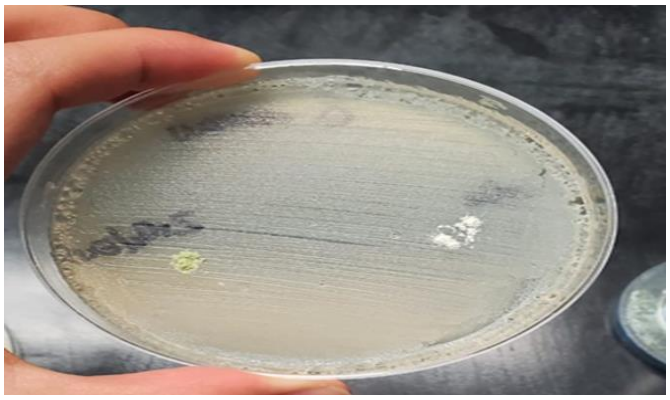


Figura 28. Método de difusión de disco en Agar Muller-Hilton de los nanomateriales ZrO_2-30 (izquierda) y *Ar*/ ZrO_2-5-30 (derecha).

Sin embargo, el extracto alcohólico concentrado al 90% de la planta *Arlomo*, inhibe la bacteria *S. Aureus*. El aro de inhibición presenta un promedio de diámetro de aproximadamente 1.0 cm, como se observa en la figura 29.

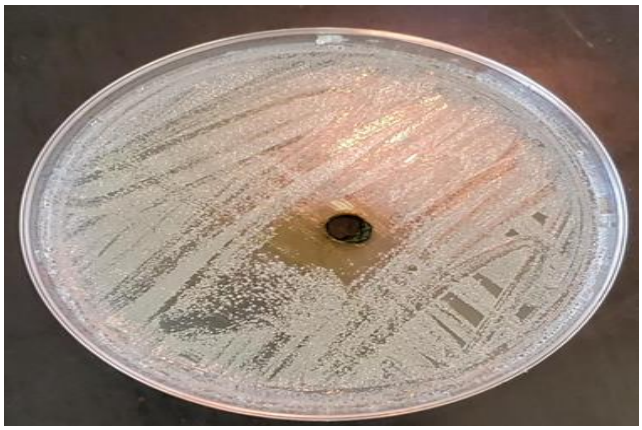


Figura 29. Método de difusión de disco en Agar Muller-Hilton del extracto alcohólico concentrado de *Ar*-90.

La ventaja que presenta el nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30, respecto al nanomaterial ZrO_2-30 y al extracto alcohólico concentrado al 90%, de la planta de Arlomo, es:

El nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30 respecto al nanomaterial de ZrO_2-30, presenta mayor porcentaje de inhibición de la bacteria *S. Aureus*, porque, el ZrO_2-30, contiende al extracto alcohólico concentrado al 90% de Arlomo en sus cavidades.

El nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30, respecto al extracto alcohólico concentrado al 90% de *Arlomo*, presenta una inhibición de la bacteria *S. Aureus* muy poco, pero a medida que transcurre el tiempo, la actividad de inhibición del extracto alcohólico concentrado al 90% de *Arlomo* disminuye, mientras la actividad del nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30, se mantiene inalterable, porque el extracto alcohólico concentrado al 90% de Arlomo, se va liberando de forma gradual del nanomaterial.

IX. CONCLUSIONES.

1. Se obtuvo el extracto alcohólico concentrado al 90% de la planta de Arlomo.
2. Se sintetizaron los nanomateriales de ZrO_2-30 y de *Ar*/ZrO_2-5-30, a partir de la hidrólisis del n-butóxido de zirconio y del extracto alcohólico Ar-90, a 303.15 K
3. Se identificaron los grupos funcionales del nanomaterial de ZrO_2-30 y del extracto alcohólico concentrado de Ar-90, por FTIR.
4. Se obtienen nanomateriales de *Ar*/ZrO_2-5-30 y de ZrO_2, de acuerdo con el estudio de SEM.
5. Se comprueba la existencia del extracto alcohólico concentrado de Ar-90, en la malla del ZrO_2, de acuerdo con el estudio de EDS.
6. Se comprueba la inhibición de la bacteria *Staphyloccus aureus*, por la actividad que presenta el nanomaterial de *Ar*/ZrO_2-5-30.

X. PERSPECTIVAS.

1. Realizar pruebas fitoquímicas del extracto alcohólico concentrado *Ar*-90 para la identificación de las sustancias activas
2. Realizar el estudio de cromatografía líquida (HPLC), para la cuantificación e identificación de las sustancias activas del extracto alcohólico concentrado *Ar*-90.
3. Realizar pruebas a diferentes concentraciones del extracto alcohólico concentrado *Ar*-90, sobre distintos tipos de bacterias.
4. Realizar pruebas a diferentes concentraciones del nanomaterial en distintos tipos de bacterias.
5. Determinar la mínima concentración inhibidora para el extracto alcohólico concentrado *Ar*-90.
6. Determinar la mínima concentración inhibidora para el nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30.
7. Determinar la eficacia del nanomaterial *Ar*/ZrO_2-5-30, para infecciones producidas por bacterias nosocomiales y de la piel.

XI. BIBLIOGRAFÍA.

1. Juan Manuel Kirschenbaum, Claudia Crowe, María Inés Narvaja, Alejandra Santos, “Materiales y materias primas, Nanomateriales, guía didáctica”, Ministerio de Educación-Instituto Nacional de Educación Tecnológica, Industria Argentina, 2021.
2. Carmen González Gabriela Navarro-Tovar Erick Gómez Martínez, “Evaluación biológica de los nanomateriales. Una visión hacia su regulación”, Elementos 123, 79-84, 2021.
3. Dolez P.I, “Nanomaterials Definitions, Classifications, and Applications”, En Nanoengineering, 3-40, 2015.

4. Elsevier, Environmental Protection Agency, U. S., “Technical Fact Sheet-Nanomaterials”, United States Environmental Protection Agency, 2017.
5. Pedro A. Serena Domingo, "El papel de la nanotecnología en la generación y uso sostenibles de la energía", Programa Iberdrola Innova I+D+i, 2022.
6. Natural Resources Conservation Service, “Iresine angustifolia Euph. Show all white snow plant”, USDA, 2015.
7. UNIBIO “Iresine aff. angustifolia Euphrasen”, Colecciones Biológicas. Universidad Nacional Autónoma de México, 2016.
8. H. Liogier, Alain; F. Martorell, Luis, Flora Puerto Rico, “Flora of Puerto Rico and Adjacent Islands: A Systematic Synopsis”, La Editorial, UPR. p. 164. ISBN 084770369X. 2000
9. International Plant Nutrition Institute, 2020.
10. Rojas Alba Mario, “*Scirpus lacustris* L, “*Galería Herbolaria BD-Tlahui*, 2022. URL: http://tlahui.com/herbolaria/xihuitl_completo.php?fotoplanta=Junco de agua.
11. Gunnar Nordberg, “Metales: propiedades químicas y toxicidad”, Enciclopedia de salud y seguridad en el trabajo, 2001.
12. R. H. Nielsen, J. H. Schlewitz, H. Nielsen, in: M. Grayson, D. Eckroth (Eds.), Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, vol. 24, 3rd de Wiley, New York, 1984.
13. Frank Albert Cotton, Geoffrey Wilkinson, Química Inorgánica Avanzada, Limusa Wiley 1981.
14. Chirif, L. H. (2010). Mineralogía óptica de minerales. Instituto Geológico, Minero y Metalúrgico – INGEMMET, 123 p.
15. Romero, N. L. (2018). Análisis textural 2D de rocas graníticas del sur de México: Inferencias de la historia de cristalización del plutón de la Huacana, Michoacán (tesis de licenciatura). Universidad Autónoma de Nuevo León. Linares, Nuevo León, México. Clave: PAPIIT – UNAM – IA106217.
16. Pagel, M., Barbin, V., Blanc, P., & Ohnenstetter, D. (2000). Cathodoluminescence in Geosciences. Springer.
17. Fernando Benítez “Boletín minero de la Sociedad Nacional de Minería, Santiago de Chile, 1926.
18. Raúl Cruz Ríos, Héctor Alfonso Alba Infante, Jesús Benítez López, José Antonio González Montoya, “Monografía del Zircón”, Servicio Geológico Mexicano, 2016.
19. Marlene Lariza Andrade-Guel, Christian Javier Cabello-Alvarado, Carlos Alberto Ávila-Orta, “Dióxido de zirconio: alternativas de síntesis y aplicaciones biomédicas”, Cienciauat, 14 (1), 2007.
20. Adraider, Y, Pang, Y. X, Nabhani, F, Hodgson, S. N, Sharp, M. C, and Al-Waidh, A, “Fabrication of zirconium oxide coatings on stainless steel by a combined laser/sol–gel technique”, Ceramics International, 39 (8): 9665-9670, 2013.
21. Anuario Estadístico de la Minería Mexicana, 2015; Edición 2016.
22. K. J. Yoon, S. W. Seo, Appl. Catal, (A), 161, L5 (1997).
23. K. Nagaoka, T. Karasuda and K-I Aika, J. Catal., 181, 160 (1999).

24. Dulce Limón Cortez, “Evaluación del efecto cicatrizante de la moringa acoplado a nanomateriales de Mo/ZnO-3-40 en un modelo animal (Rattus norvegicus)”, Tesis de Licenciatura en Químico Farmacobiólogo, Depto. de Química General, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP, 2018.
25. Ari Alexis Sánchez Rodríguez, “Encapsulamiento del extracto de Allium sphaerocephalon en nanomateriales de TiO2”, Tesis de Licenciatura en Químico Farmacobiólogo, Depto. de Química General, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP, 2018.
26. Ana Karen Carpinteyro de la Fuente, “Actividad fotocatalítica del nanomaterial de óxido de titanio dopado con Fe (II) en tartrazina”, Tesis de Licenciatura en Químico Farmacobiólogo, Depto. de Química General, Facultad de Ciencias Químicas, BUAP, 2018.
27. Willis Hurst, Medicina para la práctica clínica. Editorial Médica Panamericana, 4ª. Edición, 1998.
28. Pasachova Garzón J, Ramírez Martínez S, Muñoz Molina L, “Staphylococcus aureus: generalidades, mecanismos de patogenicidad y colonización celular”, NOVA; **1**7 (32): 25-38, 2019.
29. Estrella Cervantes-García, Rafael García-González, Paz María Salazar-Schettino, “Características generales del Staphylococcus aureus”, Rev Latinoam Patol Clin Med Lab., 61 (1): 28-40, 2014.
30. Mónica Gil D. de M, “Staphylococcus aureus: Microbiología y aspectos moleculares de la resistencia a meticilina”, Rev. Chil. Infect, 17 (2), 145-152,2000.
31. Acar J. F, Goldstein F. W, “Disk susceptibility test. En: Lorian V, de. Antibiotics in laboratory”, medicine, 4ª de. Baltimore, Williams and Wilkins, 1996; 1-51.
32. Amsterdam D, “Susceptibility testing of antimicrobials in liquid media”. En: Lorian V (ed): Antibiotics in laboratory medicine. 4ª ed. 1996. pp 52- 111. Baker CN, Stocker SA, Culver DH, T.
33. Pasteran F, Mora MM, Albornoz E, Faccone D, Franco R, Ortellado J, Melgarejo N, Gomez S, Riquelme I, Matheu J, Ramon-Pardo P, Corso A, “Emergence of genetically unrelated NDM-1-producing Acinetobacter pittii strains in Paraguay”, J Antimicrob Chemother. 2014 69 (9), 2575- 8, 2014.
34. Rosa Elena Sacsaquispe Contreras, Jorge Velásquez Pomar, “Manual de procedimientos para la prueba de sensibilidad antimicrobiana por el método de disco difusión”, Serie de Normas Técnicas N° 30, 2002.
35. Melgarejo Touchet Nancy, Busignani Sofía, Kawabata Aníbal, Falcón Miryan, López Evelyn, Zarate Noemí, González Gladys, Meyer María, Medina Betania, Almada Sandra, Portillo Maida, Hamuy Rossana, Martínez Mora Mario, “Evaluación de pruebas de sensibilidad a colistina en Enterobacterales aisladas en Paraguay”, Rev. salud publica Parag, 11 (2):17-23, 2021.
36. Melgarejo N, Martínez M, Franco R, Falcón M, “Enterobacterias resistentes a Carbapenemes por producción de KPC, aisladas en hospitales de Asunción y Departamento Central”, Revista de Salud Pública del Paraguay, 3 (1):30-5, 2013.