



**INSTITUTO POTOSINO DE INVESTIGACIÓN
CIENTÍFICA Y TECNOLÓGICA, A.C.**

POSGRADO EN NANOCIENCIAS Y MATERIALES

**“Síntesis, caracterización, actividad electroquímica y
antimicrobiana de materiales nanoestructurados:
nanotubos de carbono y nanoestructuras de agua”**

Tesis que presenta

Felipe de Jesus Barraza Garcia

Para obtener el grado de

Doctor(a) en Nanociencias y Materiales

Director (Codirectores) de la Tesis:

Dr. Emilio Muñoz Sandoval

Dra. Sandra Perez Miranda



Constancia de aprobación de la tesis

La tesis “**Síntesis, caracterización, actividad electroquímica y antimicrobiana de materiales nanoestructurados: nanotubos de carbono y nanoestructuras de agua**” presentada para obtener el Grado de Doctor(a) en Nanociencias y Materiales fue elaborada por **Felipe de Jesús Barraza García** y aprobada el **30 de marzo de 2024** por los suscritos, designados por el Colegio de Profesores de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.

Dr. Emilio Muñoz Sandoval
Director/Codirectores de la tesis

Dr. Sandra Pérez Miranda
Director/Codirectores de la tesis

Dr. Florentino Lopez Urias
Miembro del Comité Tutorial

Dr. Jose Gil Munguia Lopez
Miembro del Comité Tutorial



Créditos Institucionales

Esta tesis fue elaborada en el Laboratorio de Nanoestructuras de Carbono y Sistemas laminares de la División de Materiales Avanzados del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C., bajo la codirección de los doctores Emilio Muñoz Sandoval y Sandra Pérez Miranda.

Durante la realización del trabajo el autor recibió una beca académica del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología con número de registro 636038 y del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A. C. con número de registro 171062. Adicionalmente, el autor recibió apoyo de el Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología, así como de la Canadian Bureau for International Educational, dentro del programa de becas “Convocatoria de becas para intercambio académico COPOCYT-Saskatchewan 2022” y el Emerging Leaders in the Americas Program.

Acta de examen.

Dedicatorias

*Este trabajo lo dedico a todos los que han puesto su confianza en mí,
en especial a mi familia por motivarme a salir de mi zona de
confort y animarme a realizar mi doctorado y seguir mis sueños...*

*A todos mis seres queridos por ser un sostén en
los momentos felices y los no tan felices...*

*A mis asesores el Dr. Emilio y la Dra. Sandra por acompañarme
en este camino a pesar de las diversas vicisitudes...*

*Final y especialmente mi madre que en paz descanse,
por su guía en mi camino desde las estrellas....*

...

Agradecimientos

Este trabajo no podría ser posible sin la ayuda de varias personas y organismos que me ayudaron en diferentes instancias, espero que de olvidarseme alguno no sea tomado como algo personal si no como un simple error no intencionado. Primero que nada, quiero agradecer a mi comité tutorial, al Dr. Emilio Muñoz Sandoval por confiar en mí y ofrecerme la oportunidad de trabajar con él en esta tesis, por introducirme en la investigación de manera formal y brindarme su guía y consejos siempre que lo necesite incluso cuando no lo sabía. A la Dra. Sandra Perez Miranda por fungir como mi co-asesora en este trabajo, por apoyarme siempre con su consejo y guía aun cuando la distancia se volvió un inconveniente para siempre seguir a bordo del barco. Al Dr. Florentino Lopez Urias, por su apoyo y consejos a nivel personal y profesional, además de sus aportaciones indispensables en la discusión de ideas para la tesis. Al Dr. Jose Gil Munguia Lopez por acceder y colaborar en nuestro proyecto de tesis y estar más que al pendiente de mi trabajo, siempre revisando cada documento con el mayor detalle para contribuir de la mejor manera posible.

Al Dr. Felipe Caballero Briones del CICATA por su colaboración en caracterizaciones y discusión de resultados.

Al Dr. Vicente Rodriguez Gonzales y al LANOCAT por su apoyo en las caracterizaciones realizadas.

A mis compañeros del grupo de Nanoestructuras de Carbono y Sistemas Laminares; Cristina, Luis, Armando, Brenda, Verónica, Brenda Verónica, Pancho, Paco, Omar y Maria del Rosario por hacer de esta travesía una experiencia más llevadera. En especial a Brenda Veronica y Sayma por estar allí ofreciéndome su amistad siempre.

A la M. en C. Ana Iris Peña Maldonado, la M. en C. Beatriz Adriana Rivera Escoto y el Dr. Héctor Gabriel Silva Pereyra por su apoyo en las caracterizaciones y al Laboratorio Nacional de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología, IPICYT, por facilitar el uso de sus instalaciones.

Al CONACYT por la otorgación de la beca de Doctorado, al IPICYT y, en especial, a la División de Materiales Avanzados por darme la oportunidad de realizar mi doctorado en esta institución.

Al Consejo Potosino de Ciencia y Tecnología (COPOCYT) y a la Canadian Bureau for International Education (CBIE) de Canadá por su apoyo para la obtención de la beca ELAP.

Al Dr. Lifeng Zhang y su grupo de trabajo (Roger, Mehdi, Mojtaba y más..) dentro de la Universidad de Saskatchewan por su supervisión de mi estancia en Canadá.

Al grupo de Invervarsity Christian Fellowship de la Universidad de Saskatchewan y a sus ministros Gerry y Shirley Falk por su empatía, amistad y experiencias compartidas.

A Harvey y Trevor y en general al equipo Running Wild Athletic Club por su amistad, recibimiento y todas las aventuras compartidas en Saskatoon.

A Hilda, Jorge y Chica, por estar para mí en los momentos de mayor necesidad de mi vida, siendo una segunda familia para mí.

Agradezco especialmente a mi familia por entender mi decisión de buscar mis sueños más allá de mi natal Zacatecas distanciandome mucho tiempo de ellos aunque llevándolos conmigo a todas partes. A mi madre que lleva años cuidando de mi camino desde la inmensidad del universo.

Finalmente a Dios por guiar mi camino, y ponerme retos que me permitan desarrollarme a pesar del dolor que esto pueda significar. Gracias por la fortaleza y templanza que me otorgaste para seguir en el camino.

Contenido

Sección Preliminar

Constancia de aprobación de la tesis.....	2
Créditos Institucionales.....	3
Acta de examen.....	3
Dedicatorias.....	5
Agradecimientos.....	5
Contenido.....	6
Lista de tablas.....	9
Lista de figuras.....	10
Anexos.....	13
Abreviaturas.....	15
Glosario.....	15
Resumen.....	17
Abstract.....	18
Introducción.....	1

Sección Principal

Capítulo 1: Materiales nanoestructurados y sus aplicaciones antimicrobianas.....	4
1.1 Resumen.....	4
1.2 Nanotecnología y nanomateriales.....	4
1.3 Tipos y clasificación de nanomateriales.....	6
1.3.1 Clasificación basada en su dimensionalidad.....	7
1.3.2 Clasificación basada en su origen.....	9
1.3.3 Clasificación basada en su composición.....	10
1.4 Nanomateriales antimicrobianos.....	12
1.4.1 Actividad antimicrobiana de nanomateriales.....	13
1.5 Aplicaciones de materiales antimicrobianos.....	14
1.6 Justificación.....	18
1.7 Hipótesis.....	19
1.8 Objetivo.....	19
1.8.1 Objetivos General.....	19
1.8.2 Objetivos específicos.....	19
1.9 Conclusiones.....	20
Capítulo 2: Actividad antimicrobiana de nanotubos de carbono.....	21
2.1 Resumen.....	21
2.2 Introducción.....	21
2.3 Nanotubos de carbono.....	22
2.3.1 Propiedades de CNT.....	23
2.3.2 Dopaje de CNT.....	25
2.3.3 Aplicaciones de CNTs.....	25
2.4 Actividad antimicrobiana de CNT dependiente de sus características fisicoquímicas....	26
2.4.1 Tamaño: diámetro y longitud.....	27

2.4.2	Número de capas.....	28
2.4.3	Morfología.....	29
2.4.4	Modificación superficial mediante funcionalización.....	30
2.4.5	Dopaje.....	33
2.4.6	Impurezas.....	33
2.4.7	Concentración.....	34
2.4.8	Dispersión.....	34
2.4.9	Características químicas de la solución.....	35
2.5	Mecanismos de actividad antimicrobiana de CNTs.....	36
2.5.1	Daño mecánico a la membrana celular.....	37
2.5.2	Estrés oxidativo.....	39
2.5.3	Otros mecanismos.....	42
2.6	Toxicidad de nanotubos de carbono.....	44
2.7	Conclusiones.....	46
Capítulo 3: Síntesis y caracterización de nanotubos de carbono dopados con nitrógeno, actividad electroquímica y antimicrobiana.....		48
3.1	Resumen.....	48
3.2	Introducción.....	48
3.3	Materiales y métodos.....	51
3.3.1	Síntesis de N-MWCNTs.....	51
3.3.2	Caracterización de N-MWCNTs.....	52
3.3.3	Actividad electroquímica.....	53
3.3.4	Actividad antimicrobiana.....	53
3.4	Resultados y discusión.....	54
3.4.1	Caracterización de N-MWCNTs.....	54
3.4.2	Microscopía electrónica de barrido.....	55
3.4.3	Microscopía de transmisión de electrones.....	57
3.4.4	Estructura y estabilidad térmica de N-MWCNT.....	60
3.4.5	Caracterización química de superficies de N-MWCNT.....	64
3.4.6	Caracterización electroquímica de N-MWCNT.....	69
3.4.7	Análisis de la actividad antimicrobiana de MWCNT sobre hongos oportunistas.....	72
3.4	Conclusiones.....	75
Capítulo 4: Actividad antimicrobiana de nanoestructuras de agua diseñadas.....		77
4.1	Resumen.....	77
4.2	Introducción.....	77
4.3	Nanoestructuras de agua diseñadas.....	78
4.3.1	Propiedades de EWNS.....	79
4.3.2	Aplicaciones de EWNS.....	80
4.4	Actividad antimicrobiana de EWNS dependiente de sus características fisicoquímicas.....	81
4.4.1	Voltaje: polaridad y magnitud.....	81

4.4.2 Tasa de flujo.....	82
4.4.3 Conductividad eléctrica.....	82
4.4.4 pH de la solución.....	83
4.4.5 Ingredientes activos.....	83
4.4.6 Tiempo de exposición.....	84
4.4.7 Distancia aguja / contraelectrodo.....	84
4.4.8 Tipo de superficie.....	84
4.5 Mecanismos de actividad antimicrobiana de EWNS.....	85
4.6 Conclusiones.....	87
Capítulo 5: Síntesis y actividad antimicrobiana de EWNS.....	88
5.1 Resumen.....	88
5.2 Introducción.....	89
5.3 Materiales y métodos.....	91
5.3.1 Sistema de Electro-nanospray.....	91
5.3.2 Inactivación microbiana.....	91
5.3.3 Caracterización de superficies de granero.....	95
5.4 Resultados y discusión.....	96
5.4.1 Caracterización de superficies de granero.....	96
5.4.2 Eficiencia de EWNS en cupones inoculados bajo diferentes condiciones... 99	
5.5 Conclusiones.....	105
Capítulo 6: Conclusiones y perspectivas.....	106
6.1 Resumen de resultados.....	106
6.2 Contribuciones del trabajo de investigación.....	107
6.3 Conclusiones.....	108
6.4 Perspectivas.....	109
Referencias.....	111
Anexo A Descripción fundamental de las técnicas de caracterización de nanomateriales.....	128
A.1 Microscopía electrónica de barrido.....	128
A.2 Microscopía electrónica de transmisión.....	130
A.3 Análisis termogravimétrico.....	131
A.4 Espectroscopia Raman.....	132
A.5 Espectroscopia de infrarrojo.....	133
A.6 Difracción de rayos X.....	134
A.7 Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X.....	136
A.8 Voltamperometría cíclica.....	137
Anexo B Resultados adicionales.....	139
Anexo C Artículos publicados y asistencias a congresos.....	144
Referencias de anexos.....	156

Lista de tablas

Tabla 2.1 Propiedades de CNT de una sola capa (Modificado de (Al-Rabadi and Mousa, 2012)).....	23
Tabla 3.1 Condiciones AACVD para la síntesis de MWCNT utilizando mezclas de NN-DMF/tolueno-ferroceno.....	51
Tabla 3.2 Datos experimentales para la síntesis de muestras MWCNT.....	55
Tabla 3.3 Posición, intensidades y proporciones de picos Raman de muestras de N-MWCNT.....	63
Tabla 3.4 Datos de inactivación microbiana dependiendo del tipo de MWCNT.....	73
Tabla 5.1 Configuraciones del electro-nanospray empleadas en los experimentos de inactivación microbiana.....	94
Tabla 5.2 Datos de inactivación microbiana dependiendo del voltaje aplicado.....	100
Tabla 5.3 Datos de inactivación microbiana dependiendo de la distancia entre el contra electrón y la superficie del cupón.....	101
Tabla 5.4 Datos de inactivación microbiana según el tiempo de exposición.....	102
Tabla 5.5 Datos de inactivación microbiana según el tipo de superficie para 100µl y 300 µl de inóculo de E. coli.....	104

Lista de figuras

Capítulo 1

Figura 1.1 Esquema comparativo de la escala de tamaño nanométrico.....	5
Figura 1.2 Clasificación de nanomateriales en función de su (a) dimensionalidad, (b) origen, y (c) composición.	7
Figura 1.3 Diferentes morfologías en nanomateriales con diferente dimensionalidad: ..	8
Figura 1.4 Comparación entre las estructuras de la pared celular de bacterias.....	15
Figura 1.5 Biosíntesis, caracterización y actividad antibacteriana de AgNP.....	16
Figura 1.6 Efectividad de cicatrización de heridas de CV-AgNP y BE-AgNP	17
Figura 1.7 Nanopartículas de cobre principal agente antimicrobiano.....	19

Capítulo 2

Figura 2.1 Representación esquemática de las estructuras de (a) SWCNT, (b) DWCNT, y (c) MWCNT.....	24
Figura 2.2 Modelos moleculares de dopaje en DWNT.....	25
Figura 2.3 Aplicaciones potenciales a partir de nanotubos de carbono	26
Figura 2.4 Técnicas para la evaluación de la actividad antimicrobiana de CNT.....	27
Figura 2.5 Efecto del tamaño sobre la actividad antimicrobiana de CNTs.	28
Figura 2.6 Efecto de la longitud sobre la actividad antimicrobiana de CNTs.....	29
Figura 2.7 Efecto de la funcionalización superficial sobre la actividad antimicrobiana de CNTs.	31
Figura 2.8 Esquemas de funcionalización covalente de CNTs.....	32
Figura 2.9 Esquemas de funcionalización no covalente de CNTs.....	33
Figura 2.10 Efecto del dispersante sobre la actividad antimicrobiana de CNTs.....	35
Figura 2.11 Efecto de la solución sobre la actividad antimicrobiana de CNTs.....	36
Figura 2.12 Mecanismos de actividad antimicrobiana de CNTs.....	37
Figura 2.13 Actividad antimicrobiana de CNT mediante daño físico/mecánico.....	38
Figura 2.14 Mecanismo de estrés oxidativo dependiente de ROS.....	40
Figura 2.15 Mecanismo de estrés oxidativo independiente de ROS.	42
Figura 2.16 Otros mecanismos de actividad antimicrobiana por CNTs.....	43
Figura 2.17 Efectos varios de CNT sobre organismos.....	45

Capítulo 3

Figura 3.1 Esquema de síntesis del N-MWCNT, utilizando como precursores diferentes mezclas de NN-DMF/Tolueno-Ferroceno.....	51
Figura 3.2 Micrografías SEM de muestras N-MWCNT.....	56
Figura 3.3 Micrografías TEM de muestras de N-MWCNT.....	59
Figura 3.4 (a) Difractogramas XRD de las muestras de N-MWCNT. (b) termogramas de pérdida de peso (c) Espectros Raman de muestras de N-MWCNT.....	61
Figura 3.5 Espectros FTIR de N-MWCNT.....	65
Figura 3.6 Espectros XPS de alta resolución de las muestras N-MWCNT.....	67
Figura 3.7 Análisis de grupos funcionales y concentraciones de especies químicas a partir de caracterizaciones XPS de muestras de N-MWCNT.....	67
Figura 3.8. (a) Espectros EELS adquiridos de N-MWCNT sintetizados utilizando mezclas de tolueno/DMF-ferroceno.....	69
Figura 3.9 Análisis de voltametría cíclica de electrodos de N-MWCNT.....	70
Figura 3.10 Gráficos de Mott-Schottky de muestras de N-MWCNT.....	71
Figura 3.11 Placas de Petri correspondientes al Grupo Control.....	73
Figura 3.12 Imágenes representativas de la caja de Petri de los organismos cultivados con y sin MWCNTs.....	74
Figura 3.13 Efecto del tipo de MWCNT sobre la inactivación microbiana de hongos oportunistas.....	74
Figura 3.14 Cepas aisladas resultado del análisis de actividad antimicrobiana.....	75

Capítulo 4

Figura 4.1 Esquema sobre la síntesis de EWNS.....	78
Figura 4.2 Esquema sobre la estructura de EWNS.	79
Figura 4.3 (a) Efecto del voltaje (nivel y polaridad), y (b) Efecto del pH sobre la inactivación microbiana de <i>E. coli</i>	82
Figura 4.4 Inactivación de <i>E. coli</i> a partir de nano desinfectantes basados en EWNS sintetizados	84
Figura 4.5 Efecto de los nano desinfectantes basados en EWNS sobre las propiedades organolépticas de las espinacas.....	85

Figura 4.6 Análisis mecánico de la interacción EWNS-Bacteria.....	86
--	----

Capítulo 5

Figura 5.1 Diagrama esquemático del sistema de electro-nanospray.....	95
Figura 5.3 Caracterización de superficies de tipo plástico.....	97
Figura 5.4 Caracterización de superficies de tipo metálico.....	97
Figura 5.5 Caracterización de superficies de tipo madera.....	98
Figura 5.6 Caracterización de superficies de tipo concreto.....	99
Figura 5.7 Efecto del voltaje aplicado sobre la inactivación microbiana de EWNS....	100
Figura 5.8 Efecto de la distancia entre el contraelectrodo y la superficie del cupón sobre la inactivación microbiana de EWNS.....	101
Figura 5.9 Efecto del tiempo sobre la inactivación microbiana de EWNS.....	102
Figura 5.10 Efecto de las superficies sobre la inactivación microbiana de EWNS	103

Anexos

Figura A.1 Estructura básica de un microscopio electrónico de barrido.....	127
Figura A.2 Equipo SEM: FEI-FIB Dual Beam Helios Nanolab 600.....	127
Figura A.3 Diagrama TEM simplificado que resalta los componentes principales en toda la columna.....	128
Figura A.4 Equipo TEM: HR-TEM FEI Tecnai F30 (300 keV).....	129
Figura A.5 Equipo de Análisis termo gravimétrico TGA 4000.....	130
Figura A.6 Transiciones energéticas de la materia/ estados vibracionales del efecto Raman.....	131
Figura A.7 Espectrómetro InVia: MICRORAMAN:RENISHAW.....	131
Figura A.8 Espectrofotómetro de FTIR: IRTracer-100.....	132
Figura A.9 Características básicas en una medición por DRX.....	133
Figura A.10 Difractómetro de Rayos-X SmartLab RIGAKU.....	133
Figura A.11 Características básicas en una medición por DRX.....	135
Figura A.12 Potenciostato Squidstat Plus.....	135

Anexos

Anexo A Descripción fundamental de las técnicas de caracterización de nanomateriales.	
58	
Anexo B Resultados Adicionales.....	59
Anexo C Artículos publicados y asistencias a congresos.....	60

Abreviaturas

ATCC	Colección americana de cultivos tipo (American Type Culture Collection por sus siglas en inglés)
CFU	Unidades formadoras de colonias (Colony Forming Unit por sus siglas en inglés)
CNT	Nanotubos de carbono
DRX	Difracción de rayos X
DST	Desviación estándar
DWCNT	Nanotubos de carbono de doble capa
EELS	Espectroscopia de pérdida de energía electrónica (Electron Energy Loss Spectroscopy por sus siglas en inglés)
E. coli	<i>Escherichia coli</i>
ESP	Precipitador electrostático (ElectroStatic Precipitator por sus siglas en inglés)
EWNS	Nanoestructuras de agua diseñadas (Engineered Water NanoStructures por sus siglas en inglés)
FTIR	Espectroscopia infrarrojo (Fourier-Transform Infrared spectroscopy por sus siglas en inglés)
MWCN	Nanotubos de carbono multicapa
T	
LB	Caldo de lisogenia (Lysogeny Broth por sus siglas en inglés)
OD	Densidad óptica (Optic Density por sus siglas en inglés)
RO	Osmosis inversa (Reverse Osmosis por sus siglas en inglés)
ROS	Especies reactivas de oxígeno (Reactive Oxygen Species por sus siglas en inglés)
SEM	Microscopía electrónica de barrido (Scanning Electron Microscopy por sus siglas en inglés)
SWCNT	Nanotubos de carbono de una capa
TEM	Microscopía electrónica de transmisión (Transmission Electron Microscopy por sus siglas en inglés)
TGA	Análisis termogravimétrico (Thermogravimetric analysis por sus siglas en inglés)
UV-C	Radiación ultravioleta de onda corta
XPS	Espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (X-ray Photoelectron Spectroscopy por sus siglas en inglés)

Glosario

Compósito. Material constituido por dos o más integrantes heterogéneos para obtener propiedades no existentes en los materiales componentes.

Contraelectrodo. En electroquímica, el electrodo auxiliar, a menudo también llamado contraelectrodo, es un electrodo utilizado en una celda electroquímica de tres electrodos para análisis voltamétrico u otras reacciones en las que se espera que fluya una corriente eléctrica.

Dopaje. En la producción de semiconductores, se le denomina dopaje al proceso intencional de agregar impurezas en un semiconductor extremadamente puro con el fin de cambiar sus propiedades fisicoquímicas.

Electrospray. Se denomina electrospray al dispositivo que emplea electricidad (altos y bajos voltajes) para dispersar un líquido o para denominar al aerosol que resulta de dicho proceso.

Espectroscopia. La espectroscopia es el estudio de la interacción entre la radiación electromagnética y la materia, con absorción o emisión de energía radiante.

Funcionalización. La funcionalización es un proceso químico que inserta grupos funcionales en una sustancia modelo.

Inóculo. En microbiología se refiere a la concentración de microorganismos empleada para realizar cultivo microbiano.

Microorganismo modelo. Un microorganismo modelo es aquel microorganismo cuyas características morfológicas le permiten ser empleado como modelo de estudio (in vitro, in vivo, ex vivo, etc) para entender fenómenos biológicos particulares que puedan darnos una idea de cómo funcionan esos procesos en otros microorganismos similares.

Síntesis. Síntesis química es el proceso por el cual se producen compuestos químicos a partir de compuestos simples o precursores químicos.

Nanoestructura. Una nanoestructura es una estructura con un tamaño intermedio entre las estructuras moleculares y microscópicas.

Nanopartícula. Una nanopartícula es una partícula que posee las tres dimensiones menores que 100 nm.

Nanotecnología. La nanotecnología comprende el estudio, diseño, creación, síntesis, manipulación y aplicación de materiales, aparatos y sistemas funcionales a través del control de la materia a nanoescala, y la explotación de fenómenos y propiedades de la materia a nanoescala.

Resumen

Síntesis, caracterización, actividad electroquímica y antimicrobiana de materiales nanoestructurados: nanotubos de carbono y nanoestructuras de agua.

La alta tasa de brotes de enfermedades infecciosas derivadas de patógenos causantes de enfermedades ha sido motivo de gran preocupación en los últimos años. Como resultado de esto la nanotecnología se ha visto impulsada a investigar nuevos agentes antimicrobianos potentes para frenar la propagación de microorganismos causantes de enfermedades. El interés en el uso de estos materiales surge de las propiedades fisicoquímicas, como área superficial, volumen, forma, tamaño, entre otras que les han permitido desarrollar un amplio potencial antimicrobiano.

El presente trabajo de tesis busca explorar la síntesis de materiales nanoestructurados poco comunes para el estudio de sus propiedades antimicrobianas. Con la finalidad de explorar alternativas libres de residuos inorgánicos se eligieron como modelos de este estudio el uso de nanotubos de carbono dopados con nitrógeno (N-MWCNT) y de nanoestructuras de agua diseñadas (EWNS). Los resultados experimentales obtenidos en el presente trabajo de investigación se centran en las características morfológicas, físicas y químicas de las nanoestructuras, así como en modificaciones puntuales que pueden alterar sus interacciones con sistemas biológicos.

Se realizó un estudio sistemático sobre la síntesis e incorporación de dopaje con nitrógeno en la estructura de los N-MWCNT a través del proceso de síntesis mediante la técnica de deposición química de vapor asistida por aerosol (AACVD). Se utilizaron mezclas de NN-dimetilformamida (DMF) y tolueno con ferroceno como precursores de carbono y catalizador respectivamente. En este sentido, se analizó el efecto del dopaje de los nanotubos de carbono sobre las características fisicoquímicas de las muestras mediante técnicas como DRX, SEM, TEM, TGA, FTIR, EELS, XPS entre otras. Similarmente se evaluó la actividad electroquímica mediante estudios de voltamperometría cíclica (CV), espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) y resistencia eléctrica (ER), mientras que también se analizó el efecto antimicrobiano de los N-MWCNT en compositos de Agar/N-MWCNT sobre el crecimiento de hongos oportunistas. Los resultados mostraron que los N-MWCNT exhiben una estructura tubular de bambú que no está presente en muestras sin DMF. Las concentraciones de nitrógeno obtenidas alcanzaron hasta el 2.5% at. según lo evaluado por XPS. El aumento de la incorporación de nitrógeno en N-MWCNT también aumentó la conductividad de las muestras en las caracterizaciones electroquímicas demostrando su reactividad así como su potencial en aplicaciones electroquímicas relacionados con su uso semiconductores y transistores. Finalmente, se observó que los N-MWCNT tenían

efecto antimicrobiano inhibiendo la proliferación de microorganismos oportunistas de manera mejorada (69.23% de eficiencia) en comparación de los nanotubos de carbono sin dopaje.

Posteriormente, se desarrolló un sistema de electro-nanospray para la síntesis de EWNS para la descontaminación de superficies comunes como el metal, el plástico, la madera y el concreto. La eficacia del sistema EWNS para inactivar *E. coli* se evaluó con diferentes condiciones operativas, como el voltaje aplicado, el tiempo de exposición y la distancia entre el contraelectrodo y la superficie tratada. Se caracterizaron las diferentes superficies mediante microscopía electrónica de barrido, y ángulo de contacto para comprender los diferentes comportamientos entre las muestras. Entre los parámetros operativos probados, el tiempo de exposición fue el parámetro operativo más influyente, lo que llevó a una reducción logarítmica de *E. coli* de 2,66 log (99.78% de eficiencia de descontaminación) después de 40 minutos de exposición. Por otro lado, para las eficiencias de desactivación de las superficies analizadas, la eficiencia de descontaminación fue mayor para la madera, seguido del concreto, el metal y el plástico con una reducción logarítmica de 2,96, 2,80, 2,20 y 1,63 log respectivamente. Estos resultados muestran el potencial de la tecnología EWNS como método de descontaminación microbiana para el tratamiento de superficies en instalaciones de confinamiento de animales. Sin embargo, se necesitan pruebas para la implementación de estos sistemas.

La principal contribución de este trabajo de investigación fue reportar la síntesis y caracterización de dos tipos de nanoestructuras N-MWCNT y EWNS. Los resultados obtenidos mostraron que el uso de los materiales nanoestructurados como N-MWCNT y EWNS para la descontaminación de superficies tiene potencial aprovechable para diversas aplicaciones biotecnológicas. Además, las caracterizaciones electroquímicas revelaron que las muestras de N-MWCNTs tienen un uso potencial en aplicaciones de semiconductores.

PALABRAS CLAVE: Bio-nanotecnología, dopaje, antimicrobiano, electroquímica.

Abstract

Synthesis, characterization, electrochemical and antimicrobial activity of nanostructured materials: Carbon nanotubes and water nanostructures.

The high rate of infectious disease outbreaks arising from disease-causing pathogens has been of great concern in recent years. As a result of this, nanotechnology has been driven to investigate new powerful antimicrobial agents to stop the spread of disease-causing microorganisms. The interest in the use of these materials arises from the physicochemical properties, such as surface area, volume, shape, size, among others, which have allowed them to develop broad antimicrobial potential.

The present thesis seeks to explore the synthesis of unusual nanostructured materials for the study of their antimicrobial properties. In order to explore alternatives free of inorganic residues, the use of nitrogen-doped carbon nanotubes (N-MWCNT) and engineered water nanostructures (EWNS) were chosen as models for this study. The experimental results obtained in the present research work focus on the morphological, physical and chemical characteristics of the nanostructures, as well as specific modifications that can alter their interactions with biological systems.

A systematic study was carried out on the synthesis and incorporation of nitrogen doping into the structure of N-MWCNTs through the synthesis process using the aerosol-assisted chemical vapor deposition (AACVD) technique. Mixtures of NN-dimethylformamide (DMF) and toluene with ferrocene were used as carbon precursors and catalyst, respectively. In this sense, the effect of carbon nanotube doping on the physicochemical characteristics of the samples was analyzed using techniques such as XRD, SEM, TEM, TGA, FTIR, EELS, XPS among others. Similarly, electrochemical activity was evaluated through cyclic voltammetry (CV), electrochemical impedance spectroscopy (EIS) and electrical resistance (ER) studies, while the antimicrobial effect of N-MWCNTs in Agar/N-MWCNT composites on the growth of opportunistic fungi was also analyzed. The results showed that N-MWCNTs exhibit a bamboo tubular structure that is not present in samples without DMF. The nitrogen concentrations obtained reached up to 2.5% at. as evaluated by XPS. The increase in the incorporation of nitrogen into N-MWCNT also increased the conductivity of the samples in the electrochemical characterizations, demonstrating their reactivity as well as their potential in electrochemical applications related to their use in semiconductors and transistors. Finally, it was observed that N-MWCNTs had an antimicrobial effect, inhibiting the proliferation of opportunistic microorganisms in an improved way (69.23% efficiency) compared to undoped carbon nanotubes.

Subsequently, an electro-nanospray system was developed for the synthesis of EWNS for the decontamination of common surfaces such as metal, plastic, wood, and concrete. The effectiveness of the EWNS system in inactivating *E. coli* was evaluated with different operating conditions, such as applied voltage, exposure time, and distance between the counter electrode and the treated surface. The different surfaces were characterized by scanning electron microscopy and contact angle to understand the different behaviors between the samples. Among the operational parameters tested, exposure time was the most influential operational parameter, leading to a log *E. coli* reduction of 2.66 log (99.78% decontamination efficiency) after 40 minutes of exposure. On the other hand, for the deactivation efficiencies of the surfaces analyzed, the decontamination efficiency was highest for wood, followed by concrete, metal and plastic with a logarithmic reduction of 2.96, 2.80, 2.20 and 1.63 log respectively. These results show the potential of EWNS technology as a microbial decontamination method for surface treatment in animal confinement facilities. However, more testing is needed for the implementation of these systems.

The main contribution of this research work was to report the synthesis and characterization of two types of nanostructures N-MWCNT and EWNS. The results obtained showed that the use of nanostructured materials such as N-MWCNT and EWNS for surface decontamination has potential for various biotechnological applications. Furthermore, electrochemical characterizations revealed that the N-MWCNTs samples have potential use in semiconductor applications.

KEY WORDS: Bio-nanotechnology, doping, antimicrobial, electrochemistry.

Introducción

La alta tasa de brotes de enfermedades infecciosas derivadas de patógenos causantes de enfermedades ha sido motivo de gran preocupación en los últimos años especialmente tras la pandemia de COVID-19 en 2020. Las consecuencias de estos brotes conllevan altos costos en las actividades diarias, recesión económica y hasta casos graves de muerte. Esto se ha convertido en un grave problema de salud pública, resultado de la propagación prolífica de estas enfermedades, especialmente por la falta de antimicrobianos adecuados para abordar el problema.

De esta manera, la nanotecnología se ha visto impulsada a investigar nuevos agentes antibacterianos potentes para frenar la propagación de enfermedades resistentes a los antibióticos. Recientemente, el control de bacterias utilizando materiales antimicrobianos como nanopartículas ha llamado la atención de investigadores en todo el mundo. El interés en el uso de estos materiales surge de las propiedades morfológicas y fisicoquímicas, como área superficial, volumen, propiedades físicas y químicas que se han utilizado con éxito en diversas aplicaciones así como su potencial antimicrobiano hacia un amplio espectro de patógenos.

El presente trabajo de tesis busca explorar la síntesis de materiales nanoestructurados poco comunes para el estudio de sus propiedades antimicrobianas. Por lo general los nanomateriales más comunes con propiedades antimicrobianas, están basados en el uso de nanopartículas metálicas como cobre, titanio, plata y oro. No obstante con el aumento de las aplicaciones de este tipo de nanomateriales surge la necesidad de buscar nuevas alternativas que limiten la cantidad de residuos inorgánicos que este tipo de nanopartículas generan. En este sentido el presente trabajo se buscó evaluar las propiedades antimicrobianas en nanomateriales poco comunes y de limitados residuos inorgánicos como los nanotubos de carbono dopados con nitrógeno (N-MWCNT) y las nanoestructuras de agua diseñadas (EWNS).

Materiales nanoestructurados, como las MWCNT han tenido un gran impulso resultado de sus continuos y sorprendentes desarrollos. Destacando en aplicaciones biomédicas y biotecnológicas en la búsqueda de nuevas alternativas contra la propagación de enfermedades. Por otro lado, novedosas nanoestructuras como las EWNS están emergiendo como una alternativa libre de residuos inorgánicos para la desinfección de superficies que aprovechando las propiedades del agua a escala nanométrica, promueve su uso en aplicaciones industriales y biomédicas.

. En esta tesis se presenta un estudio a profundidad de la síntesis y caracterización de N-MWCNT y de las EWNS para su uso en aplicaciones antimicrobianas y electroquímicas.

Este trabajo se estructura en seis capítulos en los que se describen los antecedentes e investigaciones realizadas, además de apéndices donde se aborda los aspectos teóricos de las técnicas de caracterización de materiales así como algunos resultados adicionales.

En el **Capítulo 1**, titulado “Materiales nanoestructurados y sus aplicaciones antimicrobianas” se aborda una descripción general de los nanomateriales, su clasificación, así como una introducción a el uso de los nanomateriales como agentes antimicrobianos, los mecanismos básicos de actividad antimicrobiana de estos así como las aplicaciones más comunes de estos materiales en el área biotecnológica. Finalmente también se presentan la justificación, hipótesis y objetivos del trabajo aquí presentado.

En el **Capítulo 2**, titulado “Actividad antimicrobiana de nanotubos de carbono” se aborda a modo de revisión bibliográfica de manera extensa y específica el uso de estos materiales nanoestructurados en sus aplicaciones en bionanotecnología para la desinfección de superficies. A lo largo del capítulo se abordan temas como la actividad antimicrobiana en función de las características fisicoquímicas, los mecanismos de actividad antimicrobiana de estos, así como algunas perspectivas de su uso en sistemas biológicos.

El **Capítulo 3**, titulado “Síntesis y Caracterización de nanotubos de carbono dopados con nitrógeno, actividad electroquímica y antimicrobiana” presenta uno de los aportes principales del presente trabajo de investigación. En este se aborda un estudio experimental sistemático sobre la síntesis de nanotubos de carbono dopados con nitrógeno a partir de mezclas de Tolueno/DMF con ferroceno. Se analizó el efecto del precursor de nitrógeno DMF sobre las características morfológicas, físicas, químicas y espectroscópicas del material sintetizado. Además se presentan resultados de la actividad antimicrobiana y electroquímica observada de nuestros materiales.

En el **Capítulo 4**, titulado “Actividad antimicrobiana de nanoestructuras de agua diseñadas” se aborda a modo de revisión bibliográfica de manera específica el uso de las EWNS para aplicaciones en bionanotecnología para la desinfección de superficies. A lo largo del capítulo se abordan temas como la actividad antimicrobiana en función de las características fisicoquímicas y los mecanismos de actividad antimicrobiana de estos

En el **Capítulo 5**, titulado “Síntesis y actividad antimicrobiana de nanoestructuras de agua diseñadas” presenta el segundo gran aporte del presente trabajo de investigación. En este se aborda un estudio experimental y sistemático sobre el desarrollo de un sistema de electro-nanosprayer para la síntesis de EWNS y su uso como agente descontaminante en superficies de granero inoculadas con *E. coli*. Se variaron las diferentes condiciones del setup experimental para analizar el efecto de condiciones como el voltaje, el tiempo de exposición y el tipo de superficie. Además se realizó la caracterización de las superficies utilizadas para entender las interacciones entre las EWNS y los microorganismos.

Finalmente, en el **Capítulo 6**, titulado “Conclusiones y perspectivas” se presentan de manera concisa un resumen de los más relevantes resultados, así como las más conclusiones específicas, las perspectivas y los alcances del trabajo aquí presentado.

Capítulo 1: Materiales nanoestructurados y sus aplicaciones antimicrobianas.

1.1 Resumen

La nanotecnología, por definición, es la manipulación de la materia a una escala nanométrica. En los últimos años y debido a sus propiedades únicas los nanomateriales han extendido sus horizontes de aplicación en bioingeniería, biomedicina e industria. Esto gracias a los avances tecnológicos que han permitido la producción en masa de estas nanoestructuras cubriendo la demanda actual. Como resultado, diversas ramas de investigación multi- e interdisciplinarias se han generado a fin de aprovechar al máximo las propiedades particulares que ofrecen las nanoestructuras con el fin de ser empleadas de una manera más eficiente en diversas aplicaciones, principalmente en aplicaciones biomédicas como imagenología, farmacología, diagnóstico y escrutinio de fármacos, ingeniería de tejidos, por mencionar algunas. En este sentido, se ha demostrado que los nanomateriales exhiben potencia antimicrobiana contra varios tipos de patógenos debido a su tamaño y capacidad de dañar las células a través de diversos mecanismos. En el presente capítulo se introduce a la ciencia de los nanomateriales así como se revisa los avances recientes logrados en el uso de nanomateriales diseñados para aplicaciones antimicrobianas y el mecanismo que los hace altamente efectivos.

1.2 Nanotecnología y nanomateriales

El prefijo "nano" deriva de la palabra griega "nanos" (es decir, "muy pequeño"), que describe la nanoescala (1-100 nm) la cual se considera adecuada para partículas y materiales. De manera general se entiende que cualquier material clasificado como nanomaterial tiene un tamaño entre 1 y 100 nm en alguna de sus dimensiones, y sus propiedades deberían ser diferentes o mejores comparados con aquellos en masa (bulk) del cual provienen (**Bayda et al., 2020**). En la Figura 1.1 podemos observar una comparativa de los tamaños de diversos objetos en relación a la escala nanométrica.

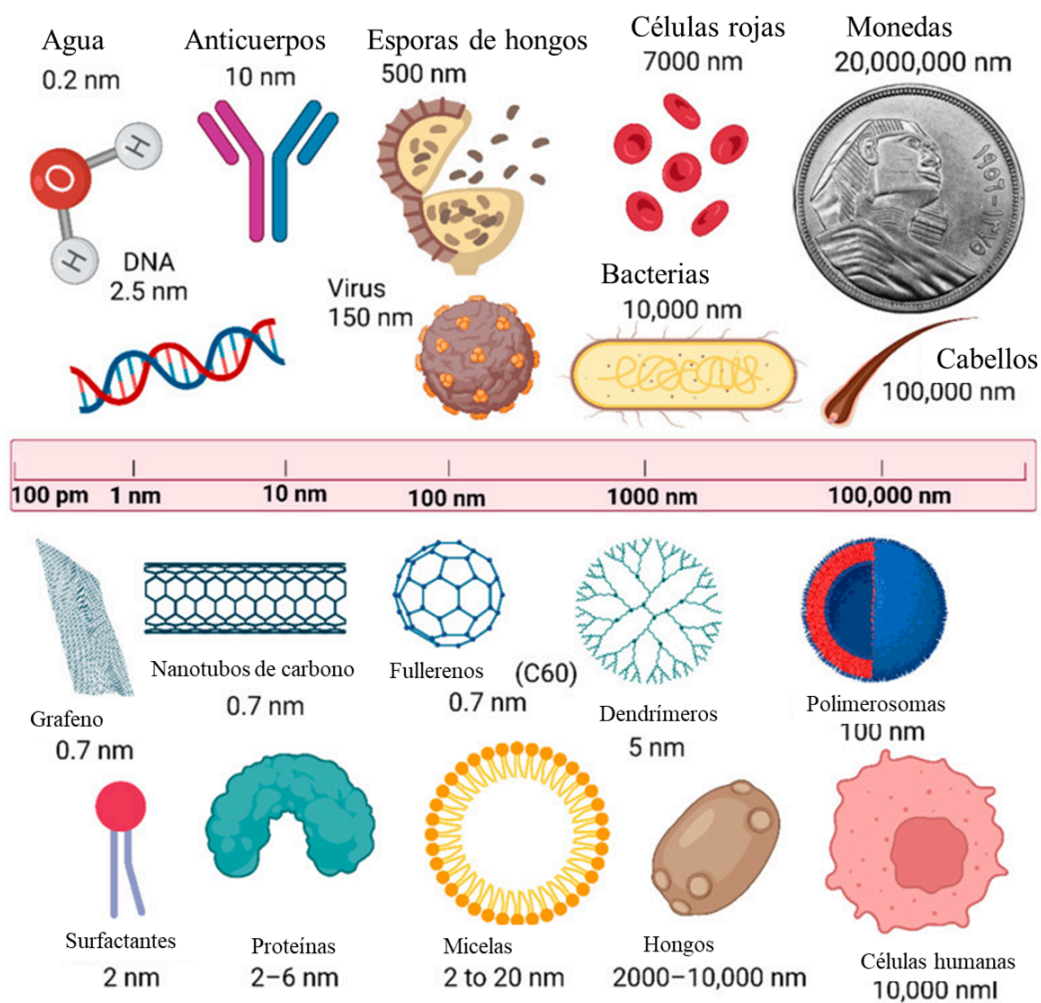


Figura 1.1 Esquema comparativo de la escala de tamaño de los objetos en comparación con el tamaño nanométrico. Tomado de **(Barhoum et al., 2022)**.

La nanociencia combina disciplinas como la física, la química, la ciencia de materiales y la biología para comprender la manipulación de los materiales a escala atómica y molecular, describiendo el estudio físico y químico de los nanomateriales, enfocándose en las propiedades y sus características dependientes del tamaño de los materiales en estado sólido **(Bayda et al., 2020)**. Por otro lado, la nanotecnología es un área de investigación que se centra en el estudio y aplicaciones de la materia a escala nanométrica, combinando distintas disciplinas como la ingeniería, la química, la física, la biología y la medicina con el objetivo final de modificar la materia a escala atómica.

El término nanotecnología entonces describe la manipulación de la materia en esta escala. La manipulación de estos materiales se realiza usualmente por métodos químicos, moleculares y supramoleculares, sintetizando nanopartículas, nanomateriales y materiales nanoestructurados. Otro de los enfoques de la nanotecnología es el estudio de las características específicas observadas tras la modificación del tamaño de las nanopartículas **(Barhoum et al., 2022)**. Las nanopartículas exhiben propiedades

exclusivas en comparación con el mismo material en bulk (granel). De la misma manera, la reducción de tamaño altera drásticamente las características ópticas, eléctricas y magnéticas del nanomaterial (**Jeevanandam et al., 2018**). Ejemplo de esto tenemos a las nanopartículas de Au de 20 nm de diámetro entre cuyas propiedades se observa una resonancia de plasmón superficial localizada a una longitud de onda de 520 nm en agua, cuyo rojo cambia a 600 nm a medida que el diámetro de las Au NP aumenta a 100 nm (**Jeevanandam et al., 2018**). A día de hoy, la nanotecnología se expande rápidamente con nuevas aplicaciones en innumerables campos de la ciencia. Uno de estos campos es la nanoingeniería cuyas aplicaciones brindan nuevas oportunidades para el progreso en la atención médica, la energía, la protección ambiental, la construcción, el procesamiento de alimentos agrícolas y otros campos mediante el desarrollo de nanomateriales y nanoestructuras.

De esta manera diferentes campos de investigación, desde la química orgánica hasta la física de semiconductores, están implicados en la fabricación, diseño y regulación de muchos y novedosos materiales nanoestructurados y nanopartículas, así como el uso de estos en aplicaciones relacionadas. Los nanomateriales difieren en sus dimensiones, formas, tamaños, composiciones, porosidad, fases y entre otras características, y resultado de estos se han desarrollado varias clasificaciones con la finalidad de poderlos categorizar de la mejor manera (**Barhoum et al., 2022**).

Una de las principales clasificaciones de los nanomateriales está dictada en función de su origen, siendo estos nanomateriales naturales, incidentales, bioinspirados y diseñados (**Prasad et al., 2018**). Los nanomateriales naturales son resultado de procesos fisicoquímicos naturales, mientras que los nanomateriales incidentales, también conocidos como partículas antropogénicas son aquellos cuya producción fue efecto secundario resultado de procesos industriales creados por el hombre. Los nanomateriales diseñados son aquellos que fueron fabricados directamente en el laboratorio o la industria para obtener materiales con características específicas. Finalmente los nanomateriales bioinspirados son aquellos diseñados cuyas propiedades imitan las de los nanomateriales naturales o la materia viva.

No obstante, a pesar de las novedosas propiedades exclusivas, pocos nanomateriales diseñados han sido aprobados y utilizados en la industria, debido a la necesidad de procesos de producción y evaluación de riesgos a gran escala y a largo plazo.

1.3 Tipos y clasificación de nanomateriales

Debido a la diversidad de las nanoestructuras, diferentes clasificaciones han sido propuestas. En términos generales, los nanomateriales pueden ser clasificados con base en sus dimensiones, origen y/o composición (véase **Figura 1.2**).

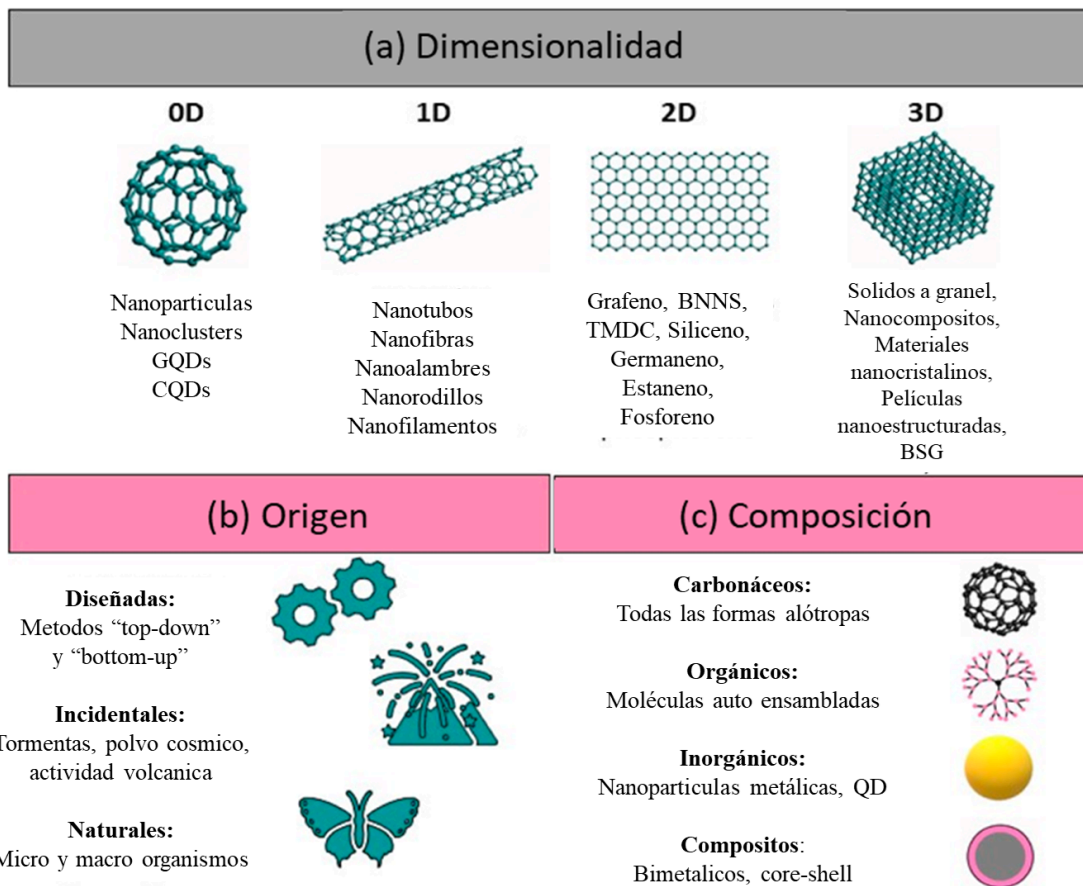


Figura 1.2 Clasificación de nanomateriales en función de su (a) dimensionalidad, (b) origen, y (c) composición. Las abreviaturas corresponden a : Puntos cuánticos de grafeno (GQD); Puntos cuánticos de carbono (CQD); BNNS: Nanohojas de nitruro de boro; Dicalcogenuros de metales de transición monocapa (TMDC); Nanopartículas de goma de semilla de albahaca (BSG); Puntos cuánticos (QD). (modificado de **(Barhoum et al., 2022)**).

1.3.1 Clasificación basada en su dimensionalidad

Una de las principales características de los nanomateriales y que ayudan a diferenciarlos de los materiales macroscópicos es su dimensionalidad. Según su dimensionalidad (es decir tamaño y morfología) estos se pueden categorizar en 4 tipos principales de nanomateriales siendo estos: 0D, 1D, 2D y 3D, esto en función del número de dimensiones que se encuentran fuera de la escala nanométrica en un material. (**Figura 1.3**).

Nanomateriales de dimensión cero (0D): en estos materiales cada una de sus tres dimensiones se encuentra dentro de la escala nanométrica (es decir, <100 nm). Algunos ejemplos de estos nanomateriales son los puntos cuánticos de grafeno, los puntos cuánticos de carbono, los fullerenos, las nanopartículas magnéticas, las nanopartículas de metales nobles y las nanopartículas de polímeros. Como resultado de sus propiedades relevantes en torno a su estabilidad óptica, fotoluminiscencia

dependiente de la longitud de onda, inercia química, permeabilidad celular y biocompatibilidad, los nanomateriales 0D son interesantes para aplicaciones optoelectrónicas y biomédicas (Wang et al., 2020).

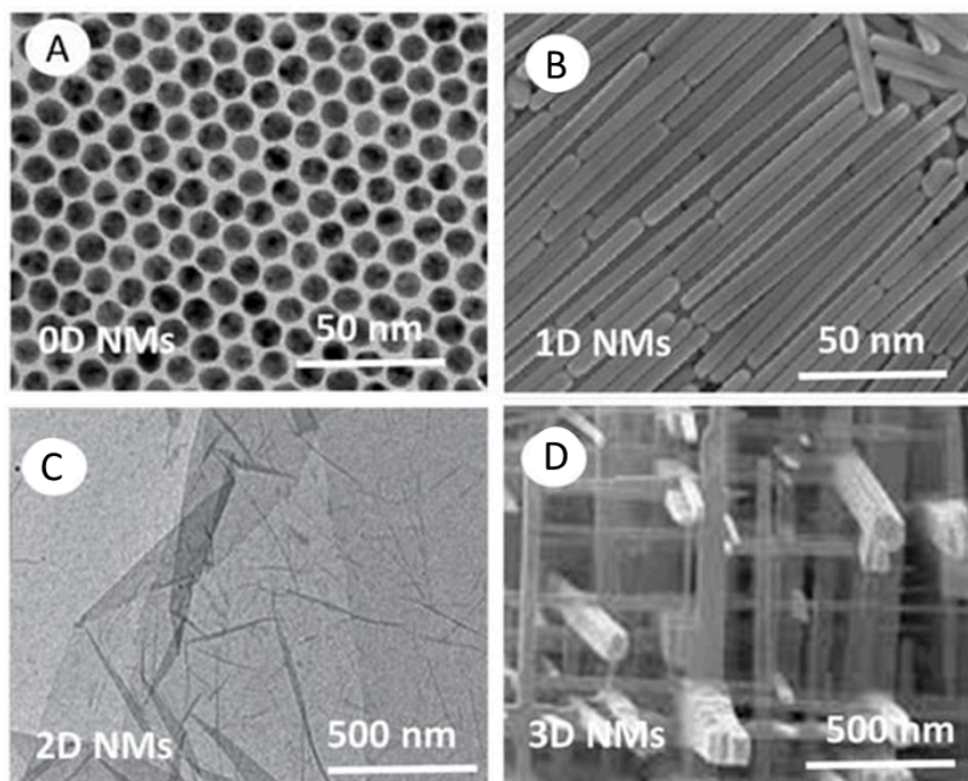


Figura 1.3 Diferentes morfologías observadas en nanomateriales con diferente dimensionalidad: (A) Nanopartículas de Au monodispersas no porosas 0D (0D); (B) Nanorods de plata 1D; (C) Nanofojas de grafeno 2D; (D) Red de nanocables 3D de WO_3 . (modificado de (Barhoum et al., 2022)).

Nanomateriales unidimensionales (1D): la característica común de estos materiales es que tienen una sola dimensión mayor a >100 nm. Entre estos los metales, los óxidos metálicos y los nanomateriales 1D a base de carbono con una alta relación de aspecto (por ejemplo, nanotubos, nanocables y nanofibras) han resaltado por sus excelentes fuentes de electrones que emiten en un campos eléctrico bajos. Otros materiales similares como las esteras, y redes de nanofibras poliméricas son NM 1D cuyas características les otorgan de una gran relación superficie-volumen, una porosidad elevada y poros pequeños que se explotan para aplicaciones en descontaminación, catálisis, filtración y también para nanomateriales superabsorbentes (Jeevanandam et al., 2020).

Nanomateriales bidimensionales (2D): en este tipo de materiales dos de sus dimensiones se encuentran con medidas superiores a > 100 nm. Por lo general este tipo de materiales tienen forma de placas y capas delgadas con un espesor de al menos una capa atómica. Ejemplos de esto son materiales como el Grafeno/óxido de grafeno/óxido

de grafeno reducido, arcillas de silicato, hidróxidos dobles en capas, dicalcogenuros de metales de transición, nitruro de carbono grafitico, nitruro de boro hexagonal, nanohojas de boro, entre otros son algunos ejemplos de nanomateriales 2D. Como resultado de sus formas uniformes, su alta relación superficie-volumen (en contraste con el material en bulk) y su carga superficial estos materiales tienen por lo general características físicas, químicas, ópticas y biológicas únicas que son atractivas para novedosas aplicaciones (Jin et al., 2018).

Nanomateriales tridimensionales (3D): como su descripción lo indica, estos materiales poseen tres dimensiones con tamaños >100 nm; sin embargo, sus constituyentes individuales son de tamaño nanométrico. En esta clase se incluye el grafeno nanoestructurado, haces de nanocables y esponjas de nanotubos. En la última década, diversos grupos de investigación a nivel mundial se han enfocado en el análisis exhaustivo y sistemático que involucra los procesos de síntesis, producción a escala y la caracterización de nanoestructuras 3D a fin de emplearlos como electrodos para la conversión de energía electroquímica y como almacenes de energía (baterías y supercondensadores). Este tipo de materiales con estructuras 3D complejas pueden mostrar características deseables, como la resistencia mecánica elevada. Las estructuras 3D complejas son componentes importantes de sistemas microelectromecánicos, dispositivos biomédicos, robótica y celdas solares. La integración sinérgica de nanomateriales con tecnologías de impresión 3D permite la creación de arquitectura y dispositivos con un nivel de integración funcional sin precedentes (Barhoum et al., 2022).

1.3.2 Clasificación basada en su origen

Basados en su origen, los nanomateriales se pueden subclasificar en cuatro categorías: “nanomateriales naturales, incidentales, bioinspirados y diseñados” (Figura 1.2b).

Nanomateriales naturales: son producidos principalmente mediante procesos biogeoquímicos o mecánicos naturales, sin que exista algún vínculo directo con actividades/procesos antropogénicos. Ejemplos de esto tenemos a las estructuras de foraminíferos (principalmente tiza), los virus (cápsides, proteínas), los cristales de cera que recubre las hojas de loto, las espátulas de las patas de los geckos, algunas escamas de las alas de las mariposas, los coloides (leche, sangre), el nácar, los corales y las matrices óseas. Los nanomateriales inorgánicos naturales se producen por crecimiento de cristales. Como ejemplo de esto tenemos que resultado de la anisotropía de su estructura cristalina, las arcillas muestran nanoestructuras complejas. De manera similar, la actividad volcánica puede conducir a la formación de ópalo, un ejemplo de cristales fotónicos naturales resultado de su estructura a nanoescala. Algunas de las

principales fuentes naturales de nanomateriales incluyen incendios forestales, cenizas volcánicas, y la erosión de rocas que contienen metales (**Shalan et al., 2018**).

Nanomateriales incidentales: este tipo de materiales nanoestructurados se producen involuntariamente a través de influencias humanas directas o indirectas o procesos antropogénicos, como los gases de escape de los vehículos, los gases de soldadura, y en general los procesos de combustión. Los incendios forestales generan una amplia gama de nanomateriales (por ejemplo, pigmentos, cemento) y nanomateriales atmosféricos incidentales, podrían aumentar la contaminación del aire. Los nanomateriales incidentales son pues subproductos de las actividades humanas, generalmente tienen tamaños y formas mal controlados. Los nanomateriales incidentales tienen altos impactos ambientales y deben considerarse en relación con los nanomateriales diseñados (**Barhoum et al., 2022**).

Nanomateriales bioinspirados: este tipo de nanomateriales son diseñados con propiedades que imitan aquellas de los nanomateriales naturales o la materia viva. Mediante el uso de avanzadas tecnologías se pueden fabricar muchos nanomateriales bioinspirados con funciones específicas modulando sus estructuras. Por ejemplo, se han diseñado elastómeros mecanocrómicos que imitan la estructura fotónica de las células iridóforas del camaleón. En estos sensores, los nanocristales rígidos de sílice están incrustados en una matriz elastomérica para formar cristales no compactos. Estos sensores muestran un cambio de color de rojo a azul bajo estiramiento y de rojo a verde bajo compresión (**Rasouli et al., 2018**).

Nanomateriales diseñados: Los nanomateriales diseñados son todos aquellos tipos de nanopartículas y materiales nanoestructurados producidos por el hombre para aplicaciones específicas. Estos nanomateriales se caracterizan de manera exhaustiva para reducir sus efectos negativos no planificados. Entre los primeros nanomateriales comerciales encontramos las primeras nanoesferas de sílice que se sintetizaron a partir de soluciones acuosas en la década de 1960. Por lo general, las nanopartículas diseñadas tienen formas regulares, como anillos, esferas, tubos, etc. Nanoestructuras de carbono diseñadas como fullerenos, nanotubos de carbono y grafeno se destacan al poseer una forma y estructura bastante más regular en comparación con la del carbón natural (**Barhoum et al., 2022**).

1.3.3 Clasificación basada en su composición

En función de su composición química, los nanomateriales se pueden catalogar en 4 grandes subgrupos: a base de carbono, los inorgánicos, los orgánicos y los híbridos. Este tipo de nanomateriales normalmente se producen utilizando una variedad de métodos y pueden incluir uno o más componentes.

Nanomateriales de carbono: Este tipo de nanomateriales están formados por átomos de carbono unidos por enlaces sp^2 . Incluyen nanodiamantes, fullerenos, grafeno, nanotubos de carbono de pared simple y múltiple, nanofibras de carbono, nanocuernos, nanocebellas, nanografito entre otros (**Thostenson et al., 2001**). Entre los métodos de síntesis de este tipo de nanomateriales a base de carbono tenemos la deposición química de vapor (CVD), la ablación con láser y la descarga en arco (**Butler and Sumant, 2008**). Este tipo de nanomateriales se clasifica de forma específica debido a la gran variedad de formas alotrópicas del carbono, aun cuando estos podrían considerarse como nanomateriales orgánicos debido a que su constituyente principal incluye la presencia de enlaces C-C. Por otro lado aquí también se incluyen materiales con átomos de carbono sin hibridación sp^2 como lo son, nanodiamantes, y el carbón activado. Este tipo de materiales se puede obtener a su vez mediante procesos como la molienda mecánica o crecer mediante una técnica de crecimiento por semilla (por ejemplo, CVD para nanodiamantes) (**Barhoum et al., 2020**). Los nanomateriales a base de carbono son cruciales para las actividades humanas (por ejemplo, combustibles, materiales compuestos, pigmentos, materiales de refuerzo). Entre algunas de las aplicaciones destacables encontramos su uso en el campo de la energía sustentable (**Oschatz et al., 2016**), por ejemplo, los bloques de grafito forman parte de los reactores nucleares como reflectores y moderadores; mientras que los nanomateriales de carbono son generalmente empleados como electrodos en baterías recargables de iones de litio y condensadores eléctricos de doble capa (**Khan et al., 2019**).

Nanomateriales orgánicos: este tipo de materiales tienen propiedades funcionales debido a la asociación química de su constituyente principal (el carbono) con otros elementos que le aportan funcionalidades específicas a la arquitectura nanoestructurada de estos. En esta clase de materiales se incluyen nanopartículas de lípidos y polímeros. Este tipo de nanopartículas por lo general tienen forma de nanoesferas o tienen una forma nanoencapsulada que oscila entre 10 y 1000 nm. Ejemplos de este tipo de nanopartículas orgánicas son los dendrímeros, las micelas, y los liposomas. Se consideran nanopartículas biodegradables y no tóxicas. Las películas de bicapa lipídica son autoensamblajes formados por lípidos polares que se encuentran en las membranas celulares, algunos microorganismos y virus. Estas películas fabricadas ensamblan micelas nanoparticuladas, liposomas y películas de una o dos capas aprovechando hidrofílicas e hidrofóbicas de los lípidos (**Ramsden, 2011**).

Nanomateriales inorgánicos: este tipo de nanomateriales están formados a partir de elementos distintos del carbono, como metales, óxidos metálicos y sales metálicas. Tienen diferentes formas (esferas, cilindros, oblatos, elipsoides, cubos y estrellas) en función del empaquetamiento de sus átomos, conservando por lo general la naturaleza cristalina de los compuestos. No obstante, también existen nanopartículas

inorgánicas amorfas. Sus superficies son altamente reactivas y sensibles debido a los enlaces disponibles de los átomos en la superficie lo que facilita su funcionalización.. Entre los nanomateriales inorgánicos más comunes tenemos los puntos cuánticos a base de metales (1 a 10 nm), los cuales muestran propiedades antimicrobianas excepcionales debido a la etapa de transición entre la masa y unos pocos átomos (**Travlou et al., 2018**). Las nanopartículas magnéticas como la magnetita (Fe_3O_4) y el $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ también son fascinantes debido a sus elevados campos coercitivos y su comportamiento superparamagnético a nanoescala. Otros materiales como las nanoarcillas son empleadas en el refuerzo y barreras de polímeros, revestimientos de membranas, adsorción de toxinas y como materiales antibacterianos y esterilizantes debido a su baja toxicidad (**Essawy et al., 2018**).

Nanocompuestos híbridos: estos incluyen materiales multifásicos con al menos un componente nanométrico (1-100 nm), o con separación de fases nanométricas. Este tipo de nanocompuestos se basan en una matriz, y la matriz puede ser conformada por un polímero, una cerámica, un hidrogel o un metal. Los nanomateriales orgánicos o inorgánicos utilizados como refuerzo otorgan propiedades específicas al compuesto. Los hidrogeles muestran propiedades bioactivas adaptables a entornos precisos (por ejemplo, ingeniería de tejidos), combinadas con la fácil interacción entre cadenas poliméricas y nanoestructuras. Por ejemplo, composites de nanotubos de carbono y agar se han realizado para su uso como agente antimicrobiano (**Akasaka et al., 2010**).

1.4 Nanomateriales antimicrobianos

La alta tasa de brotes de enfermedades infecciosas derivadas de patógenos causantes de enfermedades ha sido motivo de gran preocupación en los últimos años. Las consecuencias de estos brotes conllevan altos costos en las actividades diarias, recesión económica y hasta casos graves de muerte. Aun cuando se ha logrado la erradicación de algunas de estas enfermedades infecciosas, se ha observado la reaparición de enfermedades que se creían erradicadas, con cepas resistentes a la medicina moderna (**Kyriacou et al., 2004**). Los microbios resistentes a los antimicrobianos surgen debido al mal uso de las dosis de antimicrobianos como antibióticos, antifúngicos, y antivirales, lo que lleva a que estos patógenos ganen resistencia determinados antimicrobianos.

Esto se ha convertido en un grave problema de salud pública, resultado de la propagación prolífica de estas enfermedades, especialmente por la falta de antimicrobianos adecuados para abordar el problema. Los antibióticos, los desinfectantes químicos y otras formas de biocidas microbianos son muy eficaces contra los microorganismos. Sin embargo, estos efectos son temporales ya que desaparecen con bastante rapidez o disminuyen en un corto período de tiempo. Por lo tanto, es de

suma importancia eliminar la propagación y el crecimiento de microbios en las instalaciones, equipos y superficies en general. De esta manera, la nanotecnología se ha visto impulsada a investigar nuevos agentes antibacterianos potentes para frenar la propagación de enfermedades resistentes a los antibióticos. Recientemente, el control de bacterias utilizando materiales antimicrobianos como nanopartículas ha llamado la atención de investigadores de todo el mundo **(Ogunsona et al., 2020)**.

El interés en el uso de estos materiales surge de las propiedades morfológicas y fisicoquímicas, como área superficial, volumen, propiedades físicas y químicas que se han utilizado con éxito en diversas aplicaciones **(Ogunsona et al., 2018; Panchal et al., 2019)**, así como su potencial antimicrobiano hacia un amplio espectro de patógenos **(J. S. Kim et al., 2007; Morones et al., 2005)**. Además, la carga superficial de estas nanopartículas puede facilitar la unión a la carga superficial opuesta de las bacterias, lo que lleva a actividades antimicrobianas efectivas **(Pal et al., 2007)**. Asimismo, la longevidad y durabilidad de estas nanopartículas al usarse en aplicaciones antimicrobianas son prometedoras debido a su limitada solubilidad **(Weir et al., 2008)**, así como a su interacción con las membranas microbianas **(Allaker, 2010)**. Se ha demostrado que una nanopartículas (1 a 10 nm) poseen excelentes propiedades antimicrobianas debido al aumento del área de contacto con las bacterias **(Morones et al., 2005)**.

En este sentido, se han desarrollado nanopartículas con dimensiones cada vez más pequeñas, por ejemplo, nanopartículas metálicas con propiedades biocidas que incluyen plata, cobre, zinc, dióxido de titanio; nanotubos de carbono y las bionanopartículas como el quitosano son algunas de las nanopartículas antimicrobianas que actualmente se encuentran bajo investigación exhaustiva **(Suppi et al., 2015)**. Estas nanopartículas muestran excelentes propiedades biocidas contra diversos microorganismos sin la limitación de desarrollar cepas resistentes **(Pal et al., 2007)**. La aplicación de nanopartículas antimicrobianas y su mecanismo contra los microbios ha sido bien investigada. Así pues, a continuación revisaremos los avances actuales en las aplicaciones de nanopartículas antimicrobianas en aplicaciones como la medicina.

1.4.1 Actividad antimicrobiana de nanomateriales

Las bacterias están constituidas con una estructura de pared celular externa que se utiliza para determinar su clasificación; se clasifican como grampositivos o gramnegativos. Las bacterias grampositivas tienen una capa más gruesa de peptidoglicano en sus paredes celulares que las bacterias gramnegativas, mientras que carecen de una membrana externa de lipopolisacárido que tienen las bacterias gramnegativas. Es decir, las bacterias gramnegativas tienen una capa adicional intercalada entre la capa externa y la membrana plasmática, como se muestra en la

Figura 1.4. Sin embargo, esta capa es más delgada en comparación con la de las bacterias grampositivas y, por tanto, susceptible a la penetración y, la destrucción de la célula cuando se expone a nanopartículas antimicrobianas (**Cavassin et al., 2015; Kim et al., 2012**). En la **Figura 1.4** se representa esquemáticamente un resumen de los probable mecanismo antimicrobianos en bacterias de las nanopartículas, particularmente para los iones metálicos. De manera similar, los modos generales de acción se resumen a través de los siguientes mecanismos que se describen a continuación:

1. **Efectos antibacterianos por generación de especies reactivas de oxígeno (ROS):** las ROS (aniones superóxido, radicales hidroxilo y peróxido de hidrógeno) se producen después de la exposición a nanomateriales como óxidos metálicos. Estas ROS pueden inducir la peroxidación de los fosfolípidos en las células bacterianas para dañar el ADN y causar la muerte celular (**Choi and Hu, 2008**).
2. **Efectos antimicrobianos por daño físico:** las membranas de la pared celular bacteriana pueden dañarse al interactuar con bordes afilados de los materiales nanoestructurados (**Akhavan and Ghaderi, 2010**).
3. **Efectos antimicrobianos por unión:** los materiales con la capacidad de unirse a la pared celular bacteriana pueden provocar la pérdida de la integridad de la membrana celular y la salida de materiales citoplasmáticos (**Parandhaman et al., 2015**).
4. **Efectos antimicrobianos por liberación de iones metálicos:** los iones metálicos liberados por los nanomateriales en los medios de cultivo pueden inhibir la producción de ATP y la replicación del ADN lo que conlleva a la destrucción de las estructuras celulares y con ello la muerte celular (**Gunawan et al., 2011**).

1.5 Aplicaciones de materiales antimicrobianos

La capacidad de las bacterias para sobrevivir en las superficies es un factor importante en la propagación de enfermedades infecciosas. Las prácticas de higiene inadecuadas pueden provocar el aumento de la resistencia microbiana a los desinfectantes, la aparición de enfermedades transmitidas por los alimentos y pérdidas financieras. Por lo tanto, la prevalencia de enfermedades transmitidas relacionadas con la resistencia bacteriana es un problema urgente de salud pública que requiere especial atención (**Freeland et al., 2023**).

Las enfermedades infecciosas causadas por virus y bacterias esperados e inesperados se tratan en gran medida mediante el uso de nanotecnología. Generalmente, los agentes antimicrobianos son compuestos químicos que son polímeros bioactivos o

polímeros sintetizados, solos o en combinación con nanopartículas (NP) (Goel et al., 2020). Muchas sustancias orgánicas, incluidos polímeros y biopolímeros, han demostrado recientemente ser prometedoras como medicamentos antivirales y antibacterianos para tratar enfermedades provocadas por bacterias y virus peligrosos (Ates et al., 2020).

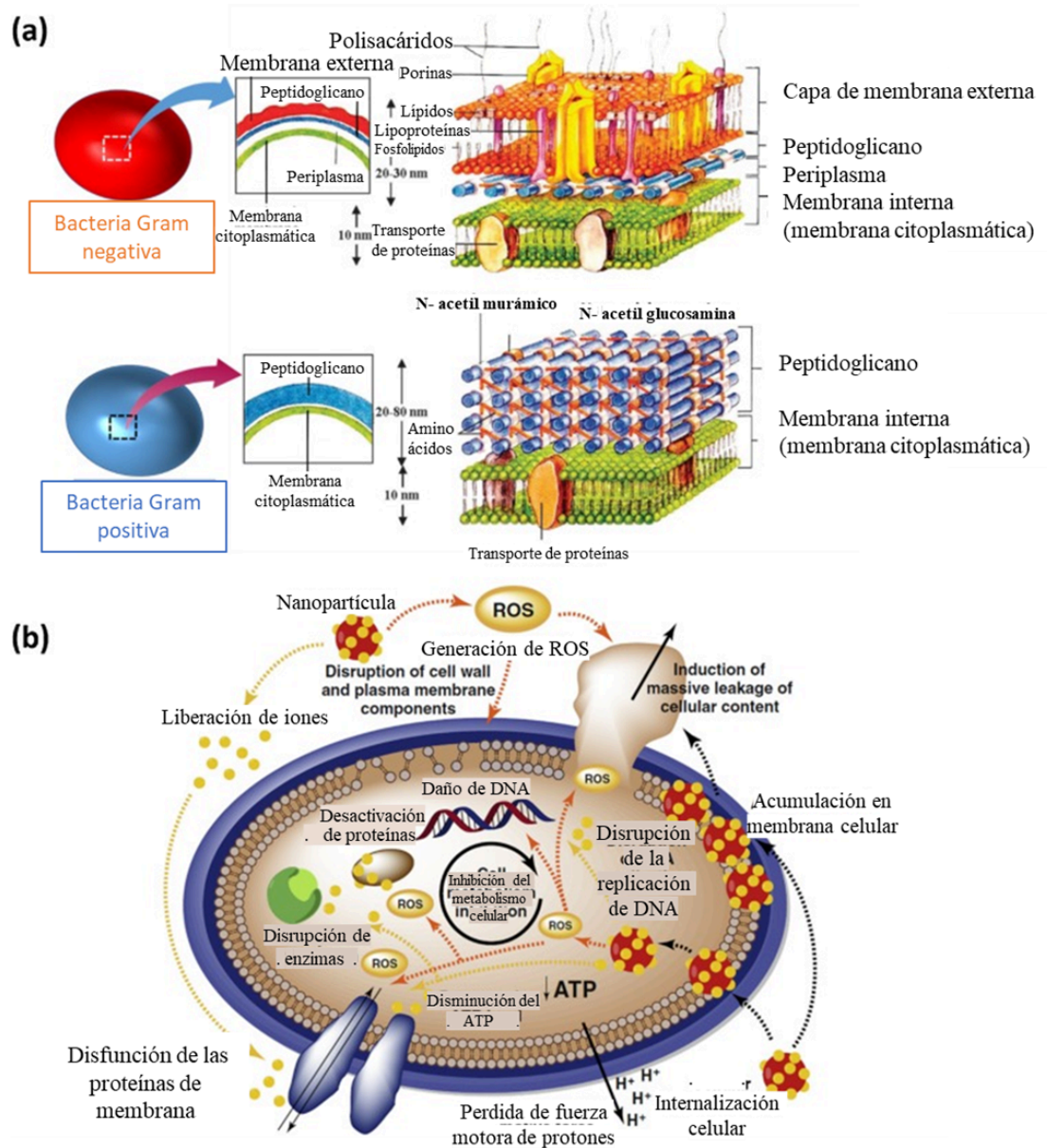


Figura 1.4 (a) Comparación entre las estructuras de la pared celular de bacterias grampositivas y negativas y (b) representación esquemática de los mecanismos antimicrobianos de iones metálicos (adaptado y modificado (Josset et al., 2008; Wyzogrodzka et al., 2016)).

Entre estos tenemos los recubrimientos biocidas se forman utilizando superficies repulsivas patógenas pasivas y antimicrobianos activos, micro y nanoestructurados con modificaciones químicas (Imani et al., 2020). Singh y cols. (Singh and Mijakovic,

2022) destacaron la importancia de los métodos para la producción de nanopartículas a partir de síntesis verde. Bukhari et al. (Bukhari et al., 2021) respaldaron la síntesis verde de nanopartículas de metales y óxidos metálicos utilizando componentes de varias plantas para obtener propiedades anticancerígenas y antibacterianas.

También se han investigado estrategias para mejorar la capacidad antibacteriana de las nanopartículas mediante la modificación de la superficie y su potencial como sistema de administración de antibióticos. Barabadi et al. fabricaron nanopartículas de plata (AgNP) obtenidas de *Zataria multiflora* y compararon sus propiedades antibacterianas con las de las AgNP (C-AgNP) comerciales contra *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Barabadi et al., 2021). La Figura 1.5 muestra imágenes de AgNP biosintetizadas, la caracterización de AgNP y también la actividad antimicrobiana e inhibidora de biopelículas de AgNP.

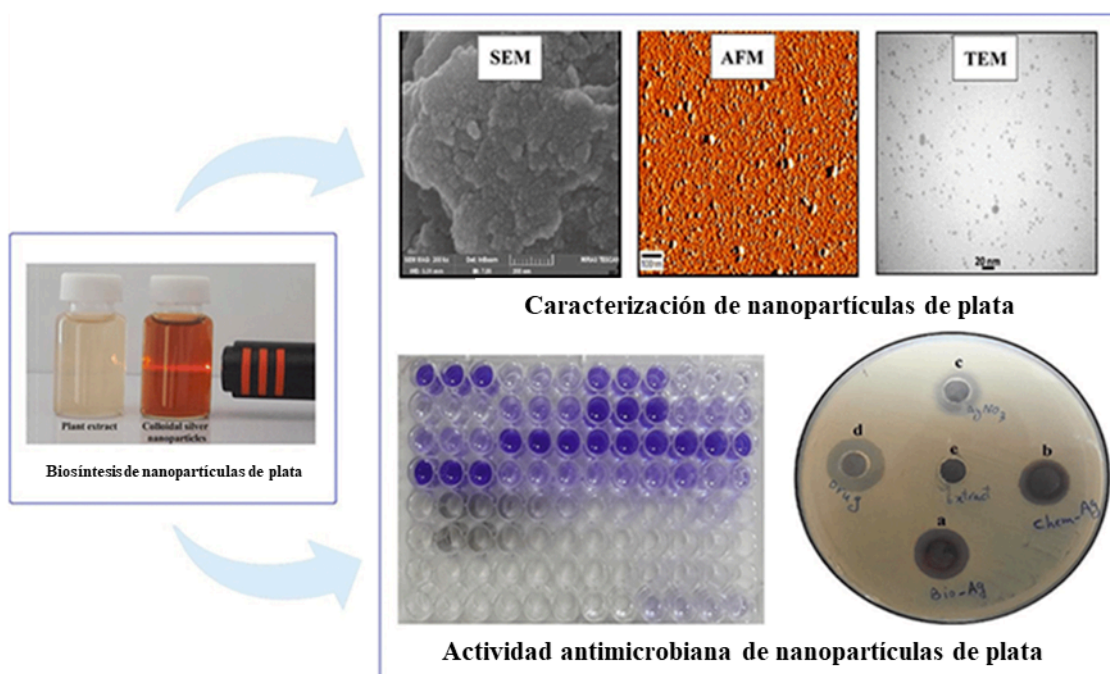


Figura 1.5 Biosíntesis, caracterización y actividad antibacteriana de AgNP. (tomado de (Barabadi et al., 2021)).

Nandhini y col (Nandhini et al., 2023), revisaron los avances recientes en la síntesis verde de nanopartículas para el tratamiento de heridas y bacterias. Dado que la síntesis verde no utiliza productos químicos tóxicos, se prefiere sobre otros métodos de creación de nanopartículas. Se han empleado soluciones de extractos de plantas, hongos, algas y cianobacterias como agentes de nucleación en el proceso para producir nanomateriales eficaces para aplicaciones médicas. Las nanopartículas sintetizadas mostraron propiedades antibacterianas, anticancerígenas y anti fúngicas para la curación de heridas, como se muestra en la Figura 1.6.

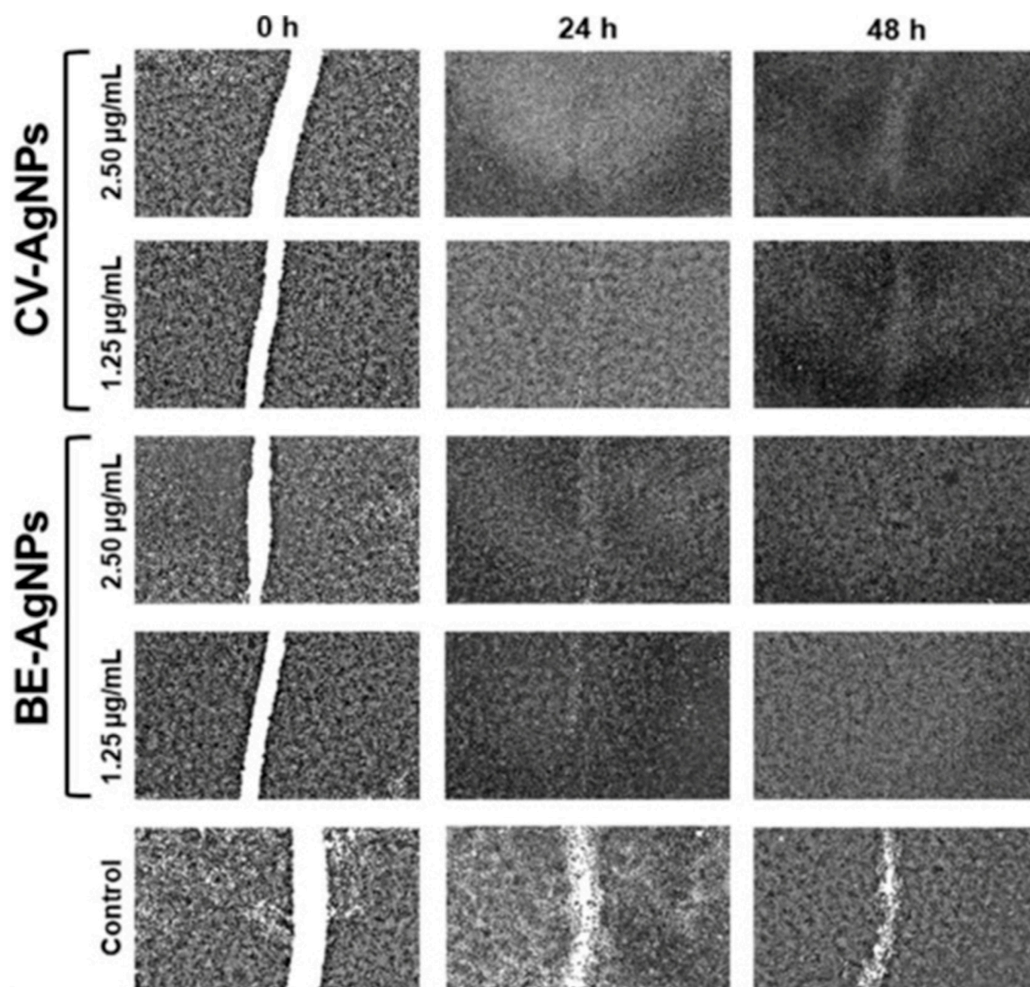


Figura 1.6. Efectividad de cicatrización de heridas in vitro de CV-AgNP y BE-AgNP a 2,50 g/mL y 1,25 g/mL durante 24 y 48 h en la línea celular L929 (tomado de (Nandhini et al., 2023)).

La presencia de cepas bacterianas resistentes pueden provocar infecciones en las heridas. En este sentido nanopartículas con actividad antibacteriana que están presentes en apósitos médicos son un fantástico sustituto del alcohol y antibióticos. La plata (Ag) se utiliza cada vez más como agente antimicrobiano. Con excelentes resultados antiinflamatorios, las AgNP se han aplicado en varios métodos para tratar heridas (Ferdous and Nemmar, 2020). No obstante las AgNP pueden acumularse en el cuerpo humano, son muy costosas, y frecuentemente inestables en diversos entornos (Ferdous and Nemmar, 2020).

Dado que el ZnO y el TiO₂ no tienen ningún impacto en las células humanas, las soluciones para el cuidado de heridas basadas en estas nanopartículas son relativamente nuevas y seguras de emplear como agentes antibacterianos. Veselova et al. investigó la eficacia antimicrobiana en textiles recubiertos con nanopartículas de ZnO y TiO₂ en un ambiente tropical (Veselova et al., 2022). Se observó que vendajes de algodón con Ag-NP y ZnO-NP y Ag-ZnO-NP y una mezcla de Ag/ZnO-NP muestran actividad

antimicrobiana contra *Acinetobacter baumannii* y *Pseudomonas aeruginosa* (Khatami et al., 2018). Recientemente se han sintetizado nanopartículas de cobre (CuNP) con propiedades antibacterianas mejoradas. Se ha determinado la efectividad y mecanismos de la actividad antimicrobiana del cobre. El cobre tiene una capacidad inherente para luchar contra hongos, virus y bacterias. El tamaño y la concentración de las CuNP parecen tener un mayor impacto en su actividad; cuanto más pequeñas las nanopartículas, más eficiente su actividad antimicrobiana (Kaweteerawat et al., 2017). A las nanopartículas de pequeño tamaño les resulta más fácil penetrar en las células. Esto sugiere que la membrana plasmática se ve debilitada por las interacciones de las CuNP con la pared celular. Salah et al. revisaron los avances recientes en el uso del cobre como agente antimicrobiano (Salah et al., 2021). Los mecanismos principales por los cuales las nanopartículas de cobre provocan la muerte de diferentes microorganismos se muestran en la **Figura 1.7**.

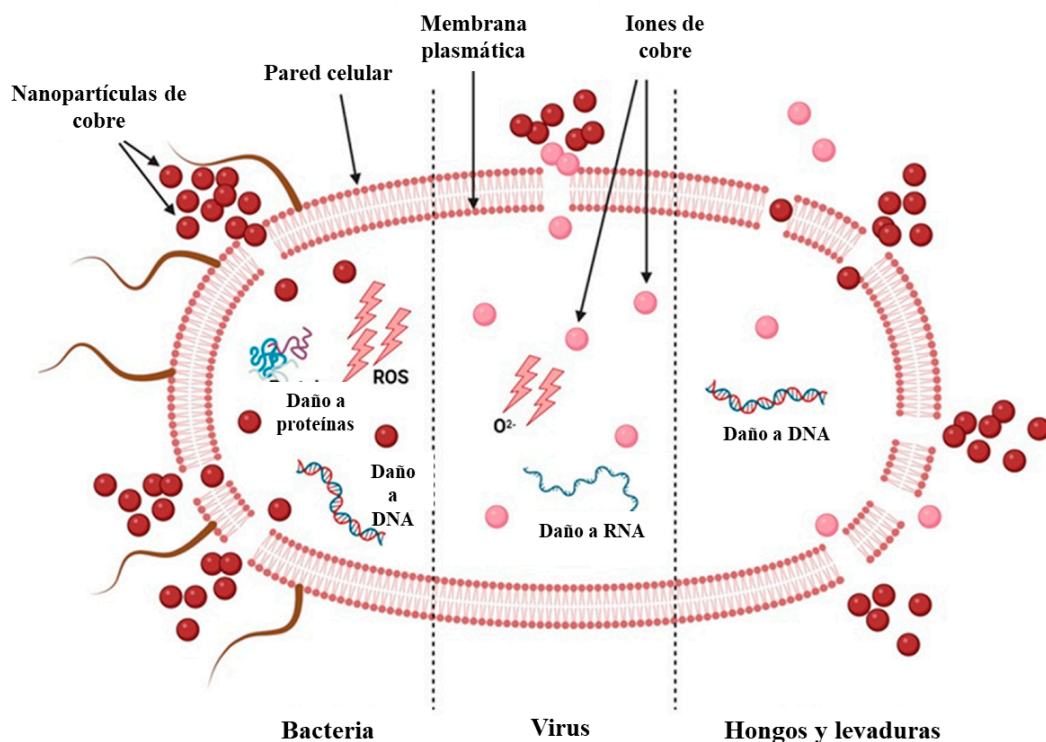


Figura 1.7. Las nanopartículas de cobre son la principal causa de muerte en varias bacterias. (modificado de (Salah et al., 2021)).

1.6 Justificación

El presente trabajo de tesis busca explorar la síntesis de materiales nanoestructurados poco comunes para el estudio de sus propiedades antimicrobianas. Por lo general los nanomateriales más comunes con propiedades antimicrobianas como se revisó anteriormente, está basado en el uso de nanopartículas metálicas como cobre, titanio, plata y oro, resultado de sus atractivas propiedades fisicoquímicas. No obstante

con el aumento de las aplicaciones de este tipo de nanomateriales surge la necesidad de buscar nuevas alternativas que limiten la cantidad de residuos inorgánicos que este tipo de nanopartículas generan. En este sentido el presente trabajo se buscó evaluar las propiedades antimicrobianas en nanomateriales poco comunes y de limitados residuos inorgánicos como los nanotubos de carbono dopados con nitrógeno (N-MWCNT) y las nanoestructuras de agua diseñadas (EWNS).

Así pues, la optimización de métodos para la síntesis y mecanismos de modificación de las propiedades fisicoquímicas de N-MWCNT y EWNS nos permitirán generar las bases científicas para entender las propiedades antimicrobianas de estos materiales en función de sus características con la finalidad de desarrollar nuevos nanomateriales con propiedades anti-microbianas para su uso contra patógenos.

1.7 Hipótesis

La síntesis de materiales nanoestructurados como N-MWCNT y EWNS, de la mano de la modificación de sus propiedades fisicoquímicas nos permitirá obtener nanomateriales con prometedoras propiedades electroquímicas y antimicrobianas para aplicaciones biotecnológicas y médicas.

1.8 Objetivo

1.8.1 Objetivos General

Sintetizar y caracterizar N-MWCNTs y EWNS para evaluar el efecto de las propiedades fisicoquímicas sobre la actividad electroquímica y antimicrobiana de estas nanoestructuras como emergentes nanomateriales para aplicaciones biotecnológicas.

1.8.2 Objetivos específicos

N-MWCNT

1. Síntesis de N-MWCNT mediante el método de deposición química de vapor asistida por aerosol.
2. Caracterización de los N-MWCNT sintetizados mediante las técnicas de espectroscopia Raman, análisis por difracción de rayos X (DRX) y espectroscopia infrarroja por transformada de fourier (FT-IR).
3. Análisis de la actividad electroquímica de N-MWCNT.
4. Análisis de la actividad antimicrobiana de N-MWCNT

EWNS

1. Desarrollo de sistema de electrospray para la síntesis de EWNS
2. Análisis de la actividad antimicrobiana de EWNS en función de las características del sistema.
3. Caracterización de superficies mediante SEM y ángulo de contacto
4. Análisis de la actividad antimicrobiana de EWNS en función del tipo de superficie.

1.9 Conclusiones

La nanotecnología es una disciplina multi e interdisciplinaria que involucra ramas como la física aplicada, ciencia de materiales, ingeniería química, mecánica y eléctrica. Los desarrollos basados en nanomateriales podrían ofrecer mayores prestaciones a menores costos en el futuro. Los esfuerzos futuros deberían centrarse en la mejora de las características de los nuevos nanomateriales para hacerlos adecuados para diferentes aplicaciones. Entre las áreas de oportunidad de la investigación nanotecnológica se encuentran las industrias biomédicas, ambientales, ingenieriles y hasta cosméticas. Los desarrollos actuales de la nanotecnología han explotado aplicaciones diversas, desde medicina, y biotecnología, hasta la electrónica, tecnologías de descontaminación de agua y la educación. Los materiales nanoestructurados producen características estructurales y funcionales nuevas, distintas de sus contrapartes en bulk.

Además, se ha demostrado que los nanomateriales tienen un gran potencial para actividades y aplicaciones antimicrobianas, especialmente debido a su gran superficie y tamaño, lo que lleva a una mayor área de contacto con los microorganismos. En este sentido, los mecanismos de resistencia a los antibióticos de los microorganismos son irrelevantes para los nanomateriales, ya que los modos de acción de estas terminan en contacto con la pared celular de los microorganismos y su destrucción. En este sentido la utilización de la nanotecnología para seleccionar y diseñar nanomateriales con aplicaciones antimicrobianas en diversos sectores ha dado como resultado la búsqueda de aplicaciones prácticas, como la atención médica, el cuidado personal, el tratamiento del agua, la gestión de alimentos, entre otros.

Finalmente el presente trabajo plantea la síntesis y caracterizaciones de N-MWCNT y EWNS, así como la evaluación de sus propiedades electroquímicas y antimicrobianas.

Capítulo 2: Actividad antimicrobiana de nanotubos de carbono

2.1 Resumen

La multifarmaco resistencia de paganos a los medicamentos, motiva la investigación hacia los nanomateriales para disminuir a los microorganismos patógenos y/o sus múltiples resistencias a los medicamentos. Estudios recientes muestran que los nanomateriales poseen una potente actividad antimicrobiana contra diversos patógenos, desde bacterias, hasta hongos e incluso protozoos. Los nanomateriales exhiben propiedades únicas que pueden utilizarse para eludir la acción microbiana o incluso eliminarlos. Diversos grupos de investigación han implementado rutas exitosas para discriminar y categorizar los efectos de estos nanomateriales sobre organismos patógenos en función de sus propiedades físicas o químicas. Así pues, en este capítulo se analizan los avances en el estado del arte de la actividad antimicrobiana de nanotubos de carbono en función de sus características fisicoquímicas.

2.2 Introducción

Recientes estudios han demostrado que los nanotubos de carbono se pueden internalizar fácilmente en las células y, actuar como portadores de fármacos o moléculas (**Karimi et al., 2015**), mientras que, sus propiedades electrónicas también han ofrecido oportunidades para la detección y el tratamiento de enfermedades (**Yang et al., 2007**). Sin embargo, la mayor parte del trabajo relacionado con las ramas biológicas se ha centrado en su impacto en las células animales (**Cui et al., 2010**). No obstante, en los últimos años con el auge de la nanomedicina y la nanobiotecnología, estrategias para el uso de nanomateriales con propiedades antibacterianas han fomentado la investigación de este tipo de materiales para caracterizar sus propiedades antimicrobianas. En particular, varios estudios han demostrado que los nanotubos funcionalizados han demostrado actividad antimicrobiana (**Kang et al., 2008b; Zardini et al., 2012**), aunque también se han informado casos en los que nanotubos de carbono prístinos han demostrado actividad antimicrobiana variada (**Kang et al., 2007**), así como también diversos compuestos de nanotubos de carbono (**Mocan et al., 2017**).

Los mecanismos por los que los CNT provocan daño celular a los microorganismos patógenos están asociados principalmente a sus características físicas como la longitud, el número de capas o la funcionalización. No obstante, estos resultados muestran que el daño que producen en los microorganismos se produce también mediante reacciones o mecanismos como el daño celular (**Zhu et al., 2016**), el estrés oxidativo (**Gurunathan et al., 2012**) o la actividad fotocatalítica (**J.-W. Kim et al., 2007**).

Sin embargo, debido al aumento de aplicaciones en estas áreas, surge la necesidad de analizar y comprender el impacto ambiental de los nanotubos de carbono en el medio ambiente (**Usenko et al., 2007**), como sistemas acuáticos o biológicos (**Liu et al., 2018**), por lo que el uso futuro de este tipo de nanomateriales enfrentará varios desafíos.

En este capítulo nos centraremos en las propiedades fisicoquímicas de los CNTs que se han reportado capaces de causar actividad antimicrobiana, los mecanismos de la actividad antimicrobiana, así como las posibles aplicaciones y perspectivas sobre este tipo de nanomateriales.

2.3 Nanotubos de carbono

Los nanotubos de carbono (CNT) son un tipo de nanomaterial cilíndrico y hueco, constituyente de una o más capas de láminas de carbono compuestas por átomos de carbono dispuestos de forma hexagonal (**Dresselhaus, 1997**). Los nanotubos de carbono se pueden clasificar en función de sus características físicas, por el número de capas que los componen, pueden existir como nanotubos de carbono monocapa (SWCNT), nanotubos de carbono de doble capa (DWCNT), así como nanotubos de carbono multicapa (MWCNT) (**Figura 2.1**). Los CNT son nanomateriales que generalmente se producen de forma sintética; sin embargo, este tipo de nanoestructuras también se pueden encontrar en la naturaleza, como producto de incendios o en fundiciones industriales. (**Lara-Romero et al., 2017**). La síntesis de nanotubos de carbono fue reportada por primera vez en 1991 por Sumio Iijima (**Iijima, 1991**), aunque este tipo de nanoestructuras se observaron anteriormente sin estar completamente caracterizadas (**Radushkevich and Luk'yanovich, 1952**). La síntesis se realiza comúnmente a partir de especies de carbono provenientes de fuentes sólidas o gaseosas que se organizan de forma termodinámicamente estable empleando altas temperaturas, que oscilan entre los 700 y los 1000 °C. Los diámetros de este tipo de materiales varían desde 0,4 nm a unos pocos cientos de nanómetros, siendo sus longitudes más prominentes que sus diámetros (~100 nanómetros a centímetros) son mucho más largas que sus diámetros. La mayoría de los estudios relacionados con los CNT se centran en sus extraordinarias propiedades relacionadas con su conductividad eléctrica, resistencia

mecánica, conductividad térmica, alta superficie y propiedades eléctricas en general (Dai, 2002).

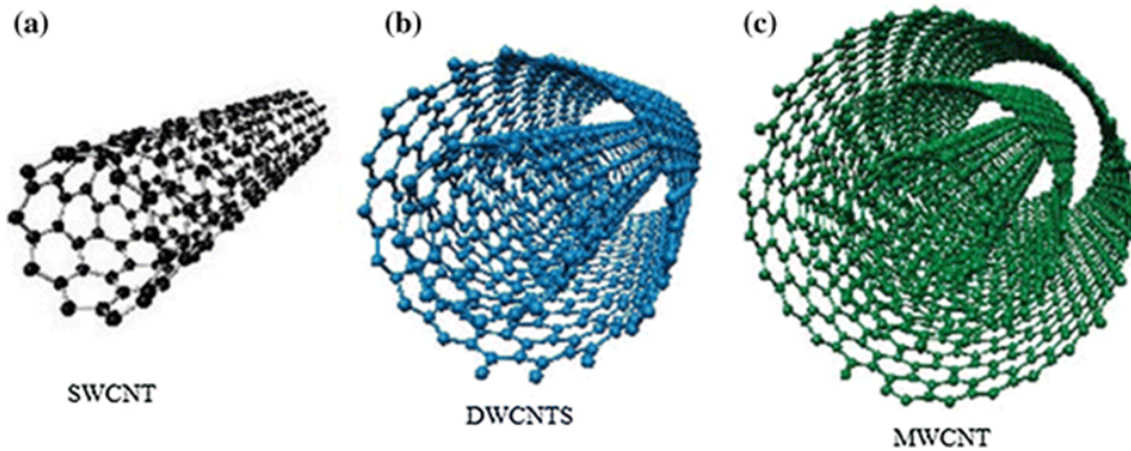


Figura 2.1 Representación esquemática de las estructuras de (a) SWCNT, (b) DWCNT, y (c) MWCNT. (tomada de (Hassan et al., 2017)).

2.3.1 Propiedades de CNT

Los SWCNT, conformados por una sola capa bidimensional de grafito enrollada formando un tubo (Colbert, 2003), se suelen agrupar en paquetes de diferentes radios y longitudes. Por otro lado, los MWCNT están constituidos por varias capas de grafito o bien por SWCNT concéntricos, separados radialmente por unos 0.34nm o 3.4 Å en su espacio interlaminar y con un diámetro externo entre 10-100 nanómetros (Souza Filho and Fagan, 2007).

Entre las propiedades de estos materiales (Tabla 2.1) destacan principalmente las mecánicas, un módulo de Young de 1.2 TPa con un límite de resistencia cientos de veces mayor que el acero (Dai, 2002) y presentan mayor conductividad térmica que el diamante. Estas propiedades se consideran muy deseables para materiales compuestos de refuerzo (Calvert, 1999). Además, entre otras de sus propiedades destacables tenemos la estabilidad térmica de hasta 2800 °C en el vacío y hasta 750°C en aire. Su transmisión de calor se predice que puede ser de hasta 6000 W/mK a temperatura ambiente. Su estructura les confiere una gran elasticidad pudiéndose doblar a grandes ángulos y volver a su estado original sin daño alguno (Al-Rabadi and Mousa, 2012).

Tabla 2.1 Propiedades de CNT de una sola capa (Modificado de (Al-Rabadi and Mousa, 2012))

Propiedad	NTC de una sola capa	En comparación
Tamaño	0.6-1.8 nm en diámetro	La litografía de electrones puede crear líneas de 50 nm de ancho y pocos nm de grosor
Densidad	1.33 – 1.40 g/cm ³	El aluminio tiene una densidad de 2.7 g/cm ³

Fuerza de tensión	$\approx 45 \cdot 10^9$ pascales	Las aleaciones de acero de alta dureza se rompen a $\approx 2 \cdot 10^9$ pascales
Resistencia	Se puede doblar en grandes ángulos y volver a enderezar sin dañar.	Los Metales y fibras de carbono se fracturan en los límites de grano
Capacidad de carga	$\approx 1 \cdot 10^9$ A/cm ²	Los cables de cobre se queman a $\approx 1 \cdot 10^6$ A/cm ²
Emisión de campo	Puede activar fósforos de 1-3 V si los electrones están espaciados a 1 micra de distancia.	Las puntas de molibdeno requieren ≈ 50 -100 V/micrómetro con una vida útil muy limitada
Transmisión de calor	$\approx 6,000$ W/m·K a temperatura ambiente	El diamante puro transmite $\approx 3,320$ W/m·K
Estabilidad térmica	Estable hasta a 2800 °C en el vacío y 750°C en aire.	Los cables de metal en microchips se funden a ≈ 600 -1000 °C.
Costo	≈ 1500 \$/gr	El oro se vende por ≈ 40 \$/gr
Preservación de las propiedades cuánticas del spin.	Óptimas: muy altas	Bajas en conductores regulares
Consumo energético	Muy bajo	Alto en cables metálicos
Velocidad	Muy alta $\geq 1 \cdot 10^{12}$ Hertz a escala nanométrica	\geq de mil veces más rápido que los procesadores disponibles hoy en día
Dispersión de electrones (resistencia)	Casi ninguna	Alta en cables de metal
Energía de banda prohibida (Bandgap)	Fácil de ajustar; depende del diámetro de la NTC y, por lo tanto, se puede obtener una amplia gama de bandgaps: ≈ 0 (como un metal), tan alto como el bandgap del silicio, y casi en cualquier punto intermedio	Ningún otro material conocido se puede ajustar tan fácilmente

2.3.2 Dopaje de CNT

Varias aplicaciones de CNT requieren su modificación química para ajustar / controlar sus propiedades fisicoquímicas. Una forma de lograr este control es llevando a cabo procesos de dopaje a través de los cuales los átomos y las moléculas interactúan (covalentemente o no covalentemente) con las superficies de los nanotubos (**Figura 2.2**) (**Terrones et al., 2008**).

Existen tres categorías principales de dopaje: dopaje exohédrico, dopaje endohédrico y el dopaje en plano sustitucional.

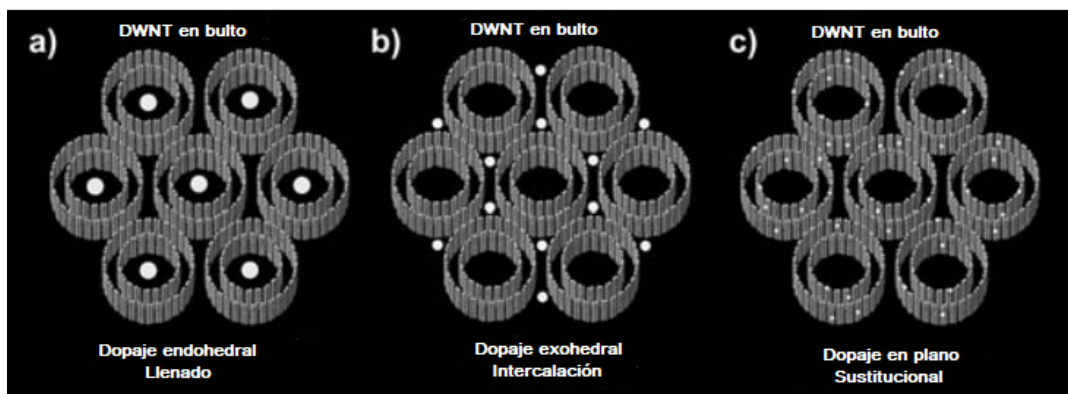


Figura 2.2 Modelos moleculares representando esquemáticamente: a(dopaje endohedral, b) dopaje exohedral o intercalación y (c) dopaje en plano o sustitucional en DWNT(nanotubos de doble capa) (modificado de (**Terrones et al., 2008**)).

Entre los dopajes más utilizados encontramos los de boro y de nitrógeno (**Golberg et al., 2000**). Además entre las principales aplicaciones de este tipo de materiales se encuentran, sensores de gases, baterías de litio (**Endo et al., 2001**) y aplicaciones biológicas (**Terrones et al., 2008**).

2.3.3 Aplicaciones de CNTs

Gracias a las propiedades antes descritas, este tipo de materiales se han utilizado para diversos usos (**Figura 2.3**) que van desde su uso como nanorefuerzos en materiales compuestos (**Calvert, 1999**), sensores (**Baughman, 1999**), emisores de campo (**de Heer et al., 1995**), como electrodos, transistores, supercondensadores (**Bachtold, 2001**), como vehículos de transporte de fármacos (**Jorio et al., 2008**), películas conductoras (**Zhang et al., 2005**), así como para la producción de biomateriales (**Martin and Kohli, 2003**), biosensores, administración de fármacos, y en ingeniería de tejidos (**Yang et al., 2007**).

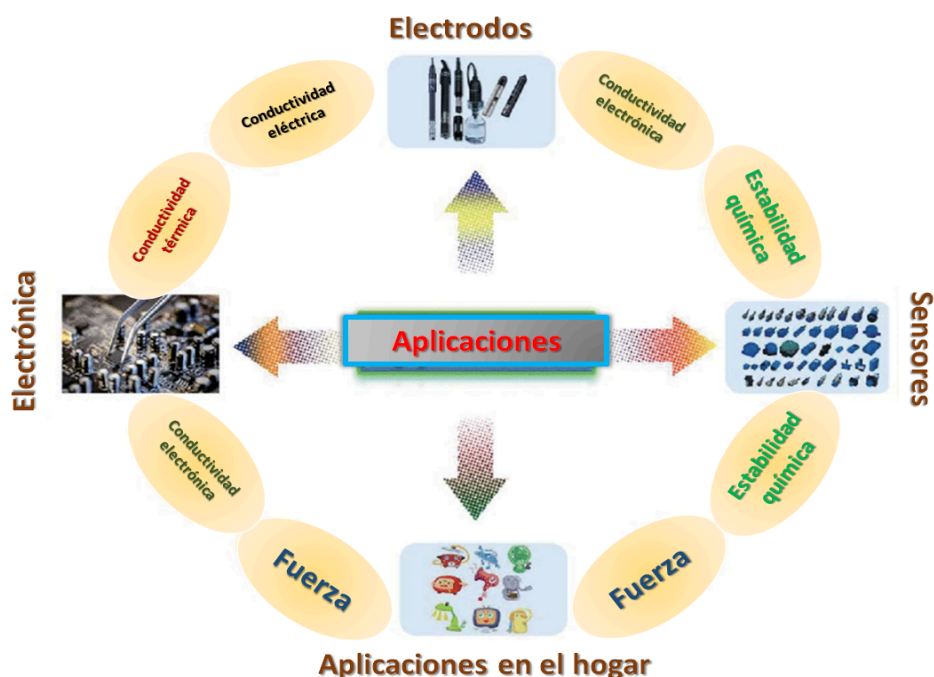


Figura 2.3 Ejemplos de las aplicaciones potenciales a partir de compuestos de nanotubos de carbono (modificado de (**Chen et al., 2018**)).

2.4 Actividad antimicrobiana de CNT dependiente de sus características fisicoquímicas

Las diferentes propiedades fisicoquímicas son cruciales para la actividad antimicrobiana de los diferentes nanomateriales. Los nanotubos de carbono se prestan como un gran modelo para explicar la importancia de las propiedades fisicoquímicas en su actividad antibacteriana. En los últimos años se han estudiado las propiedades fisicoquímicas de los nanotubos de carbono en relación con la actividad antimicrobiana, tales como: Tamaño, propiedades electrónicas, número de capas, metalicidad, concentración, funcionalización, química superficial, entre otras. De esta manera, se han desarrollado varios protocolos para evaluar la actividad antibacteriana de los CNT, que incluyen: ensayos de viabilidad bacteriana (**Kang et al., 2008a**), actividad metabólica (**Créach et al., 2003**), el método de recuento de placas y las pruebas de turbidez (**Yang et al., 2010**) (véase **Figura 2.4**). A continuación se describen los efectos más importantes

relacionados con la actividad antimicrobiana para cada una de las propiedades fisicoquímicas de los CNT.

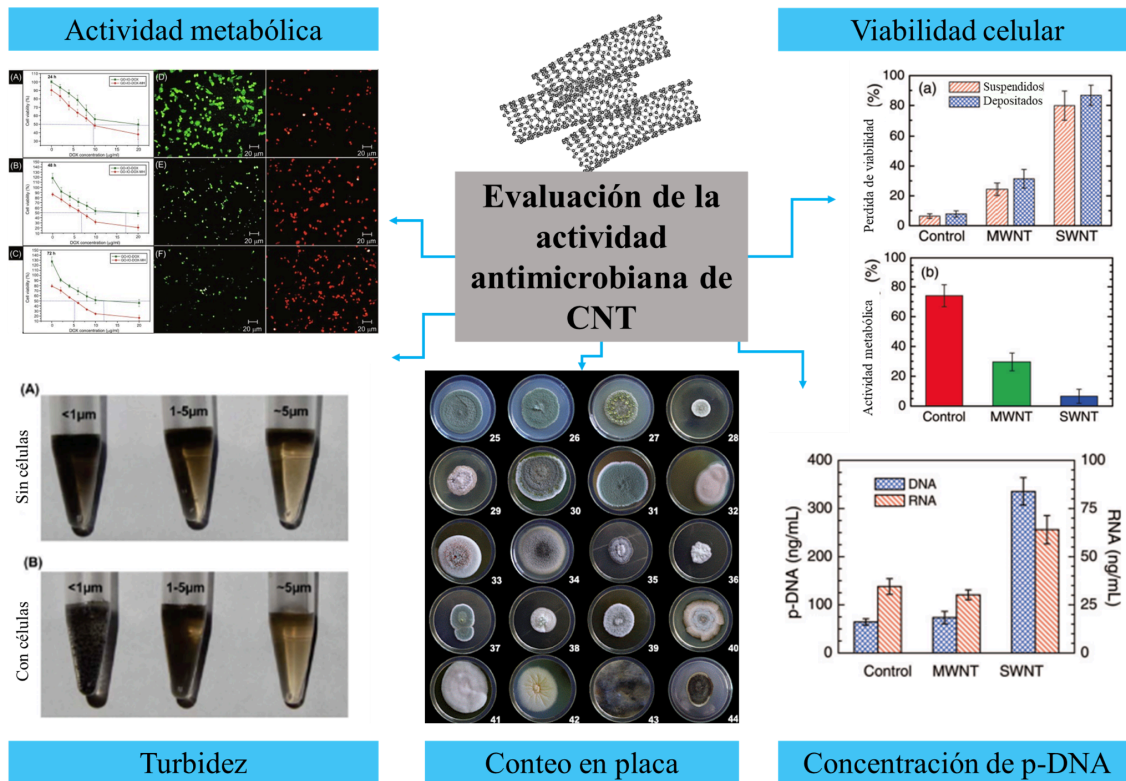


Figura 2.4 Técnicas para la evaluación de la actividad antimicrobiana de CNT.

2.4.1 Tamaño: diámetro y longitud

Una de las principales propiedades que afectan los mecanismos de actividad antimicrobiana de los nanotubos de carbono está relacionada con el diámetro y la longitud de los nanotubos. En particular, con respecto a los diámetros, se ha observado que los SWCNT de menor diámetro tienen una actividad antimicrobiana más eficaz en comparación con la generada por los MWCNT de mayor diámetro, provocando una reducción de la viabilidad celular resultante del daño en la integridad celular y la actividad metabólica. En cultivos bacterianos de *E. coli* (Kang et al., 2008a), observando que el daño causado por nanotubos de pequeño diámetro está asociado principalmente al daño a la membrana celular a través de la interacción entre la superficie del nanotubo y la célula (Figura 2.5). También se ha observado mediante análisis de microscopía de fluorescencia y microscopía electrónica de barrido que los nanotubos de diámetro reducido (~1,5 nm) se anclan a los extremos de los microorganismos que actúan como agujas alrededor de la superficie celular, mientras que los nanotubos cuyos diámetros eran más largos (~15-30 nm) interactúan mayoritariamente a través de sus paredes, es decir, sin perforar la membrana celular (Arias and Yang, 2009).

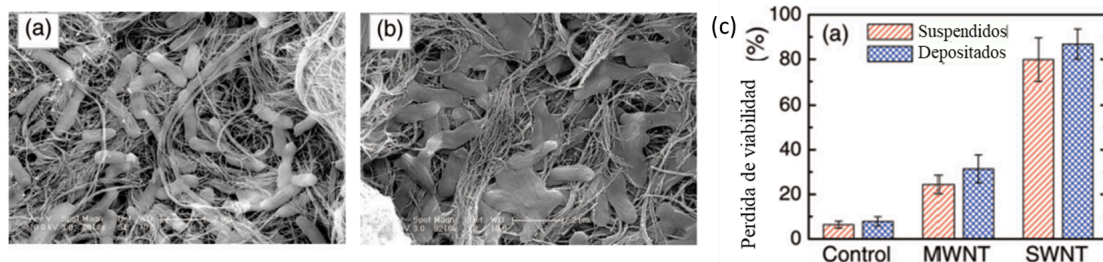


Figura 2.5 Efecto del tamaño sobre la actividad antimicrobiana de CNTs. Imágenes de microscopía SEM de *E. coli* expuestas a CNTs en células incubadas por 60 minutos. (a) MWCNTs, (b) SWCNTs, (c) Pérdida de viabilidad celular mediante ensayos de toxicidad celular (Imagen adaptada de (Kang et al., 2008a)).

En cuanto a la longitud, Yang et al. (Yang et al., 2010) compararon diferentes muestras de SWCNT y encontraron que los SWCNT más largos tenían una mayor actividad antimicrobiana con cepas de *Salmonella typhimurium* que aquellas muestras con SWCNT más cortos, a la misma concentración de nanotubos de carbono por concentración de peso (Figura 2.6). Sin embargo, este efecto basado en la longitud no es universal. Aslan et al. (Aslan et al., 2010) informaron que los SWCNT más pequeños mostraron una actividad antimicrobiana más fuerte contra *E. coli* y *Staphylococcus epidermidis*, lo que indica que el efecto del tamaño bien puede depender de la cepa contra la cual se evalúa el efecto antimicrobiano. Por otro lado, longitudes más cortas pueden aumentar las posibilidades de interacción entre los extremos abiertos de los nanotubos y los microorganismos, lo que puede provocar daños adicionales a la membrana celular (Aslan et al., 2010). Adicionalmente, se ha informado que cuando los MWCNT son más grandes (aproximadamente 50 μm), el tubo puede envolver la superficie de las células microbianas y, en consecuencia, promover la lisis osmótica del microorganismo (Chen et al., 2013).

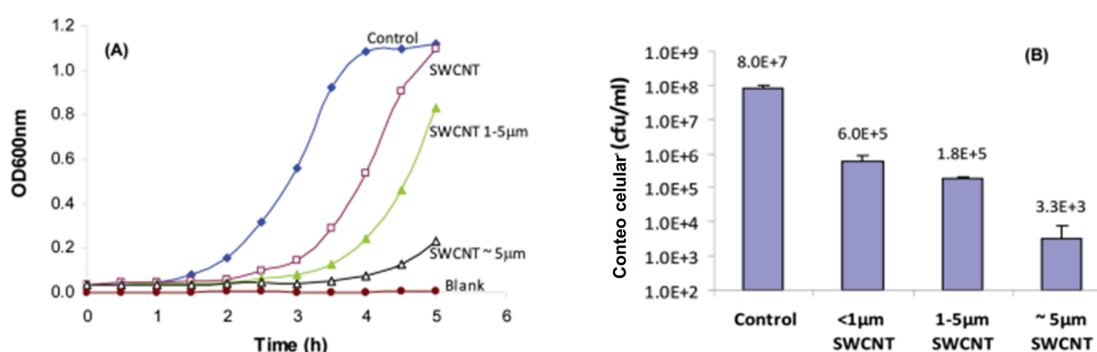


Figura 2.6 Efecto de la longitud sobre la actividad antimicrobiana de CNTs. (A) curvas de crecimiento de cultivos de *Salmonella* que fueron tratados con SWCNT de diferentes longitudes a una concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ por una hora (B) Viabilidad celular de las muestras control y las tratadas con SWCNTs de diferentes longitudes a una concentración de 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$ por 1h (Tomado de (Yang et al., 2010)).

2.4.2 Número de capas

En cuanto al número de capas de este tipo de nanomateriales, estas afectan los bordes de los CNTs. El aumentar el número de capas conducirá a un aumento en el espesor de los CNT, al mismo tiempo que disminuirá el efecto antimicrobiano resultante de su espesor, provocando la aglomeración de agregados de CNT y disminuyendo las interacciones CNT-microorganismo **(Zou et al., 2016)**.

En general, los CNT más delgados pueden atravesar más fácilmente la bicapa lipídica y la pared celular de los microorganismos, mostrando así una mayor actividad antimicrobiana debido al daño mecánico de la célula. Este efecto se ha confirmado al comparar la eficacia antibacteriana de muestras de CNT con diferente número de capas **(Kang et al., 2008a)**

En materiales similares como el óxido de grafeno, se ha observado que el aumento del número de capas resulta en una mayor actividad antimicrobiana frente a *E. coli*, posiblemente como consecuencia de las propiedades superficiales derivadas del número de capas **(Mangadlao et al., 2015)**. Este mismo efecto podría ser similar en CNT con propiedades que dependen del número de capas.

2.4.3 Morfología

A pesar de que la morfología estándar de los CNT es similar para las diferentes variedades de estos, se ha descubierto que variaciones en su forma pueden influir en su actividad antimicrobiana. Tipos similares de estructuras de CNT pero con diferentes formas, como la presencia de rugosidad en la superficie, tienen un efecto en los estados de las estructuras electrónicas del nanomaterial, lo que afecta la fuerza de interacción con los microorganismos, influyendo así en el estrés oxidativo causado por transferencia de electrones. Por ejemplo, se analizó la estructura metálica frente a la estructura semiconductor de SWNTs con características similares, observando que los SWNT con estructuras metálicas aumentaron la pérdida de viabilidad celular en cultivos de *E. coli*, en comparación con aquellos con estructura semiconductor **(Vecitis et al., 2010)**.

Este efecto de toxicidad de los CNT relacionado con la forma se ha observado con MWCNT capaces de actuar sobre células animales de ratón, produciendo un efecto similar al de los asbestos causando daño tisular **(Poland et al., 2008)**. Aun cuando las nanopartículas de Ag han mostrado actividad antimicrobiana, cabe mencionar que Li et al. **(Li et al., 2013)** encontraron que los nanorrollos de carbono decorados con nanopartículas de plata (AgNP) permiten una actividad antimicrobiana mejorada contra cepas de *Candida albicans* y *Candida tropicalis*.

Un estudio de simulación teórica realizado por Yang y Ma **(Yang and Ma, 2010)** demostró que la forma de la nanopartícula es decisiva en la interacción entre las

nanopartículas y las membranas lipídicas. Descubrieron que las estructuras estrechas como los CNT podrían afectar la endocitosis celular y los procesos antimicrobianos. El efecto de la forma de los CNT sobre la actividad antibacteriana es un tema abierto que justifica su desarrollo (**Zhang and Li, 2009**).

2.4.4 Modificación superficial mediante funcionalización

Los CNT se pueden funcionalizar con diferentes grupos superficiales, este tipo de grupos pueden cambiar sus propiedades, así como la actividad antimicrobiana de los CNT. Por ejemplo, SWCNT funcionalizados (**Arias and Yang, 2009**) con diferentes grupos funcionales (-OH, -COOH, -NH₂) sobre una cepa de *S. typhimurium*, los resultados mostraron que los tubos funcionalizados con grupos oxígeno (-OH, -COOH) con diferentes grupos funcionales Se compararon los grupos (-OH, -COOH, -NH₂) en una cepa de *S. typhimurium*, los resultados mostraron que los tubos funcionalizados con grupos oxígeno (-OH, -COOH) mostraron actividad antimicrobiana en aproximadamente 50 µg/ml, mientras que los funcionalizados con -NH₂ sólo mostró actividad antimicrobiana en concentraciones más altas (**Figura 2.7**). Este mismo efecto se ha observado en MWCNT funcionalizados con grupos -OH y -COOH producidos por sonicación con ácidos H₂SO₄ y H₂NO₃, presentando una actividad antimicrobiana más fuerte que los mismos CNT prístinos (**Kang et al., 2008b**). También se ha reportado que estos grupos de oxígeno sirven como sitios capaces de generar estrés oxidativo en cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en materiales carbonosos como el óxido de grafeno (**Gurunathan et al., 2012**).

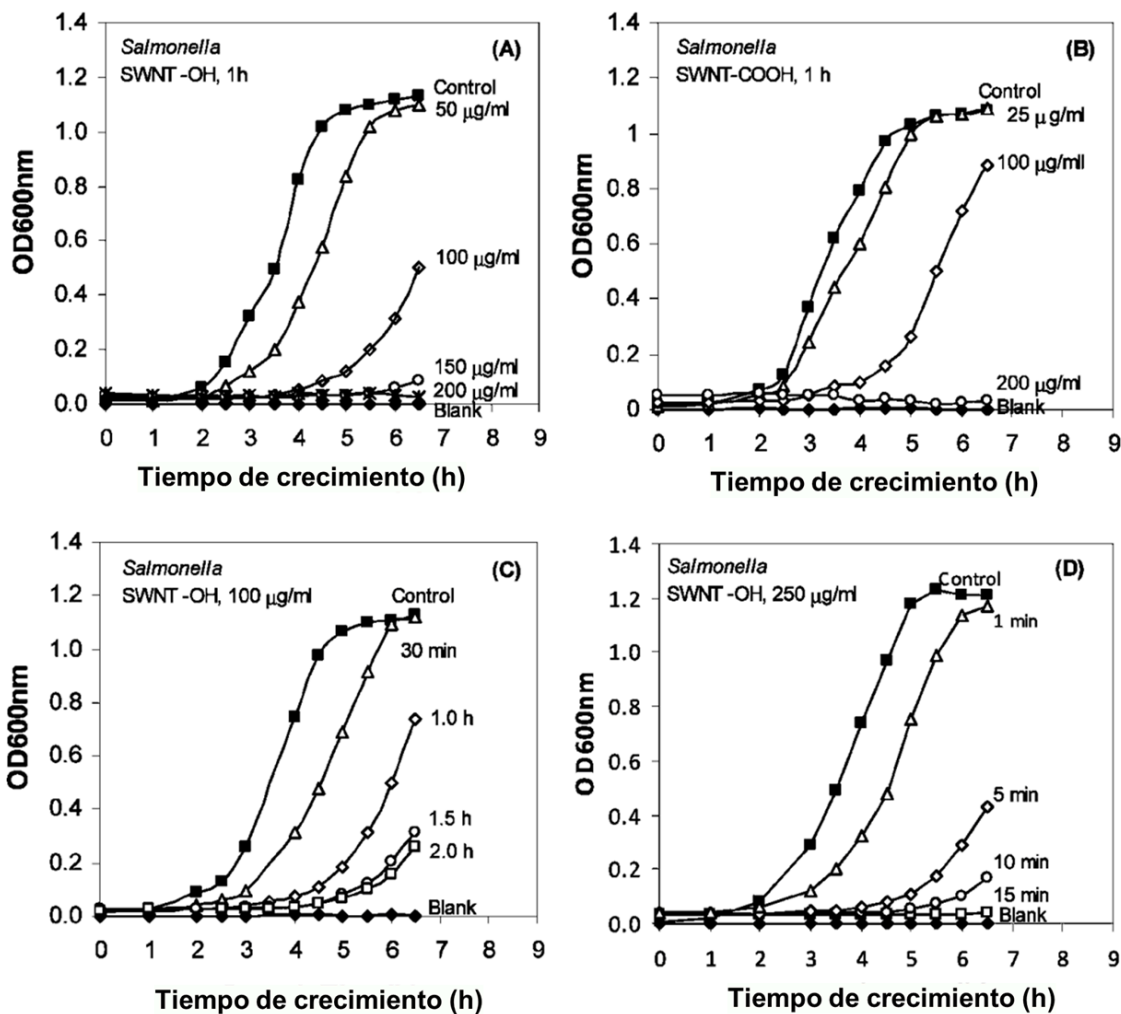


Figura 2.7 Efecto de la funcionalización superficial sobre la actividad antimicrobiana de CNTs. Curvas de crecimiento obtenidas de *Salmonella* que fueron tratados con SWCNT y luego cultivados a 37°C. (a) Exposición a 50, 100, 150 y 200 µg/mL de SWCNTs-OH por 1h, (b) Exposición a 50, 100, 150 y 200 µg/mL de SWCNTs-COOH por 1h, (c) tratamiento con 100 µg/mL de SWCNT-OH por 30 min, 1.0 h y 1.5 h y 2.0 h, (d) tratamiento con 250 µg/mL de SWCNT-OH por 1, 5, 10, y 15 min (Tomado de (Arias and Yang, 2009)).

Otro posible método de funcionalización es añadiendo moléculas especiales, como aminoácidos, tensioactivos o proteínas, que permitan mantener los CNT segregados, además de permitirles obtener propiedades biocompatibles pudiendo funcionalizar mediante interacciones covalente así como no covalentes (Z. Liu et al., 2009) (Figuras 2.8 y 2.9).

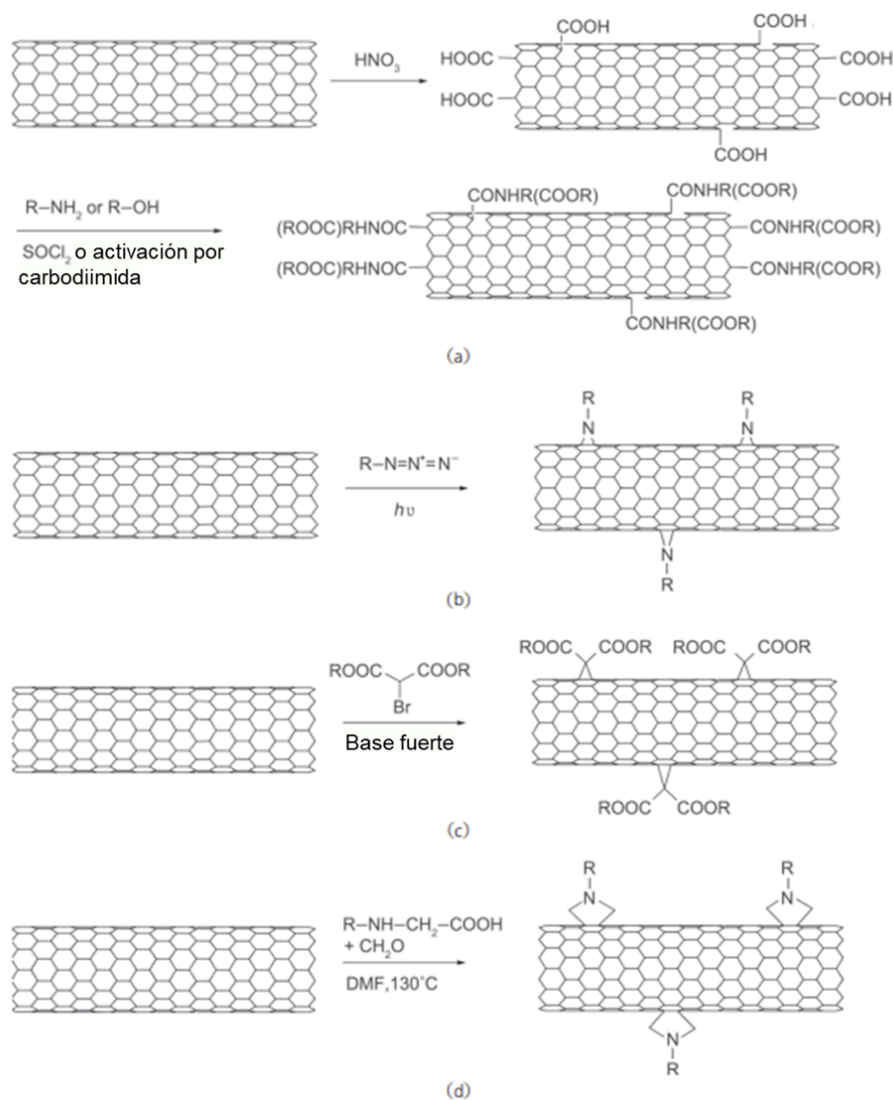


Figura 2.8 Esquemas de funcionalización covalente de CNTs: (a) los CNT se oxidan y luego se conjugan con polímeros hidrófilos (p. ej., Polyethylene glycol), (b) adición fotoinducida de compuestos de azida con CNT, (c) Reacción de bingel sobre CNT; (d) Cicloadición 1,3-dipolar en CNT. Para aplicaciones biológicas normalmente un dominio hidrófilo hace que los CNT sean solubles en agua. Se puede aplicar una conjugación adicional de moléculas bioactivas basándose en tales funcionalizaciones (Tomado de **(Z. Liu et al., 2009)**).

Este tipo de funcionalización de CNT puede aportar ventajas como la biocompatibilidad y así minimizar la toxicidad con modelos celulares como las células humanas. Finalmente, algunos tipos de funcionalización como la ultrasonificación también son capaces de eliminar partículas de impurezas metálicas y reducir efectos indeseables en los CNT de interés **(Toh et al., 2012)**.

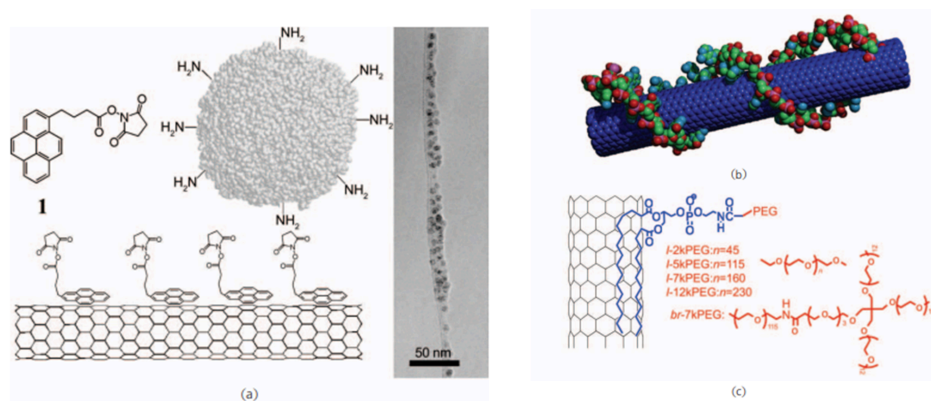


Figura 2.9 Esquemas de funcionalización no covalente de CNTs. (a) Proteínas ancladas en la superficie SWNT mediante apilamiento π - π en la superficie de un nanotubo. Derecha: Imagen de TEM de un SWNT conjugado con proteínas. (b) Un SWNT recubierto por un ADN monocatenario mediante apilamiento π - π . (c) Un SWNT funcionalizado con fosfolípidos PEGilados. En este método se puede utilizar tanto Polyethylen glycol lineal (l-PEG) como ramificado (br-PEG) (Tomado de (**Z. Liu et al., 2009**)).

2.4.5 Dopaje

El dopaje externo e interno de los CNT podría desempeñar un papel importante en la actividad antimicrobiana. Travlou et al. (**Travlou et al., 2018**) investigaron la actividad antimicrobiana de puntos cuánticos de carbono (CQD) dopados con azufre y nitrógeno mediante métodos hidrotermales contra cepas de *E. coli* y *Bacillus subtilis*. Para las N-CQD, los grupos amidas y aminos desempeñaron un papel esencial en el aumento de la actividad antibacteriana. Por el contrario, los S-CQD cuya superficie está principalmente cargada negativamente debido a la disociación de grupos sulfónicos y sulfato mostraron un efecto antibacteriano que depende principalmente del tamaño de la partícula que de la química de su superficie. Por lo tanto, átomos como el boro, el azufre y el nitrógeno son una oportunidad de nicho para centrarse en futuras investigaciones sobre el impacto del dopaje en la actividad antimicrobiana de nanotubos de carbono.

2.4.6 Impurezas

Las impurezas presentes en los CNT, como nanopartículas metálicas o catalizadores, entre otros, introducidas en sus nanoestructuras durante los procesos de fabricación o purificación podrían influir en su efecto antimicrobiano (**Lawrence et al., 2016**). Sin embargo, el efecto de este tipo de residuos es pequeño. Por ejemplo, estudios sobre SWCNT y MWCNT con residuos de partículas metálicas de Fe (**Kang et al., 2008b**) y Co (**S. Liu et al., 2009**) han sugerido que el impacto de las impurezas de CNT sobre la actividad antimicrobiana de estos es limitado.

Respecto a residuos como el carbono amorfo, también presente en los CNT resultantes de los procesos de síntesis, se ha observado que no genera un impacto

significativo en su actividad antimicrobiana (**Kang et al., 2008b**). Finalmente, un hecho importante reportado es que este tipo de residuos pueden afectar la toxicidad de los CNT hacia células de mamíferos (**X. Liu et al., 2007**).

2.4.7 Concentración

Se ha observado que la actividad antimicrobiana de los CNT depende de la concentración. (**Arias and Yang, 2009**). En general, en la mayoría de los casos una mayor concentración de CNT da como resultado una mayor tasa de actividad antimicrobiana y viceversa. Por ejemplo, se observó que la tasa de mortalidad de *E. coli* aumenta con un aumento en la concentración de SWCNT en un rango de 5-80 µg/ml (**S. Liu et al., 2009**). También se han creado filtros SWCNT donde, a medida que aumentan las cargas de SWCNT como recubrimiento en el filtro, la actividad antibacteriana contra *E. coli* aumenta. (**Brady-Estévez et al., 2008**).

También se ha analizado el efecto en función del tiempo de tratamiento y de la concentración de SWCNT con diferentes duraciones, observándose que la actividad antimicrobiana frente a cultivos celulares de *Salmonella typhimurium* aumenta conforme aumenta el tiempo de exposición (**Yang et al., 2010**). Finalmente, también se ha observado que el tiempo de incubación de SWCNT en contacto con cultivos de *Bacillus subtilis* aumenta la actividad antimicrobiana de SWCNT después de una exposición prolongada (**Kang et al., 2009**).

2.4.8 Dispersión

El estado de dispersión de los CNT es crucial para el desarrollo de su actividad antimicrobiana. En general, los CNT prístinos son hidrófobos e insolubles en muchos tipos de disolventes. Por lo tanto, el uso de CNT prístinos como material homogéneo es difícil debido a su baja dispersabilidad. Las dispersiones de CNT con una gran variedad de estados de agregación mejoran las interacciones con los microorganismos. Las interacciones entre los CNT y la membrana celular se ven afectadas por la dispersión y la actividad antimicrobiana (**Kang et al., 2008b**).

Se ha observado que el efecto antimicrobiano de los CNT dispersos es mejor que el de los CNT que se depositan sobre una superficie inmóvil a modo de filtros. (**Kang et al., 2008a**). Otro aspecto a considerar es que los CNT dispersos generalmente contienen moléculas en su superficie o grupos funcionales covalentes, por lo que sus interacciones microbianas pueden variar dependiendo de estos. Por ejemplo, dependiendo del uso de moléculas dispersantes, tensioactivos como Tween-20 (**S. Liu et al., 2009**) y Triton-X (**Alpatova et al., 2010**) se han utilizado para facilitar la dispersión de CNT durante su uso como agentes antimicrobianos (**Figura 2.10**). Liu et al. (**S. Liu et al., 2009**) utilizaron una solución salina de Tween-20, observando una actividad antimicrobiana más significativa que con SWCNT en agregados. También se observó que la viabilidad

de *E. coli* se reducía mediante SWCNT dispersados por un dispersante citotóxico como TX100 (Alpatova et al., 2010). Además de que se ha observado que algunos de estos tensioactivos son capaces de aumentar la actividad antimicrobiana de los CNT, a su vez, también se ha visto que son capaces de disminuir su citotoxicidad con las células animales. (Dong et al., 2012).

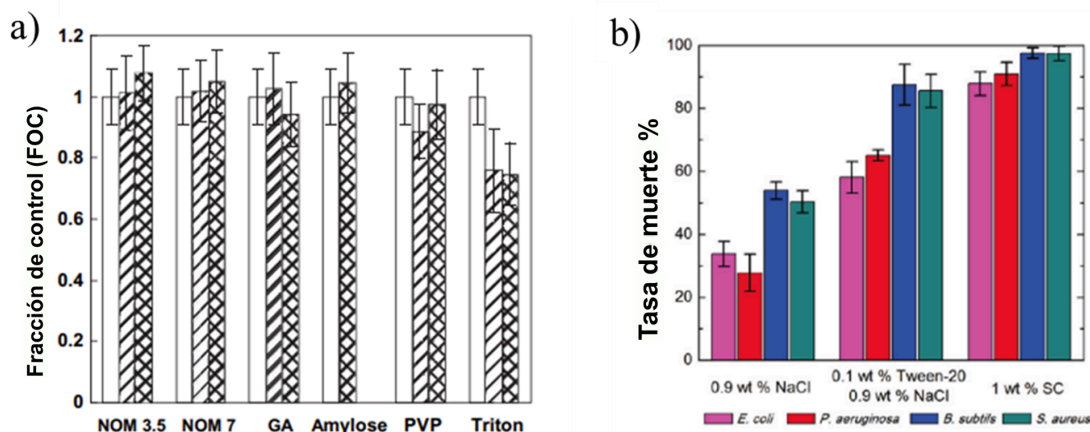


Figura 2.10 Efecto del dispersante sobre la actividad antimicrobiana de CNTs. (a) Viabilidad celular de *E. coli* en medio MD tras 48 h de exposición a SWCNT dispersos con diferentes dispersantes. (b) Tasa de mortalidad de bacterias después de la incubación con SWCNTs dispersos en 3 diferentes soluciones. (Tomado de (Alpatova et al., 2010; S. Liu et al., 2009))

2.4.9 Características químicas de la solución

La solución utilizada para dispersar los CNT con el fin de utilizarlos para aplicaciones antibacterianas es crucial. La estabilidad de los CNT en dicha solución se relaciona con sus propiedades inherentes como el pH, la fuerza iónica y otras sustancias agregadas para disolver la materia orgánica. Arias y Yang (Arias and Yang, 2009) investigaron el efecto de la química de la solución mediante el uso de NaCl, un tampón PBS y un caldo de cultivo específico para el cerebro y el corazón. Se observó que la actividad antimicrobiana era más fuerte en presencia de NaCl (0,9%), mientras que en los medios de PBS y caldo de infusión cerebro-corazón no se mostró actividad antimicrobiana (Figura 2.11). Por otro lado Brady-Estévez et al. (Brady-Estévez et al., 2010) observaron que a mayor fuerza iónica, los filtros compuestos por CNT que presentan actividad antiviral podrían eliminar una cantidad más significativa de virus mediante la supresión de interacciones electrostáticas. Otro aspecto sustancial es el tiempo de contacto entre la solución CNT y el cultivo (Figura 2.11). Se ha observado que una exposición prolongada de los CNT a cultivos celulares puede afectar el efecto antimicrobiano de los CNT. Vecitis et al. (Vecitis et al., 2010) encontraron que la mayor parte de la acción antimicrobiana de los SWCNT en casos cultivados de *E. coli* ocurre dentro de los primeros 15 minutos del contacto bacteriano-SWCNT. Mientras que Kang

et al. (Kang et al., 2009) caracterizaron la resistencia de *Bacillus subtilis* a soluciones de SWCNT para investigar el efecto del tiempo de incubación sobre las tasas de toxicidad, donde observaron que la tasa de inactivación de *Bacillus subtilis* aumenta durante el largo tiempo de incubación (4 h).

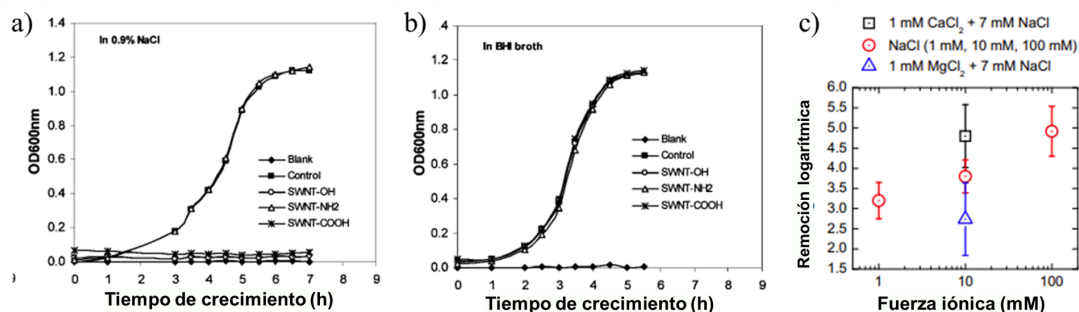


Figura 2.11 Efecto de la solución sobre la actividad antimicrobiana de CNTs. (a-b) Curvas de crecimiento de *S. typhimurium* en caldo BHI a 37°C tratados con 100 µg/mL de SWCNTs con grupos superficiales de -OH, -COOH, y -NH₂ dispersos en (a) NaCl y (b) caldo BHI. (c) Remoción viral mediante filtro híbrido de SWCNT como función de la fuerza iónica (NaCl) y en la presencia de sales divalentes (Tomado de (Arias and Yang, 2009; Brady-Estévez et al., 2010).)

2.5 Mecanismos de actividad antimicrobiana de CNTs

A pesar de todos los avances y esfuerzos invertidos en los CNT como agentes antimicrobianos, los mecanismos de acción no están completamente elucidados. No obstante, existen algunas rutas de interacción que podrían explicar la respuesta de microorganismos a los nanomateriales: (1) daño mecánico resultante de interacciones entre la membrana celular CNT, (2) estrés oxidativo dependiente o no de ROS dentro de la célula que causan daño en respuesta a las interacciones de los CNT, y (3) otros mecanismos de actividad antimicrobiana donde se encuentran aquellos que no pueden incluirse en las dos primeras categorías (Figura 2.12) (Xin et al., 2019).

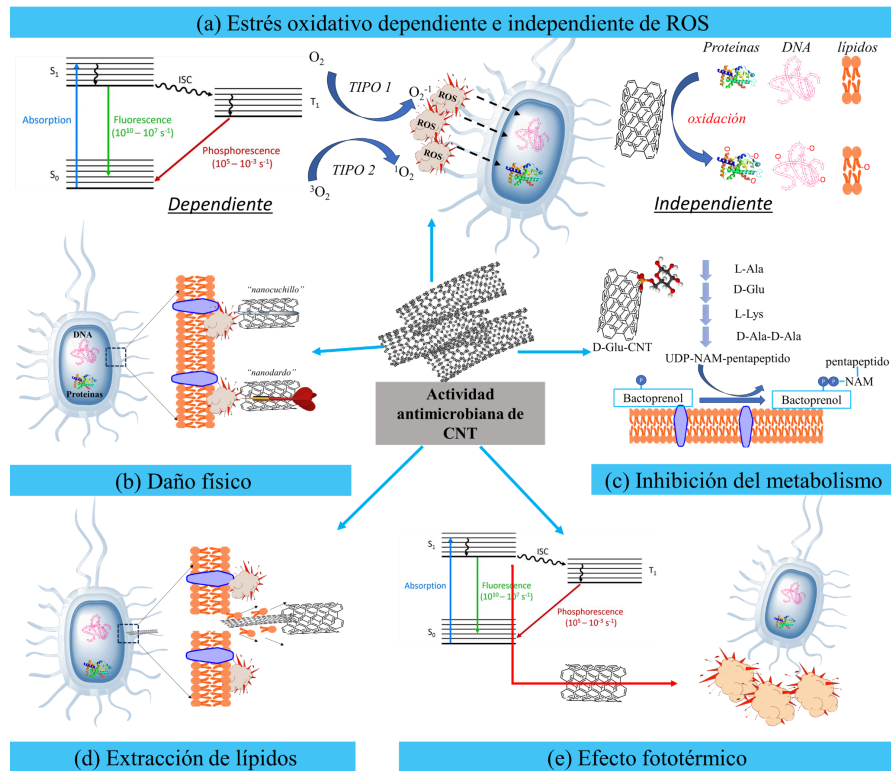


Figura 2.12 Mecanismo de actividad antimicrobiana de CNTs. (a) Diagrama esquemático de los mecanismos de estrés oxidativo dependiente e independiente de ROS sobre la actividad antimicrobiana de CNTs. (b) Diagrama esquemático del mecanismo de acción antimicrobiana a través de daño físico/mecano mediado por CNTs. (c) Diagrama esquemático del mecanismo de Inhibición del metabolismo mediado por D-Glu-CNT en la síntesis de peptidoglicano. (d) Diagrama esquemático del efecto de extracción de lípidos por CNTs en bacterias. (e) Diagrama esquemático del efecto fototérmico de CNTs en bacterias.

2.5.1 Daño mecánico a la membrana celular

La función principal de la membrana celular es salvaguardar la estabilidad mecánica de las células microbianas, siendo responsable de mantener la estructura celular, regular los procesos homeostáticos, así como proteger al organismo de factores externos. El daño mecánico a esta membrana puede provocar la pérdida de componentes celulares que pueden provocar la lisis celular y, por tanto, la muerte celular. De esta manera, el daño mecánico a la membrana celular también es uno de los principales mecanismos que causan la muerte celular microbiana como resultado de las interacciones con los CNT.

En general, se ha observado que el contacto entre los CNT y los microorganismos provoca deformación de la morfología celular, daño a la integridad de la membrana y liberación de material intracelular (**Liu et al., 2018**).

Kang et al. (**Kang et al., 2008a**) evaluaron el daño mecánico de SWCNT en cultivos de células de *E. coli*. Se utilizaron SWCNT prístinos para evitar efectos

competitivos relacionados con la toxicidad de las impurezas en la muestra que podrían causar estrés oxidativo. Los resultados demostraron que la acción antimicrobiana de los SWCNT fue muy probablemente resultado de la penetración de la membrana celular, esto al observar mediante microscopía electrónica de barrido la pérdida de integridad celular de los cultivos de *E. coli*. Además, se realizó un análisis del material genético donde el ADN y ARN presentes en las soluciones en contacto con el cultivo de *E. coli* con y sin SWCNT pudieron determinar que los altos niveles de material genético presentes en las soluciones en contacto con SWCNT fueron resultado de la fuga de material citoplasmático debido a la lisis celular. Posteriormente Chen et al. (Chen et al., 2013) analizaron la toxicidad microbiana de diferentes tipos de MWCNT y SWCNT contra microbios típicos de la garganta humana como *L. acidophilus*, *S. aureus* y *E. coli*. Observaron que la actividad antimicrobiana no sólo depende de los grupos funcionales de los CNT sino también de las formas de las bacterias, donde los CNT largos podrían envolver a las bacterias intestinales, mientras que los SWCNT cortos y rígidos afectan perforando la pared celular, provocando la liberación de componentes celulares y la pérdida del potencial de membrana bacteriana.

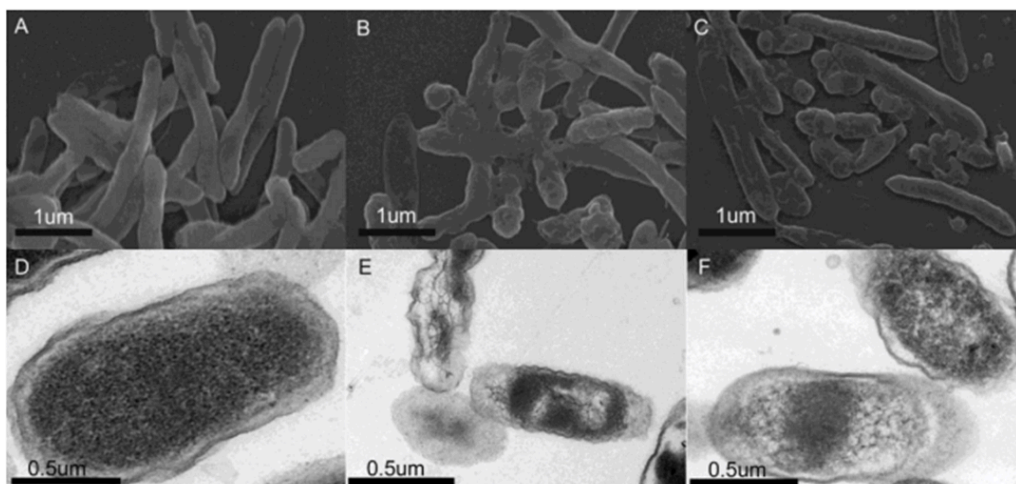


Figura 2.13 Actividad antimicrobiana de CNT mediante daño físico/mecánico. Imágenes SEM de células *R. solanacearum* tratadas: (a) sin CNTs, (b) con SWCNT, (c) con óxido de grafeno respectivamente. En la segunda fila se observan las imágenes TEM para los mismos tratamientos: (a) sin CNTs, (b) con SWCNT, y (f) con óxido de grafeno. (Imagen tomada de (Wang et al., 2013)).

Wang et al. (Wang et al., 2013) observaron comportamientos similares a través de la salida de componentes citoplasmáticos observados por microscopía electrónica de barrido después de la incubación de diferentes tipos de nanomateriales carbonosos, entre ellos SWCNT y MWCNT para cultivos de células bacterianas de *Ralstonia solanacearum*, un patógeno de las plantas (Figura 2.13). Mientras que Arias y yang (Arias and Yang, 2009) demostraron que CNTs de pequeño diámetro entran en contacto con las células bacterianas a través de los extremos de los nanotubos, a la vez

que CNTs de gran diámetro interactúan a través de las paredes laterales, por lo que los CNT más delgados actuarían de manera similar a una aguja en comparación con aquellos de diámetros mayores.

En relación con la densidad de los SWCNT respecto de una determinada fracción de peso, los NTCs más cortos implican una mayor probabilidad de rotura mecánica debido a las interacciones de los extremos de los tubos contra la membrana celular, lo que acaba induciendo una mayor actividad antibacteriana resultado del uso de SWCNT como agentes antimicrobianos (Aslan et al., 2010). Este mismo tipo de comportamiento también fue reportado por Liu et al. (S. Liu et al., 2009) observando que los SWCNT se comportan como "nanodardos" en movimiento en las soluciones utilizadas capaces de perforar la membrana externa de diferentes cultivos de células bacterianas gram negativas (*E. coli* y *P. aeruginosa*) y gram positivas (*S. aureus* y *B. subtilis*); degradando la integridad de las células bacterianas y provocando la muerte celular. Este efecto tipo "nanodardo" aumentó el daño a las membranas celulares a mayores velocidades de agitación de los CNT en contacto con cultivos celulares, por lo que los CNT de menor diámetro, longitud y con mayor velocidad de agitación conducen a una mayor actividad antimicrobiana resultante del daño mecánico a la membrana celular.

2.5.2 Estrés oxidativo

El estrés oxidativo, derivado de la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), es el siguiente mecanismo más importante para la actividad antimicrobiana de los CNT. Durante estos procesos se provoca un desequilibrio celular, derivado de la producción de ROS y la disminución de la capacidad de la célula para reparar los daños resultantes, lo que conduce a la lisis celular. Este tipo de generación de estrés oxidativo puede ser de dos tipos, dependiente de ROS e independiente de ROS (Xin et al., 2019). El estrés oxidativo dependiente de ROS puede desencadenarse en presencia o en ausencia de luz. En presencia de luz, los nanomateriales causan daño oxidativo a través de procesos fotodinámicos, esto a través de la fotoexcitación de electrones libres del nanomaterial, los cuales pueden pasar de un estado electrónico fundamental a un estado energético superior e inestable de corta duración. Estos reaccionan con el O_2 a través de una reacción de transferencia de electrones para formar el anión superóxido (O_2^-) y un singlete de oxígeno molecular (O_2) (Vatansever et al., 2013).

Después de la fotoexcitación, los CNT también pueden funcionar como fotosensibilizadores y matar células bacterianas al producir ROS fotodependientes. Kim et al. (J.-W. Kim et al., 2007) evaluaron la actividad antimicrobiana a través del efecto fototérmico de los CNT utilizando como fuentes de irradiación láseres con longitudes de onda del infrarrojo cercano (NIR) y convirtiendo así la energía absorbida en los CNT

en energía térmica. En este estudio, la viabilidad bacteriana disminuyó significativamente mediante el calentamiento local cuando se trató con CNT en presencia de irradiación con un láser NIR (**Figura 2.14**).

Por otro lado, en ausencia de luz, la generación de ROS puede iniciarse a través de electrones donantes de especies biológicas reductoras (como NADH y FADH₂) a O₂ a través de CNT con grupos oxígeno como los CNT carboxilados (**Hsieh et al., 2014**). Además de especies como el anión superóxido y el O₂ molecular, también pueden estar presentes ROS nocivos como los radicales hidroxilo (-OH), el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), así como los hidroperóxidos orgánicos (**Liu et al., 2018**).

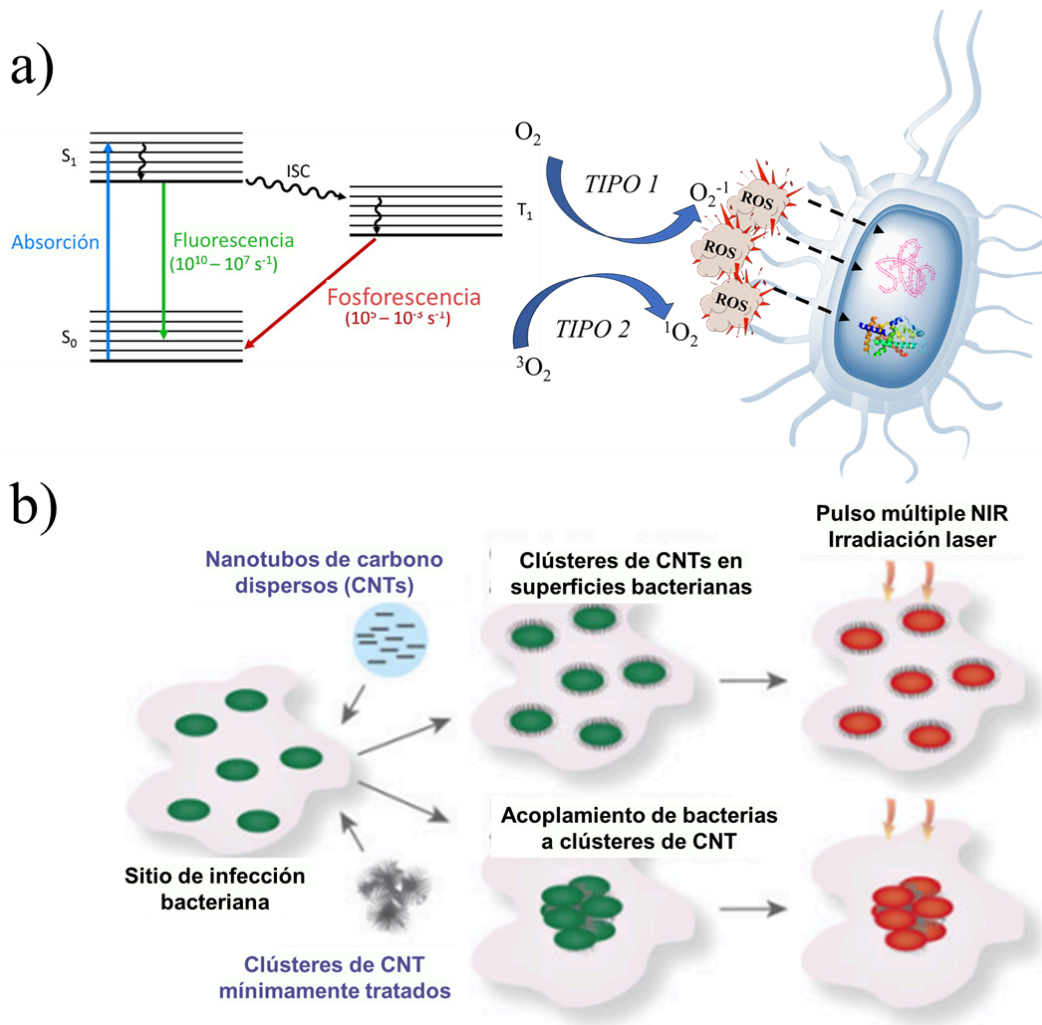


Figura 2.14 Mecanismo de estrés oxidativo dependiente de ROS. (a) Diagrama esquemático general de los mecanismos de estrés oxidativo dependiente de ROS en presencia o ausencia de luz (Tipo 1 y 2). (b) Ilustración esquemática de la actividad antimicrobiana fototermal con clusters de CNT: CNTs son liberados en el sitio infectado, posteriormente su autoensamble en las superficies bacterianas permite matar a las bacterias como resultado de la respuesta de CNT a la radiación NIR, células vivas en verde y células muertas en rojo (Modificado de (**J.-W. Kim et al., 2007**)).

Estas ROS generadas pueden provocar trastornos del metabolismo de las células microbianas, desde el inicio de la peroxidación lipídica de la membrana, produciendo más radicales peroxilo, que aumentan la degradación oxidativa de los lípidos y lipoproteínas de la membrana, así como la degradación de los ácidos nucleicos e inhibiendo la síntesis de proteínas. La peroxidación de los lípidos de membrana daña las propiedades y funciones de la membrana como consecuencia de las modificaciones conformacionales en las proteínas y lipoproteínas de la membrana, modificando los flujos y la integridad de la pared celular, con lo que la célula microbiana acaba siendo destruida **(Raghunath and Perumal, 2017)**. Kagan et al. **(Kagan et al., 2006)** demostraron que la presencia de hierro en los SWCNT puede afectar la respuesta redox celular de los macrófagos *RAW 264.7*. Se observó que los SWCNT ricos en hierro, sin haber sido purificados, eran más eficaces para generar radicales hidroxilo que aquellos que estaban purificados y, por tanto, despojados de hierro. Es probable que estos mismos tipos de interacciones ocurran en las células microbianas.

También se ha demostrado que materiales carbonosos como el óxido de grafeno presentan este tipo de interacciones dependientes de ROS. Gurunathan et al. **(Gurunathan et al., 2012)** encontraron que los derivados del grafeno ejercen una acción antimicrobiana derivada de la generación de ROS, utilizando óxido de grafeno (GO) y óxido de grafeno reducido (RGO) en cultivos de *Xanthomonas oryzae* y *Pseudomonas aeruginosa*. Se observó que los niveles de ROS eran mayores en cultivos tratados con GO y RGO. Krishnamoorthy et al. **(Krishnamoorthy et al., 2012)** analizaron la actividad antibacteriana de GO y detectaron ROS de tipo radical hidroxilo presente en una suspensión de GO, que puede haber surgido de la reacción de las moléculas de agua con los defectos y sitios de radicales libres presentes en la superficie del GO. La cantidad de ROS producida en las células microbianas está determinada por las propiedades fisicoquímicas de los CNT, como su área de superficie y la naturaleza electrófila de estos. Kang and colleagues **(Kang et al., 2008a)** observaron que después de exponer cultivos de células bacterianas de MWCNT y SWCNT, se expresaron genes que forman parte de los sistemas *soxRS* y *oxyR*, los cuales están relacionados con respuestas al estrés oxidativo bacteriano.

Por otro lado, los procesos independientes de ROS **(Figura 2.15)**, donde los CNT cuyos defectos no contienen oxígeno (por ejemplo, CNT prístinos, N-CNT) estos materiales actúan como transportadores de electrones contrarrestando la capacidad de las bacterias y otros microorganismos de reducir su entorno, provocando un comportamiento oxidativo. Mientras que los CNT con defectos de oxígeno (como los CNT-COOH) pueden oxidar moléculas de la superficie bacteriana, como lípidos y proteínas **(Xin et al., 2019)**. Finalmente, Vecitis et al. **(Vecitis et al., 2010)** investigaron la actividad antimicrobiana de los SWCNT en función de la oxidación del glutatión (un

mediador del estado redox que se encarga de proteger a las bacterias del estrés oxidativo). Se observó que el grado de oxidación del glutatión por los SWCNT aumentó al aumentar la fracción de SWCNT de naturaleza metálica, provocando un aumento en la oxidación de los lípidos de la membrana bacteriana. Esta falta de equilibrio entre oxidantes y antioxidantes provoca estrés oxidativo dentro de los microorganismos, interrumpiendo las actividades enzimáticas antioxidantes debido a la generación excesiva de ROS dentro de las células microbianas, provocando incluso la muerte celular.

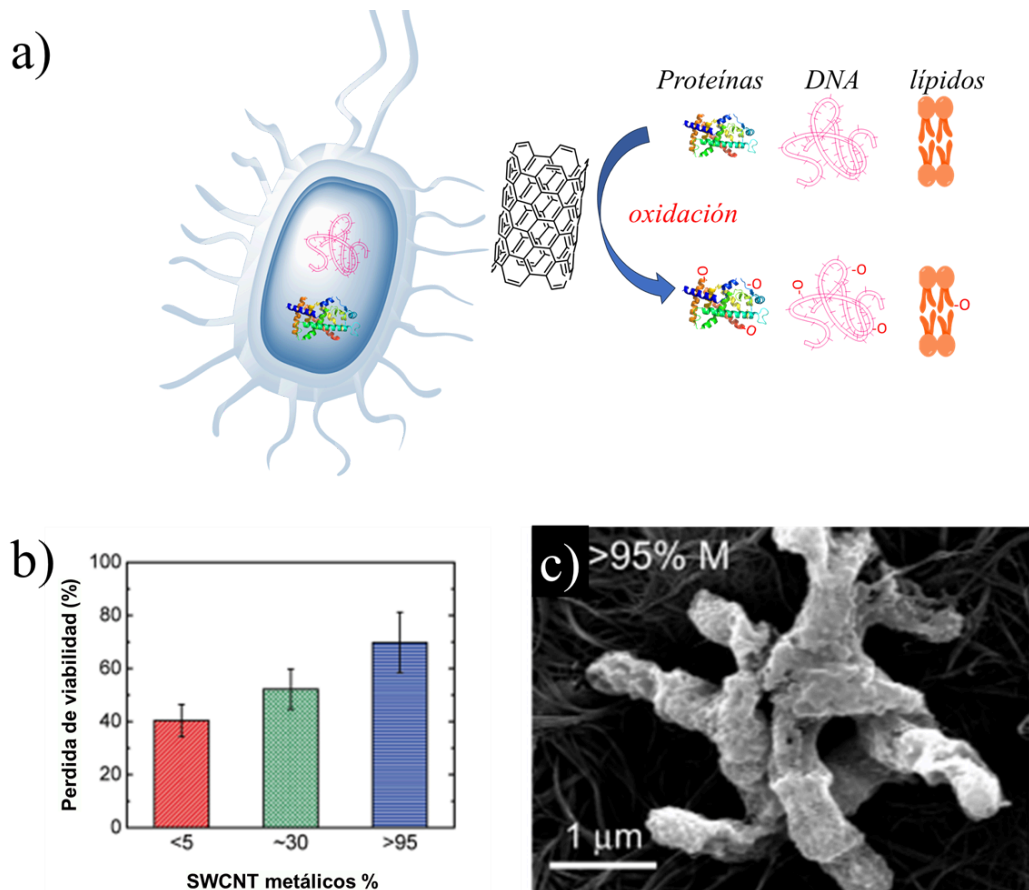


Figura 2.15 Mecanismo de estrés oxidativo independiente de ROS. (a) Diagrama general del mecanismo independiente de ROS. CNTs prístinos o cuyos defectos no contengan oxígeno evitan la reducción del entorno celular provocando la oxidación de los componentes bacterianos. (b) Pérdida de viabilidad celular de *E. coli* como función del % de SWCNT metálicos, (c) Imagen SEM de *E. coli* depositada en filtro de SWCNT con 95% de metalicidad. Nótese las diferencias en la hidratación, estructura y rugosidad de la membrana celular tras el contacto con los CNT (modificado de (Vecitis et al., 2010)).

2.5.3 Otros mecanismos

Además de los principales mecanismos mencionados anteriormente, en la literatura se han informado otros tipos de mecanismos (Figura 2.16). Se han reportado diferentes interacciones, una de ellas es la adhesión de CNT a bacterias como

responsable de se efecto antimicrobiano. Akasaka y Watari (**Akasaka and Watari, 2009**) estuvieron entre los primeros en informar que los CNT pueden adherirse a la superficie de una cepa de *S. mutans* mediante entrelazamiento; sin embargo, no se observó daño en la membrana celular de *S. mutans*. Por otro lado, Olivi et al. (**Olivi et al., 2013**) informaron lo mismo en redes de tipo agregado de SWCNT en cepas microbianas de *S. aureus*, *P. aeruginosa* y *C. albicans*. Yang et al. (**Yang et al., 2010**) observaron que cuando los SWCNT son más largos, tienen una mayor capacidad para agregarse alrededor de las células bacterianas y aislarlas, promoviendo la actividad antibacteriana.

Otro de los mecanismos por los cuales los CNT pueden producir una acción antimicrobiana es interactuando directamente con el ADN, es decir sin ingresar a la célula, a través de interacciones secundarias como los radicales libres producidos por interacciones fuera de las células con los CNT. Se ha informado que el oxígeno reactivo en el entorno celular interactúa con el ADN e inhibe los mecanismos de reparación del ADN celular (**Wang et al., 2016**). Los CNT cuyas propiedades superficiales y eléctricas lo permitan también podrían interactuar con proteínas a través de la interacción con los grupos -SH presentes en los extremos de los aminoácidos y dentro de las proteínas (**Lynch and Dawson, 2008**).

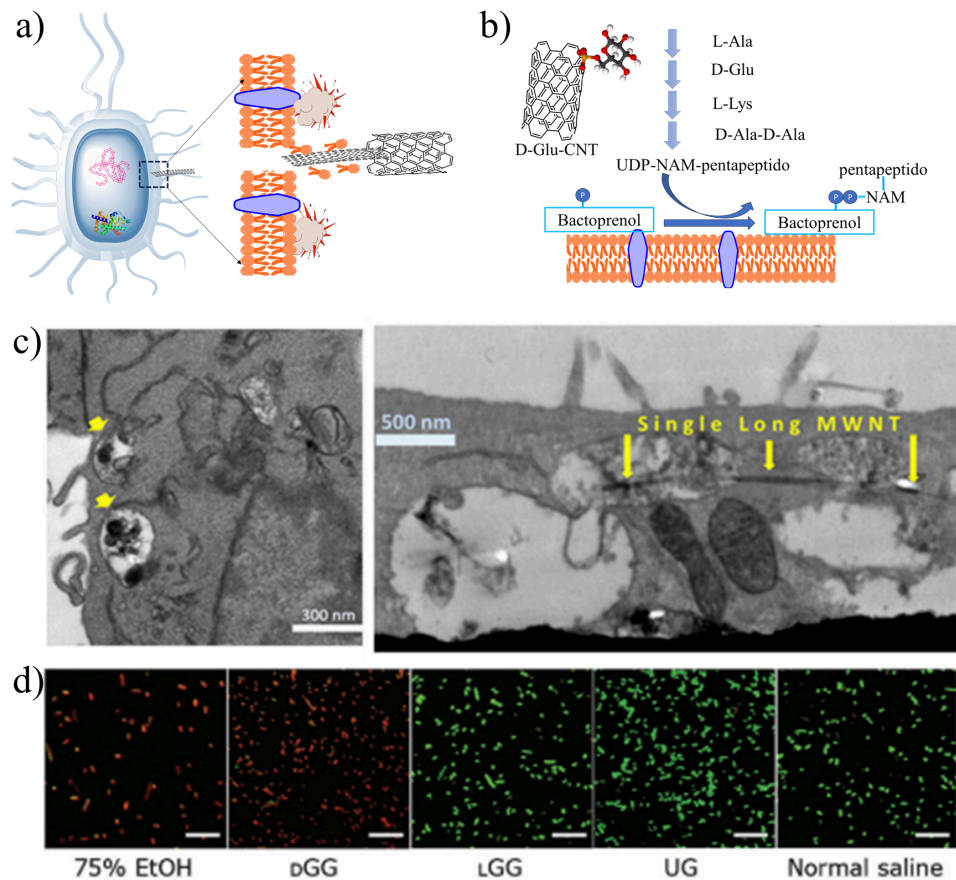


Figura 2.16 Otros mecanismos de actividad antimicrobiana por CNTs (a) Mecanismo de extracción de lípidos, (b) Mecanismo por inhibición del metabolismo, (c) internalización de CNTs en vesículas intracelulares visualizados por TEM, (d) Imágenes de fluorescencia de muestras de *E. coli* tratadas con grafeno funcionalizado con D-ácido glutámico. En rojo se muestran las células muertas, mientras que en verde las células vivas. (Modificado de **(Xin et al., 2017; Zhu et al., 2016)**)

La extracción de lípidos es otro de los mecanismos por los que este tipo de nanomateriales pueden provocar actividad antimicrobiana. Las células bacterianas, al igual que las células animales, poseen una membrana lipídica cuyas funciones son esenciales para la absorción de nutrientes y eliminación de moléculas y sustancias tóxicas, por lo que la afectación en su integridad provocará la inhibición funcional de esta y por ende la muerte bacteriana **(Mingeot-Leclercq and Décout, 2016)**. Los CNTs con una alta concentración de grupos activos pueden penetrar la membrana lipídica y extraer de ella una cantidad significativa de fosfolípidos de la superficie celular. Zhu et al. **(Zhu et al., 2016)** analizaron los mecanismos de toxicidad de los CNT al interactuar con la bicapa lipídica de la membrana celular de células animales. Ellos encontraron que los CNT producen daño a través de los mecanismos de la membrana celular para empaquetar material dentro de vesículas esféricas intracelulares. De esta manera la superficie de los CNT al comprimirse y el contacto mecánico causa la extracción de lípidos, la permeabilización de la membrana y por consecuencia la muerte celular.

La inhibición del metabolismo bacteriano es otro de los mecanismos por los cuales los CNT pueden generar actividad antimicrobiana, esto al inhibir los procesos de transformación de nutrientes en energía y la eliminación de desechos celulares, provocando la muerte celular. Uno de los principales mecanismos por los que los CNT pueden eliminar el metabolismo bacteriano es extrayendo electrones, esenciales para el metabolismo energético bacteriano, inhibiendo la cadena respiratoria a través de la membrana celular **(Xin et al., 2019)**. Los CNT que podrían extraer electrones de la cadena respiratoria de la membrana inhiben la biosíntesis de componentes bacterianos básicos como el peptidoglicano, provocando un efecto antimicrobiano **(Xin et al., 2017)**.

2.6 Toxicidad de nanotubos de carbono

Una de las principales preocupaciones del uso de CNT en el tratamiento de enfermedades como el cáncer o las infecciones es su potencial toxicidad en el cuerpo humano. Algunos estudios han informado que los CNT pueden acumularse en tejidos y órganos como pulmones, corazón **(Bai et al., 2010)** y cerebro **(Liu et al., 2014)**, generando estrés oxidativo y por tanto causando daño celular. La funcionalización de los CNT, como las características físicas mencionadas anteriormente (pureza, tamaño,

longitud, diámetro, química de la superficie) son factores que pueden determinar y alterar los niveles de toxicidad (Cui et al., 2010).

También podrían en determinadas circunstancias provocar nuevos alérgenos, o en su caso crear nuevas cepas tóxicas (resultado de mecanismos de resistencia microbiana) con mayores tasas de absorción de CNT a través de la interacción con materiales compuestos que contienen nanotubos y que estén presentes en el medio ambiente (Albini et al., 2015). Los estudios han demostrado que la ingestión accidental de CNT puede causar su transición dentro del cuerpo desde la boca al tracto intestinal, continuando los procesos de absorción, distribución y excreción (Piperigkou et al., 2016).

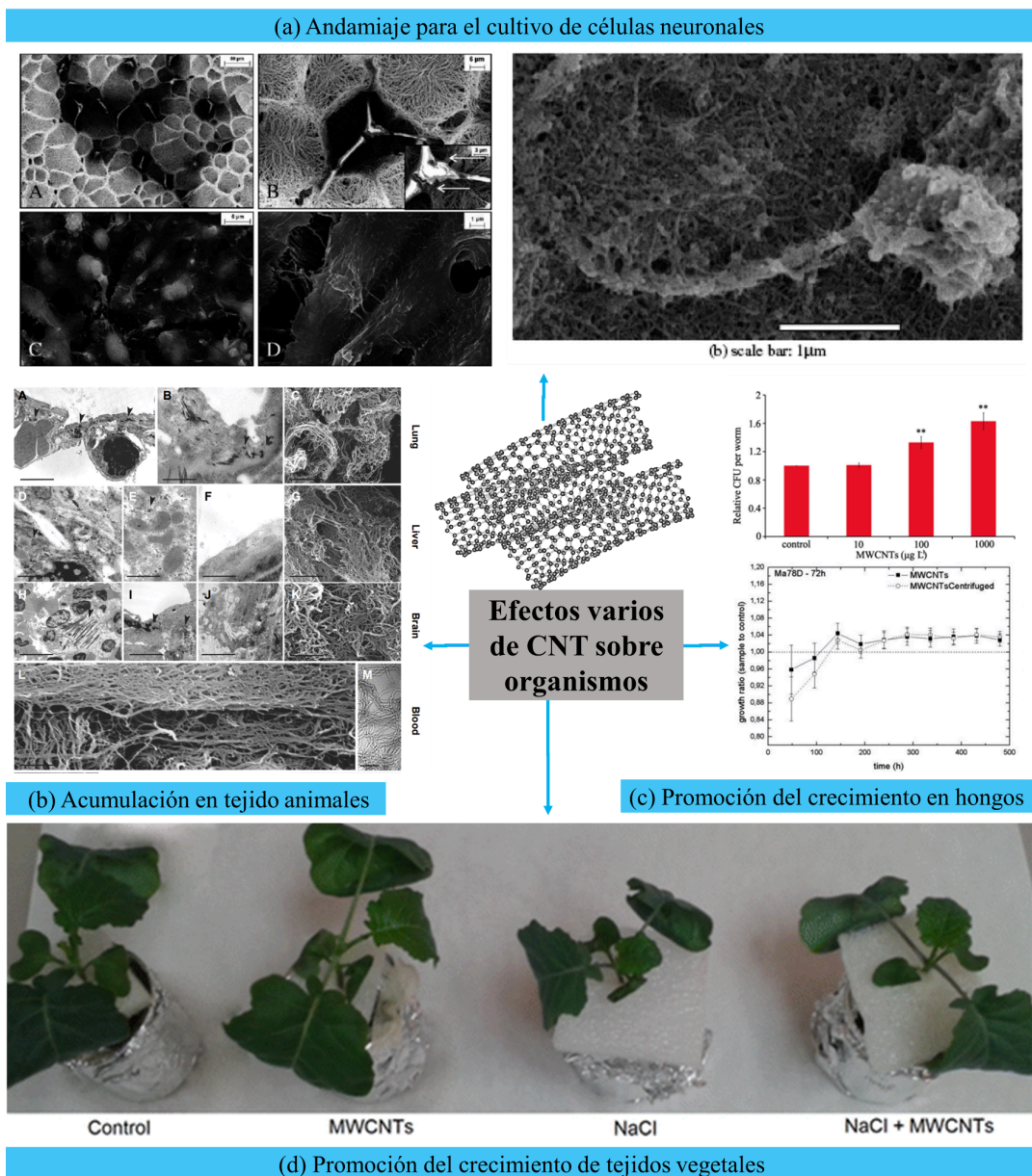


Figura 2.17 Efectos varios de CNT sobre organismos. (a) Andamiaje para el cultivo celular, a la izquierda se observan fibroblastos de ratón, mientras que en la derecha

células neuronales ambos crecidos sobre impresiones de CNT 3D. (b) Micrografías SEM de la acumulación de CNT en tejidos de ratones; pulmones, hígado, cerebro y sangre para cada fila respectivamente. (c) Curvas de crecimiento de hongos tras ser expuestos a CNT, *Candida albicans* y *Metharhizium anisopliae* respectivamente. (d) Cultivos de *Brassica oleracea* tras ser expuesto a 10 mg/L de MWCNT, para ambos casos el crecimiento de los tejidos fue promovido tras la exposición continua a CNT. (Modificado de (Albini et al., 2015; Cui et al., 2010; Gorczyca et al., 2014; Martínez-Ballesta et al., 2016; Shakoor et al., 2016).

Sin embargo, cualquier interacción entre los CNT y los sistemas biológicos puede dar lugar a efectos citotóxicos, ya sea a través de respuestas alérgicas a los componentes químicos del material y citotoxicidad, como en los casos mencionados anteriormente, a través de la generación de ROS, daño al ADN y peroxidación de proteínas (Firme and Bandaru, 2009). A lo largo de la bibliografía podemos encontrar diversos casos donde se ha investigado el impacto de los CNT con diferentes tipos de células, y se ha observado que en cada caso los niveles de toxicidad son diferentes y varían dependiendo de la forma y características del material, así como como el tipo de célula elegida para interactuar (Fujita et al., 2015).

Es importante señalar que los resultados actuales sobre la toxicidad de materiales como los CNT para células animales son controvertidos (Maas, 2016) ya que dicha toxicidad podría deberse a la diferencia en el material de origen o a las diferentes líneas celulares utilizadas en un estudio específico (Figura 2.13). Al mismo tiempo, se ha reportado que los CNT son capaces de promover el crecimiento celular de diferentes tipos de hongos (Gorczyca et al., 2014; Shakoor et al., 2016), plantas (Patel et al., 2019) y diferentes tejidos. células como huesos o neuronas (Veetil and Ye, 2009). En general, mejorar el desempeño antibacteriano de los CNT reduciría la toxicidad en los organismos huéspedes (Xin et al., 2019), por lo que es crucial promover la mejora selectiva de la toxicidad de las aplicaciones antimicrobianas antes de comercializar su aplicación. Además, la funcionalización de CNT con moléculas específicas como aminoácidos o polímeros para mejorar la capacidad selectiva de interactuar con células bacterianas podría ser una estrategia capaz de ayudar a superar la toxicidad de estos materiales. En cualquier caso, es imperativo que antes de que se difunda su uso comercial en aplicaciones antimicrobianas, se evalúe la toxicidad del material en modelos biológicos pertinentes, en caso de que estos tengan posibilidad de interactuar con humanos en el ambiente.

2.7 Conclusiones

A lo largo de esta revisión se hizo énfasis en la importancia de las propiedades de los CNTs sobre el efecto antimicrobiano para el control de organismos patógenos. Se ha demostrado que la actividad antimicrobiana de estos nanomateriales depende de sus

características fisicoquímicas, como su diámetro, longitud, funcionalización y química de superficie. Sin embargo, características como los factores externos del medio ambiente y la estructura de la membrana celular también son importantes en las interacciones entre los CNT y los microorganismos. Los mecanismos de la actividad antimicrobiana aún son un tema en desarrollo, pero en general pueden ser a través de interacciones mecánicas de la superficie de las células CNT, estrés oxidativo dependiente e independiente de ROS e inhibición de moléculas microbianas y metabolismo.

Sin embargo, la mayoría de estos materiales aún se encuentran en fase de investigación y desarrollo, por lo que hay aspectos como la producción a escala, su lenta y costosa producción y su toxicidad no específica que suponen un impedimento para colocarse como alternativa a los materiales antimicrobianos actuales. Los costos de producción de CNTs son relativamente altos en comparación con los antimicrobianos convencionales, por lo que es necesario optimizar la producción de estos a gran escala, así como desarrollar métodos que permitan modificar las características deseables de las muestras de CNTs, optimizar la purificación y funcionalización de estos para que sus propiedades queden bien definidas y así poder establecer las conexiones más fiables entre el efecto antimicrobiano de este tipo de nanomateriales y las características específicas de los CNTs.

Capítulo 3: Síntesis y caracterización de nanotubos de carbono dopados con nitrógeno, actividad electroquímica y antimicrobiana.

3.1 Resumen

En el presente trabajo, se llevó a cabo un estudio sistemático sobre el efecto de la incorporación de nitrógeno en nanotubos de carbono de paredes múltiples (MWCNT) preparados mediante deposición química de vapor asistida por aerosol. El nitrógeno, el carbono y el precursor del catalizador fueron soluciones de NN-dimetilformamida (DMF), tolueno y ferroceno respectivamente. Los estudios electroquímicos se realizaron mediante voltamperometría cíclica (CV), espectroscopia de impedancia electroquímica (EIS) y resistencia eléctrica (ER). Además se analizó el efecto antimicrobiano de estos nanotubos contra hongos oportunistas presentes en el ambiente mediante el uso de los MWCNT como componente estructural dentro de matrices gelificadas de agar. Los resultados mostraron que los N-MWCNT exhiben una estructura tubular de bambú que no está presente cuando se usa tolueno puro. Las incorporaciones de nitrógeno fueron analizadas y verificadas mediante FTIR, EELS y XPS. Las concentraciones de nitrógeno obtenidas alcanzaron hasta el 2.5% at. según lo evaluado por XPS. El aumento de la incorporación de nitrógeno en N-MWCNT también aumentó la conductividad de las muestras observada por voltamperometría cíclica. La espectroscopia de impedancia electroquímica mostró que los MWCNT se comportaron como un condensador eléctrico de doble capa con una disminución de la resistencia eléctrica a medida que aumenta el contenido de N. Las caracterizaciones electroquímicas revelaron que nuestras muestras tienen un uso potencial en aplicaciones de almacenamiento de carga. También se observó que los nanotubos dopados con nitrógeno tenían un efecto antimicrobiano inhibiendo la proliferación de hongos oportunistas del ambiente de manera distinguida en comparación de los nanotubos de carbono sin dopaje,

3.2 Introducción

En la última década se han investigado cada vez más métodos para la síntesis y caracterización de nanotubos de carbono de paredes múltiples dopados con nitrógeno (N-MWCNT) (Nxumalo et al., 2010; Hachimi et al., 2015; Mombeshora et al., 2017). La atención en este tipo de estudios está relacionada con las propiedades de estos nanomateriales modificando la estructura electrónica de los nanotubos de carbono mediante la adición de nitrógeno a la red grafitica (Ombaka et al., 2014; Wang et al., 2009). El dopaje con nitrógeno en nanotubos de carbono se considera una de las mejores estrategias para ajustar las propiedades electrónicas de los CNT de una manera

definida (**Deepak et al., 2005; Stephan et al., 1994; Tang et al., 2004**). Las propiedades de estos materiales están determinadas principalmente por su composición química, por lo que modificar estas propiedades es relativamente fácil de controlar mediante métodos de síntesis.

Los métodos de síntesis para la producción de nanotubos de carbono dopados con nitrógeno (N-MWCNT) se pueden realizar mediante dopaje in situ o postdopaje (**Tang et al., 2013**), el método más comúnmente utilizado para la síntesis de N-MWCNT es la deposición química de vapor. (CVD) (**Munoz-Sandoval et al., 2014; Nxumalo and Coville, 2010**). Diversas investigaciones han demostrado que las condiciones de síntesis utilizadas: precursores, catalizadores, temperatura de reacción, gas portador (entre otros) modulan la incorporación de N a los nanotubos de carbono (**Nxumalo et al., 2010; Tang et al., 2004**).

Entre los reactivos precursores de nitrógeno más utilizados para producir N-MWCNT se encuentran el uso de dietilamina, butilamina, isopropilamina, bencilamina, anilina, quinolona, formamida (**Nxumalo et al., 2010**), piridina (**Sen et al., 2003**), triazina (**Terrones et al., 1997**), acetonitrilo (**Che et al., 2003**), melamina (**Terrones et al., 1999**), trietilamina, hexametilentetramina (**Yadav et al., 2015**), y finalmente el uso de N,N- dimetilformamida y N,N-dimetilacetamida (**Nxumalo et al., 2010**). Otros métodos para la incorporación de N incluyen la pirólisis de los precursores en presencia de NH₃ o N₂ gaseoso (**Lee et al., 2003**), sin embargo, este tipo de métodos ha mostrado un bajo rendimiento alrededor del contenido de N en la estructura. de los N-MWCNT (**Nxumalo and Coville, 2010**), además de producir principalmente dopaje con nitrógeno grafitico (**Wei et al., 2015**), dejando de lado especies piridínicas y pirrólicas.

En cuanto al uso de catalizadores, normalmente se utilizan metales como Fe, Co o Ni (**Harutyunyan, 2009**), sin embargo se prefieren catalizadores disueltos como el ferroceno (FcH) o Fe(CO)₅ para este tipo de síntesis (**Ghosh et al., 2008**). Sin embargo, el uso tanto del catalizador como de la fuente de C y N depende de la disponibilidad, el costo y la facilidad de uso de los reactivos.

La estructura característica de los N-MWCNT difiere de los MWCNT comunes debido a una reducción en el número de capas, así como a una estructura compartimentada llamada forma de bambú (**Yadav et al., 2009**). Este fenómeno ocurre debido a la inclusión de nitrógeno dentro de la red grafitica como resultado de la similar longitud de sus enlaces. Cuando un enlace C-C (1,38 Å) se reemplaza por un enlace C-N más corto (1,34 Å), se inducen defectos en la estructura grafitica de los N-MWCNT, que se percibe como un compartimento similar al bambú dependiendo de la tensión involucrada en la presencia de nitrógeno en la red grafitica (**Mombeshora et**

al., 2017), que termina con la formación de una curva positiva dentro de las capas del tubo (**Suenaga et al., 2000**).

El nitrógeno puede incorporarse a la estructura de los N-MWCNT a través de átomos como centros de nitrógeno y encontrarse principalmente como inclusiones piridinas, pirrónicas y grafíticas (**Wei et al., 2015**), así como óxido de nitrógeno, entre otros (**Arjmand et al., 2016**). La incorporación de nitrógeno en la red grafítica proporciona electrones al sistema π deslocalizado (**Tang et al., 2004**), permitiendo mejorar las propiedades eléctricas del material en el almacenamiento de carga y en reacciones de oxidación-reducción. Este tipo de mejoras posicionan el uso de estos materiales en dispositivos como pilas de combustible y celdas solares (**Mombeshora and Nyamori, 2015**).

Aunque las investigaciones sobre el proceso de dopaje con N no han cesado, el efecto del precursor nitrógeno, el gas portador, las temperaturas y los tiempos de síntesis, entre otras variables, sigue siendo un tema de investigación lejos de resolverse. El uso de N,N-dimetilformamida para la síntesis de N-MWCNT se ha reportado un par de veces antes, sin embargo, todavía quedan eslabones sueltos. Por ejemplo, Tang et al. (**Tang et al., 2004**) sintetizaron N-MWCNT y descubrieron que los enlaces C-N preexistentes de N,N-DMF permitían concentraciones de nitrógeno de hasta $\approx 20\%$ at. Posteriormente, Nxumalo et al. (**Nxumalo et al., 2010**) utilizaron diferentes fuentes de nitrógeno (N,N-DMF entre ellas) y determinaron que el contenido del precursor de nitrógeno era más importante que la naturaleza de la fuente de N según las características morfológicas y de producción de N-MWCNT. Más recientemente, Mombeshora et al. (**Mombeshora et al., 2017**) analizaron el efecto del uso de mezclas de N,N-DMF/acetonitrilo en la síntesis de N-MWCNT. Descubrieron que el uso de N,N-DMF como precursor de nitrógeno provocaba una mejora con respecto al dopaje con nitrógeno en forma de nitrógeno pirrónico como resultado de los precursores de N sp^3 como fuente de nitrógeno. Sin embargo, todavía existen nichos de oportunidad en el uso de N,N-DMF como precursor de N en la síntesis de N-MWCNTs así como en la búsqueda de aplicaciones de este tipo específico de materiales.

Así, en el presente trabajo se estudia la síntesis de N-MWCNTs mediante el uso de mezclas de tolueno/NN-DMF utilizando ferroceno como catalizador disuelto. El objetivo del estudio es investigar el efecto de los precursores de nitrógeno sobre el efecto de la incorporación de dopaje de nitrógeno para el rendimiento, las características fisicoquímicas y actividad antimicrobiana de los N-MWCNT.

3.3 Materiales y métodos

3.3.1 Síntesis de N-MWCNTs

Los MWCNT se sintetizaron mediante el método de deposición química de vapor asistida por aerosol, como se muestra en la **Figura 3.1**. La síntesis se llevó a cabo a 850 °C utilizando mezclas de tolueno/DMF como fuentes de nitrógeno y carbono, mientras que ferroceno (Fch) (**Figura 3.1(a)**) se utilizó como catalizador disuelto (**Munoz-Sandoval et al., 2014**). Como gas portador se utilizó una mezcla de gases Ar/H₂ (95-5%, INFRA). Las diferentes muestras fueron nebulizadas y llevadas al reactor de síntesis (**Figura 3.1(b)**) formado por un tubo de cuarzo (4,4 cm de diámetro) dentro de un horno tubular. Se usó NN-DMF (99%, Sigma-Aldrich) como hidrocarburo con nitrógeno y se estudió en diferentes concentraciones (ver **Tabla 3.1**). La mezcla de gases se usó como gas de extracción para controlar el flujo másico durante el proceso de síntesis. El proceso de síntesis se llevó a cabo durante 30 minutos. Después de la reacción, se redujo el flujo de argón hasta el enfriamiento completo del sistema.

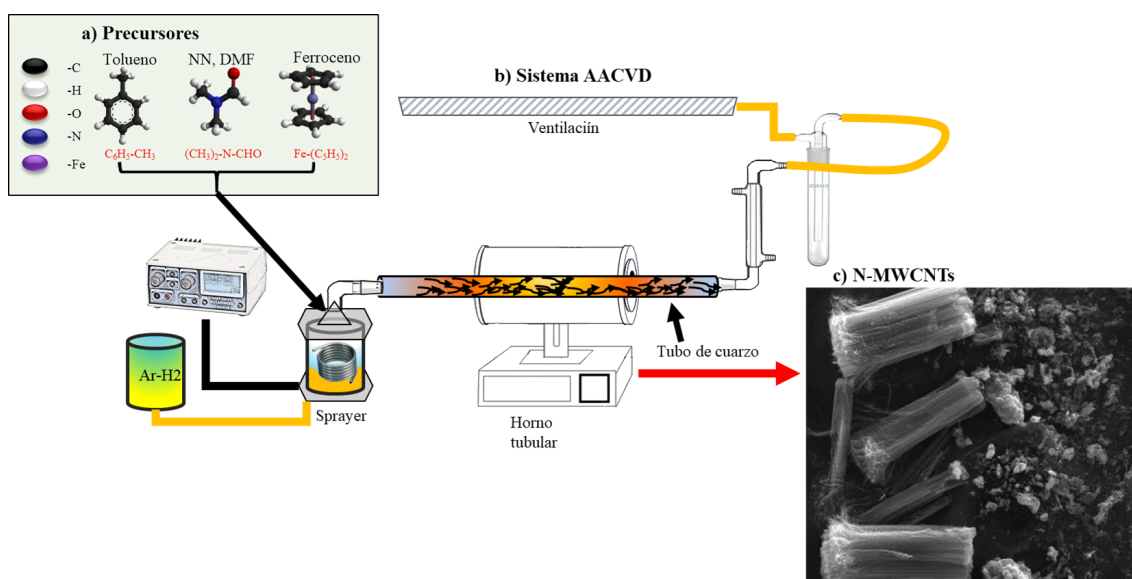


Figura 3.1. Esquema de síntesis del N-MWCNT, utilizando como precursores diferentes mezclas de NN-DMF/Tolueno-Ferroceno.

Tabla 3.1 Condiciones AACVD para la síntesis de MWCNT utilizando mezclas de NN-DMF/tolueno-ferroceno.

Muestra	Solución precursora			Temperatura (°C)	Tiempo de síntesis (min)	Flujo de gas
	Tolueno	DMF	Ferroceno			
MW	100%	0%	2.5%	850	30	2.5 L/m Ar/H ₂
N-MW-1	93%	7%	2.5%	850	30	2.5 L/m Ar/H ₂

N-MW-2	86%	14%	2.5%	850	30	2.5 L/m Ar/H ₂
N-MW-3	79%	21%	2.5%	850	30	2.5 L/m Ar/H ₂
N-MW-4	50%	50%	2.5%	850	30	2.5 L/m Ar/H ₂

Los MWCNT sintetizados se recolectaron raspando suavemente el tubo de cuarzo y posteriormente se almacenaron a temperatura ambiente. La **Figura 3.1(c)** muestra imágenes de las muestras de MWCNT obtenidas del proceso de síntesis en forma de matrices rectangulares alineadas.

3.3.2 Caracterización de N-MWCNTs

Los MWCNT sintetizados se caracterizaron mediante microscopía electrónica de barrido y transmisión (SEM y TEM) utilizando un microscopio FIB Dual Beam Helios Nanolab 600 y un microscopio FEI Tecnai F30, respectivamente. Los diámetros de CNT se determinaron a partir de al menos 5 imágenes SEM de cada muestra utilizando ImageJ, software gratuito para el análisis de imágenes del National Institutes of Health. El análisis de difracción de rayos X (DRX) se realizó utilizando un difractómetro de rayos X Rigaku SmartLab con radiación Cu K α ($\lambda = 0,154$ nm) a una velocidad de escaneo de 1°/min en el rango angular de 10 a 90 2 θ grados. El ordenamiento gráfico se determinó con espectroscopía Raman utilizando un espectrómetro InVía MICRORAMAN:RENISHAW a una longitud de onda de excitación de 514 nm, una potencia de láser de 5,63 mW y un objetivo de microscopio de 20 X para obtener un tamaño de punto láser de ~ 1 μ m. Los espectros Raman se obtuvieron de tres puntos de la muestra en el rango espectral de 100 cm⁻¹ a 3500 cm⁻¹. El análisis termogravimétrico se realizó utilizando un STA 6000 Perkin-Elmer calentando las muestras en una atmósfera de oxígeno de 50°C a 950°C con una velocidad de calentamiento de 10°C/min bajo un flujo de oxígeno de 20 ml/ml. La espectroscopia infrarroja se realizó en un espectrofotómetro FTIR IRTracer-100 con el accesorio ATR (Attenuated Total Reflection). Los análisis XPS se realizaron utilizando un espectrómetro fotoelectrónico de rayos X Thermo Scientific K-alfa equipado con una fuente de rayos X monocromática AlK- α (1487 eV). Para el análisis de deconvolución se empleó el software Spectral Data Processor SDP 4.1. El análisis de espectroscopia de pérdida de energía electrónica (EELS) se realizó utilizando un microscopio FEI Tecnai F30 en modo microsonda con una sonda de electrones de al menos 20 nm de diámetro. Tanto la caracterización TEM como EELS fueron analizadas por el software DigitalMicrograph (GATAN).

3.3.3 Actividad electroquímica

La caracterización electroquímica se realizó utilizando un potenciostato/galvanostato Squidstat Plus, utilizando como electrodo de referencia un alambre de platino/iridio, como contraelectrodo una lámina de grafito de 2,5 x 2,5 cm² y como electrodo de trabajo, los MWCNT preparados pesando y mezclando en un molino de bolas 16 mg de la muestra y 2 mg de PVDF como agente aglutinante; después de mezclar, se usó N-metilpirrolidona para formar la pasta en un mortero de ágata. La pasta se extendió en sustratos de óxido de estaño dopados con flúor de 1x2 cm² (30 ohm/sq) y se secó sobre una placa caliente. El electrolito fue una solución acuosa de H₂SO₄ 0,7 M. Después de 180s en potencial de circuito abierto (OCP), se realizó voltamperometría cíclica (CV) a 100 mVs⁻¹ para diagnosticar los procesos redox en los electrodos MWCNT. Las CV se realizaron desde OCP hacia la dirección catódica y luego hacia el vértice anódico, o desde -1,3 V frente a Pt hacia el vértice anódico y viceversa, para evaluar posibles contribuciones irreversibles, de adsorción o capacitivas. Una vez identificados los picos, se varió el vértice del potencial para estudiar los procesos electroquímicos que ocurren en función del potencial. Los picos identificados se probaron bajo diferentes velocidades de escaneo para identificar los mecanismos de transferencia de carga mediados por superficie/difusión. Las mediciones de espectroscopía de impedancia electroquímica se realizaron a potenciales de CC de 100 mV por encima de los picos de oxidación; la amplitud de la señal de CC de excitación fue de 25 mV (del orden de kT de energía), para evitar efectos de termalización en la transferencia de carga en la interfaz electrificada, y la frecuencia se varió de 3000 a 3 mHz. La capacitancia se obtuvo asumiendo un circuito equivalente RC (condensador de resistencia). A partir de los gráficos de Mott-Schottky, se determinó el tipo de semiconductor, es decir, tipo n para pendiente positiva y tipo p para pendiente negativa.

3.3.4 Actividad antimicrobiana

Se analizaron diferentes CNT para evaluar su actividad antimicrobiana contra hongos oportunistas presentes en el ambiente. Los hongos oportunistas generalmente surgen de altos niveles de humedad en el ambiente, aumentando las posibilidades de enfermarse a causa de estos patógenos. La humedad se asocia a una baja renovación del aire interior en espacios cerrados como consecuencia de un exceso de estanqueidad o infiltraciones de aire, provocando una disminución de la salubridad y la aparición de moho. Es evidente la necesidad de productos con actividad antimicrobiana como los CNT para destruir los mohos que causan problemas de salud. De esta manera se investigó la viabilidad de hongos oportunistas expuestos a composites de MWCNT/agar (0.1mg / mL) con extracto de café (como fuente de carbono) expuesta a cuatro tipos diferentes de CNT. Seleccionamos cuatro tipos, a saber, nanotubos de carbono de

paredes múltiples (MWCNT (este estudio)), MWCNT dopados con nitrógeno (N-MWCNT (N-MW-3 de este estudio)), Nanoesponjas de carbono (MWCNT-CS) (Ortiz López, 2018), y MWCNT sintetizados utilizando como catalizador Banded Iron Formation (MWCNT-BIF) (Jimenez-Ramirez et al., 2020) y . Todas las muestras fueron fabricadas con la técnica de deposición química de vapor (CVD) para buscar nuevos materiales con actividad antimicrobiana para uso en higiene de superficies.

El composito fue elaborado a partir de una suspensión de MWCNT (0.1 mg/mL) adicionando extracto de café y el agente gelificante agar-agar (MCD LAB) en una concentración de 20 g/L, dispersos en agua destilada por ultrasonificación. La solución se esterilizó en un autoclave a 120°C durante 20 min para luego ser vertido en alícuotas de 10 ml de la solución en placas de cultivo de 100 mm, para finalmente ser dejados reposar hasta la solidificación final de los compositos de CNT/agar.

Se prepararon cinco medios de cultivo diferentes con y sin nanomateriales de carbono, para luego ser expuestos a hongos oportunistas presentes en el ambiente (laboratorio). Las etiquetas utilizadas fueron: Agar-Café, Agar-MW (usando MWCNT), Agar-N-MW (usando N-MWCNT), Agar-MW-CS (usando CS), y Agar-MW-BIF (usando MWCNT-BIF). Posteriormente, las cajas etiquetadas y selladas se llevaron a incubación a 25 °C durante 6 días (tiempo necesario para que todos los organismos alcancen la madurez según experimentos previos) para posteriormente proceder al conteo y aislamiento de colonias para su posterior análisis. Los organismos cultivables se aislaron mediante la técnica de cultivo en estría utilizando un medio de cultivo de Agar Papa Dextrosa (PDA). Tras el crecimiento de los diferentes microorganismos, se realizó el recuento total de microorganismos presentes en cada uno de los tratamientos y sus triplicados.

3.4 Resultados y discusión

3.4.1 Caracterización de N-MWCNTs

La **Tabla 3.2** enumera el peso de las muestras sintetizadas, y rendimiento de la síntesis (C%). El rendimiento de carbono (C%) se obtuvo mediante $C\% = 100 \times (w_2 - w_1) / w_1$, donde w_1 es la masa del catalizador en función de la solución precursora utilizada durante la síntesis y w_2 es el peso de la muestra, después de la síntesis por AACVD. Como se ve en la **Tabla 3.2**, la muestra MWCNT sintetizada sin DMF fue la muestra con mayor rendimiento (271,3%), mientras que la muestra N-MW-4 (50% DMF) fue la muestra con menor rendimiento (-32,6%).

Tabla 3.2 Datos experimentales para la síntesis de muestras MWCNT.

Muestra	Ferroceno (mg)	Peso final (mg)	C% Yield
MW	867.0	3219	271.3%
N-MW-1	783.1	2074	164.9%
N-MW-2	764.0	1560	104.2%
N-MW-3	792.1	835	5.42%
N-MW-4	724.4	488	-32.6%

3.4.2 Microscopía electrónica de barrido

La **Figura 3.2** muestra las imágenes SEM correspondientes a las muestras MW y N-MW-1-4 sintetizadas a partir de soluciones de tolueno y tolueno/DMF respectivamente. Las micrografías muestran nanotubos de carbono en disposiciones rectangulares (**Figura 3.2 (a,d,g,j,m)**) cuyos diámetros oscilan entre 20 y 140 nm y longitudes entre 60 y 140 μm . La distribución de nanotubos en disposiciones rectangulares es una característica ampliamente observada en los nanotubos sintetizados por catalizadores metálicos disueltos (**Seah et al., 2011**). Los nanotubos de carbono de la muestra MW (**Figura 3.2 (a-c)**) muestran nanotubos alineados con presencia de partículas de hierro (**Figura 3.2 (b)**), y cuyos diámetros son predominantemente de 60 a 100 nm con un promedio de $\sim 78,33$ nm (**Figura 3.2 (c)**). En consecuencia, para la muestra N-MW-1 (**Figura 3.2 (d-f)**) es posible observar el mismo tipo de disposiciones rectangulares de nanotubos en la muestra, sin embargo, también es posible observar secciones ligeramente onduladas del tapete en sus extremos. En un acercamiento a la muestra (**Figura 3.2 (e)**) es posible observar frecuentemente la presencia de nanotubos de carbono de menor diámetro, así como la presencia de partículas de hierro distribuidas por toda la muestra. Los diámetros en esta muestra presentan una distribución más amplia, variando de 40 a 100 nm y con una media de $\sim 68,84$ nm (**Figura 3.2 (f)**).

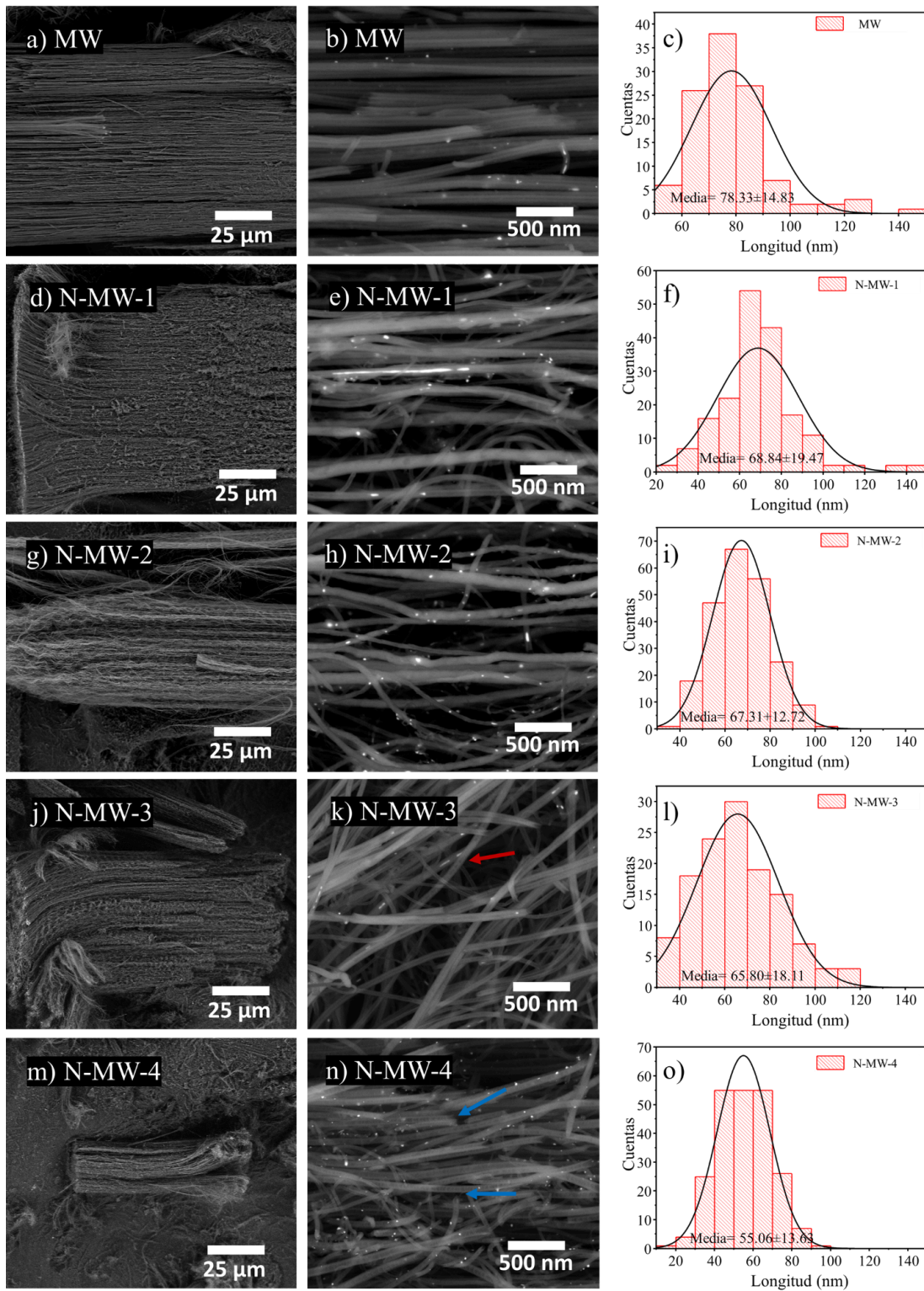


Figura 3.2. Micrografías SEM con diferentes aumentos (1000X y 50000X) y mediciones de diámetro de muestras MW (a – c), N-MW-1 (d – f), N-MW-2 (g – i), N-MW- 3 (j-l) y N-MW-4 (m-o) respectivamente. Es posible observar la disminución en el diámetro de los nanotubos a medida que aumenta la incorporación de DMF como precursor.

En la muestra N-MW-2 (**Figura 3.2 (g-i)**), se observan disposiciones rectangulares de longitudes reducidas y bordes curvos en toda la muestra. Con un

aumento de 50.000X (**Figura 3.2 (h)**), se observa un aumento en los nanotubos de menor diámetro con morfologías curvas, así como la presencia de nanopartículas de hierro ampliamente distribuidas. Los diámetros en esta muestra se distribuyen de 40 a 100 nm predominantemente con una media de ~67,31 nm (**Figura 3.2 (i)**). Para la muestra N-MW-3 (**Figura 3.2 (j-l)**) observamos nuevamente la presencia de matrices rectangulares con bordes curvos y longitudes cada vez más cortas. También es posible ver un aumento de nanotubos delgados, así como la presencia de nanotubos donde se puede observar la estructura en forma de bambú (flecha roja) en la muestra (**Figura 3.2 (k)**). Los diámetros en esta muestra predominan de 30 a 100 nm con una media de ~65,80 nm (**Figura 3.2 (l)**). Finalmente, para la muestra N-MW-4 (**Figura 3.2 (m-o)**) tenemos la presencia de arreglos rectangulares más cortos y delgados con bordes curvos, mientras que la ampliación de la muestra (**Figura 3.2 (n)**) nos muestra la presencia de nanotubos más delgados con abundante presencia de estructuras en forma de bambú fácilmente reconocibles (flechas azules), así como la presencia de partículas de hierro distribuidas por toda la muestra. Los diámetros en este caso se distribuyen principalmente de 20 a 90 nm, con una media de ~55,06 nm (**Figura 3.2 (o)**). Así, la caracterización SEM nos muestra cómo el aumento en la incorporación de DMF como precursor en la síntesis de nanotubos trae consigo la disminución del diámetro medio de los nanotubos, así como la presencia de nanotubos más delgados, curvos y con presencia de la estructura tipo forma de bambú.

3.4.3 Microscopía de transmisión de electrones

Mediante las imágenes de TEM se observó la nanoestructura de los N-MWCNT preparados para obtener una visión interna de su estructura y detalles químicos de las nanopartículas catalizadoras. En la **Figura 3.3** se presentan las micrografías de las muestras MW (a-c), N-MW-1 (d-f), N-MW-2 (g-i), N-MW-3 (j-l) y N-MW-4 (m-o). Todas las muestras presentadas corresponden a MWCNTs, sin embargo la muestra MW corresponde a nanotubos multicapa sin nitrógeno, mientras que las muestras N-MW-1-4 son muestras de nanotubos donde se incorporó nitrógeno como precursor. Para la muestra MW (**Figura 3.3 (a)**) se muestra un par de MWCNT con superficies de borde irregulares y cavidades interiores uniformes a lo largo de ellos. Uno de ellos (flecha negra) muestra la presencia de 2 partículas, una cónica y otra alargada (~100 nm de largo), estructuras típicas para el uso de ferroceno como catalizador (**Yah et al., 2011**). En la **Figura 3.3 (b)** se presenta una imagen TEM de alta resolución que muestra la estructura de uno de los nanotubos de la muestra MW; En este caso, se puede observar un número de capas de ~51,52, separadas por 3,561 Å para un diámetro de ~38,76 nm. Posteriormente, para la **Figura 3.3 (c)** podemos observar la imagen HRTEM de una partícula interna del catalizador, además de un recuadro donde se muestra el patrón de

difracción de electrones SAED utilizado para determinar el plano de Fe_3C , el cual muestra una distancia interplanar de 2.053 Å. relacionado con el plano (102) de Fe_3C .

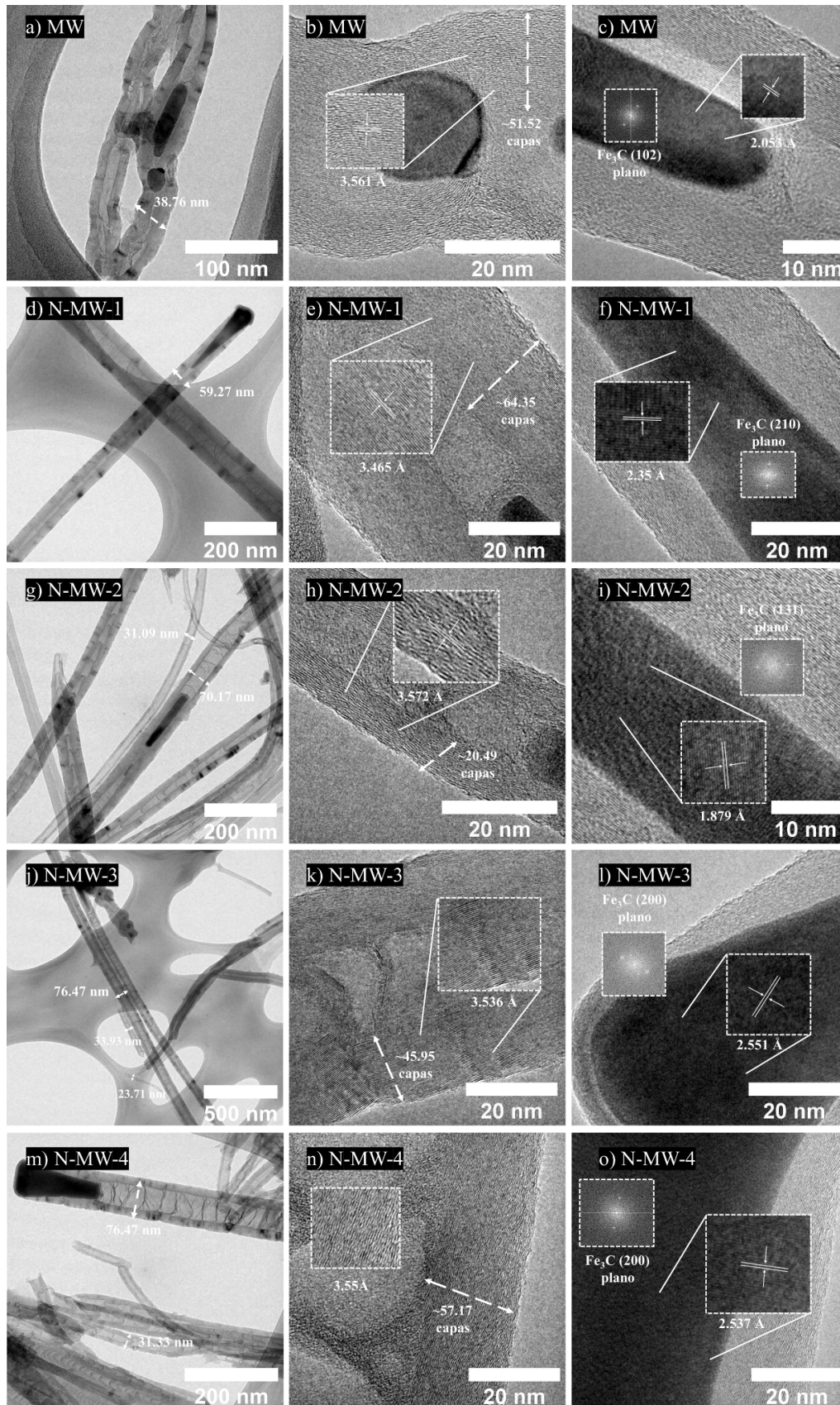


Figura 3.3 Micrografías electrónicas de transmisión de muestras de N-MWCNT, (a-c) muestra de MW, (d-f) N-MW-1, (g-i) N-MW-2, (j-l) N-MW-3, y (m-o) N-MW-4. En la primera columna se observa una visión amplia de las muestras, mientras que en la segunda observamos un acercamiento de las capas gráficas de los nanotubos y sus correspondientes distancias interplanares. Finalmente, en la última columna, se muestran las micrografías HRTEM y el patrón SAED de las partículas cónicas de Fe_3C encontradas en las muestras con sus correspondientes distancias interplanares. Es posible observar la presencia de estructuras en forma de Bambú para las muestras N-MW-1 a 4.

La **Figura 3.3 (d-f)** muestra las micrografías de la muestra N-MW-1 utilizando 7% de DMF como precursor de nitrógeno. Es posible observar la presencia de nanotubos de carbono con bordes rectos y con estructuras internas tipo bambú generalmente asociadas a la presencia de nitrógeno en su estructura gráfica (**Feng et al., 2008**). En la correspondiente imagen de alta resolución podemos observar un nanotubo con un número de $\sim 64,35$ capas, cuya distancia interlaminar fue de $3,465 \text{ \AA}$. Por otro lado, también se observó un acercamiento a la nanopartícula catalizadora donde en el recuadro se observó el patrón SAED correspondiente a una distancia interplanar de 2.35 \AA , el cual estaba relacionado con el plano (210) de Fe_3C . Para la muestra N-MW-2 (**Figura 3.3 (g-i)**) con un contenido de DMF del 14%, observamos la presencia de varios nanotubos de carbono cuyas morfologías se caracterizaron por un marcado patrón tipo bambú en su estructura interna (flechas amarillas). En las micrografías HRTEM también podemos observar la estructura interna similar al bambú, así como un número de capas de $\sim 20,49$ para la muestra observada con una separación interlaminar de $3,572 \text{ \AA}$. En cuanto a la partícula de catalizador podemos observar una distancia interplanar de 1.879 \AA correspondiente al plano cristalográfico (131) del Fe_3C . Continuando con la muestra N-MW-3 (**Figura 3.3 (j-l)**) donde el contenido de DMF aumentó al 21%, observamos una morfología tipo bambú representativa para las estructuras internas de los nanotubos presentes en la muestra, así como la presencia de nanotubos más delgados de manera frecuente. En las imágenes HRTEM podemos observar la estructura interna tipo bambú donde se observa un espacio interlaminar de 3.536 \AA en dicha muestra para un total de ~ 45.95 capas. En cuanto a las partículas catalíticas observadas, encontramos, utilizando el patrón SAED, una distancia interplanar de 2.551 \AA correspondiente al plano (200) del Fe_3C . Finalmente, para la muestra N-MW-4 (**Figura 3.3 (m-o)**) donde el contenido de DMF fue del 50%, observamos una morfología predominante de tipo bambú, así como una gran cantidad de nanotubos con diámetros reducidos alrededor de la muestra con mucha frecuencia. En las imágenes HRTEM podemos observar estructuras tipo bambú donde observamos un espacio interlaminar de 3.55 \AA para un total de ~ 57.17 capas, mientras que para la partícula del catalizador observada el patrón SAED muestra una distancia interplanar de 2.537 \AA correspondiente al plano (200) de Fe_3C .

En general se pudo observar que para las muestras de nanotubos donde se utilizó el precursor de nitrógeno DMF, permitió la formación de estructuras tipo bambú que aumentaron a medida que aumentó el contenido de DMF, mientras que en la muestra MW donde solo se utilizó tolueno como precursor, las morfologías eran más robustas y no presentaban el patrón tipo bambú en su interior.

3.4.4 Estructura y estabilidad térmica de N-MWCNT

La **Figura 3.4** muestra los resultados del (a) análisis de difracción de rayos X, (b) análisis termogravimétrico y (c) espectros raman para las muestras de N-MWCNT, respectivamente. En el difractograma XRD de la muestra podemos observar un difractograma para una muestra de grafito a modo de comparación donde observamos la presencia de los planos (002) y (004) del carbono grafitico (C) según la carta cristalográfica [COD 96-901-2231]. Por otro lado, la muestra MW representa nanotubos de carbono sintetizados a partir de tolueno en los que observamos la presencia de picos de carbono grafitico [COD 96-901-2231] así como picos relacionados con los planos (210)(211)(102)(220)(031)(112) y (131) de carburo de hierro (Fe_3C) según la carta cristalográfica [COD 96-901-2188]. Respecto a las muestras N-MW-1-4 podemos observar la presencia de los mismos picos relacionados con carbono grafitico [COD 96-901-2231] y carburo de hierro [COD 96-901-2188], sin embargo vemos que la intensidad de los picos relacionados con Fe_3C presentan mayor intensidad respecto a los de la muestra MW, además de un aparente aumento a medida que aumenta la cantidad de DMF utilizada en la muestra, es decir, de N-MW-1 a N-MW-4 respectivamente. Siguiendo este comportamiento, también observamos un cambio a ángulos bajos en el pico (002) relacionado con el carbono grafitico de la muestra de grafito a $\sim 26,4^\circ$ con respecto a las muestras de N-MWCNT ($\sim 26,1^\circ$). Cabe señalar que este pico se desplaza hacia la derecha en todas las muestras de nanotubos como resultado del aumento del espacio entre las tapas de carbono sp^2 de $\sim 0,335$ a $\sim 0,350$ nm (**Zhang et al., 2002**).

La **Figura 4 (b)** muestra el análisis termogravimétrico donde podemos observar la resistencia térmica de las nuestras muestras en función de la temperatura. Principalmente para todas las muestras podemos observar 3 comportamientos diferentes; inicialmente y hasta los 450°C , se pierde peso como resultado del contenido de carbono amorfo presente. Posteriormente tenemos la pérdida de peso relacionada con el contenido de los nanotubos de carbono ($450-750^\circ\text{C}$) y finalmente la última parte asociada con el contenido de cenizas así como las partículas de catalizador restantes en la muestra ($>750^\circ\text{C}$). En el caso de los nanotubos multicapa sintetizados a partir de tolueno (MW) observamos una temperatura de oxidación de $\sim 589,3^\circ\text{C}$, mientras que para las muestras con DMF podemos observar que la temperatura de oxidación comienza a reducirse a medida que aumenta el contenido de DMF, siendo $\sim 521,98$,

~515,71, ~506,54 y ~496,53 °C para las muestras N-MW-1, N-MW-2, N-MW-3 y N-MW-4 respectivamente. Esta reducción de la temperatura de oxidación está asociada a la presencia de defectos estructurales como consecuencia de la incorporación de nitrógeno a la red gráfica (Liu et al., 2012). Sin embargo, cabe señalar que, en comparación con una muestra de grafito (~668,25 °C), la estabilidad térmica de los nanotubos en general es menor debido a su disposición gráfica.

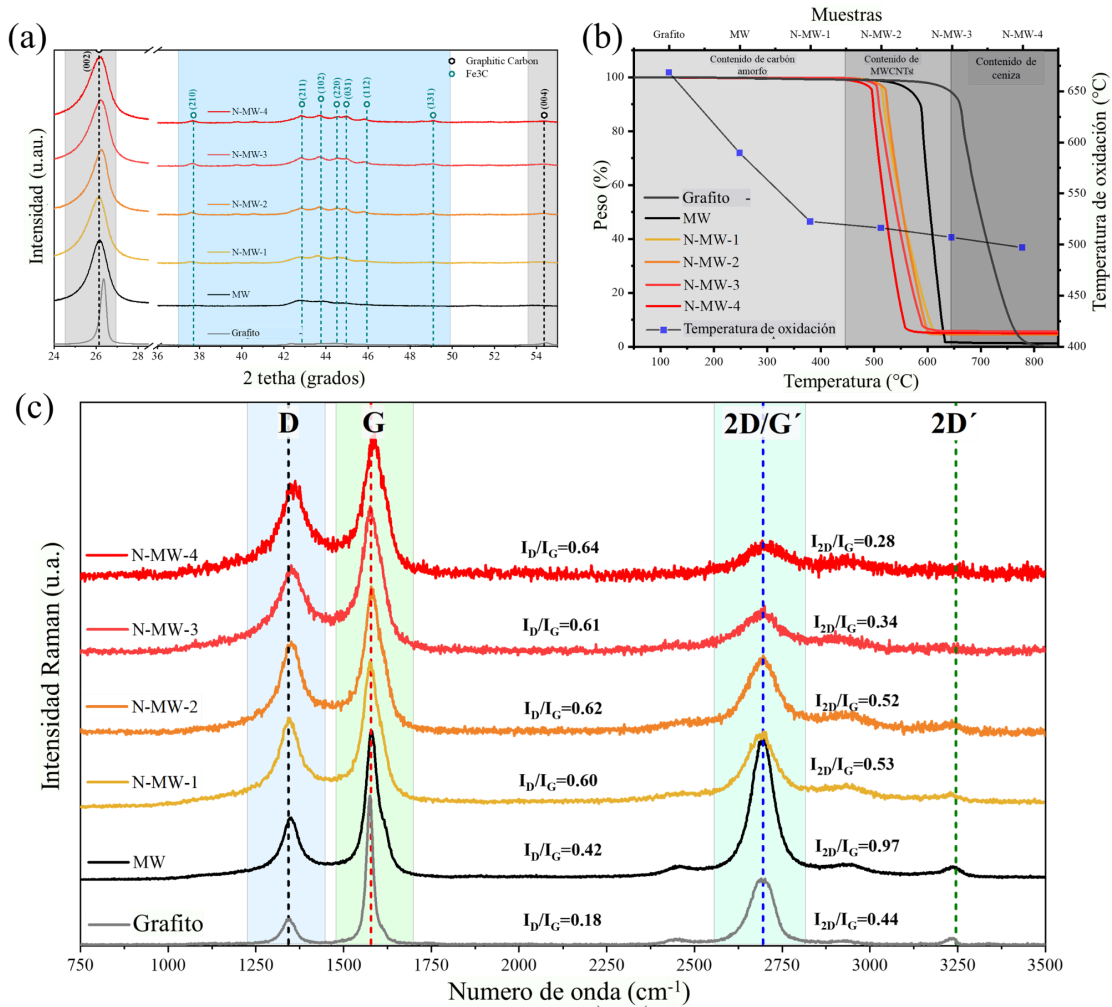


Figura 3.4 (a) Difractogramas XRD de las muestras de N-MWCNT. (b) termogramas de pérdida de peso obtenidos en flujo de oxígeno desde temperatura ambiente hasta 850°C. En la figura también se incluye la temperatura máxima de oxidación correspondiente a cada muestra. (c) Espectros Raman de muestras de N-MWCNT utilizando una fuente de excitación de 532 nm (2,33 eV), las líneas verticales indican la posición de los picos Raman D, G y 2D en grafito; Se muestran los valores de I_D/I_G para cada espectro.

Los resultados de la caracterización Raman para las muestras de N-MWCNT se muestran en la **Figura 4 (c)**. Para todas las muestras se observaron las bandas D y G, así como la banda de resonancia 2D de segundo orden. La banda D en ~1350 cm⁻¹ está

relacionada con defectos estructurales en la red gráfica (vacancia, bordes o hibridación gráfica), mientras que la banda G en $\sim 1580 \text{ cm}^{-1}$ proporciona información sobre el grado de graficación de la muestra (**Dresselhaus et al., 2005**). Por otro lado, la banda 2D a $\sim 2700 \text{ cm}^{-1}$, también llamada banda G', corresponde a una doble resonancia de la banda G y por lo tanto no representa un modo inductor de desorden (**Charon et al., 2021**).

La **Tabla 3.3** muestra los datos del análisis de los picos Raman observados y las relaciones de bandas I_D/I_G , I_{2D}/I_G y I_{2D}/I_D . También se muestran a modo de comparación las posiciones, intensidades y proporciones de las bandas D, G y 2D de materiales gráficos como el grafeno y el grafito. La posición de la banda D fue de 1348 cm^{-1} para la muestra MW, mientras que de 1353 , 1352 , 1353 y 1365 cm^{-1} para las muestras N-MW-1 a N-MW-4 respectivamente. Este cambio ascendente sugiere dopaje de electrones alto, grupos funcionales en la superficie y/o defectos de dopaje de huecos resultantes del dopaje con nitrógeno (**Liu et al., 2013**). Por otro lado la intensidad para esta banda fue de 42.06 para MW, mientras que 60.52 , 61.99 , 60.70 y 61.14 para las muestras N-MW-1 a N-MW-4, lo que representa un aumento en el desorden producto de la incorporación de nitrógeno a la estructura produciendo una estructura menos estable como se muestra en el análisis termogravimétrico con la disminución de la temperatura de oxidación (ver **Figura 3.4(b)**). Posteriormente, para la banda G podemos observar un cambio ascendente en la posición del pico de la banda G desde MW en 1578 cm^{-1} a 1581 , 1583 , 1581 y 1588 cm^{-1} para las muestras N-MW-1 a N-MW-4, respectivamente relacionados con la presencia de carbonos desordenados sp^2 resultado de la incorporación de átomos externos en la estructura gráfica como resultado del dopaje con nitrógeno por el uso de DMF como precursor (**Rao and Voggu, 2010**).

Tabla 3.3 Posición, intensidades y proporciones de picos Raman de muestras de N-MWCNT.

Muestra	Raman shift (cm ⁻¹)			Intensidad (a.u.)			Relación		
	D band	G band	2D band	I _G	I _D	I _{2D}	I _D /I _G	I _{2D} /I _G	I _{2D} /I _D
Grafeno (Bokobza et al., 2015)	1351	1581	2718	~100	~20	~30	~0.20	~0.30	1.5
Grafito	1342	1575	2700	100	17.64	44.34	0.18	0.44	2.51
MW	1348	1578	2697	100	42.06	97.18	0.42	0.97	2.31
N-MW-1	1353	1581	2696	100	60.52	53.12	0.60	0.53	0.87
N-MW-2	1352	1583	2697	100	61.99	52.37	0.62	0.52	0.84
N-MW-3	1353	1581	2693	100	60.70	33.60	0.61	0.34	0.55
N-MW-4	1365	1588	2693	100	64.14	28.03	0.64	0.28	0.43

Finalmente, para la banda 2D observamos una reducción desde 2697 cm⁻¹ para la muestra MW a 2696, 2697, 2693 y 2693 cm⁻¹ para las muestras N-MW-1 a N-MW-4 respectivamente. Se ha demostrado que la presencia de esta banda es sensible al dopaje, donde la reducción es una señal de los cambios inducidos por el dopaje de electrones en la estructura de los carbonos dopados con nitrógeno **(Podila et al., 2012; Rao and Voggu, 2010)**. Por otro lado, para la intensidad para el pico de la banda 2D, podemos observar una reducción de 97,18 en MW a 53,12, 52,37, 33,60 y 28,03 para N-MW-1 a N-MW-4 respectivamente. Se ha informado que la intensidad 2D es un buen indicador de la calidad estructural de los MWCNT **(Fedorovskaya et al., 2016; Okotrüb et al., 2022)**, además de que está directamente relacionada con el número de capas (cuanto mayor sea la intensidad, mayor el número de capas) para los nanotubos de carbono **(Kuznetsov et al., 2014; Orbaek White et al., 2021)**. Es decir, para nuestras muestras podemos observar que a medida que aumenta el contenido de DMF, la calidad estructural de nuestras muestras disminuye, al igual que el número de capas, como podemos inferir de los diámetros obtenidos de nuestras muestras mediante SEM.

En cuanto a la relación I_D/I_G, esta se utiliza para estimar el grado de ordenamiento del grafito en nanotubos de carbono. Es decir, valores bajos de I_D/I_G significan una alta grafitización mientras que valores altos indican la presencia de capas defectuosas dentro del material **(Dresselhaus et al., 2005)**. En nuestras muestras podemos observar como de 0,42 en MW la relación I_D/I_G cambia a 0,60, 0,62, 0,61 y 0,64 para N-MW-1 a N-MW-4 respectivamente, indicando una presencia de mayores

defectos estructurales según la incorporación de DMF aumenta. Por otro lado, tenemos que la relación I_{2D}/I_G se ha mostrado sensible al efecto del dopaje (**Bokobza et al., 2015; Das et al., 2008; Rao and Voggu, 2010**), donde valores menores en nanotubos de carbono dopados están relacionados con altas concentraciones de electrones, como se observa en el cambio desde 0,97 para MW a 0,53, 0,53, 0,34 y 0,28 para N-MW-1 a N-MW-4 a medida que aumenta el contenido de DMF utilizado. Finalmente tenemos la relación I_{2D}/I_D que se ha informado ser sensible a la cristalinidad en muestras de CNT, esto es, relaciones altas indican una alta cristalinidad de los nanotubos de carbono (**Kuznetsov et al., 2014; Othman and Wilkinson, 2016**). En nuestro caso observamos como el I_{2D}/I_D disminuye desde 2,31 para MW a 0,87, 0,84, 0,55 y 0,43 para N-MW-1 a N-MW-4 a medida que aumenta el contenido de DMF, disminuyendo la cristalinidad de la muestra.

3.4.5 Caracterización química de superficies de N-MWCNT.

El primer intento de conocer la química de la superficie a través de los diferentes grupos funcionales presentes en nuestras muestras de N-MWCNT se llevó a cabo mediante el estudio FTIR como se muestra en la **Figura 3.5**. En los espectros de nuestras muestras podemos observar los modos vibratorios correspondientes de $\nu(-OH)$ a $\sim 3650\text{ cm}^{-1}$ relacionados con los grupos hidroxilo asociados con la presencia de grupos de agua/fenólicos en la estructura de nuestros CNT. Luego, a ~ 2920 y $\sim 2855\text{ cm}^{-1}$ encontramos las vibraciones $\nu(C-H)$ correspondientes a los enlaces $-CH$, $-CH_2$ y $-CH_3$. Posteriormente, a $\sim 2340\text{ cm}^{-1}$ encontramos modos vibracionales $\nu(-COOH)$ y $\nu(-CO_2)$ asociados con la presencia de grupos carboxílicos en las muestras. A ~ 1735 y $\sim 715\text{ cm}^{-1}$, los modos $\nu(-C=O)$ y $\nu(-C=C)$ se encontraron asociados con enlaces $C=O$ y $C=C$ dentro de la estructura de CNT. Finalmente, a ~ 1535 y $\sim 1380\text{ cm}^{-1}$, así como a ~ 1200 y $\sim 720\text{ cm}^{-1}$, encontramos los modos vibracionales $\nu(-NO_2)$ y $\nu(-C-N)$ respectivamente, relacionados con la presencia de dopaje con nitrógeno en nuestras muestras. En general, podemos observar como desde MW hacia N-MW-4 a medida que aumenta el contenido de DMF como precursor, aparecen señales relacionadas con grupos funcionales como $-NO_2$, $-C-N$, así como $-OH$ y $-C=O$ aparecen y aumentan. Por otro lado, otras señales como las relacionadas con $-COOH$ y $-CO_2$, $-CH$, $-CH_2$, $-CH_3$ parecen conservarse a lo largo de las muestras.

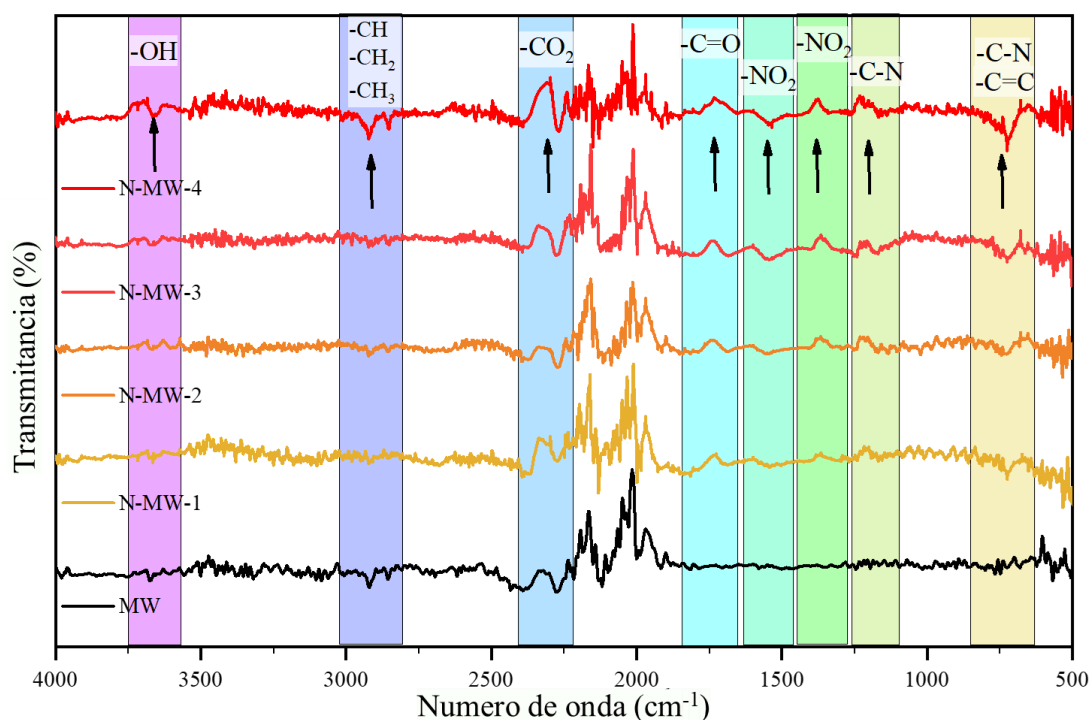


Figura 3.5 Espectros FTIR de MWCNT para las muestras MW, N-MW-1, N-MW-2, N-MW-3 y N-MW-4.

Complementando el análisis de la química de la superficie de nuestras muestras, se realizó un análisis XPS para las muestras de N-MWCNT. La **Figura S1** (véase anexos) muestra el espectro de exploración para nuestras muestras de N-MWCNT donde se observan las concentraciones de C, N y O. Por otro lado, los espectros XPS de alta resolución de C, N y O se muestran en la **Figura 3.6**. La información del análisis de deconvolución que muestra las energías de enlace, el ancho total a la mitad del máximo (FWHM) y el porcentaje relativo para cada una de las especies químicas encontradas se muestran en las **Tablas S1-S3** respectivamente. En la **Figura 3.6** (columna 1) se presenta el pico C 1s para las muestras MW y N-MW-1 a N-MW-4. El pico se desconvolucionó en 5 contribuciones; C-Fe a ~283 eV, C=C (sp²) a ~284 eV, C-C (sp³) a ~285 eV, C-O a ~284 eV y -COOH a ~288 eV. El componente principal fue el pico C=C, que disminuye su concentración de MW a N-MW-4 respectivamente, como se ve en la **Tabla S1** y la **Figura 3.7**, como resultado de la disminución de la cristalinidad como se observa en el espectro Raman. Además, la concentración de enlaces C-Fe disminuyó ligeramente hacia N-MW-4, mientras que las contribuciones de C=C (sp²), C-O y -COOH aumentaron como consecuencia de las modificaciones en la estructura gráfica con la incorporación de nitrógeno. Continuando con el caso del espectro de alta resolución de N 1s ((**Figura 3.6** (columna 2) (**Tabla S4**)), las especies asociadas con los

enlaces N-Fe a ~396 eV, N-piridínico a ~398 eV, amina/amida a ~399 eV, N-pirrólico a ~401 eV, N-cuaternario a ~402 eV y N-Ox a ~404 eV fueron encontradas. Para la muestra MW no pudimos identificar ninguno de los picos antes mencionados, mientras que para N- MW-1 no se encontró el pico N-Ox.

En general, podemos observar que de N-MW-1 a N-MW-4, las especies N-pirrólicas, N-piridínicas y amina/amida disminuyen, mientras que las especies N-cuaternarias y N-Ox aumentan (**Figura 3.7**). Esto puede deberse a la incorporación de N a la red grafitica con el aumento de DMF, generando inclusiones N-cuaternarias debido a la presencia de DMA (dimetilamina), resultado del mecanismo de descomposición térmica de la DMF en el proceso de síntesis, mientras que el N-Ox surge como resultado de la oxidación de los grupos piridínicos y pirrólicos presentes en la muestra debido a la presencia de oxígeno en forma de -CO durante el proceso de descomposición del DMF (**Radadiya, 2021**). Sin embargo, cabe señalar que las principales especies químicas encontradas fueron el N-pirrólico, seguido del nitrógeno amina/amida, el N-piridínico y el N cuaternario, como se informó anteriormente para los nanotubos sintetizados con DMF (**Mombeshora et al., 2017**).

Finalmente, el espectro O 1s se muestra en la **Figura 3.6** (columna 3) y el análisis de sus picos se encuentra en la **Tabla S5** respectivamente. El análisis de deconvolución mostró las señales de contribuciones relacionadas con las especies de Fe(OH)O a ~530 eV, O=C a ~531 eV, C-O/COO- a ~532 eV, C-O-C a ~533 eV y -COOH a ~ 534 eV. Las especies con mayor presencia fueron C-O/COO-, C-O-, así como O=C con porcentajes alrededor del 35, 33 y 18% respectivamente. Se puede observar un aumento en los enlaces Fe(OH)O desde MW a N-MW-4, como posible resultado de la mayor disponibilidad de las partículas de hierro catalítico con la disminución del rendimiento a medida que aumenta el contenido de DMF. En este mismo sentido, también se observa un aumento de los enlaces -COOH como resultado de la incorporación de oxígeno en la estructura grafitica, como se observó en el espectro C 1s mencionado anteriormente. Tras esto, también podemos observar como de MW a N-MW-4 se observa una tendencia en el cambio de composición con la reducción de los enlaces C-O-C y el aumento de los correspondientes a C-O/COO- y O=C, esto como resultado de la aumento de la disponibilidad de oxígeno presente como CO por la descomposición de la DMF durante el proceso de síntesis.

En síntesis, a partir de los espectros del estudio XPS (**Figura S1**) podemos observar que la concentración de nitrógeno fue del 0,0% para MW, mientras que fue de 0,6, 1,3, 1,4 y 2,5% para N-MW-1, N-MW-2, N-MW -3 y N-MW-4 respectivamente, lo que corrobora el aumento de la incorporación de nitrógeno a la estructura de los CNT con el aumento de DMF como precursor en el proceso de síntesis.

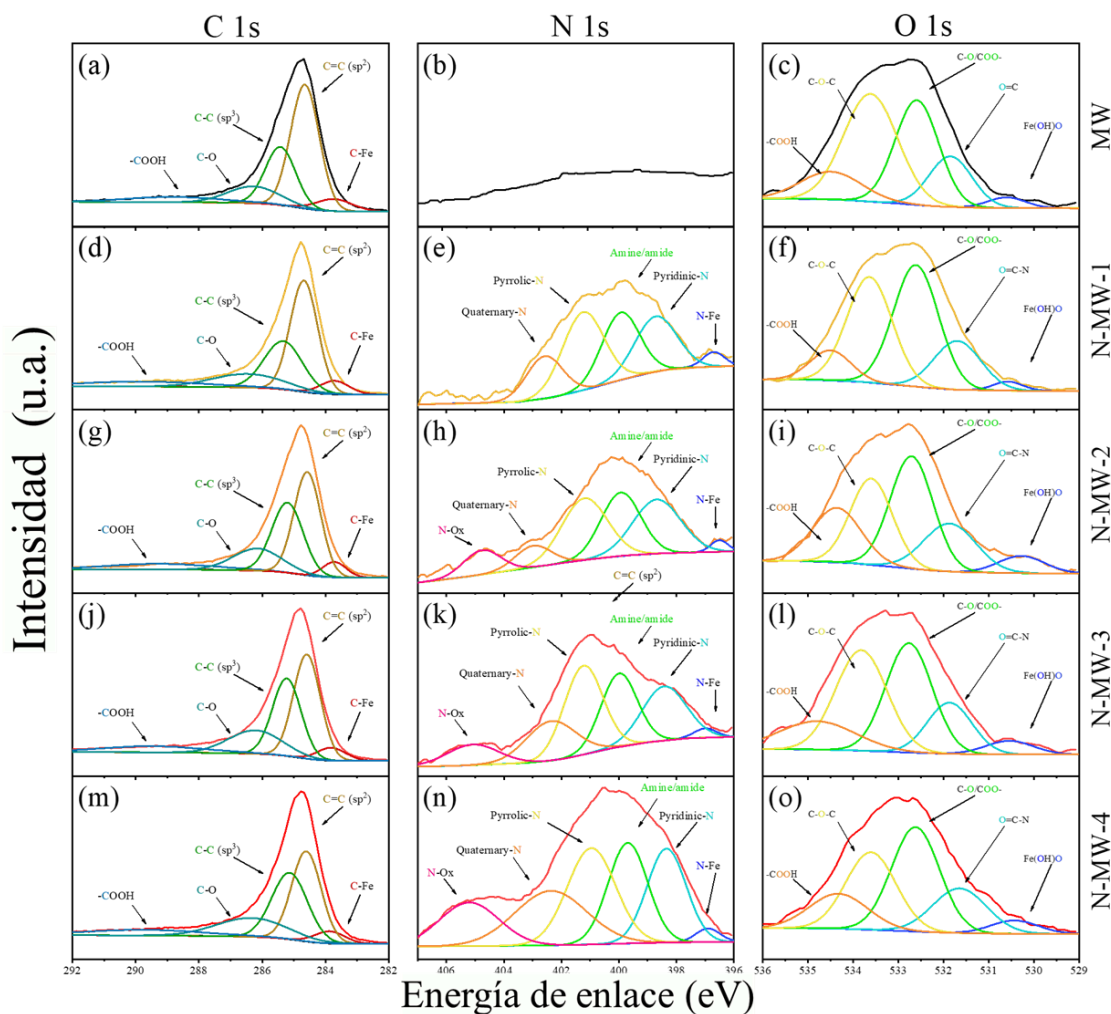


Figura 3.6 Espectros XPS de alta resolución de las muestras N-MWCNT (a-c) MWCNT, (d-f) N-MW-1, (g-i) N-MW-2, (j-l) N-MW-3, y (m-o) N-MW-4. Los espectros C1s, N1s y O1s se muestran para cada muestra.

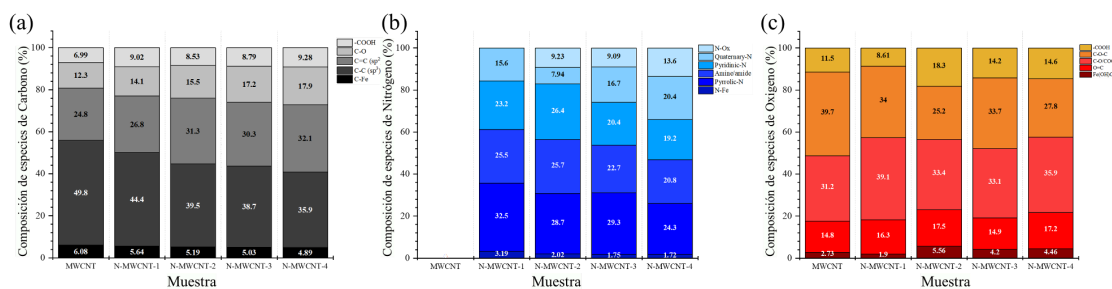


Figura 3.7 Análisis de grupos funcionales y concentraciones de especies químicas a partir de caracterizaciones XPS de muestras de MWCNT. (a) Composición química para las especies de carbono C1s, (b) composición química para las especies de nitrógeno N1s y (c) composición química para las especies de oxígeno O1s.

Para finalizar nuestra última aproximación a conocer la química superficial de nuestros N-MWNCT, se llevó a cabo mediante espectroscopia de pérdida de energía de electrones (EELS). La **Figura 3.8** muestra los espectros EELS para las muestras analizadas con un spot size menor o igual a 20 nm en la superficie interna de los nanotubos. El análisis pudo mostrarnos los bordes C-K y N-K atribuidos al contenido de carbono y nitrógeno de la red gráfica sp^2 en nanotubos de carbono. El pico más marcado y bien definido en 284-309 eV está directamente relacionado con el carbono grafítico de la muestra donde podemos observar la presencia de los rasgos π^* y σ^* . El rasgo π^* ubicado en aproximadamente ~ 285 eV está asociada con las excitaciones de los electrones del nivel central 1s a estados π^* antienlazantes para átomos de carbono con hibridación sp^2 , mientras que el rasgo σ^* ubicada en aproximadamente ~ 292 eV proviene de las transiciones en los electrones de nivel central 1s a estados σ^* antienlazantes desocupados (**Feng et al., 2019**).

Mientras que el pico estrecho encontrado de 399-416 eV es el resultado de inclusiones de N en la red gráfica. Asimismo, podemos observar un pequeño hombro cerca del borde que representa el rasgo de transición π^* y el rasgo σ^* bien desarrollado con un doble pico claro. Se ha informado que esta estructura fina cerca del borde es el resultado de la hibridación sp^2 (**Han et al., 2000**). Por otro lado, una división en el pico del rasgo π^* del borde N-K exhibe 2 características a ~ 399 y ~ 400 eV respectivamente (**Figura 3.8(a)** (recuadro)), lo que sugiere diferentes enlaces entre N y C dentro de la estructura hexagonal como fue verificada por nuestro análisis XPS (**Terrones et al., 2002**).

Finalmente, a partir de los espectros EELS, se estimó el contenido de N dentro de los N-MWCNT donde encontramos que el contenido de nitrógeno fue 3.02, 6.52, 8.13 y 12.30% para N-MW-1 a N-MW-4 respectivamente, conforme el contenido de DMF aumentó (**Tabla S4**). Mientras que para MW no fue posible encontrar ningún rastro de nitrógeno.

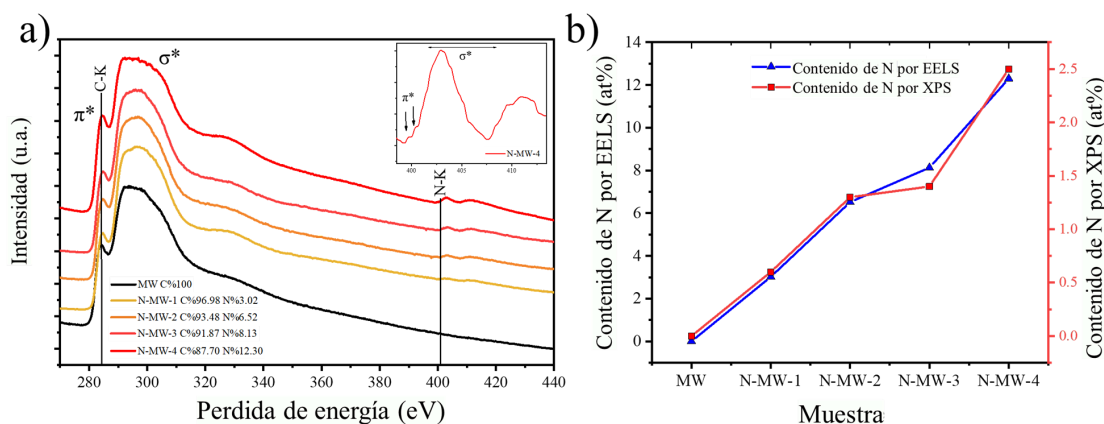


Figura 3.8. (a) Espectros EELS adquiridos en la región de 270-440 eV de N-MWCNT sintetizados utilizando mezclas de tolueno/DMF-ferroceno. El recuadro muestra una ampliación del borde N-K donde una división para la característica π^* del borde cercano fue causada por diferentes tipos de enlaces de N. (b) Muestras de N-MWCNT contra contenido de N calculado por EELS (en%) y por XPS (en%).

Aunque las concentraciones de nitrógeno obtenidas por XPS no fueron comparables a las obtenidas por EELS, podemos observar que el aumento de las concentraciones sigue un patrón similar para ambos casos al compararlos (**Figura 3.8 (b)**), sin embargo, debe quedar claro que las mediciones de los espectros EELS son mediciones individuales y es posible que no representen las muestras completas con tanta precisión como lo hacen los análisis XPS. En este mismo sentido, cabe señalar que todos los espectros EELS se obtuvieron para los nanotubos predominantemente (60-70%) presentes en cada muestra cuya morfología predominante (excepto para la muestra MW) fuese del tipo bambú que generalmente se asocia con el dopaje con nitrógeno.

3.4.6 Caracterización electroquímica de N-MWCNT.

El primer intento de comprender el comportamiento electroquímico de nuestros N-MWCNT se realizó mediante voltamperometría cíclica donde el potencial de vértice se varió de -0,5 a 0,8 V para analizar los procesos redox de los electrodos de N-MWCNT (**Figura 3.9**).

Para la muestra de MW a 100 mV/s (**Figura 3.9(a)**), se pudieron identificar reacciones reversibles redox relacionadas con la transferencia de carga superficial como resultado de los grupos funcionales (OC) que contienen oxígeno (carboxílicos, carbonilos, etc.) en la estructura de los CNT, etiquetados como la onda redox A1/C1 aproximadamente a -0,7 V, mientras que una segunda onda redox A2/C2 también fue visible de 0,0 a 0,4 V atribuida a la presencia de oxidación-reducción de restos de partículas catalíticas de hierro, por lo que su intensidad es limitada. Posteriormente, para N-MW-1 (**Figura 3.9(b)**) solo es posible observar un único par redox A1/C1 de -1,0 a 0,2 V que se asocia con la presencia de protonación/desprotonación reversible del nitrógeno pirrólico y del nitrógeno piridínico (**Korusenko et al., 2021**). El par redox relacionado con la presencia del catalizador se ve eclipsado por la influencia del dopaje con nitrógeno. Posteriormente, para N-MW-2 (**Figura 3.9(c)**) observamos que la onda redox asociada con el dopaje con nitrógeno observada anteriormente aumenta su intensidad, posiblemente como resultado del aumento del dopaje con nitrógeno. Por otro lado, también se muestran algunos vestigios del par redox asociado a grupos OC.

Para la muestra N-MW-3 (**Figura 3.9(d)**), se observa una disminución en la resistencia eléctrica junto con la disminución del par redox A1/C1 asociado a la presencia de dopaje, esto como resultado del cambio en la estructura electrónica estructural debido a la alta presencia de electrones provenientes del dopaje con nitrógeno, lo que le permite actuar como un semiconductor tipo n. Finalmente, para la muestra N-MW-4 (**Figura 3.9(e)**) podemos observar una reducción general en la resistencia a la corriente eléctrica como resultado del aumento en la conductividad del material, donde no se observan pares redox claramente visibles. En general, podemos observar que después de MW, las muestras N-MW-1 a N-MW-4 comienzan a disminuir su resistencia eléctrica con el aumento del dopaje, lo que se traduce en la pérdida de pares redox, similar al comportamiento de una estructura tipo metálicas de nanotubos de carbono (**Wang et al., 2021**), donde el dopaje con nitrógeno facilita la transferencia de electrones en la superficie del material como un semiconductor tipo n.

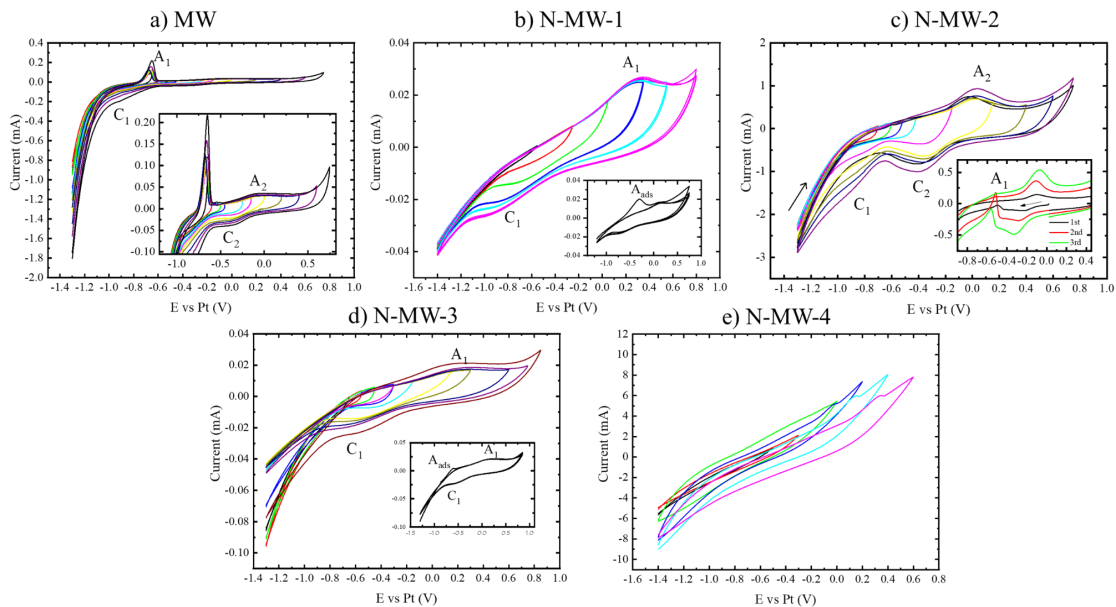


Figura 3.9 Análisis de voltametría cíclica de electrodos de MWCNT en solución acuosa de H_2SO_4 0,7 M a 100 mVs^{-1} variando el potencial de vértice anódico (a) MWCNT; El recuadro muestra los detalles del VC en la región de la segunda onda redox A2/C2; (b) N-MW-1. El recuadro presenta un VC de tres ciclos a 100 mVs^{-1} donde un pico de adsorción en el primer barrido potencial se indica como A_{ads} , (c) N-MW-2. El recuadro muestra la onda anódica A1 que aparece cuando se barre desde OCP hacia corriente anódica a 100 mVs^{-1} , (d) N-MW-3. El recuadro presenta una VC de tres ciclos a 100 mVs^{-1} donde un pico de adsorción en el primer barrido potencial se indica como A_{ads} . e) N-MW-4.

Posteriormente, para los gráficos de Mott-Schottky (**Figura 3.10**), se determinó el tipo de semiconductor, es decir, tipo n para pendiente positiva y tipo p para pendiente negativa. Las gráficas de los nanotubos sintetizados mostraron estar muy escalonadas producto de haber sido realizadas a la frecuencia del máximo cambio de fase observado

en los diagramas de Bode para dilucidar el comportamiento capacitivo de la muestra, exhibiendo la presencia de los portadores de mayor tamaño (huecos o electrones). Los nanotubos de la muestra MW mostraron una pendiente negativa característica de un material tipo p, mientras que los nanotubos de las muestras N-MW-1 a N-MW-4 donde se usó DMF como precursor de nitrógeno para el dopaje de las muestras mostraron una pendiente diferente y positiva que indica el comportamiento de conducción de un portador de tipo n. Por otro lado, las muestras N-MW-3 y N-MW-4 mostraron las pendientes más pequeñas y por tanto la mayor densidad de portadores. Este comportamiento puede estar asociado al aumento de la concentración de dopaje con nitrógeno en la estructura. La presencia de los cinco electrones de valencia en el nitrógeno junto con la sustitución de átomos de nitrógeno ricos en electrones en la red grafitica puede contribuir a un comportamiento donador de electrones para la banda de conducción de los materiales, lo que resulta en un aumento de la densidad de portadores con el aumento de DMF como precursor (**Kunadian et al., 2009**).

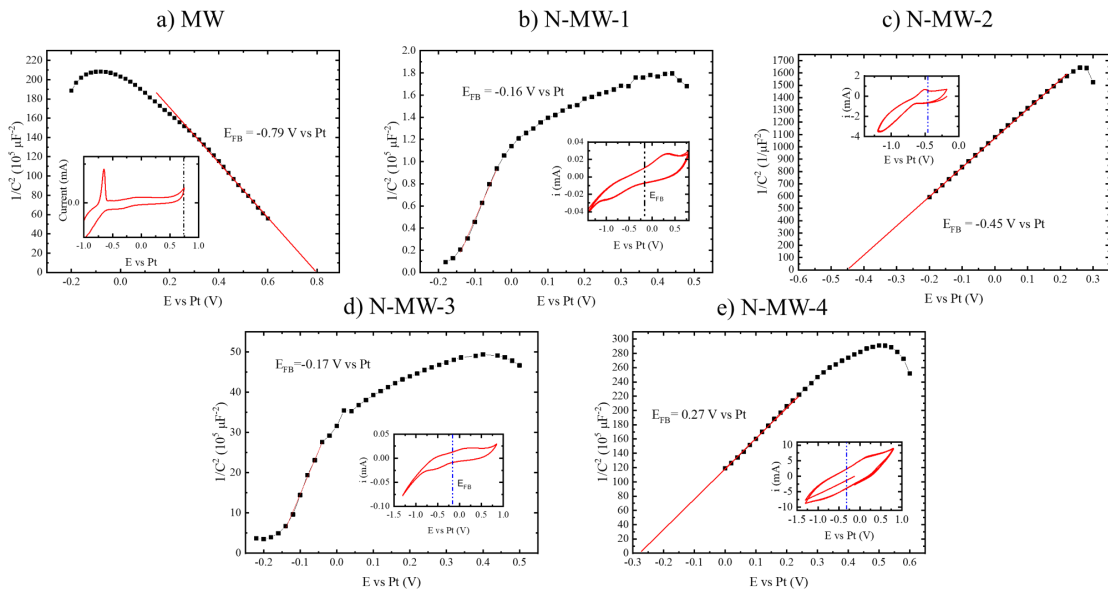


Figura 3.10 Gráficos de Mott-Schottky de muestras de N-MWCNT. (a) MW a 18 Hz. El recuadro presenta el VC correspondiente y el valor E_{FB} calculado a partir del gráfico, como una línea vertical. (b) N-MW-1 a 0,03 Hz. El recuadro presenta el VC correspondiente y el valor E_{FB} calculado a partir del gráfico, como una línea vertical. (c) N-MW-2 a 500 Hz. Los recuadros presentan los CV de S4 y los valores de E_{FB} determinados a partir de las intersecciones $1/C_2 = 0$ como líneas verticales. (d) N-MW-3 a 0,2 Hz. El recuadro presenta el VC correspondiente y el valor E_{FB} calculado a partir del gráfico, como una línea vertical. (e) N-MW-3 a 150 Hz. El recuadro presenta el VC correspondiente y el valor E_{FB} calculado a partir del gráfico, como una línea vertical.

Finalmente, también se midió la resistencia eléctrica para las muestras donde se obtuvieron 5,708, 2,581, 1,921, 1,800 y 1,800 ohmios para las muestras MW, N-MW-1, N-MW-2, N-MW-3 y N-MW. -4 respectivamente, lo que indica una reducción

significativa en la resistencia eléctrica cuando se utilizó DMF como agente precursor del dopaje con nitrógeno, permitiendo un flujo de electrones en la estructura de los N-MWCNT, lo que le confiere un comportamiento conductor con el aumento del dopaje.

3.4.7 Análisis de la actividad antimicrobiana de MWCNT sobre hongos oportunistas

En investigaciones previas se observó que los compositos de agar con café promovieron el crecimiento de hongos oportunidad, por lo cual empleamos este medio como base de nutrientes para nuestros ensayos antimicrobianos en función de la muestra de MWCNT utilizada. Se evaluaron cinco tratamientos diferentes y un grupo control para verificar el proceso de esterilidad del agar. Los tratamientos (a excepción del grupo control) fueron expuestos al ambiente durante 1 hora y se evaluó su crecimiento posterior a lo largo de 1 semana . Tras esto las muestras fueron etiquetadas como: Agar-Café, Agar-MW, Agar-MW-CS, Agar-N-MW y Agar-MW-BIF para cada uno de los tratamientos realizados.

En el caso del grupo control se observó que la esterilidad de los compositos se mantuvo a lo largo del todo experimento, descartando así la posible contaminación de las muestras (**Figura 3.11**).

En cuanto a los diferentes tratamientos expuestos se observó que el crecimiento de microorganismos fue similar entre el Agar-café y el agar con las muestras MW-BIF y MW-CS. Este comportamiento se asocia a la naturaleza de MWCNT usados, cuyas características morfológicas en particular diámetros más grandes así como una poca homogeneidad/pureza limitan las interacciones con los microorganismos (**Tabla 3.4**). Los datos de inactivación microbiana dependientes de cada tipo de tratamiento se observan en la **Tabla 3.4** y **Figura 3.13**.

Con respecto a las muestras Agar-MW y Agar-N-MW, la reducción del crecimiento de microorganismos fue de hasta un 69%, siendo esta mayor para la muestra Agar-N-MW. Este comportamiento se asocia a que las muestras Agar-MW y Agar-N-MW utilizaron nanotubos cuyos diámetros son menores comparados con las de las demás muestras, así como una pureza y homogeneidad mayor. Además, en el caso de Agar-N-MW la presencia de nitrógeno en la estructura es una característica adicional que modifica su actividad antimicrobiana mediante la incorporación de especies químicas derivadas que modifican el entorno químico limitando el crecimiento de microorganismos (**Lopez-Diaz et al., 2023**). Los organismos presentes en los diferentes tratamientos se pueden observar en la **Figura 3.12**.

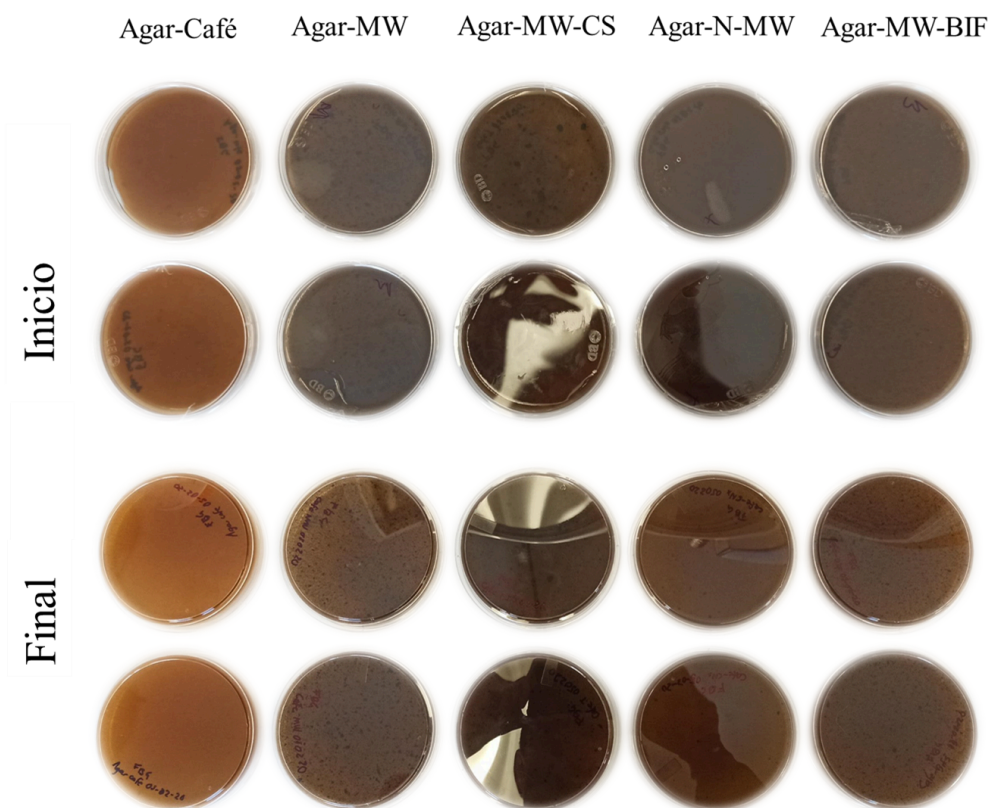


Figura 3.11 Placas de Petri correspondientes al Grupo Control al inicio y final de las condiciones experimentales. La esterilidad de las cajas se mantuvo durante el experimento.

Tabla 3.4 Datos de inactivación microbiana dependiendo del tipo de MWCNT.

Muestra	Tratamiento		Población celular	% inactivación	DST
	Diametro MWCNTs	Pureza de la muestra			
MW	±78.33 nm	≥95%	1.667E+04	61.538	16.49572
N-MW	±65.8 nm	≥95%	1.333E+04	69.230	21.82179
MW-CS	±200-300 nm	≥95%	3.333E+04	23.076	16.49572
MW-BIF	±80 nm	≥65%	4.333E+04	0	8.24786

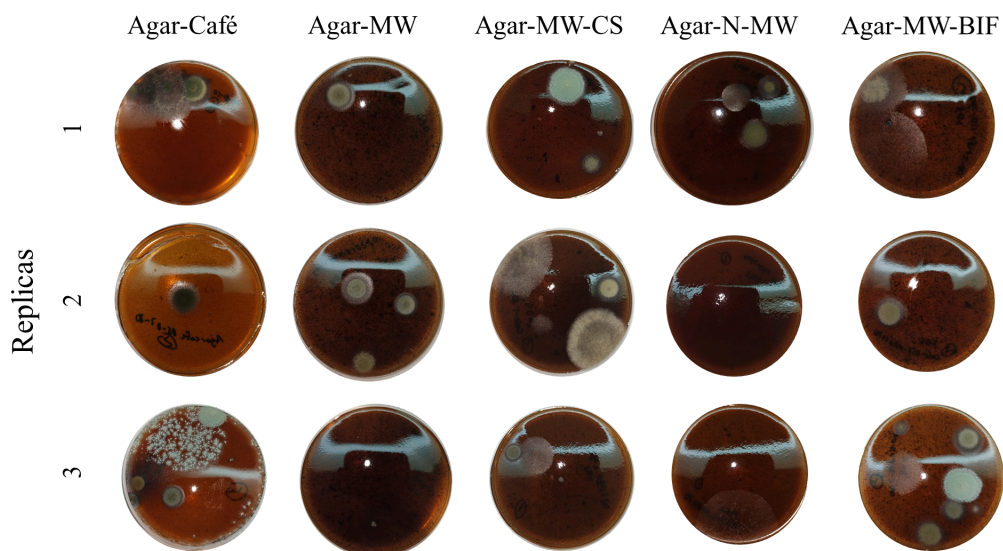


Figura 3.12 Imágenes representativas de la caja de Petri que muestran los diferentes organismos cultivados en los 5 tratamientos con y sin MWCNTs. Es posible observar una notable inhibición del crecimiento en los tratamientos Agar-MW y Agar-N-MW..

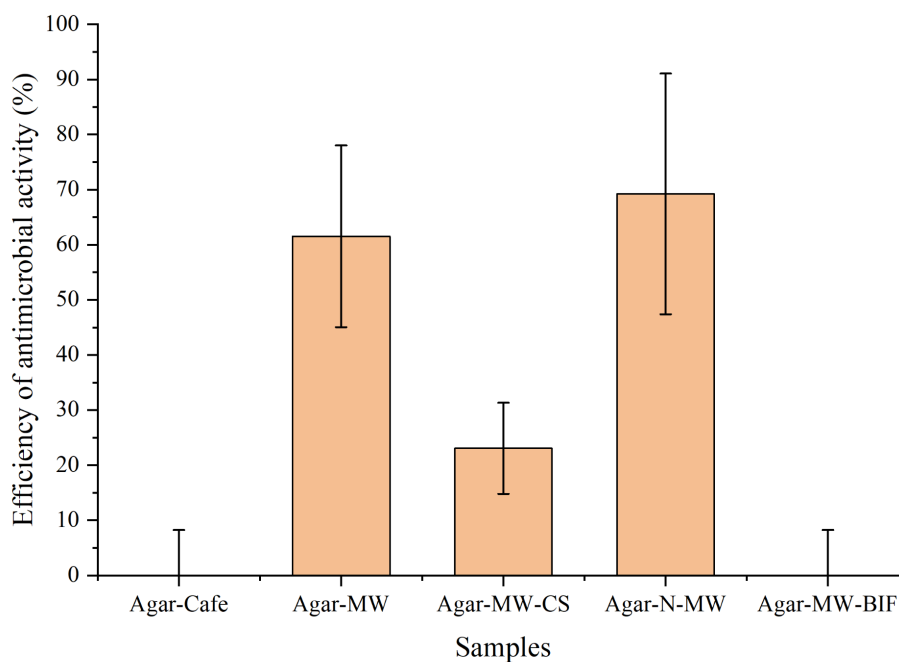


Figura 3.13 Efecto del tipo de MWCNT sobre la inactivación microbiana de hongos oportunistas.

En general las eficiencias de inhibición de microorganismos fueron mayor para las muestras Agar-N-MW, Agar-MW, Agar-MW-CS y Agar-MW-BIF con 69.23, 61.53, 23.07 y 0% respectivamente.

Por otro lado, los organismos cultivados a partir de los diferentes tratamientos se aislaron en cajas de Petri individuales en medio PDA. Las morfologías encontradas

están asociadas con hongos de los géneros *Aspergillus*, *Fusarium*, *Rhizopus* y *Candida*, así como del filo Actinobacteria (véase **Figura 3.14**). El número total de microorganismos diferentes encontrados fue 21, de un total de 43 organismos aislados originalmente. Sin embargo, aún es necesario clasificar molecularmente los organismos encontrados, así como indagar sobre los mecanismos de actividad antimicrobiana de estos compuestos a través de las pruebas correspondientes.

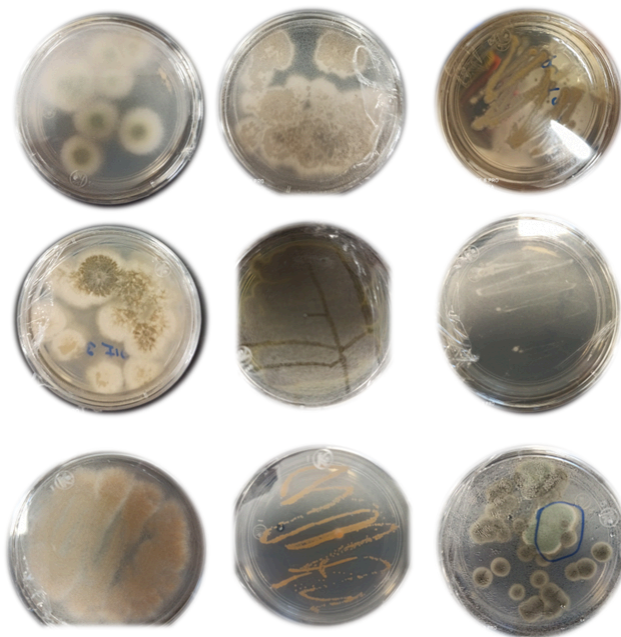


Figura 3.14 Cepas aisladas resultado del análisis de actividad antimicrobiana.

Los resultados de este pequeño estudio muestran cómo se mencionó a lo largo del capítulo, la importancia de la morfología, así como la incorporación de grupos funcionales, es capaz de ejercer un efecto antimicrobiano al inhibir el crecimiento de microorganismos oportunistas. Esto como resultado de características como la morfología, el diámetro y la disposición de los nanotubos, así como de la presencia de grupos -NH presentes en las muestras de N-MWCNTs.

3.4 Conclusiones

Se presentó un estudio sobre el efecto de la incorporación de nitrógeno en la síntesis de N-MWCNT y su efecto sobre las características fisicoquímicas de este material mediante un método simple de deposición química de vapor utilizando mezclas de DMF-Tolueno/Ferroceno. La morfología, el diámetro, así como las propiedades físico químicas y electroquímicas de nuestros materiales variaron con el aumento del DMF como precursor en la síntesis de nuestros materiales. El rendimiento del % de C varió del 271,3 % para la muestra sintetizada a partir de tolueno/ferroceno puro, mientras que cayó al -32,6 % cuando el contenido de DMF aumentó al 50 %. En cuanto a las morfologías, se observa que el aumento de DMF provocó la presencia y

abundancia de estructuras tipo bambú con diámetros más cortos, disminuyendo de 78 a 55 nm en promedio. Las caracterizaciones FTIR, XPS y EELS mostraron varios modos vibratorios para el dopaje con nitrógeno en nanotubos de carbono, con presencia de N-pirrólico, N-piridínico, N-cuaternario y N-Ox, con predominio de especies de N-pirrólico. Para la caracterización electroquímica, los resultados mostraron la presencia de corrientes anódicas y catódicas resultantes de la presencia de funcionalización de oxígeno con actividad electroquímica en la superficie de los N-MWCNT. El comportamiento redox se atribuyó principalmente a los grupos carboxilo, así como a los grupos piridínicos y pirrólicos, sin embargo también se pudo observar que la resistencia disminuyó con el aumento del dopaje, provocando una mayor conductividad similar al comportamiento de los nanotubos de carbono metálicos. El análisis de espectroscopía de impedancia electroquímica también mostró el cambio de semiconductor tipo p para la muestra sin DMF, a tipo n, para las muestras dopadas con nitrógeno como resultado de los electrones libres presentes en la estructura de carbono. Se puede concluir que los nanotubos obtenidos en este estudio pueden ser utilizados para aplicaciones electroquímicas relacionadas con semiconductores y transistores debido a la disminución de la resistencia eléctrica y por tanto a la mayor conductividad presente.

En cuanto al efecto antimicrobiano de los MWCNT, se observó estar relacionado a la estructura de las muestras que interaccionan y se hipotetiza el efecto como resultado de la presencia de nitrógeno en la estructura de los MWCNT cambiando las condiciones ambientales limitando el crecimiento de microorganismos por la presencia de diferentes especies químicas de nitrógeno reactivas como los grupos pirrólicos, piridínicos, cuaternarios y NOx principalmente. No obstante, existe la necesidad de realizar más estudios que evalúen la eficacia de los tratamientos antimicrobianos a partir de CNT, así como evaluar la toxicología de estos materiales con células animales para sopesar el riesgo-beneficio del uso de estos materiales.

Capítulo 4: Actividad antimicrobiana de nanoestructuras de agua diseñadas

4.1 Resumen

Estudios recientes muestran que los nanomateriales poseen una potente actividad antimicrobiana contra diversos patógenos, desde bacterias hasta hongos e incluso protozoos. El aumento actual de patógenos resistentes a los medicamentos, causantes de muchas infecciones, motiva la investigación en la ruta de los nanomateriales para atacar los microorganismos resistentes a los medicamentos. La interacción molecular entre estos nanomateriales y los microbios podría proporcionar respuestas para dilucidar los mecanismos de acción implicados como agentes antimicrobianos. Así pues en este capítulo se analizan los avances en el estado del arte de la actividad antimicrobiana de Nanoestructuras de agua diseñadas en función de sus características fisicoquímicas.

4.2 Introducción

Gracias a la tecnología de electro-nanospray tenemos las llamadas nanoestructuras de agua diseñadas (EWNS). En general, varios estudios han demostrado la actividad antimicrobiana de EWNS contra una gran diversidad de bacterias (Pyrgiotakis et al., 2014a; Vaze and Demokritou, 2022) y virus (Vaze et al., 2022). Sin embargo, también se ha informado que el uso de EWNS ha demostrado otras aplicaciones diversas, desde seguridad alimentaria (Huang et al., 2021), así como diversas aplicaciones en la industria textil como método multifuncional para acabado de materiales (Zhu et al., 2020b), para la eliminación de polvo (Unger et al., 2003), así como olores (Zhu et al., 2019), así como para mejorar las propiedades anti-pilling de telas de algodón (Zhu et al., 2020a).

Gran parte de los estudios realizados han demostrado que los principales mecanismos por los que las EWNS provocan daño celular y por tanto la muerte de los microorganismos patógenos están asociados principalmente a el tamaño nanométrico de las EWNS, su carga, así como a la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). El tamaño de las EWNS generadas depende del pH, la conductividad eléctrica del líquido, el flujo del líquido, el voltaje aplicado, la distancia entre la punta de la aguja y el contraelectrodo y el diámetro del aguja (Almería et al., 2010; Bolo, 2023; Meng et al., 2009; Si et al., 2021a).

Sin embargo, estos estudios también muestran que el daño producido en los diferentes microorganismos puede estar relacionado con la química de la solución mediante el uso de moléculas con actividad antimicrobiana como peróxido de hidrógeno, ácido cítrico, lisozima, etc. (Vaze et al., 2022; Vaze and Demokritou,

2022), al pH de la solución (Si et al., 2021a; Yang et al., 2022), el tiempo de exposición (Vaze and Demokritou, 2022; Yang et al., 2022), así como las superficies utilizadas (Bolo, 2023; Vaze et al., 2018; Vaze and Demokritou, 2022). Además, con el aumento de las aplicaciones de las EWNS surge la necesidad de detallar y entender cómo las características de este tipo de nanoestructuras afectan el comportamiento con los diferentes tipos de microorganismos patógenos y superficies de interés biotecnológico.

En este capítulo nos centraremos en las propiedades fisicoquímicas de los CNTs y EWNS que se han reportado capaces de causar actividad antimicrobiana, los mecanismos de la actividad antimicrobiana, así como las posibles aplicaciones y perspectivas sobre este tipo de nanomateriales.

4.3 Nanoestructuras de agua diseñadas

Recientemente, gracias al uso de tecnologías respetuosas con el medio ambiente como el electro-nanosprayer, se ha realizado la síntesis de Nanoestructuras de agua diseñadas (EWNS) para mitigar el polvo e inactivar microorganismos. Esta tecnología utiliza el proceso combinado de “electrospraying” e ionización para producir nanogotas de agua con una alta carga eléctrica (Figura 4.1). El tamaño de las Nanoestructuras de Agua Diseñadas (EWNS) generadas depende del pH, la conductividad eléctrica del líquido, el caudal del líquido, el voltaje aplicado, la distancia entre la punta de la aguja y el contraelectrodo y el diámetro de la aguja (Almería et al., 2010; Bolo, 2023; Khan et al., 2017; Meng et al., 2009; Si et al., 2021a; Zheng et al., 2019).

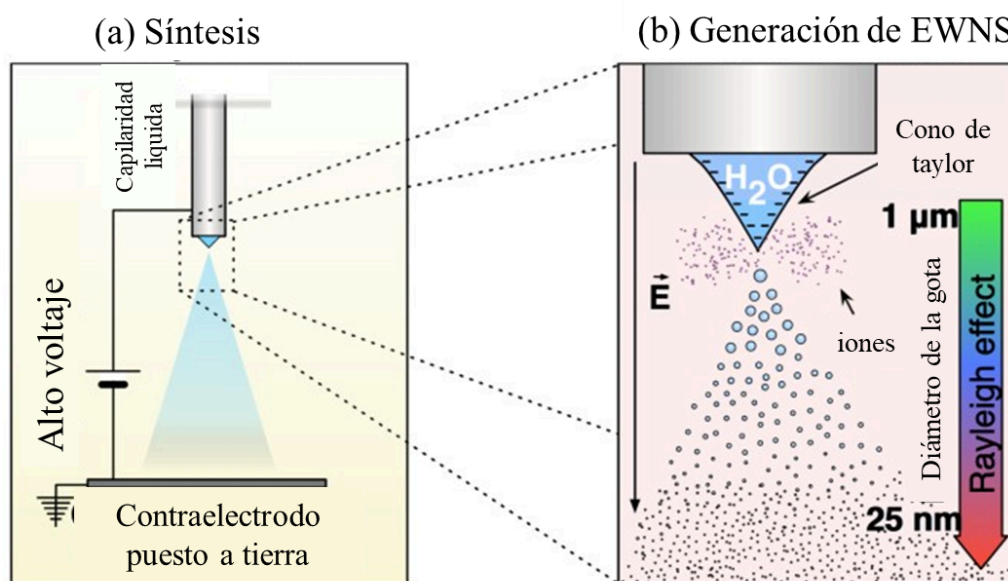


Figura 4.1 Esquema sobre la síntesis de EWNS. (a) El electrospraying ocurre cuando se aplica un alto voltaje entre un capilar que contiene el líquido y el contraelectrodo. (b) La aplicación de alto voltaje da como resultado dos fenómenos distintos: (i) la

electropulverización del agua y (ii) la generación de especies reactivas de oxígeno (iones) que quedan atrapadas en el EWNS. (modificado de (Pyrgiotakis et al., 2016)).

4.3.1 Propiedades de EWNS

Las EWNS se generan aplicando un alto voltaje entre un capilar metálico y un electrodo puesto a tierra. Durante este proceso, el fuerte campo eléctrico entre los dos electrodos hace que se acumulen cargas negativas en la superficie del agua, formando un cono de Taylor (proceso de electrospray) (Figura 4.1). Esto da como resultado la generación de partículas de agua altamente cargadas que, al dividirse en partículas más pequeñas, dan lugar a las EWNS. Al mismo tiempo, el alto campo eléctrico hace que algunas moléculas de agua se dividan y pierdan electrones (ionización), generando una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS, por sus siglas en inglés) que quedan encapsuladas dentro de las EWNS.

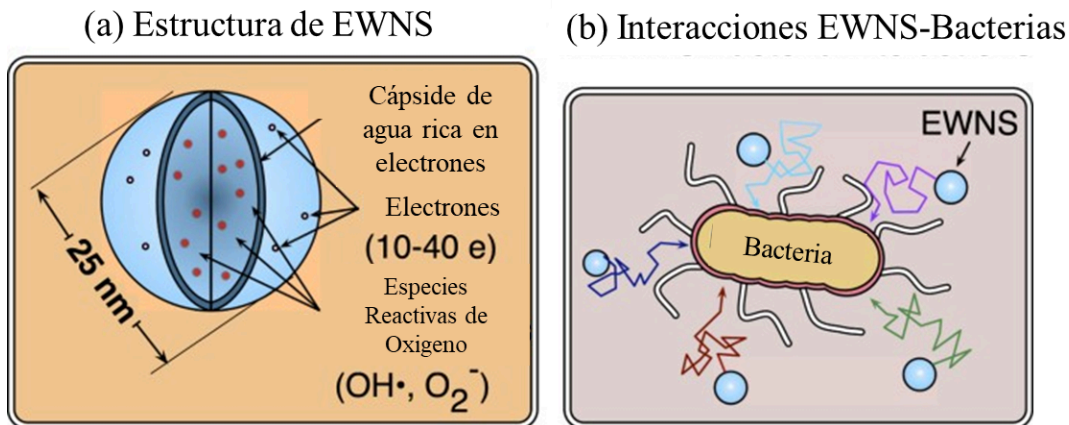


Figura 4.2 Esquema sobre la estructura de EWNS. (a) La estructura única del EWNS. (b) Los EWNS, debido a su naturaleza a nanoescala, son muy móviles y pueden interactuar con patógenos transmitidos por el aire. (modificado de (Pyrgiotakis et al., 2016)).

Anteriormente se demostró que los EWNS poseen un conjunto único de propiedades físicas y biológicas. Los EWNS tienen un promedio de 10 electrones por estructura y un tamaño nanoescalar promedio de 25 nm (Figura 4.2 (a)). Además, la resonancia de espín electrónico (ESR, por sus siglas en inglés) mostró que los EWNS contienen una gran cantidad de ROS, principalmente radicales hidroxilo ($\text{OH}\cdot$) y superóxido ($\text{O}_2\cdot^-$). (Pyrgiotakis et al., 2014a, 2014b, 2012)

Las EWNS son capaces de permanecer en el aire durante mucho tiempo, potencialmente chocando con microorganismos suspendidos en el aire y superficies, entregando su carga útil de ROS y provocando la inactivación microbiana (Figura 4.2(b)).

En resumen, los EWNS tienen un tamaño ajustable en el rango de nanoescala y contienen ROS como radicales OH^\cdot , $\text{O}^{2\cdot}$ y H_2O_2 provenientes de la ionización de moléculas de agua (Pyrgiotakis et al., 2016). Las partículas de EWNS también están cargadas eléctricamente. La carga eléctrica aumenta la energía superficial y minimiza su evaporación, dejándolos en el aire durante horas en condiciones ambientales (Pyrgiotakis et al., 2014b, 2012; Vaze et al., 2019b).

4.3.2 Aplicaciones de EWNS

Debido a las ROS encapsuladas, las EWNS pueden tener varias aplicaciones. Por un lado las ROS, como los radicales OH^\cdot , $\text{O}^{2\cdot}$ y H_2O_2 , causan estrés oxidativo, dañando las membranas celulares y las lipoproteínas a través de la peroxidación lipídica, lo que resulta en una inactivación microbiana (Pyrgiotakis et al., 2014a, 2012; Vaze et al., 2019a).

No obstante, se sabe que las EWNS no solo inactivan microorganismos (Pyrgiotakis et al., 2012), sino también eliminan el polvo (Unger et al., 2003) y los olores gaseosos (Zhu et al., 2019). Estas nanogotas son muy móviles y pueden permanecer suspendidas en el aire durante horas chocando con partículas en el aire (Pyrgiotakis et al., 2014a). El electro-nanospray elimina eficazmente el polvo del aire mediante interacciones electrostáticas. El polvo y las gotas de agua con cargas opuestas se atraen entre sí y se depositan en las superficies mediante la fuerza gravitacional (Jaworek and Sobczyk, 2008; Krupa et al., 2016).

Entre los diversos estudios se ha demostrado el potencial del EWNS para interactuar e inactivar una gran variedad de bacterias gramnegativas y grampositivas de importancia para la salud pública, incluidas las micobacterias, en superficies y en el aire (Pyrgiotakis et al., 2014a).

Recientemente, también se demostró el uso de EWNS para inactivar microorganismos relacionados con los alimentos en la superficie de los productos frescos. Las EWNS también se han destacado para inactivar eficazmente bacterias y virus en superficies y en el aire, como *Escherichia coli* (*E. coli*), *Listeria innocua* (*L. innocua*), influenza H1N1/PR/8 y el bacteriófago MS2 (Huang et al., 2019; Vaze et al., 2019b, 2019a).

Más recientemente, los autores han incorporado con éxito dentro de las EWNS ingredientes activos antimicrobianos (IA) de origen natural, como nisina, lisozima, ácido cítrico, peróxido de hidrógeno, así como otros productos químicos que se utilizan en los tradicionales enfoques húmedos (aplicación a granel), como amonio cuaternario, cloruro de benzalquilo, e hipoclorito de sodio (Huang et al., 2019).

Más importante aún, debido a la forma de administración específica del EWNS, dichos efectos antimicrobianos se logran mediante el uso de niveles de picogramos a nanogramos de IA de origen natural y especies reactivas de oxígeno (ROS) generadas a partir de la ionización del agua (Pyrgiotakis et al., 2016; Vaze et al., 2019b).

Aunque estos resultados de inactivación son prometedores para aplicaciones en biomedicina aún es evidente que hacen falta más estudios para entender las dinámicas de integración de este tipo de nanoestructuras con los sistemas biológicos.

4.4 Actividad antimicrobiana de EWNS dependiente de sus características fisicoquímicas

Las diferentes propiedades fisicoquímicas son cruciales para la actividad antimicrobiana de los nanomateriales. Las Nanoestructuras de agua diseñadas se prestan como un modelo para explicar la importancia de las propiedades fisicoquímicas en su actividad antibacteriana. En los últimos años se han estudiado actividad antimicrobiana de las EWNS en relación con las propiedades del sistema de EWNS tales como: voltaje, flujo de agua, conductividad, pH, ingredientes activos, tiempo de exposición, tipo de superficie, entre otras. A continuación se describen los efectos más importantes relacionados con la actividad antimicrobiana para cada una de las propiedades de un sistema de EWNS.

4.4.1 Voltaje: polaridad y magnitud

Una de las principales propiedades que afectan los mecanismos de actividad antimicrobiana de las EWNS está relacionada con la polaridad y la magnitud del voltaje del sistema de electro-nanospray. En particular, con respecto al voltaje, que magnitudes mayores presentan una mayor actividad antimicrobiana, mientras que en torno a la polaridad se ha observado que la polaridad negativa tiene una mayor actividad antimicrobiana debido a una mayor número de electrones.

Si et al (Si et al., 2021a) analizaron el efecto de la magnitud y la polaridad del voltaje, observando que altos voltajes llevaron a la generación de más ROS. Se ha observado que la densidad electrónica incrementa de forma lineal con el incremento del voltaje aplicado lo que resulta en una mayor formación de ROS como hidroxilos (Ji et al., 2019).

En tanto a la polaridad del voltaje, Si et al (Si et al., 2021a) también observaron que voltajes negativos tenían una mayor inactivación microbiana comparado con voltajes de igual magnitud en polaridad positiva. Este incremento en la inactivación bacteriana dependiente de la carga negativa puede ser atribuida a la mayor presencia de ROS facilitada por una mayor movilidad de partículas cargadas negativamente (electrones) (Figura 4.3(a)) (Nani et al., 2018).

4.4.2 Tasa de flujo

Se ha observado que el control de la tasa de flujo del líquido permite alterar el tipo de cono del electro-spray, el tamaño de las EWNS y por tanto la actividad antimicrobiana.

Por ejemplo, Si et al (Si et al., 2021a) evaluaron la tasa de flujo del líquido sobre el efecto antimicrobiano de EWNS, ellos observaron que una tasa de 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ tenía una mayor eficiencia que tasas mayores (2 y 4 $\mu\text{l}/\text{min}$) sobre la inactivación de *E. coli*. Se ha observado que en la ionización de electro-spray como en espectrometría de masas, un menor flujo de líquido es mejor debido a que generan gotas cargadas más pequeñas durante el proceso de spraying, reduciendo así los eventos de fisión y por tanto de evaporación (Schmidt et al., 2003).

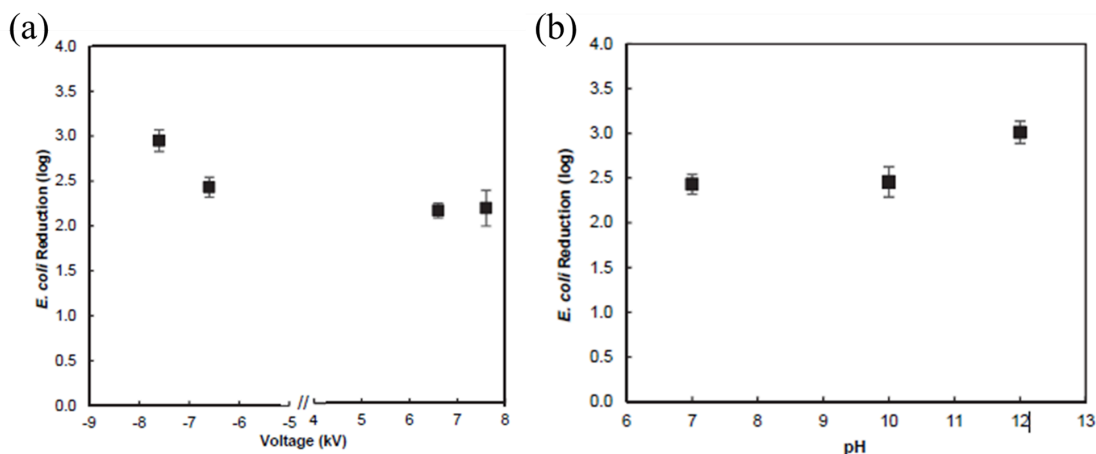


Figura 4.3 (a) Efecto del voltaje (nivel y polaridad), y (b) Efecto del pH sobre la inactivación microbiana de *E. coli* bajo las siguientes condiciones operativas: flujo de líquido= 2 $\mu\text{L}/\text{min}$, distancia del contra electrodo a la punta de la aguja= 3cm, conductividad líquida = 0.2 mS/cm y a 25 min de tiempo de exposición. (modificado de (Si et al., 2021a)).

4.4.3 Conductividad eléctrica

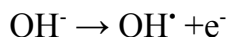
La conductividad eléctrica del agua se considera una de las propiedades más importantes que afecta la estabilidad de los electro-sprayers así como el tamaño de las gotas. La conductividad al ser la capacidad del agua para conducir la corriente eléctrica,

está ligada a la presencia de sales/iones (sodio, magnesio, calcio, etc) en solución y por tanto relativo a la disponibilidad de cargas eléctricas reactivas (**Sadri et al., 2012**).

Si et al (**Si et al., 2021a**) evaluaron el efecto de la conductividad eléctrica del líquido sobre la inactivación de *E. coli*, ellos observaron que altas conductividades (14.72 mS) de la agua salina tenía un mayor efecto de reducción (2.60 log), mientras que este fue menor para las muestras de agua RO y agua Milli-Q de menor conductividad. Se ha encontrado que la corriente de electrospaying incrementa proporcionalmente con la conductividad eléctrica del líquido, a mayor conductividad, mayor la cantidad de cargas eléctricas, lo que lleva a una mejor actividad antimicrobiana (**Sadri et al., 2012**).

4.4.4 pH de la solución

El pH es otra de las características de la solución que afecta la actividad antimicrobiana de las EWNS. Se ha observado en términos generales que pH altos tiene un ligero efecto sobre el aumento de la actividad antimicrobiana. Por Ejemplo, Si et al (**Si et al., 2021a**) evaluaron el efecto del pH con soluciones de pH 7,10 y 12 respectivamente. Encontraron que a mayor pH el efecto antimicrobiano es mayor como resultado de una mayor producción de ROS (**Figura 4.4(b)**)(**W. Liu et al., 2007**). Esto a razón de la conversión de iones (OH^-) a radicales hidroxilo (OH^\bullet) a través de reacciones de oxidación de acuerdo a la siguiente ecuación:



Es decir , a mayor pH, mayor presencia de iones OH^- , que a su vez producen más ROS.

4.4.5 Ingredientes activos

Recientemente, se han incorporado con éxito dentro de las EWNS ingredientes activos antimicrobianos (IA) de origen natural, como nisina, lisozima, ácido cítrico, peróxido de hidrógeno, así como otros productos químicos que se utilizan en los tradicionales enfoques húmedos (aplicación a granel), como amonio cuaternario, cloruro de benzalquilo, e hipoclorito de sodio (**Huang et al., 2019**).

Huang y col. (**Huang et al., 2019**) utilizaron variedades de IA de uso común para la desinfección alimentaria. Sus resultados mostraron que una exposición de tan solo 0.5 minutos fue suficiente para inactivar *E. coli*, *Staphylococcus aureus* y el bacteriofago MS2 en una razón de 3, 2 y 1 log respectivamente. Además gracias a el tipo de administración específica de las EWNS, el efecto antimicrobiano se logró con niveles tan bajo como nanogramos de los IA de origen natural (**Figura 4.4**) (**Pyrgiotakis et al., 2016; Vaze et al., 2019b**).

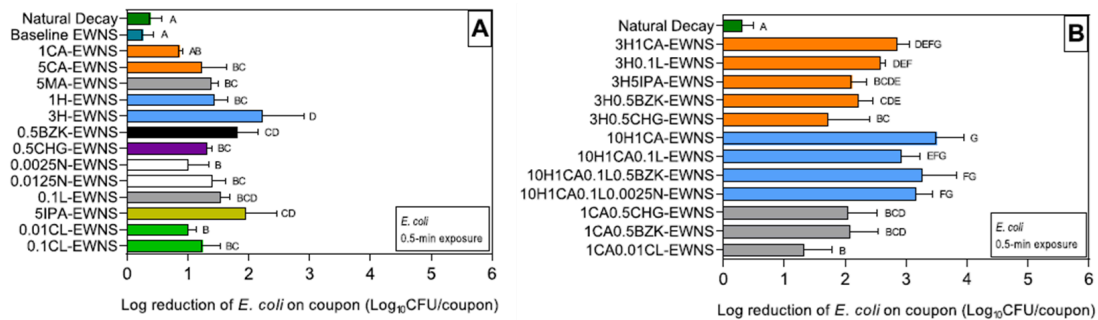


Figura 4.4 Inactivación de *E. coli* a partir de nanodesinfectantes basados en EWNS sintetizados con IA única (A) y IA combinadas (B). El cupón inoculado con *E. coli* (~10⁶ UFC/cupón) se expuso a diferentes nanodesinfectantes basados en EWNS durante 0,5 minutos en una cámara de exposición a nanodesinfectantes basada en EWNS. Los EWNS de referencia fue el nanodesinfectante basado en EWNS sintetizado con agua desionizada sin IA (tomado de (Huang et al., 2019)).

4.4.6 Tiempo de exposición

Se ha observado que el tiempo de exposición es una de las variables más significativas sobre el efecto antimicrobiano de las EWNS donde a mayor tiempo de exposición mayor inactivación microbiana. Si et al (Si et al., 2021a) evaluaron el efecto del tiempo de exposición por 15, 25 y 45 minutos obteniendo reducciones logarítmicas de 3.0, 3.9 y 4.7 respectivamente. No obstante cabe resaltar que tras 15 minutos de exposición la reducción fue equivalente al 99.9%, sin embargo se mejoraron deficiencias previas de 85% en la misma medida de tiempo (Hao et al., 2013).

4.4.7 Distancia aguja / contraelectrodo

Aunque los sistemas para la síntesis de EWNS pueden variar dependiendo de la configuración, por lo general la distancia entre la punta de la aguja y el contra electrodo son cruciales para la formación del cono de Taylor y la óptima producción de EWNS. En este sentido se ha observado que distancias medianamente cortas promueven la eficiencia de EWNS sobre la inactivación microbiana. Si et al (Si et al., 2021a) analizaron la distancia entre la punta de la aguja y la posición del contraelectrodo. Ellos obtuvieron una reducción logarítmica de 4.0 a 2 cm de distancia, mientras que incrementando a 3 y 4 cm la reducción disminuyó a 2.43 y 1.23 log respectivamente. La distancia corta entre la punta y el contraelectrodo resulta en una mayor corriente y más cargas eléctricas debido a un mayor campo eléctrico produciendo así más ROS (Si et al., 2021b).

4.4.8 Tipo de superficie

Otra de las variables más importantes y por otro lado menos estudiadas es el efecto de las superficies tratadas sobre los mecanismo de inactivación microbiana mediante EWNS. Estudios previos han utilizado hasta la fecha superficies como vegetales (espinacas), frutas (blackberries), piel (cerdo) y superficies metálicas de instrumentos (acero inoxidable). (Huang et al., 2021; Si et al., 2021a; Vaze et al., 2019b, 2018)

Huang y col (Huang et al., 2021) analizaron el efecto de EWNS sobre las superficies de hojas de espinacas antes y después de su exposición a EWNS. No se observaron cambios visuales de color o textura después de 15 minutos de exposición. Se observó que en general no hubieron cambios organolépticos (color, y pH) significativos debido a la cantidad poco significativa de EWNS interactuando con la superficie (Figura 4.5).

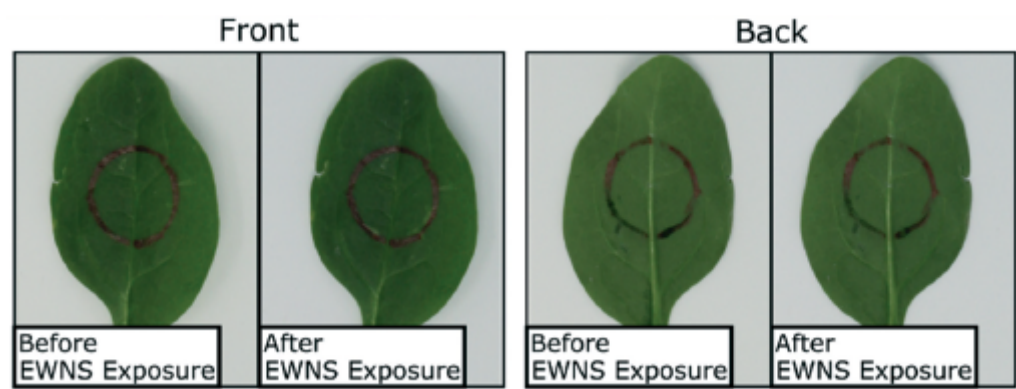


Figura 4.5 Efecto de los nanodesinfectantes basados en EWNS sobre las propiedades organolépticas de las espinacas: fotografías de espinacas antes y después de la exposición a nanodesinfectantes basados en EWNS; Las espinacas se expusieron a nanodesinfectantes basados en EWNS sintetizados con un cóctel de IA (peróxido de hidrógeno al 10% (p/v), ácido cítrico al 1% (p/v), lisozima al 0,1% (p/v) y 0,0025% (p/v). /v) nisina) durante 5 minutos (modificado de (Huang et al., 2021)).

No obstante, pese a que no se han observado efectos negativos en las superficies analizadas hasta el momento aún es necesaria más investigación para entender las dinámicas de interacción entre EWNS-Superficies-Bacteria.

4.5 Mecanismos de actividad antimicrobiana de EWNS

A día de hoy el mecanismo principal por el cual se conoce que actúan las EWNS es a través de especies reactivas de oxígeno debido a las ROS encapsuladas, como los radicales hidroxilo (OH[•]), el superóxido (O²⁻) y el peróxido de hidrógeno (H₂O₂), causan estrés oxidativo, dañando las membranas celulares y las lipoproteínas a través de la peroxidación lipídica, lo que resulta en una inactivación microbiana (Pyrgiotakis et al., 2014a, 2012; Vaze et al., 2019a).

Anteriormente se demostró que los EWNS poseen un conjunto único de propiedades físicas y biológicas. Los EWNS tienen un promedio de 10 electrones por estructura y un tamaño nanoescalar promedio de 25 nm (**Figura 4.2 (a)**). Además, la resonancia de espín electrónico (ESR) mostró que los EWNS contienen una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS), principalmente radicales hidroxilo (OH^\cdot) y superóxido (O^{2-}) (**Pyrgiotakis et al., 2014a, 2014b, 2012**).

Las EWNS son capaces de permanecer en el aire durante mucho tiempo, potencialmente chocando con microorganismos suspendidos en el aire y superficies, entregando su carga útil de ROS y provocando la inactivación microbiana (**Figura 4.2(b)**).

Mediante el estudio por microscopía electrónica de transmisión se ha observado que la inactivación se debe a la destrucción de la membrana celular (**Figura 4.6**). Además, los estudios de inhalación aguda mostraron que EWNS en dosis altas no mostró lesión ni inflamación pulmonar (**Pyrgiotakis et al., 2014a**).

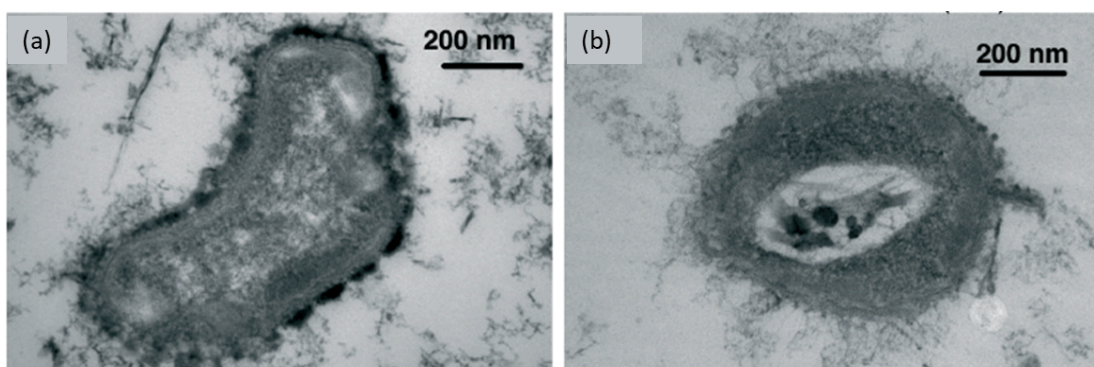


Figura 4.6 Análisis mecánico de la interacción EWNS-Bacteria. Imágenes TEM de (a) bacterias de control (no expuestas) y (b) imagen TEM de bacterias expuestas a EWNS durante 90 minutos. (modificado de (**Pyrgiotakis et al., 2014a**)).

Zhu y col (**Zhu et al., 2019**) observaron mediante caracterizaciones de espectros ESR la presencia de especies reactivas de OH^\cdot y O^{2-} estimando el contenido de estas en $4.58 \pm 0.41 \times 10^{12}$ spins por segundo para OH^\cdot , mientras que de $6.92 \pm 0.78 \times 10^{12}$ spins por segundo para O^{2-} .

No obstante, a pesar de los avances y esfuerzos invertidos en los EWNS como agentes antimicrobianos, los mecanismos de acción no se conocen bien, por lo que nuevos y más detalladas investigaciones son necesarias para dilucidar otro tipo de interacciones entre EWNS y bacterias.

4.6 Conclusiones

En esta revisión se hizo énfasis en la importancia de las propiedades de las EWNS sobre el efecto antimicrobiano para el control de organismos patógenos. Se ha demostrado que la actividad antimicrobiana de las EWNS depende de sus características fisicoquímicas, como su diámetro, voltaje y química de solución. Sin embargo, características como los factores externos del medio ambiente y las superficies tratadas también son importantes en las interacciones entre las EWNS y los microorganismos. Los mecanismos de la actividad antimicrobiana aún son un tema en desarrollo, pero en general pueden ser a través de interacciones mecánicas de la superficie de las células, y estrés oxidativo dependiente de ROS.

Aunque aún falta más investigación sobre el uso de EWNS en organismos mayores, cuyos efectos secundarios podrían tener un efecto en la salud de los individuos. Las EWNS se posicionan como nuevas alternativas ambientalmente sustentables, así como libres de residuos para aplicaciones industriales y biomédicas. Gracias a propiedades como su tamaño, alto contenido de ROS, e inercia química, estas han demostrado ser potencialmente eficaces en sistemas de descontaminación de superficies mediante la inactivación de microorganismos. En este sentido, el futuro de este tipo de tecnologías puede convertirse en una de las tendencias en los sistemas de descontaminación de aire y superficies en el futuro cercano.

Capítulo 5: Síntesis y actividad antimicrobiana de EWNS.

5.1 Resumen

Las enfermedades infecciosas son una gran amenaza para la salud y el bienestar de animales, los trabajadores así como comunidades circundantes y su falta de control produce un impacto devastador en la industria. Las técnicas actuales de inactivación microbiana empleadas en diversas instalaciones ganaderas utilizan agentes oxidantes y/o radiación UV; sin embargo, estos métodos son costosos, utilizan productos químicos tóxicos y producen contaminación residual tras su uso. La tecnología de EWNS produce gotas de agua a nanoescala altamente cargadas con especies reactivas de oxígeno (ROS) encapsuladas para la inactivación bacteriana mediante el electro-spraying y la ionización de agua de ósmosis inversa (RO).

En el presente capítulo, se desarrolló un sistema de electro-nanospray para la descontaminación de superficies comunes que se encuentran en las granjas de cerdos, incluidas el metal, el plástico, la madera y el concreto. La desactivación microbiana del dispositivo de electro-nanospray se probó en diferentes condiciones a escala de laboratorio para la desactivación de *Escherichia coli* (*E. coli*) en concentraciones similares a los niveles encontrados en las superficies de las granjas de cerdos. Los experimentos se realizaron utilizando una cámara acrílica en la que se instaló el sistema de electro-nanospray. La eficacia del sistema EWNS para inactivar *E. coli* evaluó diferentes condiciones operativas, como voltaje aplicado, tiempo de exposición y la distancia entre el contraelectrodo y la superficie tratada. Se caracterizaron diferentes superficies de granjas de cerdos mediante microscopía electrónica de barrido, y ángulo de contacto para comprender los diferentes comportamientos entre las muestras.

Entre los parámetros operativos probados, el tiempo de exposición fue el parámetro operativo más influyente, lo que llevó a una reducción logarítmica de *E. coli* de 2,66 log después de 40 minutos de exposición. Por otro lado, para las eficiencias de desactivación de las superficies analizadas, la eficiencia de descontaminación fue mayor para la madera, seguido del concreto, el metal y el plástico con una reducción logarítmica de 2,96, 2,80, 2,20 y 1,63 log respectivamente. Estos resultados muestran el potencial de la tecnología EWNS como método de descontaminación microbiana para el tratamiento de superficies en instalaciones de confinamiento de animales. Sin embargo, se necesitan pruebas en el establo para la implementación de estos sistemas.

Palabras clave: Nanoestructuras de agua diseñadas, superficies, inactivación microbiana

5.2 Introducción

Se han relacionado varios riesgos para la salud asociados con las instalaciones de producción ganadera de alta densidad. En estas instalaciones se generan polvo, gases nocivos y microorganismos a través de residuos animales y alimentarios altamente concentrados (**Donham et al., 1989**). Como resultado, se ha informado que las enfermedades respiratorias e infecciosas afectan la salud y el bienestar de los animales, así como de los trabajadores agrícolas y las comunidades circundantes (**Donham et al., 1989**). La aparición de brotes de enfermedades en la producción animal ha tenido efectos devastadores en la industria a través de la pérdida de productividad animal, costos adicionales para el tratamiento y erradicación, así como la pérdida de acceso al mercado para los animales infectados. Por lo tanto, se deben desarrollar estrategias efectivas y eficientes para abordar con éxito los problemas que afectan a las industrias ganaderas, la economía, la salud y el bienestar de los animales y los humanos.

En las instalaciones ganaderas se han estudiado y desarrollado diferentes técnicas y tecnologías de tratamiento del aire; estos incluyen estrategias de ventilación y control de fuentes, y técnicas de limpieza del aire, como depuradores húmedos, filtros de aire y precipitadores electrostáticos (ESPs). También hay innovaciones recientes en el tratamiento del aire, como la radiación ultravioleta C (UV-C), el ozono y las nanopartículas fotocatalíticas. Sin embargo, estas tecnologías tienen limitaciones para responder a los desafíos de las instalaciones ganaderas.

Recientemente, se ha empleado una tecnología más respetuosa con el medio ambiente llamada electro-nanospray para mitigar el polvo y desactivar microorganismos. Esta tecnología utiliza el proceso combinado de electrospray e ionización para producir nanogotas de agua con una alta carga eléctrica. El tamaño de las nanoestructuras de agua diseñadas (EWNS) generadas depende del pH, la conductividad eléctrica del líquido, el caudal del líquido, el voltaje aplicado, la distancia entre la punta de la aguja y el contraelectrodo y el diámetro del aguja (**Almería et al., 2010; Bolo, 2023; Khan et al., 2017; Meng et al., 2009; Si et al., 2021a; Zheng et al., 2019**).

Se sabe que las EWNS no solo inactivan microorganismos (**Pyrgiotakis et al., 2012**), sino también eliminan el polvo (**Unger et al., 2003**) y los olores gaseosos (**Zhu et al., 2019**). Estas nanogotas son muy móviles y pueden permanecer suspendidas en el aire durante horas chocando con partículas en el aire (**Pyrgiotakis et al., 2014a**). El electro-nanospray elimina eficazmente el polvo del aire mediante interacciones electrostáticas. El polvo y las gotas de agua con cargas opuestas se atraen entre sí y se depositan en las superficies mediante la fuerza gravitacional (**Jaworek and Sobczyk, 2008; Krupa et al., 2016**).

Las EWNS se generan simultáneamente mediante procesos de electrospray y ionización del agua. Se aplica un alto voltaje entre un capilar metálico y un electrodo puesto a tierra. Durante este proceso, el fuerte campo eléctrico entre los dos electrodos hace que se acumulen cargas negativas en la superficie del agua, formando un cono de Taylor (proceso de electrospray). Esto da como resultado la generación de partículas de agua altamente cargadas que, al dividirse en partículas más pequeñas, dan lugar a las llamadas EWNS. Al mismo tiempo, el alto campo eléctrico hace que algunas moléculas de agua se dividan y pierdan electrones (ionización), generando una gran cantidad de especies reactivas de oxígeno (ROS) que quedan encapsuladas dentro de las EWNS.

Debido a las ROS encapsuladas, las EWNS pueden desodorizar compuestos mediante diversas reacciones químicas. Mientras que ROS, como los radicales hidroxilo, el superóxido y el peróxido de hidrógeno, causan estrés oxidativo, dañando las membranas celulares y las lipoproteínas a través de la peroxidación lipídica, lo que resulta en una inactivación microbiana (**Pyrgiotakis et al., 2014a, 2012; Vaze et al., 2019a**).

Además de las ventajas mencionadas anteriormente, se ha descubierto que el sistema de electro-nanospray es ambientalmente benigno y seguro debido a la ausencia de rastros químicos. Sin embargo, los estudios sobre la aplicación de electro-nanosprayers en la descontaminación de instalaciones para animales son limitados y no están completamente establecidos. Recientemente, Si et al. (**Si et al., 2021a**) y Yang et al. (**Yang et al., 2021**) realizaron un estudio a escala de laboratorio para optimizar los parámetros operativos del sistema EWNS para la inactivación de contaminantes en el aire y en superficies relevantes para las operaciones ganaderas. El trabajo experimental de Si et al. (**Si et al., 2021a**) demostraron la importancia de los parámetros de diseño, de modo que modificando parámetros como la distancia desde el capilar, el caudal del líquido, el pH y la conductividad podrían aumentar el área efectiva del proceso de electro-nanospray. Mientras que Yang et al. (**Yang et al., 2021**) demostraron el rendimiento de dicho sistema EWNS utilizando *E. coli* como microorganismo modelo. Como resultado, la inactivación de *E. coli* alcanzó hasta el 69% y la reducción total del polvo de las granjas de cerdos resultó en un 73%.

Sin embargo, parámetros como la diversidad de superficies presentes en estas instalaciones es un problema y aún no se ha estudiado su papel en el mecanismo de inactivación microbiana. Por lo tanto, este estudio tiene como objetivo evaluar la cantidad de inóculo, el voltaje aplicado, el tiempo de exposición así como el desempeño de un sistema de electro-nanospray para descontaminar diferentes superficies de graneros a escala de laboratorio.

5.3 Materiales y métodos

5.3.1 Sistema de Electro-nanospray

El sistema de electro-nanospray consta de 16 inyectoros (agujas metálicas de acero inoxidable de calibre 30; Hamilton, NV, EE. UU.) colocados en una disposición de 4 x 4 sobre una placa de metal pulido con dimensiones de 8,5 x 8,5 cm. Como muestra la **Figura 5.1**, el sistema se montó en una cámara acrílica (30 cm x 30 cm x 30 cm), donde un orificio hecho en la parte superior permite que los tubos de plástico de las bombas de jeringa ingresen a la cámara y se conecten con la placa metálica de la aguja. La placa de metal se conectó a una fuente de alimentación de alto voltaje (APM-30KIPNX, Kasuga Denki, Tokio, Japón). Directamente debajo de la placa metálica de la aguja (a 10 mm de las puntas de las agujas) había un contraelectrodo (8,5 cm de diámetro y 0,3 cm de espesor, hecho de aluminio pulido) con 16 orificios (13 mm de diámetro) para permitir que pasaran las gotas de EWNS a través de él. El contraelectrodo se conectó al puerto de tierra de la fuente de alimentación. Los parámetros de diseño y funcionamiento del sistema de electro-nanospray empleado en este estudio (es decir, la distancia entre las puntas de las agujas y los contraelectrodos y el caudal de líquido a través de las agujas) se optimizaron en estudios previos (**Si et al., 2021a; Yang et al., 2021**). El caudal de líquido se mantuvo a 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ utilizando 2 bombas de jeringas múltiples de ocho canales (NE-1800, New Era Pump Systems Inc., NY, EE. UU.) para proporcionar un suministro de líquido estable al sistema.

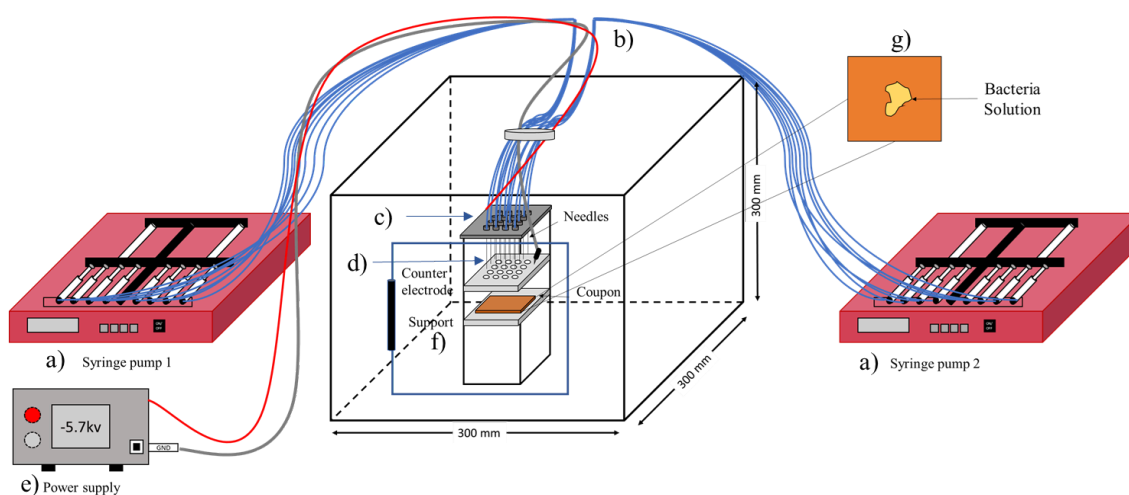


Figura 5.1 Diagrama esquemático del sistema de electro-nanospray: a) bombas de jeringa con jeringas instaladas, b) mangueras de plástico, c) placa de metal con agujas adjuntas, d) contraelectrodo, e) fuente de alimentación de alto voltaje, f) plataforma de soporte, g) cupón.

5.3.2 Inactivación microbiana

Preparación de inóculo de E. coli

Este estudio utilizó la bacteria *E. coli* como organismo modelo para microorganismos comunes que se encuentran en granjas de animales (**de Rooij et al., 2019**). La cepa W3110 de *E. coli* (**Castellani and Chalmers, 1919**) de la Colección Americana de Cultivos Tipo (ATCC) se adquirió en Cedarlane, Burlington, Ontario, Canadá, para investigar la eficacia de las EWNS en la inactivación de microorganismo en una concentración bacteriana que normalmente se encuentra en las superficies de las granjas de cerdos. La muestra de *E. coli* congelada se reconstituyó y se colocó en 5 ml de caldo de lisogenia (LB) (DF0446-17-3, Fisher Scientific, Ottawa, Canadá) y se cultivó a 37 °C en una incubadora (IMH60, Heratherm, EE. UU.) durante 24 h (**ATCC, 2023**). La *E. coli* cultivada se sembró en una placa de agar LB, se cultivó durante la noche a 37 °C y se almacenó a 4 °C. Antes de cada experimento, se recogió una colonia de *E. coli* de la placa y se añadió a 5 ml de medio LB. El cultivo se incubó durante la noche (~12h) a 37°C, lo que dio como resultado una solución bacteriana (inóculo) con una concentración de aproximadamente 1×10^8 CFU/mL que estaba dentro del rango de las poblaciones bacterianas encontradas en las superficies de las granjas de cerdos (**Hao et al., 2013**). Las concentraciones bacterianas se estimaron utilizando una curva de calibración preparada entre la concentración bacteriana (UFC/ml) y la densidad óptica (OD), que se midió utilizando un espectrofotómetro UV (UNICO S-1100, Nueva Jersey, EE. UU.) a una longitud de onda de 600 nm. Una descripción más detallada de la preparación del inóculo puede ser encontrada en Si et al (**Si et al., 2021a**).

Inoculación de cupones

La eficacia de las EWNS para inactivar *E. coli* en superficies se evaluó inoculando cupones (5 cm de diámetro) con el inóculo preparado. Los cupones se fabricaron con los materiales de superficie más comunes en graneros e instalaciones agrícolas: plástico, madera, hormigón y metal (**De Belie et al., 2000b, 2000a, 2000c**). Antes de cada experimento, los cupones se lavaron con solución jabonosa y luego se enjuagaron con etanol (70%). Luego se colocaron y se esterilizaron en autoclave a 121°C durante 15 min. Después de permitir que los cupones se enfriaran en una cabina de bioseguridad, se agregaron 100 µl del inóculo preparado al cupón en 10 gotas (10 µl/gota) en un arreglo circular cerca del centro del cupón. Cada cupón inoculado se dejó secar durante 15 min en la cabina de bioseguridad a temperatura ambiente. El nivel de inoculación final de *E. coli* en el cupón fue de 1×10^8 CFU/mL.

Los cupones de plástico (policarbonato) se utilizaron por primera vez para probar superficies y lograr parámetros de descontaminación ideales. Los parámetros básicos dentro del sistema de electro-nanospray fueron determinados por Yuchen Si (**Si**

et al., 2021a) en un estudio previo, siendo estos: flujo del líquido (1 $\mu\text{l}/\text{min}$), conductividad del líquido (0,20 mS/cm), pH del líquido (7,0), voltaje y polaridad eléctrica (voltaje negativo -5,6 kV) y la distancia entre las puntas de las agujas y el contraelectrodo (1 cm).

El diámetro y el espesor de los cupones fueron de 5 cm y $\sim 0,5$ mm respectivamente, excepto para madera y hormigón donde el espesor fue $\sim 1,0$ cm . Aunque los cupones metálicos se utilizaron comúnmente en estudios previos del EWNS, superficies como el plástico, la madera y el hormigón no se han estudiado previamente (**Huang et al., 2019; Si et al., 2021a; Vaze et al., 2019a**).

Eficacia de EWNS en cupones inoculados bajo diferentes condiciones.

Después del secado, cada cupón inoculado se colocó dentro de la cámara acrílica y sobre el soporte de cupones con su lado inoculado mirando hacia las puntas de las agujas. Los cupones inoculados fueron expuestos a las EWNS bajo diferentes condiciones operativas enumeradas en la **Tabla 5.1**. Trabajos anteriores encontraron que una tasa de líquido de 1 $\mu\text{l}/\text{ml}$ generaba un flujo cónico estable y que flujos de líquido más altos ya no podían producir gotas de tamaño nanométrico, por lo que se decidió no alterar el flujo. Valores como el pH de la solución, la conductividad eléctrica y la distancia entre el contraelectrodo y la punta de la aguja fueron evaluados previamente por nuestro grupo de investigación (**Si et al., 2021a**) y por lo tanto no fueron analizados en este trabajo.

Los efectos de las condiciones de operación se evaluaron teniendo en cuenta los valores base de las condiciones de operación constantes (negritas en la **Tabla 5.1**), mientras que se variaron los parámetros específicos.

Esto significa que, por ejemplo, para evaluar el efecto del voltaje, se varió de -5,6 a -7,6 kV , mientras que el caudal de líquido, la distancia entre el contraelectrodo y el tiempo de exposición se establecieron en 1 $\mu\text{l}/\text{min}$, 1 cm y 15 respectivamente. Todos los ensayos se realizaron utilizando agua RO con una conductividad de 0,20 mS/cm y un pH de 7. Los ensayos utilizados para encontrar las mejores condiciones de tratamiento se realizaron en superficies plásticas para encontrar la mayor eficacia de inactivación, para luego evaluar el efecto de cada superficie en las mejores condiciones encontradas. La evaluación de cada condición se realizó por triplicado. En todos los experimentos, la temperatura y la humedad relativa de la cámara se mantuvieron aproximadamente a 20°C y 25% respectivamente. Un esquema general del experimento y el mecanismo de desinfección de las EWNS se puede observar en la **Figura 5.2**.

Tabla 5.1 Configuraciones del electro-nanospray empleadas en los experimentos de inactivación microbiana.

Configuración	Parámetro	Voltaje (kV)	Flujo de líquido (μl/min)	Distancia: contraelectrodo - cupón (cm)	Tiempo de exposición (min)	Tipo de superficie
1	Voltaje	-5.6	1	1	15	Plástico
2		-6.6	1	1	15	Plástico
3		-7.6	1	1	15	Plástico
4	Distancia	-5.6	1	1	15	Plástico
5		-5.6	1	4	15	Plástico
6		-5.6	1	8	15	Plástico
7	Tiempo	-5.6	1	1	5	Plástico
8		-5.6	1	1	10	Plástico
9		-5.6	1	1	15	Plástico
10		-5.6	1	1	25	Plástico
11		-5.6	1	1	40	Plástico
12	Condicion es selectas	-7.6	1	8	40	Plástico ,Madera, Concreto, Metal

El líquido utilizado fue Agua RO y como inóculo se utilizó *E.coli*

Recuperación de E. coli a partir de cupones inoculados

Después del tratamiento de las superficies con EWNS, la cantidad de *E. coli* superviviente se recuperó de los cupones lavando el cupón con 1 ml de agua esterilizada en autoclave (agua RO) y luego transfiriendo el agua lavada a un tubo eppendorf con la mezcla adecuada. Luego se tomaron 100 μL del agua lavada del tubo Eppendorf y se colocaron y dispersaron en una placa de agar LB usando un asa de siembra. Este paso (muestreo y cultivo en placas) se realizó por triplicado. Todas las placas de agar se colocaron en una incubadora y se incubaron durante la noche a 37°C antes de contar las colonias. La concentración de *E. coli* se determinó después de 30 minutos de presecado.

Análisis estadístico

La eficiencia de inactivación bacteriana de EWNS producido por nuestro sistema de electro-nanospray se estimó calculando la reducción logarítmica (Ecuación 1) de *E. coli* para todas las condiciones de tratamiento.

$$\text{Ecuación 1: reducción logarítmica de } E. coli = Abs \left[\text{Log}10 \left(\frac{C_t}{C_0} \right) \right]$$

donde, C(t) es la concentración de bacterias recuperada después del tiempo t de exposición a EWNS (concentración de cupones expuestos) y C(0) es la concentración de bacterias en t = 0, que fue el tiempo después del secado antes de la exposición a EWNS.

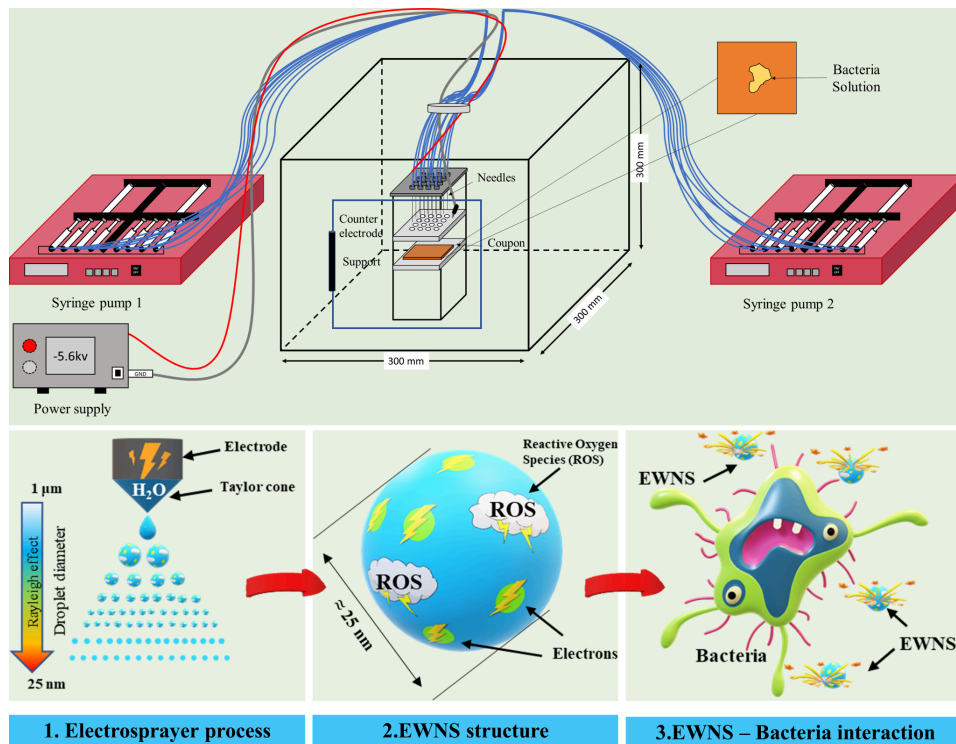


Figura 5.2 Esquema general del setup experimental y el mecanismo de acción de las EWNS sobre los microorganismos. Setup experimental, (a) Proceso de electro-spray, (2) Estructura de las EWNS, y (3) Interacción EWNS-Bacteria.

Tanto C(t) como C(0) se obtuvieron recuperando *E. coli* del cupón de acero inoxidable después de cada experimento. Se utilizó la desviación estándar de las medias para representar las barras de error de los experimentos. El rendimiento de EWNS en las diferentes condiciones operativas se comparó mediante una prueba ANOVA multivariada (OriginPro, OriginLab Corporation). Se utilizó un nivel de significación de 0,05 para todos los análisis estadísticos.

5.3.3 Caracterización de superficies de granero

Las superficies utilizadas en este estudio se caracterizaron superficialmente para comprender el efecto de sus características morfológicas en la eficiencia de la inactivación mediante EWNS. Se obtuvieron 6 pequeños cupones de cada material (plástico, hormigón, madera y metal) para analizar mediante técnicas de caracterización de superficies. Cada cupón de aproximadamente 1cm x 1cm x 3mm se utilizó para realizar las caracterizaciones morfológicas/estructurales de los diversos materiales utilizados mediante las técnicas de Microscopía Electrónica de Barrido (SEM), y medición del ángulo de contacto respectivamente.

Se realizaron mediciones de ángulos de contacto para analizar el efecto de la superficie sobre las características de humectabilidad de cada material. La morfología de la superficie se caracterizó mediante microscopía SEM, utilizando un microscopio FEI - ESEM QUANTA FEG-250 marca FEI en condiciones de bajo vacío y un voltaje de aceleración de 5,0 kV. Finalmente, el análisis de rugosidad de la superficie se realizó mediante un dispositivo marca JEOL JSPM-5200 con un tamaño de escaneo de 40 μm y una velocidad de escaneo de 0,5 Hz en tapping mode.

5.4 Resultados y discusión

5.4.1 Caracterización de superficies de granero.

Ángulo de contacto y SEM.

Se llevaron a cabo mediciones del ángulo de contacto para los cupones de diferentes materiales recibidos. El recuadro (a) de las **Figuras 5.3-5.6**, representan los ángulos de contacto de una gota de agua colocada en la superficie de los cupones. La muestra de plástico presenta un ángulo de contacto de 89°, seguido de 86° y 82° para las muestras de metal y de madera, respectivamente. Para el cupón de concreto no fue posible medir un ángulo de contacto (0°) debido a la alta porosidad, rugosidad y humectabilidad del material. Los ángulos de contacto $<90^\circ$ corresponden a superficies hidrófilas, siendo el plástico el material menos hidrófilo, seguido del metal y la madera, mientras que el concreto corresponde a un material super hidrófilo y por tanto se esperaría un mayor número de posibles interacciones entre estas superficies.

Además, también muestra micrografías electrónicas de barrido para cada uno de los materiales a 30, 500 y 5000 X respectivamente. En el caso del plástico (**Figura 5.3**), se puede observar una superficie en gran medida lisa, incluso en grandes magnificaciones, donde se pueden notar algunas imperfecciones resultantes de la manipulación del material.

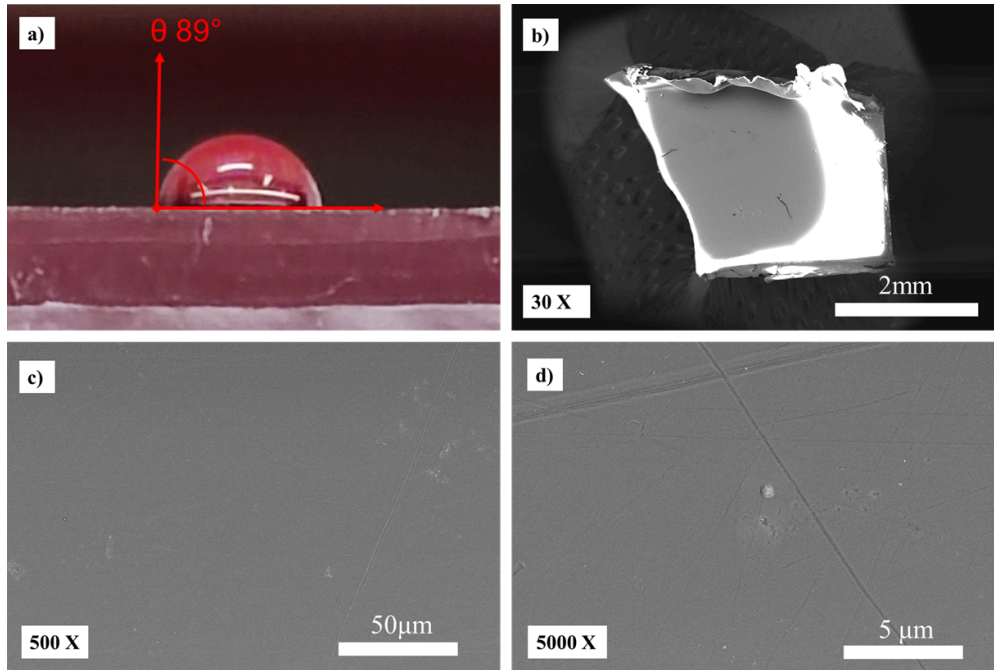


Figura 5.3 Caracterización de superficies de tipo plástico mediante a) ángulo de contacto y b-d) microscopía SEM a 30, 500 y 5000 X respectivamente.

Para la superficie del metal (**Figura 5.4**) podemos observar de manera similar una superficie bastante lisa, sin embargo a grandes aumentos podemos observar una mayor cantidad de defectos estructurales en forma de rayones y poros presentes en toda la muestra.

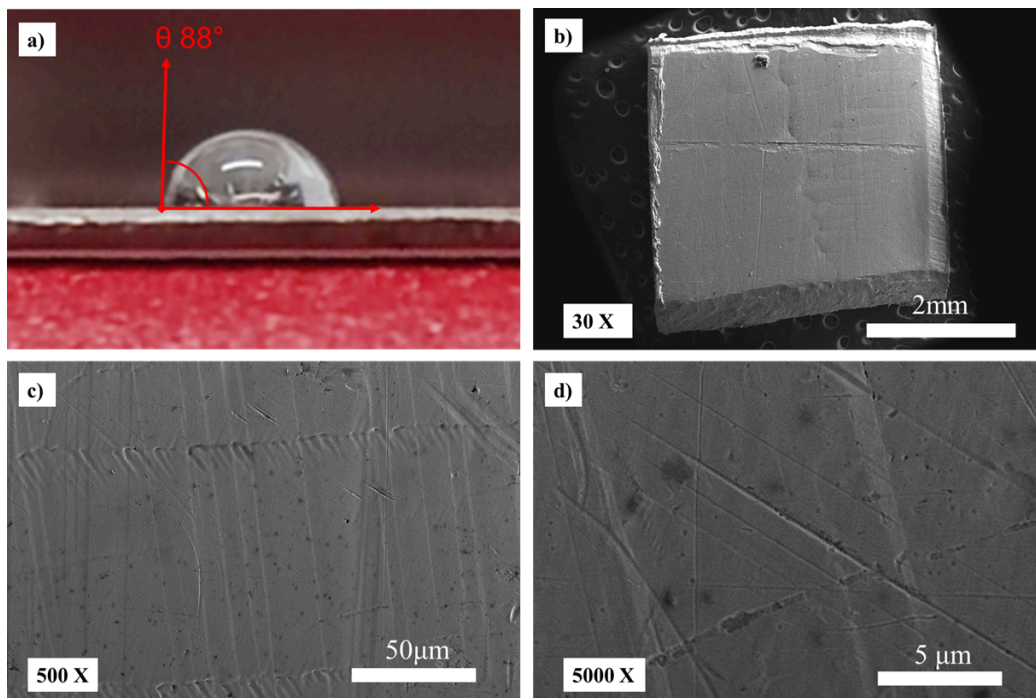


Figura 5.4 Caracterización de superficies de tipo metálico mediante a) ángulo de contacto y b-d) microscopía SEM a 30, 500 y 5000 X respectivamente.

Posteriormente, para la madera (**Figura 5.5**) podemos observar una superficie muy rugosa e irregular, con gran cantidad de poros con diámetros que varían de 1 a 2 μm , con contornos puntiagudos a lo largo de las diversas estructuras en la superficie del material.

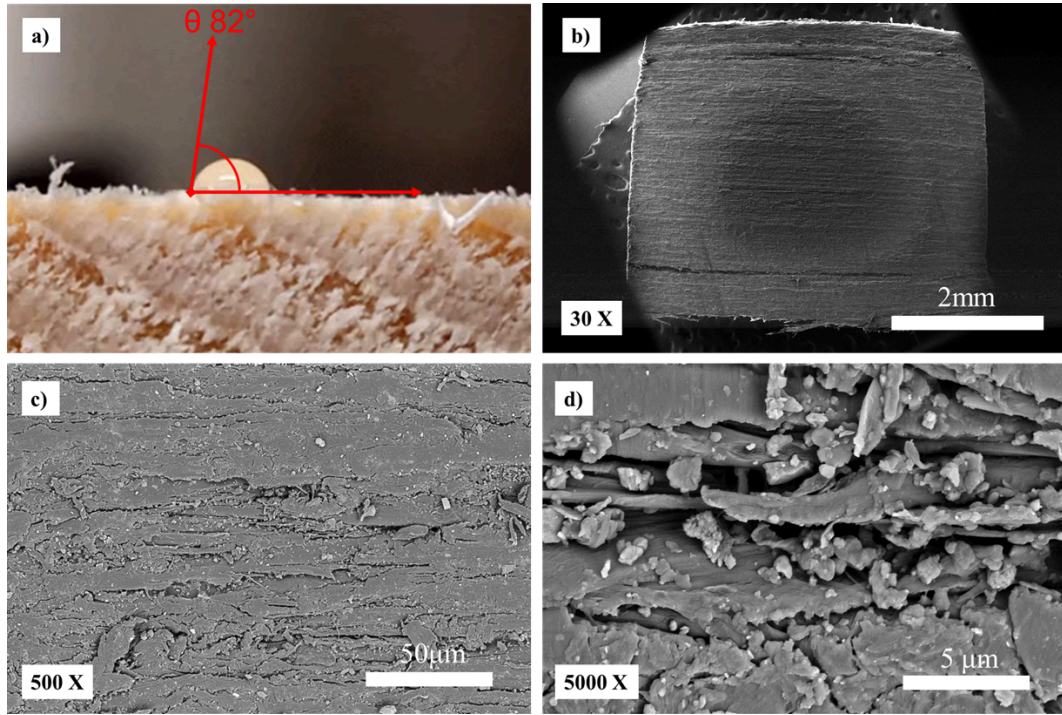


Figura 5.5 Caracterización de superficies de tipo madera mediante a) ángulo de contacto y b-d) microscopía SEM a 30, 500 y 5000 X respectivamente.

Finalmente, para el concreto (**Figura 5.6**) se observó una superficie heterogénea, rugosa y porosa con poros que oscilaban entre 1 y 7 μm de diámetro. También es posible observar formaciones minerales como parte de la estructura de hormigón. De acuerdo con estos resultados, se espera que superficies como el plástico y el metal tengan interacciones más limitadas con poblaciones líquidas y microbianas, mientras que la madera y el hormigón puedan interactuar más con poblaciones líquidas y/o microbianas.

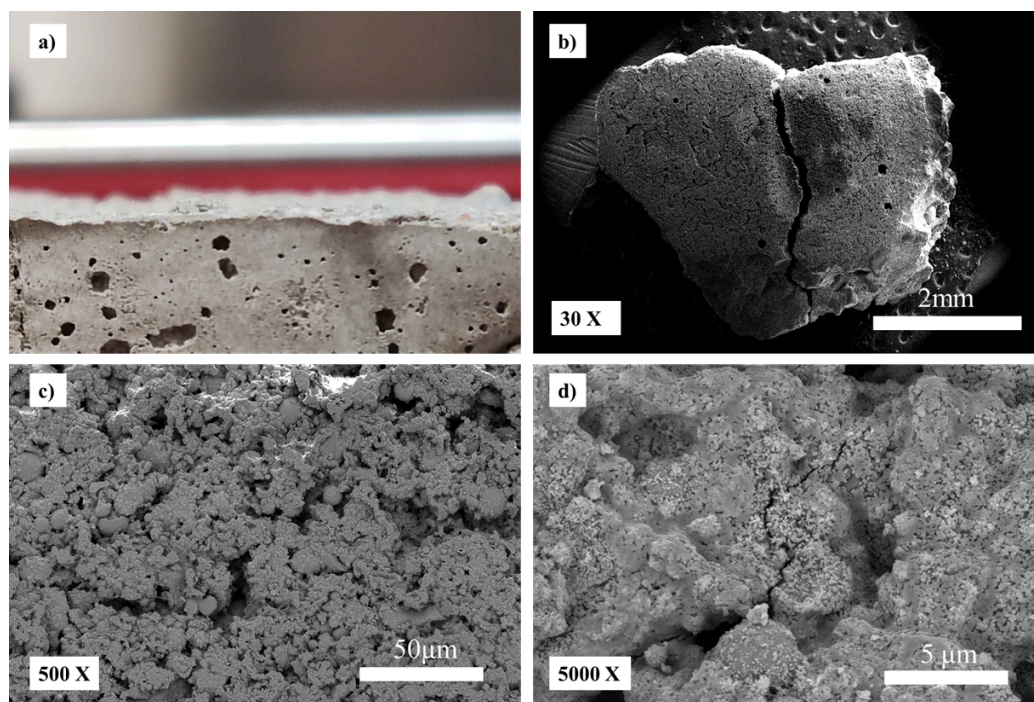


Figura 5.6 Caracterización de superficies de tipo concreto mediante a) ángulo de contacto y b-d) microscopía SEM a 30, 500 y 5000 X respectivamente.

5.4.2 Eficiencia de EWNS en cupones inoculados bajo diferentes condiciones.

Nivel de voltaje

Como se muestra en la **Figura 5.7** y la **Tabla 5.2**, el EWNS generado por nuestro sistema de nanospray electrónica con un voltaje de -7,6 kV obtuvo la mayor reducción de *E. coli* (1,44 log) en comparación con -5,6 y -6,6 kV. lo que resultó en 1,07 y 1,26 log, respectivamente. Los resultados muestran que las diferencias en la inactivación bacteriana a medida que aumentó el voltaje fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Trabajos anteriores demostraron que los altos voltajes producen una mayor generación de ROS, lo que resulta en una alta inactivación microbiana. Si et al (**Si et al., 2021a**) informaron que el aumento del voltaje negativo aplicado resultó en la formación de más radicales hidroxilo ROS facilitados por la alta movilidad de la carga negativa en las partículas.

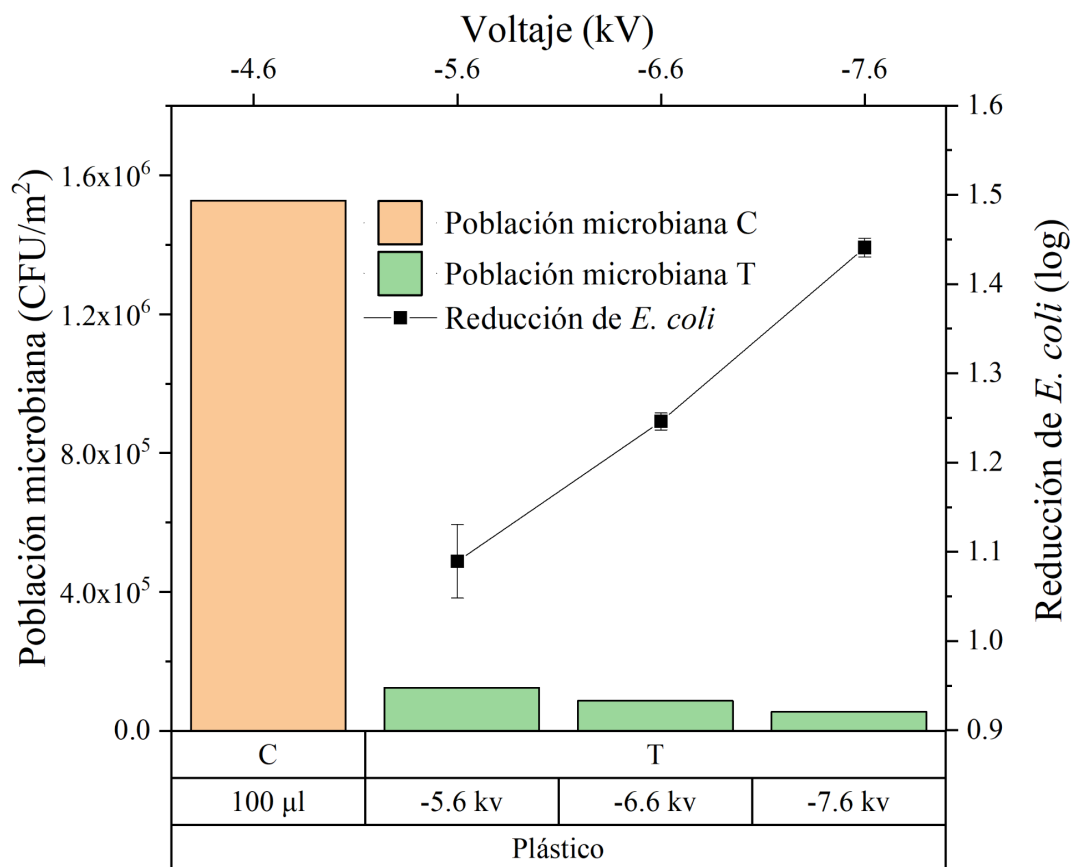


Figura 5.7 Efecto del voltaje aplicado sobre la inactivación microbiana con las siguientes condiciones operativas: tiempo de exposición = 15 min, caudal de líquido = 1µl/min y distancia entre contraelectrodo-cupón = 1cm

Tabla 5.2 Datos de inactivación microbiana dependiendo del voltaje aplicado.

Tratamiento	Población celular	% inactivación	Reducción logarítmica	DST
-5.6 kV	1.24E+05	91.86	1.09	0.04119301
-6.6 kV	8.67E+04	94.33	1.25	0.0094772
-7.6 kV	5.53E+04	96.38	1.44	0.01044395

Distancia del contraelectrodo a la superficie del cupón

La **Figura 5.8** y la **Tabla 5.3** muestran que la mayor inactivación microbiana (reducción logarítmica de 1,83) se obtuvo a 8 cm de distancia del contraelectrodo. La reducción de la distancia a 4 cm y 1 cm disminuyó la tasa de inactivación a 1,63 y 1,26 log, respectivamente. Se observa que el aumento en la distancia del cupón hacia el contraelectrodo se distingue por un aumento en la inactivación bacteriana, resultados que fueron estadísticamente significativos ($p < 0,05$). Aunque el mecanismo de acción no

está claro, este comportamiento podría ser atribuido a la acumulación de EWNS en el fondo de la cámara acrílica, lo que conduciría a una acumulación de ROS y con ello una mayor inactivación microbiana. Sin embargo, son necesarios más estudios que lo corroboren.

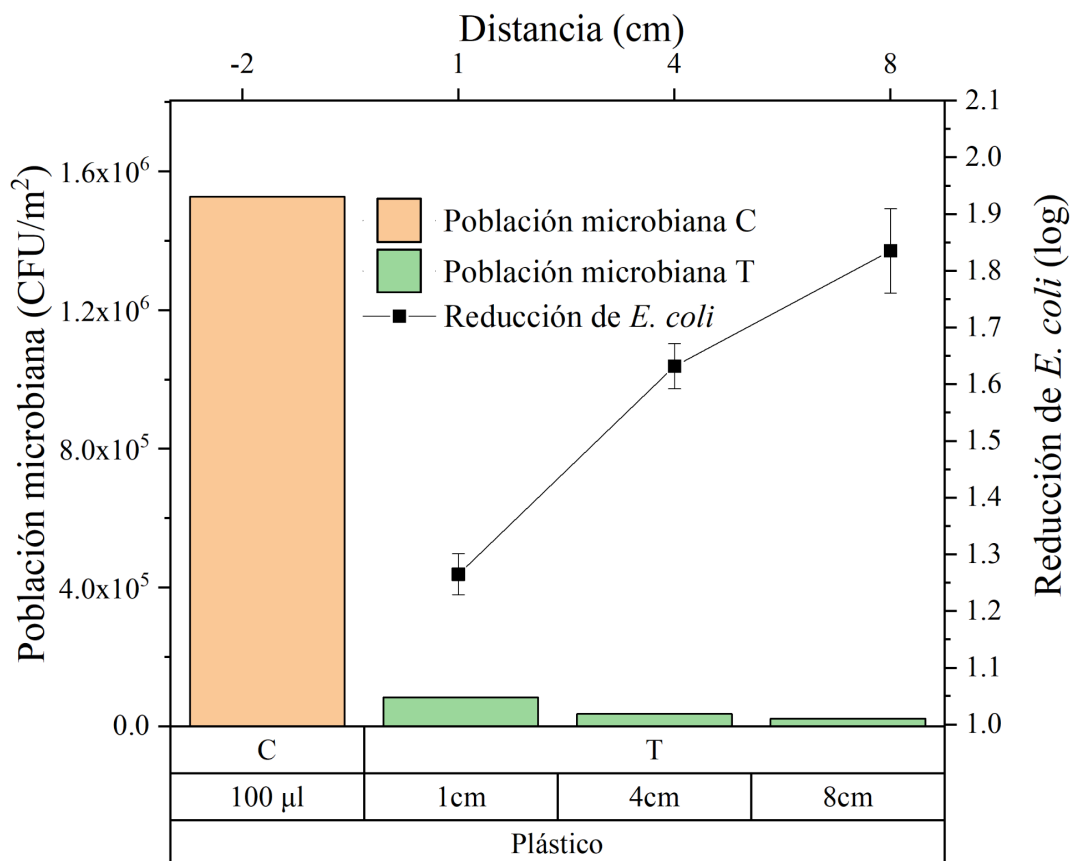


Figura 5.8 Efecto de la distancia entre el contraelectrodo y la superficie del cupón sobre la inactivación microbiana con las siguientes condiciones operativas: voltaje aplicado = -5,6, caudal de líquido = 1 μ l/min y tiempo de exposición = 15 min.

Tabla 5.3 Datos de inactivación microbiana dependiendo de la distancia entre el contra electrón y la superficie del cupón.

Tratamiento	Población celular	% inactivación	Reducción logarítmica	DST
1 cm	8.30E+04	94.57	1.26	0.03616387
4 cm	3.57E+04	97.66	1.63	0.03983779
8 cm	2.23E+04	98.54	1.83	0.07431951

Tiempo de exposición

La **Figura 5.9** y la **Tabla 5.4** muestran la inactivación microbiana más alta para el tiempo de tratamiento con una reducción de 2,66 log a los 40 minutos de tratamiento. Si el tiempo de tratamiento se reduce a 30, 15, 10 y 5 minutos, la reducción logarítmica cae a 2,58, 1,69, 1,49 y 1,27, respectivamente. Cabe señalar que aún cuando existe un aumento en la inactivación de 30 a 40 min de tratamiento, el aumento no fue significativo ($p > 0,05$). Además, los experimentos de este estudio también se llevaron a cabo durante períodos más cortos (5 minutos) para observar la eficacia en función del tiempo. En general, se observó que el tiempo de exposición tuvo una influencia significativa ($p < 0,05$) en la inactivación bacteriana.

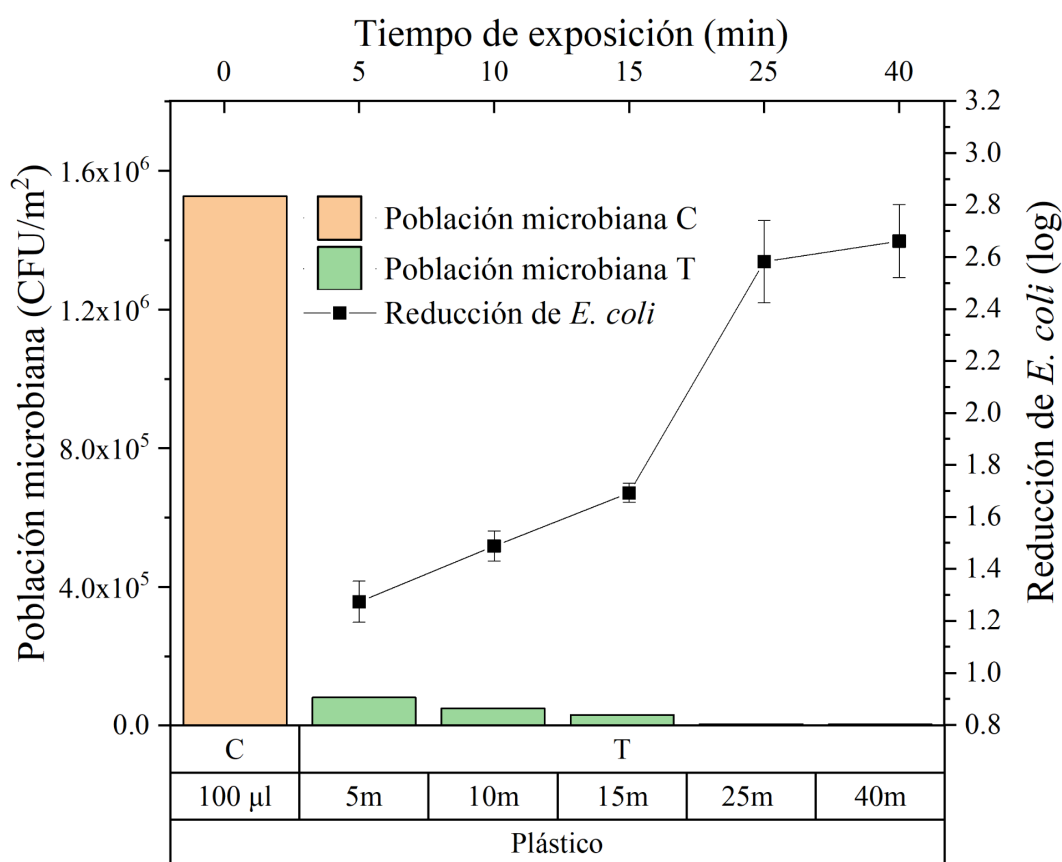


Figura 5.9 Efecto del tiempo de exposición sobre la inactivación microbiana con las siguientes condiciones operativas: voltaje aplicado = -5,6, caudal de líquido = 1 $\mu\text{l}/\text{min}$ y distancia entre el contraelectrodo-cupón = 1 cm.

Tabla 5.4 Datos de inactivación microbiana según el tiempo de exposición

Tratamiento	Población celular	% inactivación	Reducción logarítmica	DST
5 min	8.13E+04	94.67	1.27	0.0792794

10 min	4.97E+04	96.75	1.49	0.05845289
15 min	3.10E+04	97.97	1.69	0.0363393
25 min	4.00E+03	99.74	2.58	0.22863899
40 min	3.33E+03	99.78	2.66	0.1811213

Tipo de superficie

Los resultados de la prueba ANOVA mostraron que todos los parámetros evaluados tuvieron influencia significativa en la inactivación de *E. coli*. Los resultados indicaron que entre los parámetros investigados, las condiciones que resultaron en mayor eficiencia fueron un voltaje aplicado de -7.6kv, una distancia entre el cupón y el contraelectrodo de 8 cm y un tiempo de exposición de 40 minutos. Con estas condiciones se evaluó el comportamiento de las diferentes superficies de plástico, madera, concreto y metal sobre la concentración de bacterias tras el tratamiento (Figura 5.10). Los resultados mostraron que los materiales porosos como la madera y el concreto mostraron las mayores reducciones de registros con 2,96 y 2,61 respectivamente. Este comportamiento está asociado a la capacidad de estos materiales de absorber agua en su estructura, lo que limita la presencia de *E. coli*. Por otro lado, los materiales lisos como el metal y el plástico tuvieron reducciones logarítmicas de 2,02 y 1,61 respectivamente, lo que implica reducciones de 99,05 y 97,64 % para el metal y el plástico respectivamente.

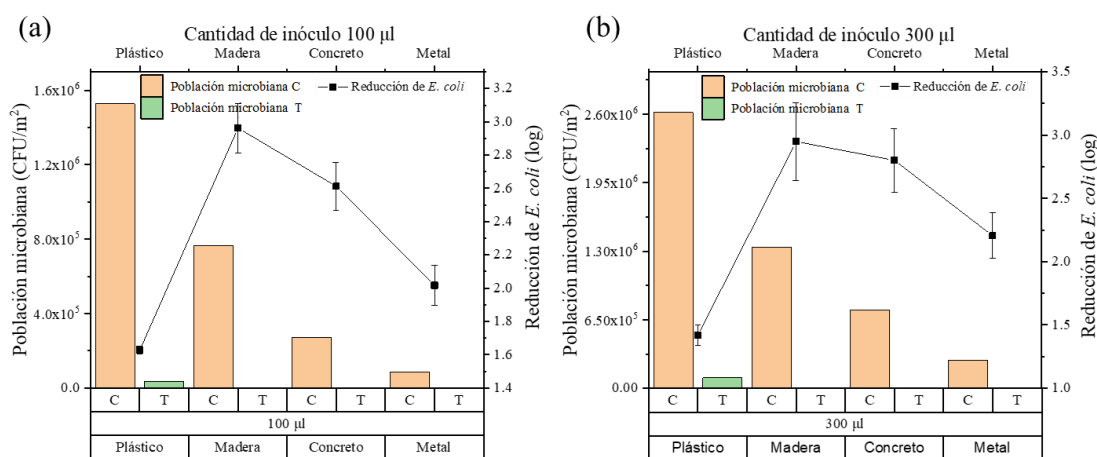


Figura 5.10 Efecto de las superficies sobre la inactivación microbiana con las siguientes condiciones de operación: V= -5.6kV, caudal= 1µl/min y distancia electrodo-cupón = 1 cm, tiempo de exposición = 40 min. (a) 100 µl de inóculo de *E. coli*, (b) 300 µl de inóculo de *E. coli*.

Este comportamiento indica que una superficie más lisa mantiene condiciones favorables para la presencia de *E. coli*. En cuanto a la diferencia entre el número total de

bacterias antes y después de probar superficies plásticas y metálicas, está asociada a los procesos de corrosión electroquímica en metales que se oxidan produciendo radicales libres OH^- que a su vez interactúan con los microorganismos (Bazli et al., 2020). Trabajos recientes (Chang et al., 2021; Wang et al., 2022) han demostrado que las superficies metálicas de acero y cobre poseen propiedades antimicrobianas basadas en mecanismos de corrosión atmosférica. Los análisis estadísticos también indican que existe una influencia significativa entre el tipo de superficie y la inactivación microbiana ($p < 0,05$). Se realizó una prueba adicional aumentando el inóculo de 100 μl a 300 μl (Tabla 5.5) y se encontraron comportamientos similares para todos los casos, aunque con una menor eficiencia de reducción para el plástico con una reducción de 1,42 log. Sin embargo, las diferencias entre ambos grupos no mostraron cambios significativos, por lo que incluso con una mayor carga de inóculo, las superficies siguen comportándose de manera similar.

Tabla 5.5 Datos de inactivación microbiana según el tipo de superficie para 100 μl y 300 μl de inóculo de *E. coli*

Tratamiento	Población celular	% inactivación	Reducción logarítmica	DST
Cantidad de inóculo (100 μl <i>E. coli</i>)				
Plastic	3.60E+04	97.64	1.63	0.02436041
Wood	8.33E+02	99.89	2.96	0.14857117
Concrete	6.67E+02	99.76	2.61	0.14355683
Metal	8.33E+02	99.04	2.02	0.12149651
Cantidad de inóculo (300 μl <i>E. coli</i>)				
Plastic	9.97E+04	96.19	1.42	0.07811281
Wood	1.50E+03	99.89	2.95	0.30754162
Concrete	1.17E+03	99.84	2.80	0.2504917
Metal	1.67E+03	99.38	2.20	0.180154058

Estos resultados indican que el uso de un sistema de electro-nanospray es un método eficaz de descontaminación de diferentes tipos de superficies que se encuentran comúnmente en los establos de animales.

5.5 Conclusiones

En el presente estudio, se evaluó la eficacia de EWNS para inactivar *E. coli* en cupones fabricados con materiales que se encuentran comúnmente en instalaciones de confinamiento de animales, como establos de cerdos. Se utilizó un sistema de electro-nanospray para investigar los parámetros operativos sobre la eficiencia del sistema. El uso de altos voltajes negativos resultó en una mayor inactivación microbiana. De manera similar, aumentar la distancia del cupón al contraelectrodo resultó en una mayor inactivación microbiana y, finalmente, un tiempo de exposición más prolongado resultó en una mayor inactivación. Las condiciones de operación con mayor eficiencia fueron un voltaje de -7.6 kV, una distancia de 8 cm del contraelectrodo a la superficie del cupón y un tiempo de exposición de 40 min, parámetros que se utilizaron para analizar el efecto de la inactivación microbiana sobre superficies de madera, concreto, plástico y metal. Se observó que las superficies más rugosas permiten una mayor inactivación microbiana en comparación con las superficies lisas, mientras que en el metal también se observó un efecto de inactivación mejorado resultante de los procesos de corrosión electroquímica en la superficie del metal.

Los resultados de nuestro estudio sirven como base para trabajos futuros sobre el uso de EWNS para la descontaminación de superficies en condiciones reales en instalaciones de confinamiento de animales donde serán necesarias otras y variadas condiciones a evaluar para comprender este fenómeno.

Capítulo 6: Conclusiones y perspectivas.

Durante este trabajo de investigación se abordaron algunos aspectos clave que ha experimentado la nanotecnología. Hoy en día, se están introduciendo nanoestructuras diversos tipos de nanoestructuras como los N-MWCNT y EWNS, entre otros que podrían superar a las tecnologías actuales. Estos avances nanotecnológicos son consecuencia directa de las características excepcionales que exhiben el carbono, así como el agua, y del conocimiento sobre cómo explotarlas para aplicaciones útiles. Las extraordinarias propiedades mecánicas, químicas y eléctricas que se han estudiado resultado de la investigación en nanotecnología, se está adaptando a las tecnologías preexistentes con la finalidad de potenciar, así como desarrollar nuevos enfoques.

No obstante el potencial de los materiales nanoestructurados aún está lejos de ser descubierto, ya que la investigación actual es solo gracias como resultado de las contribuciones previas.

En este sentido, el presente trabajo dos contribuciones importantes a modo de resultados de investigación: por un lado se desarrollaron nuestro nanoestructuras de carbono en forma de N-MWCNT y se caracterizó su actividad electroquímica y antimicrobiana, a la par que se realizó desarrolló un sistema de electro-nanosprayer para la síntesis de EWNS con la finalidad de analizar su uso acción antimicrobiana en función del tipo de superficie. No obstante a lo largo de los 5 capítulos anteriores se presentan otros aportes a modo de revisión bibliográfica sobre la nanotecnología y sus aplicaciones antimicrobianas, así como los mecanismos de actividad antimicrobiana de MWCNT y de EWNS. Los resultados generales de los capítulos se resumen a continuación:

Capítulo 1: Este capítulo presenta la nanotecnología como un campo multidisciplinario con aplicaciones potenciales en diversas industrias. Destaca las propiedades únicas de los materiales nanoestructurados y de sus mecanismos y aplicaciones antimicrobianas. También se incluyó la justificación, así como hipótesis y objetivos del presente trabajo de investigación.

Capítulo 2: Este capítulo enfatiza los efectos antimicrobianos de los CNT para inactivar organismos patógenos. La actividad antimicrobiana depende de sus características fisicoquímicas y de factores ambientales externos. Sin embargo, estos materiales aún se encuentran en fase de investigación por lo que es necesario optimizar su producción y establecer conexiones confiables entre sus efectos antimicrobianos y características específicas en la búsqueda de mejores propiedades antimicrobianas.

Capítulo 3: Este capítulo presenta un estudio sobre el efecto de la incorporación de nitrógeno en la síntesis de nanotubos de carbono de paredes múltiples (N-MWCNT) dopados con nitrógeno. El estudio encontró que el aumento de la cantidad de dimetilformamida (DMF) utilizada en el proceso de síntesis provoca cambios en la morfología, el diámetro y las propiedades físicas, químicas y electroquímicas de los materiales. El capítulo concluye que los nanotubos obtenidos pueden utilizarse para aplicaciones antimicrobianas y electroquímicas como resultado del dopaje. Sin embargo, se necesitan más estudios para evaluar la eficacia de los tratamientos antimicrobianos a partir de CNT y evaluar su toxicología.

Capítulo 4: Este capítulo enfatiza los efectos antimicrobianos de las EWNS para inactivar organismos patógenos. La actividad antimicrobiana se mostró dependiente de sus características fisicoquímicas y de factores ambientales externos. No obstante se debe trabajar sobre el control de las propiedades de estas nanoestructuras para sus efectos antimicrobianos y características específicas.

Capítulo 5: Este capítulo evalúa la eficacia de EWNS para inactivar *E. coli* en cupones elaborados con materiales que se encuentran comúnmente en instalaciones de confinamiento de animales. El estudio encontró que los altos voltajes negativos, el aumento de la distancia entre el cupón y el contraelectrodo, así como tiempos de exposición más prolongados daban como resultado una mayor inactivación microbiana. Los resultados sirven como base para trabajos futuros sobre el uso de EWNS para la descontaminación de superficies en condiciones reales en instalaciones de confinamiento de animales.

5.1 Contribuciones del trabajo de investigación

El objetivo de este estudio “Sintetizar y caracterizar N-MWCNTs y EWNS para evaluar el efecto de las propiedades fisicoquímicas sobre la actividad electroquímica y antimicrobiana de estas nanoestructuras como emergentes nanomateriales para aplicaciones biotecnológicas” se logró exitosamente y sus aportes más importantes son resumidos a continuación:

1. Se desarrolló una revisión bibliográfica sobre las propiedades antimicrobianas de los nanotubos de carbono. Hasta donde alcanza nuestro conocimiento la revisión presentada en el presente trabajo es la única revisión sobre el efecto antimicrobiano de los nanotubos de carbono en función de sus características, analizando de igual manera sus mecanismos de actividad antimicrobiana. De esta manera la revisión presentada es una herramienta útil para próximas investigaciones sobre nichos y oportunidades en esta área de investigación.

2. La síntesis y caracterización sistemática de N-MWCNT a partir de mezclas de Tolueno/DMF, así como sus propiedades antimicrobianas y electroquímicas es un trabajo novedoso en su totalidad. Desde los precursores utilizados hasta las propiedades aquí observadas, donde se destaca el efecto de la incorporación de nitrógeno sobre la estructura de los N-MWCNT, resultando en características electroquímicas mejoradas, como el cambio conductual de las muestras así como una actividad antimicrobiana mejorada.
3. El análisis a escala laboratorio sobre la síntesis de EWNS y su efecto sobre la inactivación de *E. coli* en diferentes superficies de granero es un enfoque novedoso y de última generación sobre el uso de electro-nanosprayers para la síntesis de nanoestructuras con potencial antimicrobiano, cuyas contribuciones serán fundamentales en el futuro próximo en esta área de investigación.

5.2 Resumen

De manera simplificada las más importantes conclusiones se enumeran a continuación:

A) N-MWCNT

1. Se sintetizaron Nanotubos de carbono dopados con nitrógeno (N-MWCNT) con un alto rendimiento a partir de mezclas de NN-dimetilformamida/tolueno con Ferroceno.
2. La NN-dimetilformamida impulsó la incorporación de nitrógeno sobre la superficie de N-MWCNT.
3. Los N-MWCNT fabricados muestran propiedades prometedoras para aplicaciones electroquímicas.
4. Los N-MWCNT mostraron actividad antimicrobiana potenciada en comparación con sus contrapartes sin dopar.

B) EWNS

1. Se desarrolló un sistema de electro-nanosprayer para la síntesis de EWNS.
2. El sistema electro-nanosprayer resultó efectivo para la inactivación de *Escherichia coli*.
3. La eficiencia del EWNS para desinfectar diferentes superficies; Se evaluó en Madera, Concreto, Plástico y Metal.
4. La eficiencia de inactivación fue mayor para la madera, seguida del concreto, el metal y el plástico con una reducción de hasta 2,96 log.

5. El tiempo de exposición resultó ser el parámetro más relevante para la inactivación de bacterias mediante EWNS.

5.3 Áreas de oportunidad

En este estudio se han encontrado diferentes áreas de oportunidad donde más investigaciones podrían promover una mejor comprensión de los mecanismos de actividad antimicrobiana de estos tipos de nanoestructuras. Éstas incluyen:

Para la síntesis de N-MWCNT

1. Caracterizaciones adicionales.

Aun cuando la caracterización de nuestros N-MWCNT fue más que extensa, es posible que caracterizaciones adicionales como el análisis de superficie BET o espectroscopia Uv-Vis podrían arrojar detalles notable a la hora de ligar la totalidad de hipótesis resultado de la caracterización de nuestros materiales.

2. Optimización del análisis de actividad antimicrobiana.

Como resultado de las limitaciones ocasionadas por la contingencia del COVID-19, así como factores externos, nos fue imposible realizar un estudio más profundo y sistemático sobre la actividad antimicrobiana de nuestros N-MWCNT. Si bien aun cuando se pueden establecer hipótesis generales resultado de los comportamientos encontrados en función de las caracterizaciones, la realización de un estudio específico donde se contrasten diferentes fases de interacciones como la fase líquida ayudarían a plantear hipótesis más fuertes y detalladas sobre los comportamientos observados.

Además, en términos generales aunque los resultados de las investigaciones sobre el efecto antibacteriano de las nanoestructuras parecen bastante prometedores, aún es demasiado pronto para que este tipo de materiales compitan con los materiales utilizados actualmente debido a la gran cantidad de impurezas así como a la heterogeneidad de las muestras, lo que podría afectar el desempeño antimicrobiano de este tipo de compuestos (**S. Liu et al., 2009**).

Es necesario que los futuros esfuerzos de investigación se centren en la producción a gran escala de CNT con alta pureza y grado de homogeneidad que conduzcan a una alta capacidad antimicrobiana cuya toxicidad sea selectiva para los patógenos de interés, minimizando así la toxicidad por exposición en células humanas. Las impurezas presentes en los CNT (ver carbono amorfo o resto de los catalizadores utilizados durante la síntesis) pueden llevar a una sobreestimación o subestimación de las propiedades antimicrobianas de los CNT, por lo que es imprescindible estandarizar

los procedimientos de síntesis, purificación y funcionalización para la obtención de CNT puros y/u homogéneos.

Mientras que para la síntesis de EWNS:

1. Caracterizaciones adicionales.

Por motivos de disponibilidad no fue posible realizar caracterizaciones más extensas para el análisis de la actividad antimicrobiana de EWNS en función del tipo de superficie. Sería deseable caracterizar de manera más profunda las superficies con el uso de técnicas como microscopía de fuerza atómica. En el mismo sentido caracterizar las superficies tratadas luego del proceso de inactivación microbiana, mediante microscopía SEM ayudaría a entender las dinámicas de interacciones EWNS-Bacteria para poder establecer hipótesis mejoradas sobre la actividad antimicrobiana. Finalmente pero no menos importante sería ideal caracterizar el tamaño de partícula de nuestras nanoestructuras como se ha hecho en estudios previos para fortalecer nuevamente el entendimiento sobre las posibles dinámicas de interacción en el sistema.

General:

Las perspectivas de Nanotubos de Carbono y Nanoestructuras de Agua Diseñadas para aplicaciones biológicas son sumamente prometedoras, a partir de los avances que la nanotecnología ha experimentado en los últimos años. Sin embargo, aun cuando se resolvieran los anteriores asuntos existe la necesidad de realizar más estudios que evalúen la eficacia de los tratamientos antimicrobianos a partir de EWNS y CNT, así como evaluar la toxicología de estos materiales con células animales para sopesar el riesgo-beneficio del uso de estos materiales. En este mismo sentido, las investigaciones futuras deberían centrarse principalmente en producir nanoestructuras cuyas características permitan su uso como agentes antimicrobianos a través de técnicas que permitan escalar su producción, así como abordar adecuadamente las preocupaciones relacionadas con su toxicidad y su posible destino ambiental.

Referencias

1. Akasaka, T., Matsuoka, M., Hashimoto, T., Abe, S., Uo, M., Watari, F., 2010. The bactericidal effect of carbon nanotube/agar composites irradiated with near-infrared light on *Streptococcus mutans*. Mater. Sci. Eng. B, 3rd International Conference on Science and Technology of Advanced Ceramics 173, 187–190. <https://doi.org/10.1016/j.mseb.2010.01.001>
2. Akasaka, T., Watari, F., 2009. Capture of bacteria by flexible carbon nanotubes. Acta Biomater. 5, 607–612. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2008.08.014>
3. Akhavan, O., Ghaderi, E., 2010. Toxicity of Graphene and Graphene Oxide Nanowalls Against Bacteria. ACS Nano 4, 5731–5736. <https://doi.org/10.1021/nn101390x>
4. Albini, A., Pagani, A., Pulze, L., Bruno, A., Principi, E., Congiu, T., Gini, E., Grimaldi, A., Bassani, B., De Flora, S., de Eguileor, M., Noonan, D.M., 2015. Environmental impact of multi-wall carbon nanotubes in a novel model of exposure: systemic distribution, macrophage accumulation, and amyloid deposition. Int. J. Nanomedicine 10, 6133–6145. <https://doi.org/10.2147/IJN.S85275>
5. Allaker, R.P., 2010. The use of nanoparticles to control oral biofilm formation. J. Dent. Res. 89, 1175–1186. <https://doi.org/10.1177/0022034510377794>
6. Almería, B., Deng, W., Fahmy, T.M., Gomez, A., 2010. Controlling the morphology of electrospray-generated PLGA microparticles for drug delivery. J. Colloid Interface Sci. 343, 125–133. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2009.10.002>
7. Alpatova, A.L., Shan, W., Babica, P., Upham, B.L., Rogensues, A.R., Masten, S.J., Drown, E., Mohanty, A.K., Alocilja, E.C., Tarabara, V.V., 2010. Single-walled carbon nanotubes dispersed in aqueous media via non-covalent functionalization: Effect of dispersant on the stability, cytotoxicity, and epigenetic toxicity of nanotube suspensions. Water Res., Emerging Contaminants in water: Occurrence, fate, removal and assessment in the water cycle (from wastewater to drinking water) 44, 505–520. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2009.09.042>
8. Al-Rabadi, A., Mousa, M., 2012. Field emission - based many-valued processing using carbon nanotube controlled switches - Part 2: Architecture effectuation. <https://doi.org/10.2298/FUEE1201015A>
9. Arias, L.R., Yang, L., 2009. Inactivation of Bacterial Pathogens by Carbon Nanotubes in Suspensions. Langmuir 25, 3003–3012. <https://doi.org/10.1021/la802769m>
10. Arjmand, M., Chizari, K., Krause, B., Pötschke, P., Sundararaj, U., 2016. Effect of synthesis catalyst on structure of nitrogen-doped carbon nanotubes and electrical conductivity and electromagnetic interference shielding of their polymeric nanocomposites. Carbon 98, 358–372. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2015.11.024>
11. Aslan, S., Loebick, C.Z., Kang, S., Elimelech, M., Pfefferle, L.D., Van Tassel, P.R., 2010. Antimicrobial biomaterials based on carbon nanotubes dispersed in poly(lactic-co-glycolic acid). Nanoscale 2, 1789–1794. <https://doi.org/10.1039/c0nr00329h>
12. ATCC, 2023. Escherichia coli (Migula) Castellani and Chalmers - 27325 | ATCC [WWW Document]. URL <https://www.atcc.org/products/27325> (accessed 5.15.23).
13. Ates, B., Koytepe, S., Ulu, A., Gurses, C., Thakur, V.K., 2020. Chemistry,

- Structures, and Advanced Applications of Nanocomposites from Biorenewable Resources. *Chem. Rev.* 120, 9304–9362. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.9b00553>
14. Bachtold, A., 2001. Logic Circuits with Carbon Nanotube Transistors. *Science* 294, 1317–1320. <https://doi.org/10.1126/science.1065824>
 15. Bai, Y., Zhang, Y., Zhang, J., Mu, Q., Zhang, W., Butch, E.R., Snyder, S.E., Yan, B., 2010. Repeated administrations of carbon nanotubes in male mice cause reversible testis damage without affecting fertility. *Nat. Nanotechnol.* 5, 683–689. <https://doi.org/10.1038/nnano.2010.153>
 16. Barabadi, H., Mojab, F., Vahidi, H., Marashi, B., Talank, N., Hosseini, O., Saravanan, M., 2021. Green synthesis, characterization, antibacterial and biofilm inhibitory activity of silver nanoparticles compared to commercial silver nanoparticles. *Inorg. Chem. Commun.* 129, 108647. <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108647>
 17. Barhoum, A., El-Maghrabi, H.H., Iatsunskyi, I., Coy, E., Renard, A., Salameh, C., Weber, M., Sayegh, S., Nada, A.A., Roualdes, S., Bechelany, M., 2020. Atomic layer deposition of Pd nanoparticles on self-supported carbon-Ni/NiO-Pd nanofiber electrodes for electrochemical hydrogen and oxygen evolution reactions. *J. Colloid Interface Sci.* 569, 286–297. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2020.02.063>
 18. Barhoum, A., García-Betancourt, M.L., Jeevanandam, J., Hussien, E.A., Mekkawy, S.A., Mostafa, M., Omran, M.M., S. Abdalla, M., Bechelany, M., 2022. Review on Natural, Incidental, Bioinspired, and Engineered Nanomaterials: History, Definitions, Classifications, Synthesis, Properties, Market, Toxicities, Risks, and Regulations. *Nanomaterials* 12, 177. <https://doi.org/10.3390/nano12020177>
 19. Baughman, R.H., 1999. Carbon Nanotube Actuators. *Science* 284, 1340–1344. <https://doi.org/10.1126/science.284.5418.1340>
 20. Bayda, S., Adeel, M., Tuccinardi, T., Cordani, M., Rizzolio, F., 2020. The History of Nanoscience and Nanotechnology: From Chemical–Physical Applications to Nanomedicine. *Molecules* 25, 112. <https://doi.org/10.3390/molecules25010112>
 21. Bazli, L., Yusuf, M., Farahani, A., Kiamarzi, M., Seyedhosseini, Z., Nezhadmansari, M., Aliasghari, M., Iranpoor, M., 2020. Application of composite conducting polymers for improving the corrosion behavior of various substrates: A Review. *J. Compos. Compd.* 2, 228–240. <https://doi.org/10.29252/jcc.2.4.7>
 22. Bokobza, L., Bruneel, J.-L., Couzi, M., 2015. Raman Spectra of Carbon-Based Materials (from Graphite to Carbon Black) and of Some Silicone Composites. *C* 1, 77–94. <https://doi.org/10.3390/c1010077>
 23. Bolo, R.E., 2023. Evaluation of a Pilot-Scale Electro-nanospray System for Decontaminating Pig Barns (Thesis). University of Saskatchewan.
 24. Brady-Estévez, A.S., Kang, S., Elimelech, M., 2008. A single-walled-carbon-nanotube filter for removal of viral and bacterial pathogens. *Small Weinh. Bergstr. Ger.* 4, 481–484. <https://doi.org/10.1002/sml.200700863>
 25. Brady-Estévez, A.S., Nguyen, T.H., Gutierrez, L., Elimelech, M., 2010. Impact of solution chemistry on viral removal by a single-walled carbon nanotube filter. *Water Res.* 44, 3773–3780. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2010.04.023>
 26. Brundle, C.R., Evans, C.A., Wilson, S., 1992. *Encyclopedia of Materials*

- Characterization: Surfaces, Interfaces, Thin Films. Gulf Professional Publishing.
27. Bukhari, A., Ijaz, I., Gilani, E., Nazir, A., Zain, H., Saeed, R., Alarfaji, S.S., Hussain, S., Aftab, R., Naseer, Y., 2021. Green Synthesis of Metal and Metal Oxide Nanoparticles Using Different Plants' Parts for Antimicrobial Activity and Anticancer Activity: A Review Article. *Coatings* 11, 1374. <https://doi.org/10.3390/coatings11111374>
 28. Butler, J.E., Sumant, A.V., 2008. The CVD of Nanodiamond Materials. *Chem. Vap. Depos.* 14, 145–160. <https://doi.org/10.1002/cvde.200700037>
 29. Calvert, P., 1999. A recipe for strength. *Nature* 399, 210. <https://doi.org/10.1038/20326>
 30. Castellani, A., Chalmers, A.J., 1919. *Manual of tropical medicine*, 3d ed. ed. Baillière, Tindall and Cox, London. <https://doi.org/10.5962/bhl.title.84653>
 31. Cavassin, E.D., de Figueiredo, L.F.P., Otoch, J.P., Seckler, M.M., de Oliveira, R.A., Franco, F.F., Marangoni, V.S., Zucolotto, V., Levin, A.S.S., Costa, S.F., 2015. Comparison of methods to detect the in vitro activity of silver nanoparticles (AgNP) against multidrug resistant bacteria. *J. Nanobiotechnology* 13, 64. <https://doi.org/10.1186/s12951-015-0120-6>
 32. Chang, T., Butina, K., Herting, G., Rajarao, G.K., Richter-Dahlfors, A., Blomberg, E., Odnevall Wallinder, I., Leygraf, C., 2021. The interplay between atmospheric corrosion and antimicrobial efficiency of Cu and Cu₅Zn₅Al₁Sn during simulated high-touch conditions. *Corros. Sci.* 185, 109433. <https://doi.org/10.1016/j.corsci.2021.109433>
 33. Charon, E., Pinault, M., Mayne-L'Hermite, M., Reynaud, C., 2021. One-step synthesis of highly pure and well-crystallized vertically aligned carbon nanotubes. *Carbon* 173, 758–768. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2020.10.056>
 34. Che, R., Peng, L.-M., Chen, Q., Duan, X., Gu, Z., 2003. Fe₂O₃ particles encapsulated inside aligned CN_x nanotubes. *Appl. Phys. Lett.* 82, 3319–3321. <https://doi.org/10.1063/1.1574399>
 35. Chen, H., Wang, B., Gao, D., Guan, M., Zheng, L., Ouyang, H., Chai, Z., Zhao, Y., Feng, W., 2013. Broad-spectrum antibacterial activity of carbon nanotubes to human gut bacteria. *Small Weinh. Bergstr. Ger.* 9, 2735–2746. <https://doi.org/10.1002/sml.201202792>
 36. Chen, J., Liu, B., Gao, X., Xu, D., 2018. A review of the interfacial characteristics of polymer nanocomposites containing carbon nanotubes. *RSC Adv.* 8, 28048–28085. <https://doi.org/10.1039/C8RA04205E>
 37. Choi, O., Hu, Z., 2008. Size dependent and reactive oxygen species related nanosilver toxicity to nitrifying bacteria. *Environ. Sci. Technol.* 42, 4583–4588. <https://doi.org/10.1021/es703238h>
 38. Colbert, D.T., 2003. Single-wall nanotubes: A new option for conductive plastics and engineering polymers. [https://doi.org/10.1016/S1464-391X\(03\)80069-7](https://doi.org/10.1016/S1464-391X(03)80069-7)
 39. Créach, V., Baudoux, A.C., Bertru, G., Rouzic, B.L., 2003. Direct estimate of active bacteria: CTC use and limitations. *J. Microbiol. Methods* 52, 19–28. [https://doi.org/10.1016/s0167-7012\(02\)00128-8](https://doi.org/10.1016/s0167-7012(02)00128-8)
 40. Cui, H.-F., Vashist, S.K., Al-Rubeaan, K., Luong, J.H.T., Sheu, F.-S., 2010. Interfacing Carbon Nanotubes with Living Mammalian Cells and Cytotoxicity Issues. *Chem. Res. Toxicol.* 23, 1131–1147. <https://doi.org/10.1021/tx100050h>
 41. Dai, H., 2002. Carbon nanotubes: opportunities and challenges. *Surf. Sci.* 500, 218–241. [https://doi.org/10.1016/S0039-6028\(01\)01558-8](https://doi.org/10.1016/S0039-6028(01)01558-8)
 42. Das, A., Pisana, S., Chakraborty, B., Piscanec, S., Saha, S.K., Waghmare, U.V.,

- Novoselov, K.S., Krishnamurthy, H.R., Geim, A.K., Ferrari, A.C., Sood, A.K., 2008. Monitoring dopants by Raman scattering in an electrochemically top-gated graphene transistor. *Nat. Nanotechnol.* 3, 210–215. <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.67>
43. De Belie, N., Lenehan, J.J., Braam, C.R., Svennerstedt, B., Richardson, M., Sonck, B., 2000a. Durability of Building Materials and Components in the Agricultural Environment, Part III: Concrete Structures. *J. Agric. Eng. Res.* 76, 3–16. <https://doi.org/10.1006/jaer.1999.0520>
44. De Belie, N., Richardson, M., Braam, C.R., Svennerstedt, B., Lenehan, J.J., Sonck, B., 2000b. Durability of Building Materials and Components in the Agricultural Environment: Part I, The agricultural environment and timber structures. *J. Agric. Eng. Res.* 75, 225–241. <https://doi.org/10.1006/jaer.1999.0505>
45. De Belie, N., Sonck, B., Braam, C.R., Lenehan, J.J., Svennerstedt, B., Richardson, M., 2000c. Durability of Building Materials and Components in the Agricultural Environment, Part II: Metal Structures. *J. Agric. Eng. Res.* 75, 333–347. <https://doi.org/10.1006/jaer.1999.0521>
46. de Heer, W.A., Ch telain, A., Ugarte, D., 1995. A Carbon Nanotube Field-Emission Electron Source. *Science* 270, 1179–1180. <https://doi.org/10.1126/science.270.5239.1179>
47. de Rooij, M.M.T., Hoek, G., Schmitt, H., Janse, I., Swart, A., Maassen, C.B.M., Schalk, M., Heederik, D.J.J., Wouters, I.M., 2019. Insights into Livestock-Related Microbial Concentrations in Air at Residential Level in a Livestock Dense Area. *Environ. Sci. Technol.* 53, 7746–7758. <https://doi.org/10.1021/acs.est.8b07029>
48. Deepak, F.L., John, N.S., Govindaraj, A., Kulkarni, G.U., Rao, C.N.R., 2005. Nature and electronic properties of Y-junctions in CNTs and N-doped CNTs obtained by the pyrolysis of organometallic precursors. *Chem. Phys. Lett.* 411, 468–473. <https://doi.org/10.1016/j.cplett.2005.06.076>
49. Dong, L., Henderson, A., Field, C., 2012. Antimicrobial Activity of Single-Walled Carbon Nanotubes Suspended in Different Surfactants. *J. Nanotechnol.* 2012. <https://doi.org/10.1155/2012/928924>
50. Donham, K., Haglind, P., Peterson, Y., Rylander, R., Belin, L., 1989. Environmental and health studies of farm workers in Swedish swine confinement buildings. *Occup. Environ. Med.* 46, 31–37. <https://doi.org/10.1136/oem.46.1.31>
51. Dresselhaus, M.S., 1997. Future Directions in Carbon Science. *Annu. Rev. Mater. Sci.* 27, 1–34. <https://doi.org/10.1146/annurev.matsci.27.1.1>
52. Dresselhaus, M.S., Dresselhaus, G., Saito, R., Jorio, A., 2005. Raman spectroscopy of carbon nanotubes. *Phys. Rep.* 409, 47–99. <https://doi.org/10.1016/j.physrep.2004.10.006>
53. Elgrishi, N., Rountree, K.J., McCarthy, B.D., Rountree, E.S., Eisenhart, T.T., Dempsey, J.L., 2018. A Practical Beginner’s Guide to Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* 95, 197–206. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>
54. Endo, M., Kim, Y.A., Hayashi, T., Nishimura, K., Matusita, T., Miyashita, K., Dresselhaus, M.S., 2001. Vapor-grown carbon fibers (VGCFs): Basic properties and their battery applications. *Carbon* 39, 1287–1297. [https://doi.org/10.1016/S0008-6223\(00\)00295-5](https://doi.org/10.1016/S0008-6223(00)00295-5)
55. Essawy, H.A., El-Sabbagh, S.H., Tawfik, M.E., Van Assche, G., Barhoum, A., 2018. Assessment of provoked compatibility of NBR/SBR polymer blend with

- montmorillonite amphiphiles from the thermal degradation kinetics. *Polym. Bull.* 75, 1417–1430. <https://doi.org/10.1007/s00289-017-2103-2>
56. Fedorovskaya, E.O., Bulusheva, L.G., Kurenaya, A.G., Asanov, I.P., Okotrub, A.V., 2016. Effect of oxidative treatment on the electrochemical properties of aligned multi-walled carbon nanotubes. *Russ. J. Electrochem.* 52, 441–448. <https://doi.org/10.1134/S1023193516050049>
 57. Feng, J.-M., Li, Y.-L., Hou, F., Zhong, X.-H., 2008. Controlled growth of high quality bamboo carbon nanotube arrays by the double injection chemical vapor deposition process. *Mater. Sci. Eng. A* 473, 238–243. <https://doi.org/10.1016/j.msea.2007.04.079>
 58. Feng, Z., Lin, Y., Tian, C., Hu, H., Su, D., 2019. Combined study of the ground and excited states in the transformation of nanodiamonds into carbon onions by electron energy-loss spectroscopy. *Sci. Rep.* 9, 3784. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40529-2>
 59. Ferdous, Z., Nemmar, A., 2020. Health Impact of Silver Nanoparticles: A Review of the Biodistribution and Toxicity Following Various Routes of Exposure. *Int. J. Mol. Sci.* 21, 2375. <https://doi.org/10.3390/ijms21072375>
 60. Firme, C., Bandaru, P., 2009. Toxicity issues in the application of carbon nanotubes to biological systems. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 6, 245–56. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2009.07.003>
 61. Freeland, G., Hettiarachchy, N., Atungulu, G.G., Apple, J., Mukherjee, S., 2023. Strategies to Combat Antimicrobial Resistance from Farm to Table. *Food Rev. Int.* 39, 27–40. <https://doi.org/10.1080/87559129.2021.1893744>
 62. Fujita, K., Fukuda, M., Endoh, S., Maru, J., Kato, H., Nakamura, A., Shinohara, N., Uchino, K., Honda, K., 2015. Size effects of single-walled carbon nanotubes on in vivo and in vitro pulmonary toxicity. *Inhal. Toxicol.* 27, 207–223. <https://doi.org/10.3109/08958378.2015.1026620>
 63. Ghosh, P., Soga, T., Ghosh, K., Afre, R.A., Jimbo, T., Ando, Y., 2008. Vertically aligned N-doped carbon nanotubes by spray pyrolysis of turpentine oil and pyridine derivative with dissolved ferrocene. *J. Non-Cryst. Solids* 354, 4101–4106. <https://doi.org/10.1016/j.jnoncrysol.2008.05.053>
 64. Goel, S., Hawi, S., Goel, G., Thakur, V.K., Agrawal, A., Hoskins, C., Pearce, O., Hussain, T., Upadhyaya, H.M., Cross, G., Barber, A.H., 2020. Resilient and agile engineering solutions to address societal challenges such as coronavirus pandemic. *Mater. Today Chem.* 17, 100300. <https://doi.org/10.1016/j.mtchem.2020.100300>
 65. Golberg, D., Bando, Y., Bourgeois, L., Kurashima, K., Sato, T., 2000. Large-scale synthesis and HRTEM analysis of single-walled B- and N-doped carbon nanotube bundles. *Carbon* 38, 2017–2027.
 66. Goldstein, J., Newbury, D.E., Joy, D.C., Lyman, C.E., Echlin, P., Lifshin, E., Sawyer, L., Michael, J.R., 2003. *Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis: Third Edition*, 3rd ed. Springer US.
 67. Gorczyca, A., Kasprowicz, M.J., Lemek, T., 2014. The physiological effects of multi-walled carbon nanotubes (MWCNTs) on conidia and the development of the entomopathogenic fungus, *Metarhizium anisopliae* (Metsch.) Sorok. *J. Environ. Sci. Health Part A Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.* 49, 741–752. <https://doi.org/10.1080/10934529.2014.867217>
 68. Gunawan, C., Teoh, W.Y., Marquis, C.P., Amal, R., 2011. Cytotoxic origin of copper(II) oxide nanoparticles: comparative studies with micron-sized particles, leachate, and metal salts. *ACS Nano* 5, 7214–7225.

- <https://doi.org/10.1021/nn2020248>
69. Gurunathan, S., Han, J.W., Dayem, A.A., Eppakayala, V., Kim, J.-H., 2012. Oxidative stress-mediated antibacterial activity of graphene oxide and reduced graphene oxide in *Pseudomonas aeruginosa*. *Int. J. Nanomedicine* 7, 5901–5914. <https://doi.org/10.2147/IJN.S37397>
 70. Hachimi, A., Merzougui, B., Hakeem, A., Laoui, T., Swain, G.M., Chang, Q., Shao, M., Atieh, M.A., 2015. Synthesis of Nitrogen-Doped Carbon Nanotubes Using Injection-Vertical Chemical Vapor Deposition: Effects of Synthesis Parameters on the Nitrogen Content. *J. Nanomater.* 2015, e453725. <https://doi.org/10.1155/2015/453725>
 71. Han, W.-Q., Kohler-Redlich, P., Seeger, T., Ernst, F., Rühle, M., Grobert, N., Hsu, W.-K., Chang, B.-H., Zhu, Y.-Q., Kroto, H.W., Walton, D.R.M., Terrones, M., Terrones, H., 2000. Aligned CN_x nanotubes by pyrolysis of ferrocene/C60 under NH₃ atmosphere. *Appl. Phys. Lett.* 77, 1807–1809. <https://doi.org/10.1063/1.1311813>
 72. Hao, X.X., Li, B.M., Zhang, Q., Lin, B.Z., Ge, L.P., Wang, C.Y., Cao, W., 2013. Disinfection effectiveness of slightly acidic electrolysed water in swine barns. *J. Appl. Microbiol.* 115, 703–710. <https://doi.org/10.1111/jam.12274>
 73. Harutyunyan, A.R., 2009. The Catalyst for Growing Single-Walled Carbon Nanotubes by Catalytic Chemical Vapor Deposition Method. *J. Nanosci. Nanotechnol.* 9, 2480–2495. <https://doi.org/10.1166/jnn.2009.1297>
 74. Hassan, L., Martincigh, B., Omondi, B., Nyamori, V., 2017. Advances in carbon nanotubes as efficacious supports for palladium-catalysed carbon–carbon cross-coupling reactions. *J. Mater. Sci.* 52. <https://doi.org/10.1007/s10853-017-1128-0>
 75. Hsieh, H.-S., Wu, R., Jafvert, C.T., 2014. Light-Independent Reactive Oxygen Species (ROS) Formation through Electron Transfer from Carboxylated Single-Walled Carbon Nanotubes in Water. *Environ. Sci. Technol.* 48, 11330–11336. <https://doi.org/10.1021/es503163w>
 76. Huang, R., Vaze, N., Soorneedi, A., Moore, M.D., Luo, Y., Poverenov, E., Rodov, V., Demokritou, P., 2021. A novel antimicrobial technology to enhance food safety and quality of leafy vegetables using engineered water nanostructures. *Environ. Sci. Nano* 8, 514–526. <https://doi.org/10.1039/D0EN00814A>
 77. Huang, R., Vaze, N., Soorneedi, A., Moore, M.D., Xue, Y., Bello, D., Demokritou, P., 2019. Inactivation of Hand Hygiene-Related Pathogens Using Engineered Water Nanostructures. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 7, 19761–19769. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.9b05057>
 78. Iijima, S., 1991. Helical microtubules of graphitic carbon. *Nature* 354, 56–58. <https://doi.org/10.1038/354056a0>
 79. Imani, S.M., Ladouceur, L., Marshall, T., Maclachlan, R., Soleymani, L., Didar, T.F., 2020. Antimicrobial Nanomaterials and Coatings: Current Mechanisms and Future Perspectives to Control the Spread of Viruses Including SARS-CoV-2. *ACS Nano* 14, 12341–12369. <https://doi.org/10.1021/acsnano.0c05937>
 80. Jaworek, A., Sobczyk, A.T., 2008. Electrospraying route to nanotechnology: An overview. *J. Electrostat.* 66, 197–219. <https://doi.org/10.1016/j.elstat.2007.10.001>
 81. Jeevanandam, J., Barhoum, A., Chan, Y.S., Dufresne, A., Danquah, M.K., 2018. Review on nanoparticles and nanostructured materials: history, sources, toxicity and regulations. *Beilstein J. Nanotechnol.* 9, 1050–1074. <https://doi.org/10.3762/bjnano.9.98>

82. Jeevanandam, J., Sundaramurthy, A., Sharma, V., Murugan, C., Pal, K., Abdel Kodous, M.H., Danquah, M.K., 2020. Chapter 4 - Sustainability of One-Dimensional Nanostructures: Fabrication and Industrial Applications, in: Szekely, G., Livingston, A. (Eds.), *Sustainable Nanoscale Engineering*. Elsevier, pp. 83–113. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814681-1.00004-7>
83. Ji, W.-O., Lee, M.-H., Kim, G.-H., Kim, E.-H., 2019. Quantitation of the ROS production in plasma and radiation treatments of biotargets. *Sci. Rep.* 9, 19837. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-56160-0>
84. Jimenez-Ramirez, L.E., Kashina, S., Galindo, R., Fuentes-Ramirez, R., Verma, S.K., Fajardo-Diaz, J.L., López-Urías, F., Muñoz-Sandoval, E., 2020. Synthesis, morphology, magnetic and electrochemical studies of nitrogen-doped multiwall carbon nanotubes fabricated using banded iron-formation as catalyst. *J. Alloys Compd.* 835, 155200. <https://doi.org/10.1016/j.jallcom.2020.155200>
85. Jin, H., Guo, C., Liu, X., Liu, J., Vasileff, A., Jiao, Y., Zheng, Y., Qiao, S.-Z., 2018. Emerging Two-Dimensional Nanomaterials for Electrocatalysis. *Chem. Rev.* 118, 6337–6408. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.7b00689>
86. Jorio, A., Dresselhaus, G., Dresselhaus, M.S. (Eds.), 2008. *Carbon Nanotubes: Advanced Topics in the Synthesis, Structure, Properties and Applications, Topics in Applied Physics*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
87. Josset, S., Keller, N., Lett, M.-C., Ledoux, M.J., Keller, V., 2008. Numeration methods for targeting photoactive materials in the UV-A photocatalytic removal of microorganisms. *Chem. Soc. Rev.* 37, 744–755. <https://doi.org/10.1039/b711748p>
88. Kagan, V.E., Tyurina, Y.Y., Tyurin, V.A., Konduru, N.V., Potapovich, A.I., Osipov, A.N., Kisin, E.R., Schwegler-Berry, D., Mercer, R., Castranova, V., Shvedova, A.A., 2006. Direct and indirect effects of single walled carbon nanotubes on RAW 264.7 macrophages: role of iron. *Toxicol. Lett.* 165, 88–100. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2006.02.001>
89. Kang, S., Herzberg, M., Rodrigues, D.F., Elimelech, M., 2008a. Antibacterial Effects of Carbon Nanotubes: Size Does Matter! *Langmuir* 24, 6409–6413. <https://doi.org/10.1021/la800951v>
90. Kang, S., Mauter, M.S., Elimelech, M., 2009. Microbial Cytotoxicity of Carbon-Based Nanomaterials: Implications for River Water and Wastewater Effluent. *Environ. Sci. Technol.* 43, 2648–2653. <https://doi.org/10.1021/es8031506>
91. Kang, S., Mauter, M.S., Elimelech, M., 2008b. Physicochemical Determinants of Multiwalled Carbon Nanotube Bacterial Cytotoxicity. *Environ. Sci. Technol.* 42, 7528–7534. <https://doi.org/10.1021/es8010173>
92. Kang, S., Pinault, M., Pfefferle, L.D., Elimelech, M., 2007. Single-Walled Carbon Nanotubes Exhibit Strong Antimicrobial Activity. *Langmuir* 23, 8670–8673. <https://doi.org/10.1021/la701067r>
93. Karimi, M., Solati, N., Ghasemi, A., Estiar, M.A., Hashemkhani, M., Kiani, P., Mohamed, E., Saeidi, A., Taheri, M., Avci, P., Aref, A.R., Amiri, M., Baniasadi, F., Hamblin, M.R., 2015. Carbon nanotubes part II: a remarkable carrier for drug and gene delivery. *Expert Opin. Drug Deliv.* 12, 1089–1105. <https://doi.org/10.1517/17425247.2015.1004309>
94. Kaufmann, 2003. *Characterization of Materials*, 2nd Edition [WWW Document]. AZoM.com. URL <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=7172> (accessed 6.24.19).
95. Kaweeterawat, C., Na Ubol, P., Sangmuang, S., Aueviriyavit, S.,

- Maniratanachote, R., 2017. Mechanisms of antibiotic resistance in bacteria mediated by silver nanoparticles. *J. Toxicol. Environ. Health A* 80, 1276–1289. <https://doi.org/10.1080/15287394.2017.1376727>
96. Khan, Ibrahim, Saeed, K., Khan, Idrees, 2019. Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arab. J. Chem.* 12, 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
 97. Khan, M.K.I., Nazir, A., Maan, A.A., 2017. Electrospraying: a Novel Technique for Efficient Coating of Foods. *Food Eng. Rev.* 9, 112–119. <https://doi.org/10.1007/s12393-016-9150-6>
 98. Khatami, M., Varma, R.S., Zafarnia, N., Yaghoobi, H., Sarani, M., Kumar, V.G., 2018. Applications of green synthesized Ag, ZnO and Ag/ZnO nanoparticles for making clinical antimicrobial wound-healing bandages. *Sustain. Chem. Pharm.* 10, 9–15. <https://doi.org/10.1016/j.scp.2018.08.001>
 99. Kim, J.S., Kuk, E., Yu, K.N., Kim, J.-H., Park, S.J., Lee, H.J., Kim, S.H., Park, Y.K., Park, Y.H., Hwang, C.-Y., Kim, Y.-K., Lee, Y.-S., Jeong, D.H., Cho, M.-H., 2007. Antimicrobial effects of silver nanoparticles. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 3, 95–101. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2006.12.001>
 100. Kim, J.-W., Shashkov, E.V., Galanzha, E.I., Kotagiri, N., Zharov, V.P., 2007. Photothermal antimicrobial nanotherapy and nanodiagnostics with self-assembling carbon nanotube clusters. *Lasers Surg. Med.* 39, 622–634. <https://doi.org/10.1002/lsm.20534>
 101. Kim, T.-H., Kim, M., Park, H.-S., Shin, U.S., Gong, M.-S., Kim, H.-W., 2012. Size-dependent cellular toxicity of silver nanoparticles. *J. Biomed. Mater. Res. A* 100, 1033–1043. <https://doi.org/10.1002/jbm.a.34053>
 102. Korusenko, P.M., Nesov, S.N., Iurchenkova, A.A., Fedorovskaya, E.O., Bolotov, V.V., Povoroznyuk, S.N., Smirnov, D.A., Vinogradov, A.S., 2021. Comparative Study of the Structural Features and Electrochemical Properties of Nitrogen-Containing Multi-Walled Carbon Nanotubes after Ion-Beam Irradiation and Hydrochloric Acid Treatment. *Nanomater. Basel Switz.* 11, 2163. <https://doi.org/10.3390/nano11092163>
 103. Krishnamoorthy, K., Umasuthan, N., Mohan, R., Lee, J., Kim, S.-J., 2012. Antibacterial Activity of Graphene Oxide Nanosheets. *Sci. Adv. Mater.* 4, 1–7. <https://doi.org/10.1166/sam.2012.1402>
 104. Krupa, A., Jaworek, A., Szudyga, M., Czech, T., Sobczyk, A.T., Marchewicz, A., Antes, T., Balachandran, W., Beleca, R., Natale, F.D., D'Addio, L., 2016. Diesel Nanoparticles Removal by Charged Spray 6.
 105. Kunadian, I., Lipka, S., Swartz, C., Qian, D., Andrews, R., 2009. Determination of Carrier Densities of Boron and Nitrogen-Doped Multiwalled Carbon Nanotubes Using Mott–Schottky Plots. *J. Electrochem. Soc. - J ELECTROCHEM SOC* 156. <https://doi.org/10.1149/1.3111032>
 106. Kuznetsov, V., Bokova-Sirosh, S., Moseenkov, S.I., Ishchenko, A., Krasnikov, D., Kazakova (Shuvaeva), M., Romanenko, A., Tkachev, E., 2014. Raman spectra for characterization of defective CVD multi-walled carbon nanotubes. *Phys. Status Solidi B* 251. <https://doi.org/10.1002/pssb.201451195>
 107. Kyriacou, S.V., Brownlow, W.J., Xu, X.-H.N., 2004. Using nanoparticle optics assay for direct observation of the function of antimicrobial agents in single live bacterial cells. *Biochemistry* 43, 140–147. <https://doi.org/10.1021/bi0351110>
 108. Lara-Romero, J., Campos-García, J., Dasgupta-Schubert, N., Borjas-García, S., Tiwari, D., Paraguay-Delgado, F., Jiménez-Sandoval, S., Alonso-Núñez, G.,

- Gómez-Romero, M., Lindig-Cisneros, R., Reyes De la Cruz, H., Villegas, J.A., 2017. Biological effects of carbon nanotubes generated in forest wildfire ecosystems rich in resinous trees on native plants. *PeerJ* 5. <https://doi.org/10.7717/peerj.3658>
109. Lawrence, J.R., Waiser, M.J., Swerhone, G.D.W., Roy, J., Tumber, V., Paule, A., Hitchcock, A.P., Dynes, J.J., Korber, D.R., 2016. Effects of fullerene (C60), multi-wall carbon nanotubes (MWCNT), single wall carbon nanotubes (SWCNT) and hydroxyl and carboxyl modified single wall carbon nanotubes on riverine microbial communities. *Environ. Sci. Pollut. Res. Int.* 23, 10090–10102. <https://doi.org/10.1007/s11356-016-6244-x>
 110. Lee, Y.T., Kim, N.S., Bae, S.Y., Park, J., Yu, S.-C., Ryu, H., Lee, H.J., 2003. Growth of Vertically Aligned Nitrogen-Doped Carbon Nanotubes: Control of the Nitrogen Content over the Temperature Range 900–1100 °C. *J. Phys. Chem. B* 107, 12958–12963. <https://doi.org/10.1021/jp0274536>
 111. Li, C., Wang, X., Chen, F., Zhang, C., Zhi, X., Wang, K., Cui, D., 2013. The antifungal activity of graphene oxide–silver nanocomposites. *Biomaterials* 34, 3882–3890. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2013.02.001>
 112. Liu, D., Mao, Y., Ding, L., 2018. Carbon nanotubes as antimicrobial agents for water disinfection and pathogen control. *J. Water Health* 16, 171–180. <https://doi.org/10.2166/wh.2018.228>
 113. Liu, H., Zhang, Y., Li, R., Sun, X., Abou-Rachid, H., 2012. Thermal and chemical durability of nitrogen-doped carbon nanotubes. *J. Nanoparticle Res.* 14. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1016-0>
 114. Liu, J., Li, Q., Zou, Y., Qian, Q., Jin, Y., Li, G., Jiang, K., Fan, S., 2013. The Dependence of Graphene Raman D-band on Carrier Density. *Nano Lett.* 13, 6170–6175. <https://doi.org/10.1021/nl4035048>
 115. Liu, S., Wei, L., Hao, L., Fang, N., Chang, M.W., Xu, R., Yang, Y., Chen, Y., 2009. Sharper and Faster “Nano Darts” Kill More Bacteria: A Study of Antibacterial Activity of Individually Dispersed Pristine Single-Walled Carbon Nanotube. *ACS Nano* 3, 3891–3902. <https://doi.org/10.1021/nn901252r>
 116. Liu, W., Au, D.W.T., Anderson, D.M., Lam, P.K.S., Wu, R.S.S., 2007. Effects of nutrients, salinity, pH and light:dark cycle on the production of reactive oxygen species in the alga *Chattonella marina*. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* 346, 76–86. <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2007.03.007>
 117. Liu, X., Gurel, V., Morris, D., Murray, D.W., Zhitkovich, A., Kane, A.B., Hurt, R.H., 2007. Bioavailability of Nickel in Single-Wall Carbon Nanotubes. *Adv. Mater.* 19, 2790–2796. <https://doi.org/10.1002/adma.200602696>
 118. Liu, X., Zhang, Y., li, J., Wang, D., Chun, O., Li, Y., Lu, Z., Yu, S., Li, R., Yang, X., 2014. Cognitive deficits and decreased locomotor activity induced by single-walled carbon nanotubes and neuroprotective effects of ascorbic acid. *Int. J. Nanomedicine* 9, 823–39. <https://doi.org/10.2147/IJN.S56339>
 119. Liu, Z., Tabakman, S., Welsher, K., Dai, H., 2009. Carbon Nanotubes in Biology and Medicine: In vitro and in vivo Detection, Imaging and Drug Delivery. *Nano Res.* 2, 85–120. <https://doi.org/10.1007/s12274-009-9009-8>
 120. Lopez-Diaz, D., Merchán, M.D., Pérez, P., Velázquez, M.M., 2023. N-Doped Carbon Nanoparticles as Antibacterial Agents on *Escherichia coli*: The Role of the Size and Chemical Composition of Nanoparticles. *Coatings* 13, 1169. <https://doi.org/10.3390/coatings13071169>
 121. Lynch, I., Dawson, K.A., 2008. Protein-nanoparticle interactions. *Nano Today* 3, 40–47. [https://doi.org/10.1016/S1748-0132\(08\)70014-8](https://doi.org/10.1016/S1748-0132(08)70014-8)

122. Maas, M., 2016. Carbon Nanomaterials as Antibacterial Colloids. *Mater. Basel Switz.* 9. <https://doi.org/10.3390/ma9080617>
123. Mackenzie, R.C., 1979. Nomenclature in thermal analysis, part IV. *Thermochim. Acta* 28, 1–6. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(79\)87001-X](https://doi.org/10.1016/0040-6031(79)87001-X)
124. Mangadlao, J.D., Santos, C.M., Felipe, M.J.L., de Leon, A.C.C., Rodrigues, D.F., Advincula, R.C., 2015. On the antibacterial mechanism of graphene oxide (GO) Langmuir-Blodgett films. *Chem. Commun. Camb. Engl.* 51, 2886–2889. <https://doi.org/10.1039/c4cc07836e>
125. Martin, C.R., Kohli, P., 2003. The emerging field of nanotube biotechnology. *Nat. Rev. Drug Discov.* 2, 29–37. <https://doi.org/10.1038/nrd988>
126. Martínez-Ballesta, M.C., Zapata, L., Chalbi, N., Carvajal, M., 2016. Multiwalled carbon nanotubes enter broccoli cells enhancing growth and water uptake of plants exposed to salinity. *J. Nanobiotechnology* 14, 42. <https://doi.org/10.1186/s12951-016-0199-4>
127. Meng, F., Jiang, Y., Sun, Z., Yin, Y., Li, Y., 2009. Electrohydrodynamic liquid atomization of biodegradable polymer microparticles: Effect of electrohydrodynamic liquid atomization variables on microparticles. *J. Appl. Polym. Sci.* 113, 526–534. <https://doi.org/10.1002/app.30107>
128. Mingeot-Leclercq, M.-P., Décout, J.-L., 2016. Bacterial lipid membranes as promising targets to fight antimicrobial resistance, molecular foundations and illustration through the renewal of aminoglycoside antibiotics and emergence of amphiphilic aminoglycosides. *MedChemComm* 7, 586–611. <https://doi.org/10.1039/C5MD00503E>
129. Mocan, T., Matea, C.T., Pop, T., Mosteanu, O., Buzoianu, A.D., Suci, S., Puia, C., Zdrehus, C., Iancu, C., Mocan, L., 2017. Carbon nanotubes as anti-bacterial agents. *Cell. Mol. Life Sci.* 74, 3467–3479. <https://doi.org/10.1007/s00018-017-2532-y>
130. Mombeshora, E.T., Nyamori, V.O., 2015. A review on the use of carbon nanostructured materials in electrochemical capacitors. *Int. J. Energy Res.* 39, 1955–1980. <https://doi.org/10.1002/er.3423>
131. Mombeshora, T., Jarvis, L., Ndungu, P., Doyle, B., Carleschi, E., Nyamori, V., 2017. Some perspectives on nitrogen-doped carbon nanotube synthesis from acetonitrile and N,N'-dimethylformamide mixtures. *Mater. Chem. Phys.* 199. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2017.07.044>
132. Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramírez, J.T., Yacaman, M.J., 2005. The bactericidal effect of silver nanoparticles. *Nanotechnology* 16, 2346–2353. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/16/10/059>
133. Munoz-Sandoval, E., Perea-Lopez, N., Lima-Juarez, R., Labrada-Delgado, G.J., Rivera-Escoto, B.A., Zamudio, A., Silva-Pereyra, H.G., Robles-Avila, E., Terrones, M., 2014. Synthesis, characterization and magnetic properties of Co@Au core-shell nanoparticles encapsulated by nitrogen-doped multiwall carbon nanotubes. *Carbon* 77, 722–737. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2014.05.077>
134. Nandhini, S.N., Sisubalan, N., Vijayan, A., Karthikeyan, C., Gnanaraj, M., Gideon, D.A.M., Jebastin, T., Varaprasad, K., Sadiku, R., 2023. Recent advances in green synthesized nanoparticles for bactericidal and wound healing applications. *Heliyon* 9, e13128. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2023.e13128>
135. Nani, L., Tampieri, F., Ceriani, E., Marotta, E., Paradisi, C., 2018. ROS production and removal of the herbicide metolachlor by air non-thermal plasma

- produced by DBD, DC⁻ and DC⁺ discharges implemented within the same reactor. *J. Phys. Appl. Phys.* 51, 274002. <https://doi.org/10.1088/1361-6463/aab8b9>
136. Nxumalo, E., Letsoalo, J., Cele, L., Coville, N., 2010. The influence of nitrogen sources on nitrogen doped multi-walled carbon nanotubes. *J. Organomet. Chem. - J ORGANOMET CHEM* 695, 2596–2602. <https://doi.org/10.1016/j.jorganchem.2010.08.030>
 137. Nxumalo, E.N., Coville, N.J., 2010. Nitrogen Doped Carbon Nanotubes from Organometallic Compounds: A Review. *Materials* 3, 2141–2171. <https://doi.org/10.3390/ma3032141>
 138. Ogunsona, E., Ojogbo, E., Mekonnen, T., 2018. Advanced material applications of starch and its derivatives. *Eur. Polym. J.* 108, 570–581. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2018.09.039>
 139. Ogunsona, E.O., Muthuraj, R., Ojogbo, E., Valerio, O., Mekonnen, T.H., 2020. Engineered nanomaterials for antimicrobial applications: A review. *Appl. Mater. Today* 18, 100473. <https://doi.org/10.1016/j.apmt.2019.100473>
 140. Okotrub, A.V., Gorodetskiy, D.V., Gusel'nikov, A.V., Kondranova, A.M., Bulusheva, L.G., Korabovska, M., Meija, R., Erts, D., 2022. Distribution of Iron Nanoparticles in Arrays of Vertically Aligned Carbon Nanotubes Grown by Chemical Vapor Deposition. *Materials* 15, 6639. <https://doi.org/10.3390/ma15196639>
 141. Olivi, M., Zanni, E., Bellis, G.D., Talora, C., Sarto, M.S., Palleschi, C., Flahaut, E., Monthieux, M., Rapino, S., Uccelletti, D., Fiorito, S., 2013. Inhibition of microbial growth by carbon nanotube networks. *Nanoscale* 5, 9023–9029. <https://doi.org/10.1039/C3NR02091F>
 142. Ombaka, L., Ndungu, P., Nyamori, V., 2014. Tuning the nitrogen content and surface properties of nitrogen-doped carbon nanotubes synthesized using a nitrogen-containing ferrocenyl derivative and ethylbenzoate. *J. Mater. Sci.* 50. <https://doi.org/10.1007/s10853-014-8675-4>
 143. Orbaek White, A., Hedayati, A., Yick, T., Gangoli, V.S., Niu, Y., Lethbridge, S., Tsampanakis, I., Swan, G., Pointeaux, L., Crane, A., Charles, R., Sallah-Conteh, J., Anderson, A.O., Davies, M.L., Corr, S.J., Palmer, R.E., 2021. On the Use of Carbon Cables from Plastic Solvent Combinations of Polystyrene and Toluene in Carbon Nanotube Synthesis. *Nanomater. Basel Switz.* 12, 9. <https://doi.org/10.3390/nano12010009>
 144. Ortiz López, T., 2018. Síntesis de esponjas de carbono dopadas con nitrógeno mediante deposición química de vapor y su aplicación en remediación ambiental (masterThesis).
 145. Oschatz, M., Borchardt, L., Hippauf, F., Nickel, W., Kaskel, S., Brunner, E., 2016. Chapter Four - Interactions Between Electrolytes and Carbon-Based Materials—NMR Studies on Electrical Double-Layer Capacitors, Lithium-Ion Batteries, and Fuel Cells, in: Webb, G.A. (Ed.), *Annual Reports on NMR Spectroscopy*. Academic Press, pp. 237–318. <https://doi.org/10.1016/bs.arnmr.2015.08.003>
 146. Othman, R.N., Wilkinson, A.N., 2016. Assessment of the Reaction Time on the Morphology and Quality of Carbon Nanotubes – Silica Microparticles. *Procedia Chem.*, 5th International Conference on Recent Advances in Materials, Minerals and Environment (RAMM) & 2nd International Postgraduate Conference on Materials, Mineral and Polymer (MAMIP) 19, 571–576. <https://doi.org/10.1016/j.proche.2016.03.055>

147. Pal, S., Tak, Y.K., Song, J.M., 2007. Does the antibacterial activity of silver nanoparticles depend on the shape of the nanoparticle? A study of the Gram-negative bacterium *Escherichia coli*. *Appl. Environ. Microbiol.* 73, 1712–1720. <https://doi.org/10.1128/AEM.02218-06>
148. Panchal, P., Ogunsona, E., Mekonnen, T., 2019. Trends in Advanced Functional Material Applications of Nanocellulose. *Processes* 7, 10. <https://doi.org/10.3390/pr7010010>
149. Parandhaman, T., Das, A., Ramalingam, B., Samanta, D., Sastry, T.P., Mandal, A.B., Das, S.K., 2015. Antimicrobial behavior of biosynthesized silica-silver nanocomposite for water disinfection: a mechanistic perspective. *J. Hazard. Mater.* 290, 117–126. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2015.02.061>
150. Patel, A., Tiwari, S., Parihar, P., Singh, R., Prasad, S.M., 2019. Chapter 2 - Carbon Nanotubes as Plant Growth Regulators: Impacts on Growth, Reproductive System, and Soil Microbial Community, in: Tripathi, D.K., Ahmad, P., Sharma, S., Chauhan, D.K., Dubey, N.K. (Eds.), *Nanomaterials in Plants, Algae and Microorganisms*. Academic Press, pp. 23–42. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-811488-9.00002-0>
151. Piperigkou, Z., Karamanou, K., Engin, A.B., Gialeli, C., Docea, A.O., Vynios, D.H., Pavão, M.S.G., Golokhvast, K.S., Shtilman, M.I., Argiris, A., Shishatskaya, E., Tsatsakis, A.M., 2016. Emerging aspects of nanotoxicology in health and disease: From agriculture and food sector to cancer therapeutics. *Food Chem. Toxicol.* 91, 42–57. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.03.003>
152. Podila, R., Chacón-Torres, J., Spear, J.T., Pichler, T., Ayala, P., Rao, A.M., 2012. Spectroscopic investigation of nitrogen doped graphene. *Appl. Phys. Lett.* 101, 123108. <https://doi.org/10.1063/1.4752736>
153. Poland, C.A., Duffin, R., Kinloch, I., Maynard, A., Wallace, W.A.H., Seaton, A., Stone, V., Brown, S., Macnee, W., Donaldson, K., 2008. Carbon nanotubes introduced into the abdominal cavity of mice show asbestos-like pathogenicity in a pilot study. *Nat. Nanotechnol.* 3, 423–428. <https://doi.org/10.1038/nnano.2008.111>
154. Prasad, S., Kumar, V., Kirubanandam, S., Barhoum, A., 2018. Chapter 11 - Engineered nanomaterials: nanofabrication and surface functionalization, in: Barhoum, A., Makhlof, A.S.H. (Eds.), *Emerging Applications of Nanoparticles and Architecture Nanostructures, Micro and Nano Technologies*. Elsevier, pp. 305–340. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-51254-1.00011-7>
155. Pyrgiotakis, G., McDevitt, J., Bordini, A., Diaz, E., Molina, R., Watson, C., Deloid, G., Lenard, S., Fix, N., Mizuyama, Y., Yamauchi, T., Brain, J., Demokritou, P., 2014a. A chemical free, nanotechnology-based method for airborne bacterial inactivation using engineered water nanostructures. *Env. Sci Nano* 1, 15–26. <https://doi.org/10.1039/C3EN00007A>
156. Pyrgiotakis, G., McDevitt, J., Gao, Y., Branco, A., Eleftheriadou, M., Lemos, B., Nardell, E., Demokritou, P., 2014b. Mycobacteria inactivation using Engineered Water Nanostructures (EWNS). *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 10, 1175–1183. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2014.02.016>
157. Pyrgiotakis, G., McDevitt, J., Yamauchi, T., Demokritou, P., 2012. A novel method for bacterial inactivation using electrosprayed water nanostructures. *J. Nanoparticle Res.* 14, 1027. <https://doi.org/10.1007/s11051-012-1027-x>
158. Pyrgiotakis, G., Vedantam, P., Cirenza, C., McDevitt, J., Eleftheriadou, M., Leonard, S.S., Demokritou, P., 2016. Optimization of a nanotechnology based antimicrobial platform for food safety applications using Engineered Water

- Nanostructures (EWNS). *Sci. Rep.* 6, 21073. <https://doi.org/10.1038/srep21073>
159. Radadiya, T., 2021. GRAPHENE BASE BIOMEDICAL TECHNOLOGY.
 160. Radushkevich, L.V., Luk'yanovich, V.M., 1952. The structure of carbon forming in thermal decomposition of carbon monoxide on an iron catalyst. *Zh Fiz Khim* 26, 88–95.
 161. Raghunath, A., Perumal, E., 2017. Metal oxide nanoparticles as antimicrobial agents: a promise for the future. *Int. J. Antimicrob. Agents* 49, 137–152. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.11.011>
 162. Ramsden, J.J., 2011. The impacts of nanotechnology. *Nanotechnol. Percept.* 7, 28–66.
 163. Rao, C.N.R., Voggu, R., 2010. Charge-transfer with graphene and nanotubes. *Mater. Today* 13, 34–40. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(10\)70163-2](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(10)70163-2)
 164. Rasouli, R., Barhoum, A., Uludag, H., 2018. A review of nanostructured surfaces and materials for dental implants: surface coating, patterning and functionalization for improved performance. *Biomater. Sci.* 6, 1312–1338. <https://doi.org/10.1039/C8BM00021B>
 165. Sadri, B., Vajdi Hokmabad, B., Esmaeilzadeh, E., Gharraei, R., 2012. Experimental investigation of electrosprayed droplets behaviour of water and KCl aqueous solutions in silicone oil. *Exp. Therm. Fluid Sci.* 36, 249–255. <https://doi.org/10.1016/j.expthermflusci.2011.09.021>
 166. Salah, I., Parkin, I.P., Allan, E., 2021. Copper as an antimicrobial agent: recent advances. *RSC Adv.* 11, 18179–18186. <https://doi.org/10.1039/D1RA02149D>
 167. Schmidt, A., Karas, M., Dülcks, T., 2003. Effect of different solution flow rates on analyte ion signals in nano-ESI MS, or: when does ESI turn into nano-ESI? *J. Am. Soc. Mass Spectrom.* 14, 492–500. [https://doi.org/10.1016/S1044-0305\(03\)00128-4](https://doi.org/10.1016/S1044-0305(03)00128-4)
 168. Seah, C.-M., Chai, S.-P., Mohamed, A.R., 2011. Synthesis of aligned carbon nanotubes. *Carbon* 49, 4613–4635. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2011.06.090>
 169. Sen, R., Satishkumar, B.C., Govindaraj, A., Harikumar, K.R., Raina, G., Zhang, J.-P., Cheetham, A.K., Rao, C.N.R., 2003. B₂C₂N, C₂N and B₂N nanotubes produced by the pyrolysis of precursor molecules over Co catalysts, in: *Advances in Chemistry, World Scientific Series in 20th Century Chemistry. WORLD SCIENTIFIC*, pp. 271–276. https://doi.org/10.1142/9789812835734_0028
 170. Shakoor, S., Sun, L., Wang, D., 2016. Multi-walled carbon nanotubes enhanced fungal colonization and suppressed innate immune response to fungal infection in nematodes. *Toxicol. Res.* 5, 492–499. <https://doi.org/10.1039/C5TX00373C>
 171. Shalan, A.I., Barhoum, A., Elseman, A.M., Rashad, M.M., Lira-Cantú, M., 2018. Nanofibers as Promising Materials for New Generations of Solar Cells, in: Barhoum, A., Bechelany, M., Makhlof, A. (Eds.), *Handbook of Nanofibers. Springer Nature Switzerland AG*, pp. 1–33.
 172. Si, Y., Yang, Y., Martel, M., Thompson, B., Predicala, B., Guo, H., Zhang, L., Kirychuk, S., 2021a. Effects of Operating Parameters on the Efficacy of Engineered Water Nanostructures (EWNS) in Inactivating *Escherichia coli* on Stainless-Steel Surfaces. *Trans. ASABE* 64, 1913–1920. <https://doi.org/10.13031/trans.14645>
 173. Si, Y., Yang, Y., Martel, M., Zhang, L., Kirychuk, S., Predicala, B., Guo, H., 2021b. Characterization of electrical current and liquid droplets deposition area

- in a capillary electrospray. *Results Eng.* 9, 100206. <https://doi.org/10.1016/j.rineng.2021.100206>
174. Singh, P., Mijakovic, I., 2022. Green synthesis and antibacterial applications of gold and silver nanoparticles from *Ligustrum vulgare* berries. *Sci. Rep.* 12, 7902. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-11811-7>
 175. Souza Filho, A.G. de, Fagan, S.B., 2007. Funcionalização de nanotubos de Carbono. *Quím. Nova* 30, 1695–1703. <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000700037>
 176. Stephan, O., Ajayan, P.M., Colliex, C., Redlich, P., Lambert, J.M., Bernier, P., Lefin, P., 1994. Doping graphitic and carbon nanotube structures with boron and nitrogen. *Science* 266, 1683–1685. <https://doi.org/10.1126/science.266.5191.1683>
 177. Suenaga, K., Yudasaka, M., Colliex, C., Iijima, S., 2000. Radially modulated nitrogen distribution in CN_x nanotubular structures prepared by CVD using Ni phthalocyanine. *Chem. Phys. Lett.* 316, 365–372. [https://doi.org/10.1016/S0009-2614\(99\)01340-8](https://doi.org/10.1016/S0009-2614(99)01340-8)
 178. Suppi, S., Kasemets, K., Ivask, A., Künnis-Beres, K., Sihtmäe, M., Kurvet, I., Aruoja, V., Kahru, A., 2015. A novel method for comparison of biocidal properties of nanomaterials to bacteria, yeasts and algae. *J. Hazard. Mater.* 286, 75–84. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2014.12.027>
 179. Tang, C., Bando, Y., Golberg, D., Xu, F., 2004. Structure and nitrogen incorporation of carbon nanotubes synthesized by catalytic pyrolysis of dimethylformamide. *Carbon* 42, 2625–2633. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2004.05.047>
 180. Tang, Y., Burkert, S.C., Zhao, Y., Saidi, W.A., Star, A., 2013. The Effect of Metal Catalyst on the Electrocatalytic Activity of Nitrogen-Doped Carbon Nanotubes. *J. Phys. Chem. C* 117, 25213–25221. <https://doi.org/10.1021/jp403033x>
 181. Terrones, M., Filho, A.G.S., Rao, A.M., 2008. Doped Carbon Nanotubes: Synthesis, Characterization and Applications, in: Jorio, A., Dresselhaus, G., Dresselhaus, M.S. (Eds.), *Carbon Nanotubes: Advanced Topics in the Synthesis, Structure, Properties and Applications, Topics in Applied Physics*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp. 531–566. https://doi.org/10.1007/978-3-540-72865-8_17
 182. Terrones, M., Grobert, N., Olivares, J., Zhang, J.P., Terrones, H., Kordatos, K., Hsu, W.K., Hare, J.P., Townsend, P.D., Prassides, K., Cheetham, A.K., Kroto, H.W., Walton, D.R.M., 1997. Controlled production of aligned-nanotube bundles. *Nature* 388, 52–55. <https://doi.org/10.1038/40369>
 183. Terrones, M., Grobert, N., Terrones, H., 2002. Synthetic routes to nanoscale B_xC_yN_z architectures. *Carbon* 40, 1665.
 184. Terrones, M., Terrones, H., Grobert, N., Hsu, W.K., Zhu, Y.Q., Hare, J.P., Kroto, H.W., Walton, D.R.M., Kohler-Redlich, Ph., Rühle, M., Zhang, J.P., Cheetham, A.K., 1999. Efficient route to large arrays of CN_x nanofibers by pyrolysis of ferrocene/melamine mixtures. *Appl. Phys. Lett.* 75, 3932–3934. <https://doi.org/10.1063/1.125498>
 185. Thostenson, E.T., Ren, Z., Chou, T.-W., 2001. Advances in the science and technology of carbon nanotubes and their composites: a review. *Compos. Sci. Technol.* 61, 1899–1912. [https://doi.org/10.1016/S0266-3538\(01\)00094-X](https://doi.org/10.1016/S0266-3538(01)00094-X)
 186. Toh, R.J., Ambrosi, A., Pumera, M., 2012. Bioavailability of metallic impurities in carbon nanotubes is greatly enhanced by ultrasonication. *Chem.*

- Weinh. Bergstr. Ger. 18, 11593–11596. <https://doi.org/10.1002/chem.201201955>
187. Travlou, N., Giannakoudakis, D.A., Algarra, M., Labella, A., Rodriguez-Castellon, E., Bandosz, T., 2018. S- and N-doped carbon quantum dots: Surface chemistry dependent antibacterial activity. *Carbon* 135, 104. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2018.04.018>
188. Unger, L., Ehouarn, P., Borra, J.P., 2003. Filtration of submicron sized particles by electro-coagulation [WWW Document]. URL http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:BGUP3Itgsv4J:www.lp.gp.u-psud.fr/~jp/EAC_2003.pdf&cd=2&hl=es&ct=clnk&gl=ca (accessed 11.30.22).
189. Usenko, C.Y., Harper, S.L., Tanguay, R.L., 2007. In vivo evaluation of carbon fullerene toxicity using embryonic zebrafish. *Carbon* 45, 1891–1898. <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2007.04.021>
190. Vatansever, F., de Melo, W.C.M.A., Avci, P., Vecchio, D., Sadasivam, M., Gupta, A., Chandran, R., Karimi, M., Parizotto, N.A., Yin, R., Tegos, G.P., Hamblin, M.R., 2013. Antimicrobial strategies centered around reactive oxygen species - bactericidal antibiotics, photodynamic therapy and beyond. *FEMS Microbiol. Rev.* 37, 955–989. <https://doi.org/10.1111/1574-6976.12026>
191. Vaze, N., Demokritou, P., 2022. Using engineered water nanostructures (EWNS) for wound disinfection: Case study of *Acinetobacter baumannii* inactivation on skin and the inhibition of biofilm formation. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 42, 102537. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2022.102537>
192. Vaze, N., Jiang, Y., Mena, L., Zhang, Y., Bello, D., Leonard, S.S., Morris, A.M., Eleftheriadou, M., Pyrgiotakis, G., Demokritou, P., 2018. An integrated electrolysis – electrospray – ionization antimicrobial platform using Engineered Water Nanostructures (EWNS) for food safety applications. *Food Control* 85, 151–160. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2017.09.034>
193. Vaze, N., Pyrgiotakis, G., McDevitt, J., Mena, L., Melo, A., Bedugnis, A., Kobzik, L., Eleftheriadou, M., Demokritou, P., 2019a. Inactivation of common hospital acquired pathogens on surfaces and in air utilizing engineered water nanostructures (EWNS) based nano-sanitizers. *Nanomedicine Nanotechnol. Biol. Med.* 18, 234–242. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2019.03.003>
194. Vaze, N., Pyrgiotakis, G., Mena, L., Baumann, R., Demokritou, A., Ericsson, M., Zhang, Y., Bello, D., Eleftheriadou, M., Demokritou, P., 2019b. A nano-carrier platform for the targeted delivery of nature-inspired antimicrobials using Engineered Water Nanostructures for food safety applications. *Food Control* 96, 365–374. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.037>
195. Vaze, N., Soorneedi, A.R., Moore, M.D., Demokritou, P., 2022. Inactivating SARS-CoV-2 Surrogates on Surfaces Using Engineered Water Nanostructures Incorporated with Nature Derived Antimicrobials. *Nanomaterials* 12, 1735. <https://doi.org/10.3390/nano12101735>
196. Vecitis, C.D., Zodrow, K.R., Kang, S., Elimelech, M., 2010. Electronic-structure-dependent bacterial cytotoxicity of single-walled carbon nanotubes. *ACS Nano* 4, 5471–5479. <https://doi.org/10.1021/nn101558x>
197. Veetil, J.V., Ye, K., 2009. Tailored Carbon Nanotubes for Tissue Engineering Applications. *Biotechnol. Prog.* 25, 709–721. <https://doi.org/10.1002/bp.165>
198. Veselova, V.O., Plyuta, V.A., Kostrov, A.N., Vtyurina, D.N., Abramov, V.O., Abramova, A.V., Voitov, Y.I., Padiy, D.A., Thu, V.T.H., Hue, L.T., Trang, D.T.T., Baranchikov, A.E., Khmel, I.A., Nadochenko, V.A., Ivanov, V.K., 2022.

- Long-Term Antimicrobial Performance of Textiles Coated with ZnO and TiO₂ Nanoparticles in a Tropical Climate. *J. Funct. Biomater.* 13, 233. <https://doi.org/10.3390/jfb13040233>
199. Wang, B., Ma, Y., Wu, Y., Li, N., Huang, Y., Chen, Y., 2009. Direct and large scale electric arc discharge synthesis of boron and nitrogen doped single-walled carbon nanotubes and their electronic properties. *Carbon* 47, 2112–2115.
 200. Wang, X., Jiao, C., Wang, T., Yu, Z., 2016. Study on DNA damage induced by the reactive oxygen species generated in situ based on the multi-walled carbon nanotubes and hemoglobin. *J. Electroanal. Chem.* 767, 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2016.02.030>
 201. Wang, X., Liu, X., Han, H., 2013. Evaluation of antibacterial effects of carbon nanomaterials against copper-resistant *Ralstonia solanacearum*. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 103, 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2012.09.044>
 202. Wang, X., Ye, X., Zhang, L., Shao, Y., Zhou, X., Lu, M., Chu, C., Xue, F., Bai, J., 2022. Corrosion and antimicrobial behavior of stainless steel prepared by one-step electrodeposition of silver at the grain boundaries. *Surf. Coat. Technol.* 439, 128428. <https://doi.org/10.1016/j.surfcoat.2022.128428>
 203. Wang, Y., Lu, Z., Hu, Q., Qi, X., Li, Q., Wu, Z., Zhang, H.-L., Yu, C., Wang, H., 2021. Mass-produced metallic multiwalled carbon nanotube hybrids exhibiting high N-type thermoelectric performances. *J. Mater. Chem. A* 9, 3341–3352. <https://doi.org/10.1039/D0TA10113C>
 204. Wang, Z., Hu, T., Liang, R., Wei, M., 2020. Application of Zero-Dimensional Nanomaterials in Biosensing. *Front. Chem.* 8. <https://doi.org/10.3389/fchem.2020.00320>
 205. Wei, Q., Tong, X., Zhang, G., Qiao, J., Gong, Q., Sun, S., 2015. Nitrogen-Doped Carbon Nanotube and Graphene Materials for Oxygen Reduction Reactions. *Catalysts* 5, 1574–1602. <https://doi.org/10.3390/catal5031574>
 206. Weir, E., Lawlor, A., Whelan, A., Regan, F., 2008. The use of nanoparticles in anti-microbial materials and their characterization. *The Analyst* 133, 835–845. <https://doi.org/10.1039/b715532h>
 207. Wyszogrodzka, G., Marszałek, B., Gil, B., Dorożyński, P., 2016. Metal-organic frameworks: mechanisms of antibacterial action and potential applications. *Drug Discov. Today* 21, 1009–1018. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.04.009>
 208. Xin, Q., Liu, Q., Geng, L., Fang, Q., Gong, J.R., 2017. Chiral Nanoparticle as a New Efficient Antimicrobial Nanoagent. *Adv. Healthc. Mater.* 6. <https://doi.org/10.1002/adhm.201601011>
 209. Xin, Q., Shah, H., Nawaz, A., Xie, W., Akram, M.Z., Batool, A., Tian, L., Jan, S.U., Boddula, R., Guo, B., Liu, Q., Gong, J.R., 2019. Antibacterial Carbon-Based Nanomaterials. *Adv. Mater.* 31, 1804838. <https://doi.org/10.1002/adma.201804838>
 210. Yadav, R., Dobal, P., Shripathi, T., Katiyar, R.S., Srivastava, O.N., 2009. Effect of Growth Temperature on Bamboo-shaped Carbon–Nitrogen (C–N) Nanotubes Synthesized Using Ferrocene Acetonitrile Precursor. *Nanoscale Res. Lett.* 4, 197–203. <https://doi.org/10.1007/s11671-008-9225-2>
 211. Yadav, R.M., Wu, J., Kochandra, R., Ma, L., Tiwary, C.S., Ge, L., Ye, G., Vajtai, R., Lou, J., Ajayan, P.M., 2015. Carbon Nitrogen Nanotubes as Efficient Bifunctional Electrocatalysts for Oxygen Reduction and Evolution Reactions.

- ACS Appl. Mater. Interfaces 7, 11991–12000. <https://doi.org/10.1021/acscami.5b02032>
212. Yah, C.S., Simate, G.S., Moothi, K., Maphutha, K.S., Iyuke, S.E., 2011. Synthesis of Large Carbon Nanotubes from Ferrocene: The Chemical Vapour Deposition Technique. *Trends Appl. Sci. Res.* 6, 1270–1279. <https://doi.org/10.17311/tasr.2011.1270.1279>
 213. Yang, C., Mamouni, J., Tang, Y., Yang, L., 2010. Antimicrobial activity of single-walled carbon nanotubes: length effect. *Langmuir ACS J. Surf. Colloids* 26, 16013–16019. <https://doi.org/10.1021/la103110g>
 214. Yang, K., Ma, Y.-Q., 2010. Computer simulation of the translocation of nanoparticles with different shapes across a lipid bilayer. *Nat. Nanotechnol.* 5, 579–583. <https://doi.org/10.1038/nnano.2010.141>
 215. Yang, W., Thordarson, P., Gooding, J.J., Ringer, S.P., Braet, F., 2007. Carbon nanotubes for biological and biomedical applications. *Nanotechnology* 18, 412001. <https://doi.org/10.1088/0957-4484/18/41/412001>
 216. Yang, Y., Kirychuk, S.P., Si, Y., Martel, M.C., Guo, H., Predicala, B.Z., Zhang, L., 2022. Reduction of airborne particulate matter from pig and poultry rearing facilities using engineered water nanostructures. *Biosyst. Eng.* 218, 1–9. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2022.03.013>
 217. Yang, Y., Martel, M.C., Thompson, B.N., Guo, H., Predicala, B.Z., Zhang, L., Kirychuk, S.P., 2021. Characterisation of engineered water nanostructures (EWNS) and evaluation of their efficacy in inactivating *Escherichia coli* at conditions relevant to livestock operations. *Biosyst. Eng.* 212, 431–441. <https://doi.org/10.1016/j.biosystemseng.2021.11.003>
 218. Zardini, H.Z., Amiri, A., Shanbedi, M., Maghrebi, M., Baniadam, M., 2012. Enhanced antibacterial activity of amino acids-functionalized multi walled carbon nanotubes by a simple method. *Colloids Surf. B Biointerfaces* 92, 196–202. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2011.11.045>
 219. Zhang, H.-B., Lin, G.-D., Zhou, Z.-H., Dong, X., Chen, T., 2002. Raman spectra of MWCNTs and MWCNT-based H₂-adsorbing system. *Carbon* 40, 2429–2436. [https://doi.org/10.1016/s0008-6223\(02\)00148-3](https://doi.org/10.1016/s0008-6223(02)00148-3)
 220. Zhang, M., Fang, S., Zakhidov, A.A., Lee, S.B., Aliev, A.E., Williams, C.D., Atkinson, K.R., Baughman, R.H., 2005. Strong, transparent, multifunctional, carbon nanotube sheets. *Science* 309, 1215–1219. <https://doi.org/10.1126/science.1115311>
 221. Zhang, M., Li, J., 2009. Carbon nanotube in different shapes. *Mater. Today* 12, 12–18. [https://doi.org/10.1016/S1369-7021\(09\)70176-2](https://doi.org/10.1016/S1369-7021(09)70176-2)
 222. Zheng, G., Xue, W., Chen, H., Sun, L., Jiang, J., Wang, X., Guo, S., Li, W., 2019. Measurement and Time Response of Electrohydrodynamic Direct-Writing Current. *Micromachines* 10, 90. <https://doi.org/10.3390/mi10020090>
 223. Zhu, L., Ding, X., Wu, X., 2020a. A novel method for improving the anti-pilling property of knitted wool fabric with engineered water nanostructures. *J. Mater. Res. Technol.* 9, 3649–3658. <https://doi.org/10.1016/j.jmrt.2020.01.102>
 224. Zhu, L., Ding, X., Wu, X., Yan, Z., Lei, S., Si, Y., 2020b. Innovative and Sustainable Multifunctional Finishing Method for Textile Materials by Applying Engineered Water Nanostructures. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 8, 14833–14844. <https://doi.org/10.1021/acssuschemeng.0c04252>
 225. Zhu, L., Liu, Y., Ding, X., Wu, X., Sand, W., Zhou, H., 2019. A novel method for textile odor removal using engineered water nanostructures. *RSC*

- Adv. 9, 17726–17736. <https://doi.org/10.1039/C9RA01988J>
226. Zhu, W., Bussche, A. von dem, Yi, X., Qiu, Y., Wang, Z., Weston, P., Hurt, R.H., Kane, A.B., Gao, H., 2016. Nanomechanical mechanism for lipid bilayer damage induced by carbon nanotubes confined in intracellular vesicles. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 113, 12374–12379. <https://doi.org/10.1073/pnas.1605030113>
227. Zou, X., Zhang, L., Wang, Z., Luo, Y., 2016. Mechanisms of the Antimicrobial Activities of Graphene Materials. *J. Am. Chem. Soc.* 138, 2064–2077. <https://doi.org/10.1021/jacs.5b11411>

Anexo A Descripción fundamental de las técnicas de caracterización de nanomateriales

Con el fin de cumplir los objetivos planteados en el presente trabajo de tesis se necesito caracterizar nuestras muestras de N-MWCNT. Para la identificación de las propiedades fisicoquímicas y estructurales se utilizaron diversas técnicas, entre ellas; Microscopía electrónica de barrido (SEM), Microscopía electrónica de Transmisión (TEM), Difracción de rayos-x (DRX), Análisis termogravimétrico (TGA), Espectroscopia Raman, Espectroscopia de infrarrojo (FT-IR), Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X, (XPS) y voltamperometría cíclica (CV). A continuación, se describirán brevemente los fundamentos teóricos que utilizan las técnicas de este estudio.

A.1 Microscopía electrónica de barrido

En Microscopía electrónica de barrido (SEM por sus siglas en inglés) un haz de electrones se enfoca en una región pequeña de pocas micras de magnitud. Posteriormente, después de enfocar perfectamente, se escanea en una pequeña área rectangular. A medida que los electrones penetran en la superficie, ocurren varias interacciones que pueden resultar en la emisión de electrones o fotones desde (o a través de) la superficie. Una fracción razonable de los electrones emitidos puede ser recolectada por los detectores apropiados, y la salida se puede usar para modular el brillo de un tubo de rayos catódicos (TRC) cuyas entradas X,Y se activan en sincronía con las voltajes de X,Y rasterizando el haz de electrones. De esta manera se produce una imagen en el TRC; cada punto que golpea el haz en la muestra se asigna directamente a un punto correspondiente en la pantalla (**Brundle et al., 1992**).

El equipo SEM al interactuar con la muestra puede crear varias señales (electrones secundarios, corrientes internas, emisión de fotones, etc.), todas las cuales pueden detectarse de manera apropiada. Estas señales están altamente localizadas en el área directamente debajo del haz. El SEM cuenta con detectores auxiliares de tal manera que el instrumento puede realizar análisis elementales detectando los rayos X dispersados por la muestra (EDX). Dentro de las aplicaciones más importantes del SEM se encuentran el estudio de la microestructura, la determinación del grado de cristalinidad, la morfología de las muestras, los defectos no muy pequeños y sus agregados y microanálisis in situ (**Goldstein et al., 2003**). En la **Figura A.1** podemos observar la estructura típica de un microscopio electrónico de barrido.

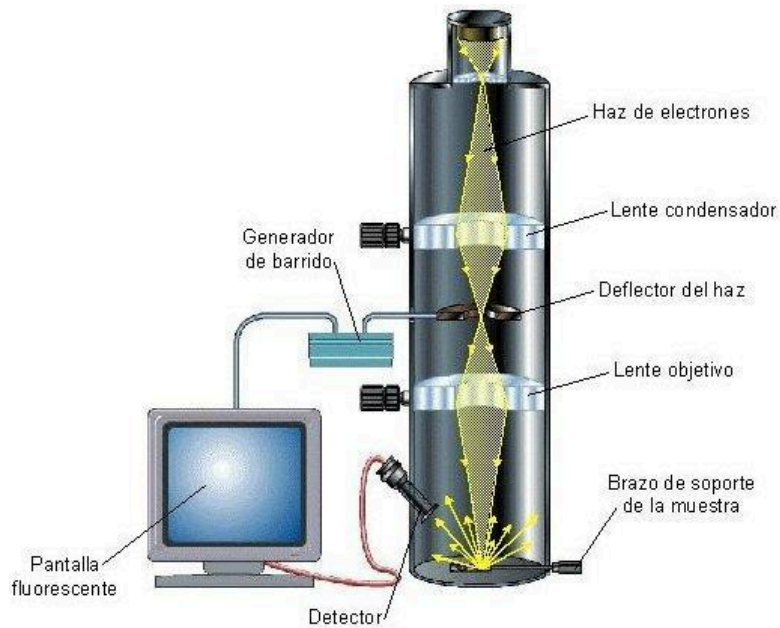


Figura A.1 Estructura básica de un microscopio electrónico de barrido.

Para este trabajo se utilizó el microscopio electrónico de barrido FEI-FIB Dual Beam Helios Nanolab 600 (**Figura A.2**) propiedad del Laboratorio de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN, IPICYT). Este es un equipo de emisión de campo que genera su haz de electrones a partir de un cristal de tungsteno (W). El equipo trabaja en alto vacío, (4.5×10^{-4} Torr) por lo que es necesario que las muestras no contengan humedad y que sean conductoras. El equipo cuenta con un detector de espectrometría de energía dispersiva de Rayos X EDAX (EDX) para el análisis cualitativo de los elementos químicos en la superficie de las muestras.

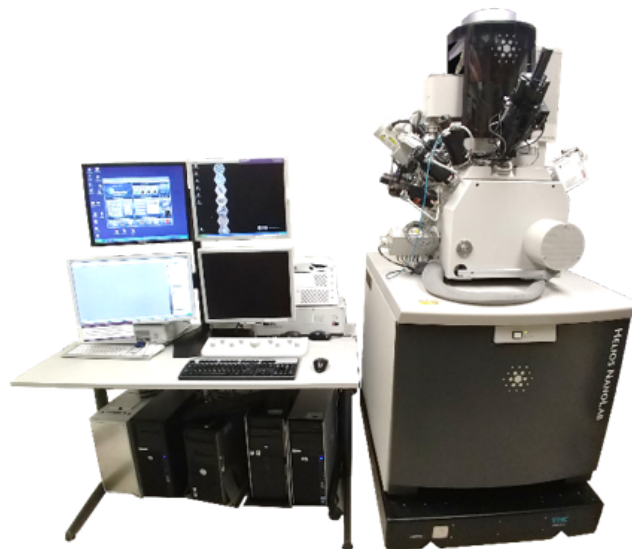


Figura A.2 Equipo SEM: FEI-FIB Dual Beam Helios Nanolab 600

A.2 Microscopía electrónica de transmisión

En TEM, un haz de electrones enfocado incide sobre una muestra delgada (menos de 200 nm). La señal en TEM se obtiene de electrones desviados y no desviados que penetran en el espesor de la muestra. Una serie de lentes magnéticas en la posición de la muestra y debajo de ella son responsables de enviar la señal a un detector, generalmente una pantalla fluorescente, una placa de película o una cámara de vídeo. Acompañando a esta transmisión de señal hay una ampliación de la información espacial en la señal desde tan solo 50 veces hasta un factor de 10^6 . Este notable rango de aumento se ve facilitado por la pequeña longitud de onda de los electrones incidentes y es la clave de las capacidades únicas asociadas con el análisis TEM. En la **Figura A.3** se ilustra un esquema de un instrumento TEM, que muestra la ubicación de una muestra delgada y las lentes principales dentro de una columna TEM. (Brundle et al., 1992).

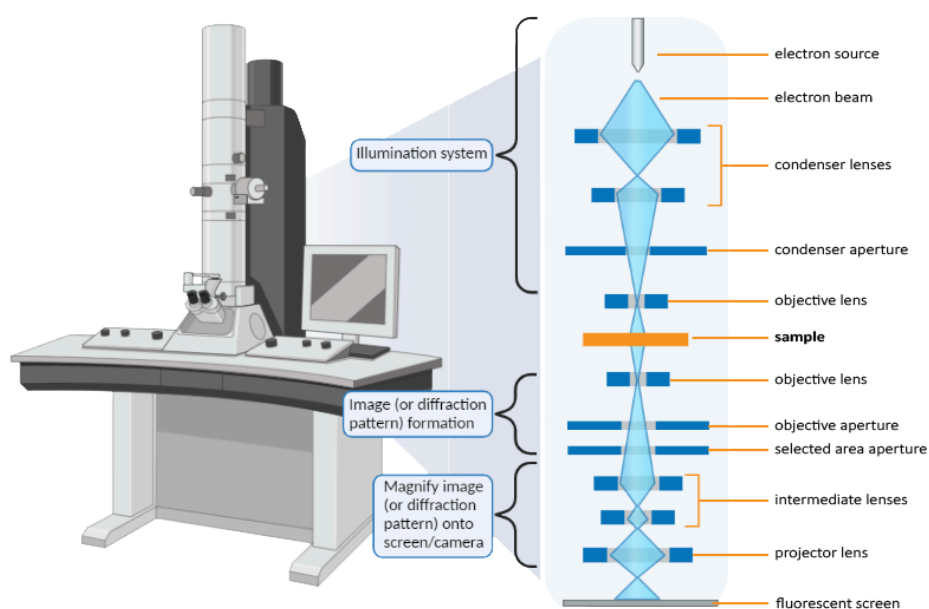


Figura A.3 Diagrama TEM simplificado que resalta los componentes principales en toda la columna.

Para este trabajo se utilizó el microscopio electrónico de transmisión HR-TEM FEI Tecnai F30 (300 keV) (**Figura A.4**) propiedad del Laboratorio de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN, IPICYT). Este equipo cuenta con una resolución de hasta 1.8 Å punto a punto en HRTEM y de 3 Å en Contraste Z, mientras que la resolución del análisis de EDS es de 20 nm en Campo Claro y de 1 nm en Contraste Z. Cuenta con Cámara CCD ultra rápida modelo Orius SC200 de GATAN y un precesor de haz SPINNINGSTAR P020 para difracción con electrones.



Figura A.4 Equipo TEM: HR-TEM FEI Tecnai F30 (300 keV).

A.3 Análisis termogravimétrico

El análisis termo gravimétrico es una técnica en la cual la masa de una sustancia es medida mientras se somete a una rampa de temperatura controlada. Esto significa calentar o enfriar la muestra a una tasa predeterminada y definida. Por lo general, solo se cuenta con una velocidad de enfriamiento o calentamiento constante pero algunos equipos cuentan con velocidades variables. Un ejemplo de esto sería mantener una velocidad de calentamiento de 20°C/min a partir de 50°C como temperatura inicial hasta llegar a 700°C. Estos equipos cuentan con una balanza térmica que se usa para obtener la curva termogravimétrica. Con esto se puede determinar cuando la muestra sufre un cambio importante en su masa posiblemente a una reacción química provocada por el cambio de temperatura (**Mackenzie, 1979**).

Para este trabajo se utilizó el equipo de horno cerámico TGA4000 de la marca Perkin Elmer, el cual está diseñado para proveer control de temperatura en el tiempo en una atmósfera de oxígeno o nitrógeno. Este equipo se encuentra localizado en las instalaciones del IPICYT en el Laboratorio de películas delgadas (sputtering) de la División de Materiales Avanzados (DMAv). En la **Figura A.5** podemos observar el equipo TGA4000.



Figura A.5 Equipo de Análisis termo gravimétrico TGA 4000.

A.4 Espectroscopia Raman

La espectroscopia Raman se basa en la dispersión inelástica de la luz por la materia y es capaz de analizar la estructura de gases, líquidos y sólidos, tanto amorfos como cristalinos. Además de su aplicabilidad a todos los estados de la materia, la espectroscopia Raman tiene una serie de ventajas adicionales. Se puede usar para analizar pequeñas cantidades de muestra (por ejemplo, partículas de cercanas a 1 mm), así como muestras expuestas a una variedad de condiciones, como presión, alta temperatura y/o muestras incrustadas en otras fases (**Brundle et al., 1992**). Así pues, la dispersión Raman es el resultado de las transiciones de radiación incidente en los átomos o moléculas que conforman el medio de dispersión. La transición puede ser de rotación, vibración, electrónica o una combinación (véase **Figura A.6**). La dispersión Raman de primer orden implica sólo un único fotón incidente. En la mayoría de los estudios de sólidos por espectroscopia Raman, las transiciones observadas son vibracionales (**Brundle et al., 1992**).

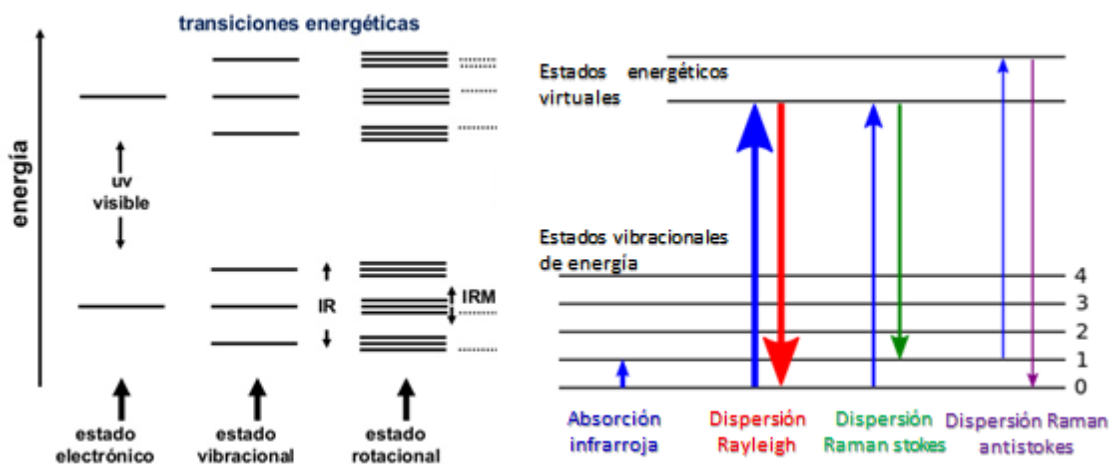


Figura A.6 Transiciones energéticas de la materia/ estados vibracionales del efecto Raman.

En un experimento Raman, la muestra se irradia con radiación monocromática. Si la muestra es transparente, la mayor parte de la luz se transmite, una pequeña fracción se dispersa elásticamente (Rayleigh) y una fracción muy pequeña se dispersa inelásticamente (Raman). La luz dispersada inelásticamente se recoge y se dispersa y los resultados se presentan como un espectro Raman, que representa la intensidad de la luz dispersada inelásticamente en función del cambio en el número de ondas de la radiación.

En este trabajo se utilizó el espectrómetro InVía MICRORAMAN: RENISHAW (**Figura A.7**) propiedad del Laboratorio de Investigaciones en Nanociencias y Nanotecnología (LINAN, IPICYT), éste está equipado con láseres de longitud de onda de 514 nm y 633 nm, filtros holográficos Notch o filtros dieléctricos y un fotodetector para medir luz dispersada. Permite analizar muestras sólidas y polvos de compuestos orgánicos, inorgánicos y biológicos.



Figura A.7 Espectrómetro InVia: MICRORAMAN:RENISHAW

A.5 Espectroscopia de infrarrojo

La espectroscopia infrarroja es una técnica sencilla y fiable ampliamente utilizada tanto en química orgánica como inorgánica, en investigación e industria. En la investigación es una herramienta muy útil para caracterizar los grupos funcionales presentes en las muestras de interés. La espectroscopia infrarroja aprovecha el hecho de que las moléculas absorben frecuencias características de su estructura. Estas absorciones se producen a frecuencias resonantes, es decir, la frecuencia de la radiación

absorbida coincide con la frecuencia vibratoria. Las energías se ven afectadas por la forma de las superficies de energía potencial molecular, las masas de los átomos y el acoplamiento vibrónico asociado. El objetivo del experimento infrarrojo básico es determinar los cambios en la intensidad de un haz de radiación infrarroja en función de la longitud de onda o la frecuencia ($2,5\text{-}50\ \mu\text{m}$ o $4000\text{-}200\ \text{cm}^{-1}$, respectivamente) después de que interactúa con la muestra. La pieza central de la mayoría de las configuraciones de equipos es el espectrofotómetro de infrarrojos. Su función es dispersar la luz procedente de una fuente infrarroja de banda ancha y medir su intensidad en cada frecuencia. Se determina la relación de intensidad antes y después de que la luz interactúe con la muestra. La gráfica de esta relación versus la frecuencia es el espectro infrarrojo (Kaufmann, 2003).



Figura A.8 Espectrofotómetro de FTIR: IRTracer-100

El equipo para la realización de este trabajo fue el espectrofotómetro de FTIR IRTracer-100 (Shimadzu). (Figura A.8). Este equipo cuenta con un aditamentos para la lectura de muestras sólidas y líquidas, además cuenta con un reactor Praying Mantis para DRIFTS y con una cámara de reacción con modulación de temperatura Harrick.

A.6 Difracción de rayos X

La difracción de rayos X (XRD) es una técnica que se utiliza para identificar las fases cristalinas presentes en los materiales y para medir las propiedades estructurales (estado de deformación, tamaño de grano, epitaxia, composición de fase, orientación preferida y estructura del defecto) de estas fases. XRD también se utiliza para

determinar el grosor de películas delgadas y multicapas, y las disposiciones atómicas en materiales amorfos (incluidos los polímeros) y en interferencias (Kaufmann, 2003).

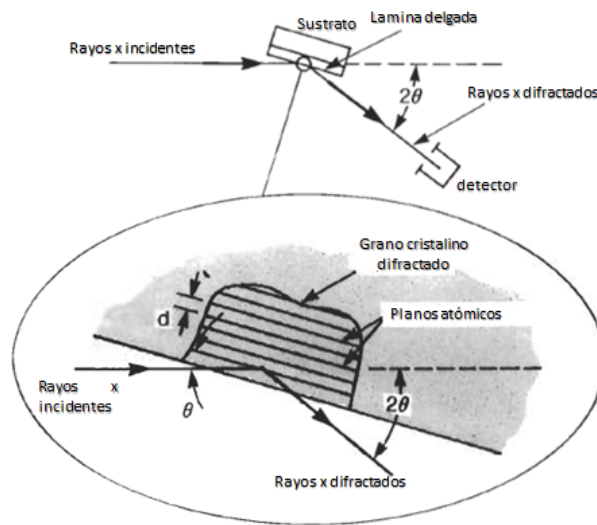


Figura A.9 Características básicas en una medición por DRX.

En la **Figura A.9** se muestran las características básicas de un experimento XRD, donde el ángulo de difracción 2θ es el ángulo entre los rayos X incidentes y los difractados. En un experimento típico, la intensidad difractada se mide en función de 2θ y la orientación de la muestra que produce el patrón de difracción. La longitud de onda λ de los rayos X es típicamente $0.7\text{-}2 \text{ \AA}$, que corresponde a las energías de los rayos X ($E = 12.4 \text{ keV} / \lambda$) de 6 a 17 keV.



Figura A.10 Difractómetro de Rayos-X SmartLab RIGAKU.

El equipo para la realización de estas mediciones fue el difractómetro de rayos-X-SmartLab RIGAKU (**Figura A.10**). Este equipo cuenta con un generador de rayos X a partir de un filamento de cobre así como con un detector de centelleo NaI y un detector de tiras de silicio de alta velocidad “D/teX Ultra.” Cuenta también con un

accesorio de calentamiento inteligente para películas delgadas de la marca Anton Par y accesorios para la realización de SAXS (Small Angle X-ray Scattering) así como también con el software para la interpretación de datos PDXL.

A.7 Espectroscopia de fotoelectrones emitidos por rayos X

La espectroscopia de fotoelectrones de rayos X (XPS) utiliza rayos X de una energía característica (longitud de onda) para excitar electrones de los orbitales de los átomos. Los fotoelectrones emitidos por el material se recogen en función de su energía cinética y el número de fotoelectrones recogidos en un intervalo de tiempo definido se representa frente a la energía cinética. Esto da como resultado un espectro de recuentos de electrones (número por segundo) versus la energía cinética de electrones (eV). Los picos aparecen en el espectro como energías discretas debido a la emisión de electrones desde estados de energías de enlace específicas (orbitales) en el material. Las posiciones de los picos identifican los elementos químicos del material. Las áreas de los picos son proporcionales al número de orbitales en el volumen de análisis y se utilizan para cuantificar la composición elemental (**Kaufmann, 2003**).

Las posiciones y formas de los picos en un espectro XPS también se pueden analizar con mayor detalle para determinar el estado químico de los elementos constituyentes del material, incluido el estado de oxidación, la carga parcial y la hibridación. La espectroscopia de fotoelectrones de rayos X se aplica ampliamente a todo tipo de sólidos, incluidos metales, cerámicas, semiconductores y polímeros, en muchas formas, incluidas láminas, fibras y polvos. También se ha utilizado para obtener espectros de compuestos en fase gaseosa. En general, es un método de análisis no destructivo. Cuando se aplica a sólidos, XPS es una técnica sensible a la superficie. La profundidad de análisis nominal es del orden de 1 a 10 nm (10 a 100 monocapas). Las resoluciones espaciales típicas en una superficie de muestra son del orden de 1 a 5 mm, y los llamados sistemas de puntos pequeños tienen resoluciones espaciales tan bajas como 25 nm. La mejor sensibilidad del XPS para cuantificar la composición elemental en sólidos es del orden de 0,1 at. %. Se pueden detectar todos los elementos con número atómico superior a tres. (**Kaufmann, 2003**).

El equipo para la realización de estas mediciones fue un espectrómetro fotoelectrónico de rayos X Thermo Scientific K-alfa equipado con una fuente de rayos X monocromática AlK- α (1487 eV) (**Figura A.11**). Este equipo cuenta con un spot size de 50-400 μm que utiliza una fuente de rayos X Al K-Alfa monocromática, micro enfocada y de baja potencia.

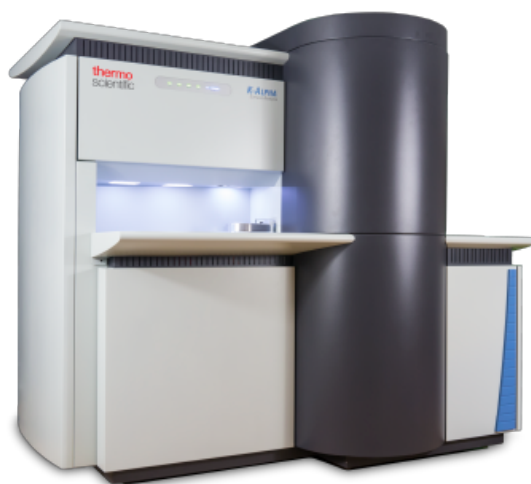


Figura A.11 Características básicas en una medición por DRX.

A.8 Voltamperometría cíclica

La voltamperometría cíclica (CV) es una técnica electroquímica poderosa y popular comúnmente empleada para investigar los procesos de reducción y oxidación de especies moleculares. CV también es invaluable para estudiar reacciones químicas iniciadas por transferencia de electrones, que incluye la catálisis. En un experimento de voltamperometría cíclica, el potencial del electrodo de trabajo aumenta linealmente en función del tiempo. A diferencia de la voltamperometría de barrido lineal, después de que se alcanza el potencial establecido en un experimento CV, el potencial del electrodo de trabajo aumenta en la dirección opuesta para volver al potencial inicial. Estos ciclos de rampas de potencial pueden repetirse tantas veces como sea necesario. La corriente en el electrodo de trabajo se grafica frente al voltaje aplicado (es decir, el potencial del electrodo de trabajo) para dar la traza del voltamperograma cíclico. La voltamperometría cíclica se utiliza generalmente para estudiar las propiedades electroquímicas de un analito en disolución o de una molécula que se absorbe en el electrodo (Elgrishi et al., 2018).



Figura A.12 Potenciostato Squidstat Plus.

El equipo para la realización de estas mediciones fue un potenciostato/galvanostato Squidstat Plus (Admiral Instruments) monocanal con EIS (Electrochemical Impedance Spectroscopy) de hasta 1 MHz y 1%/1° de precisión a 1mΩ (**Figura A.12**). Con modos de funcionamiento de galvanostato, potenciostato, ZRA (Zero Resistance Ammeter) y FRA (Frequency Response Analyzer).

Anexo B Resultados adicionales

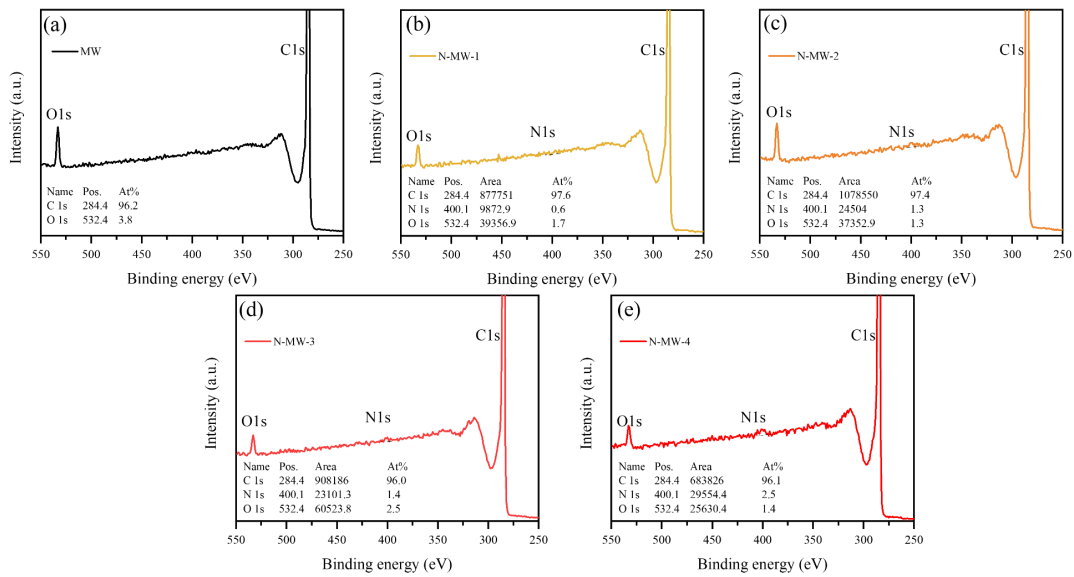


Figura S1. Espectros survey XPS de muestras de N-MWCNT. (a) MW, (b) N-MW-1, (c) N-MW-2, (d) N-MW-3 y (e) N-MW-4. En cada figura se indican las concentraciones atómicas de O, N y C.

Tabla S1: Datos desconvolucionados para los espectros XPS C 1s de alta resolución de las muestras MW (arriba), N-MW-1, N-MW-2, N-MW-3 y N-MW-4 y S2 (abajo), que muestran el tipo de enlace químico, energías de enlace, ancho total a la mitad del máximo (FWHM) y área integrada (%).

Tipo de enlace químico	Energía de enlace (eV)	FWHM	Área integrada %
Muestra MW			
C-Fe	283.73785	1.3292	6.08124
C=C (sp ²)	284.65186	1.06136	49.83791
C-C (sp ³)	285.42583	1.12217	24.78058
C-O	286.2717	1.92752	12.30835
-COOH	288.76717	3.52998	6.99192
Muestra N-MW-1			
C-Fe	283.71867	1.07559	5.63533
C=C (sp ²)	284.68435	1.0201	44.4459
C-C (sp ³)	285.3357	1.42362	26.84226
C-O	286.45013	2.64632	14.06148
-COOH	289.75548	4.74954	9.01502
Muestra M-MW-2			
C-Fe	283.72278	0.87517	5.18959
C=C (sp ²)	284.57665	0.98996	39.47937
C-C (sp ³)	285.20164	1.15646	31.34278
C-O	286.14722	1.82299	15.4585
-COOH	289.2114	3.90468	8.52976
Muestra N-MW-3			
C-Fe	283.81552	1.06172	5.02892
C=C (sp ²)	284.59011	1.00387	38.69778
C-C (sp ³)	285.2247	1.05829	30.27306
C-O	286.21543	1.99618	17.2152
-COOH	289.4749	3.82559	8.78505
Muestra N-MW-4			
C-Fe	283.8712	1.1164	4.89423
C=C (sp ²)	284.60524	1.0924	35.88846
C-C (sp ³)	285.13327	1.32382	32.07895
C-O	286.33045	2.60948	17.86209
-COOH	289.70889	4.47599	9.27627

Tabla S2: Datos desconvolucionados para los espectros XPS N 1s de alta resolución de las muestras MW (arriba), N-MW-1, N-MW-2, N-MW-3 y N-MW-4 y S2 (abajo), que muestran el tipo de enlace químico, energías de enlace, ancho total a la mitad del máximo (FWHM) y área integrada (%).

Tipo de enlace químico	Energía de enlace (eV)	FWHM	Área integrada %
Muestra MW			
N-Fe	-	-	-
N-Pyridinic	-	-	-
Amine/amide	-	-	-
N-Pyrrolic	-	-	-
N-Quaternary	-	-	-
N-Ox	-	-	-
Muestra N-MW-1			
N-Fe	396.70162	0.88404	3.18943
N-Pyridinic	398.72004	1.714	23.1922
Amine/amide	399.93829	1.54048	25.51953
N-Pyrrolic	401.24157	1.69141	32.46459
N-Quaternary	402.58142	1.49337	15.63425
N-Ox	-	-	-
Muestra M-MW-2			
N-Fe	396.50128	0.70928	2.02302
N-Pyridinic	398.68372	1.96511	26.43035
Amine/amide	399.93009	1.62568	25.65786
N-Pyrrolic	401.19352	1.86952	28.71897
N-Quaternary	402.98142	1.48552	7.94003
N-Ox	404.75592	1.522	9.22977
Muestra N-MW-3			
N-Fe	396.992	0.93384	1.75301
N-Pyridinic	398.42606	1.80868	20.4311
Amine/amide	399.99223	1.48054	22.67648
N-Pyrrolic	401.23219	1.57986	29.30619
N-Quaternary	402.36317	2.02684	16.74556
N-Ox	405.0821	2.11853	9.08766
Muestra N-MW-4			
N-Fe	396.90026	0.99856	1.71866
N-Pyridinic	398.34159	1.5972	19.17547
Amine/amide	399.6866	1.61731	20.79133
N-Pyrrolic	400.95515	1.97588	24.31824
N-Quaternary	402.36556	2.94132	20.42962
N-Ox	405.20314	2.44059	13.56668

Tabla S3: Datos desconvolucionados para los espectros XPS O 1s de alta resolución de las muestras MW (arriba), N-MW-1, N-MW-2, N-MW-3 y N-MW-4 y S2 (abajo), que muestran el tipo de enlace químico, energías de enlace, ancho total a la mitad del máximo (FWHM) y área integrada (%).

Tipo de enlace químico	Energía de enlace (eV)	FWHM	Área integrada %
Muestra MW			
Fe(OH)O	530.60358	0.98737	2.72886
O=C	531.84399	1.11611	14.82025
C-O/COO-	532.5882	1.13353	31.18647
C-O-C	533.6117	1.40574	39.73808
-COOH	534.49171	1.58648	11.52634
Muestra N-MW-1			
Fe(OH)O	530.57801	0.76696	1.90456
O=C	531.69156	1.2218	16.34318
C-O/COO-	532.6087	1.1713	39.12351
C-O-C	533.63622	1.17489	34.01992
-COOH	534.50128	1.05637	8.60882
Muestra M-MW-2			
Fe(OH)O	530.2763	1.21243	5.55791
O=C	531.86174	1.36029	17.46557
C-O/COO-	532.7052	1.11306	33.44734
C-O-C	533.59678	1.09605	25.22001
-COOH	534.35587	1.26255	18.30917
Muestra N-MW-3			
Fe(OH)O	530.54092	1.24232	4.19698
O=C	531.86541	1.16367	14.89038
C-O/COO-	532.76301	1.2092	33.08145
C-O-C	533.81729	1.33859	33.65149
-COOH	534.79992	2.01054	14.1797
Muestra N-MW-4			
Fe(OH)O	530.43095	1.22831	4.46295
O=C	531.6445	1.39902	17.17957
C-O/COO-	532.6179	1.24937	35.91367
C-O-C	533.60399	1.30539	27.81547
-COOH	534.32348	1.5224	14.62834

Tabla S4: Datos de análisis EELS de muestras de MWCNT

Muestra	Elemento	Rango de integración de tipo de borde (eV)	Señal (cuentas)	Densidad de área (átomos/nm ²)	Relación atómica (%at)
MW	C	284.0 - 309.0	7.92e+006 ± 3307	1.62e+016 ± 1.6e+015	100.00 ± 14.1
	N	401.0 - 426.0	0.00e+000 ± 1604	0.00e+000 ± 4.2e+013	0.00 ± 0.4
N-MW-1	C	284.0 - 309.0	3.53e+006 ± 1945	7.22e+015 ± 7.2e+014	96.98 ± 13.5
	N	401.0 - 426.0	3.00e+004 ± 1018	2.25e+014 ± 2.4e+013	3.02 ± 0.4
N-MW-2	C	284.0 - 309.0	2.10e+006 ± 1514	4.30e+015 ± 4.3e+014	93.48 ± 12.8
	N	401.0 - 426.0	4.01e+004 ± 754	3.00e+014 ± 3.1e+013	6.52 ± 0.9
N-MW-3	C	284.0 - 309.0	2.44e+006 ± 1634	5.00e+015 ± 5.0e+014	91.87 ± 12.5
	N	401.0 - 426.0	5.91e+004 ± 829	4.42e+014 ± 4.5e+013	8.13 ± 1.1
N-MW-4	C	284.0 - 309.0	3.12e+007 ± 6331	6.38e+016 ± 6.4e+015	87.70 ± 11.7
	N	401.0 - 426.0	1.20e+006 ± 3549	8.95e+015 ± 9.0e+014	12.30 ± 1.6

Anexo C Artículos publicados y asistencias a congresos



Carbon Nanotubes as Antimicrobial Agents: Trends and Perspectives

Felipe de Jesús Barraza-García, Sandra Pérez-Miranda, José Gil Munguía-Lopez, Florentino Lopez-Urias, and Emilio Muñoz-Sandoval

Abstract

Recent studies show that carbon nanotubes possess a potent antimicrobial activity against various pathogens, from bacteria to fungi and even protozoa. The current increase in drug-resistant pathogens, causing many infections, motivates the research in the carbon nanotube route to attack the microorganism drug-resistance. The molecular interaction between these nanomaterials and the microbes could provide the answers to elucidate the action's mechanisms involved as antimicrobial agents. Carbon nanotubes exhibit unique properties that can be used as bio-targets to circumvent the microbial action or even eliminate them. Diverse research groups have implemented successful routes to discriminate and categorize these carbon nanomaterial's effects on pathogenic organisms based on their physical or chemical properties. In this focused review, the advances on carbon nanotube's antimicrobial activity based on their size, shape, and chemical surface are discussed. Furthermore, preliminary results on antimicrobial activity obtained by our research group are presented as examples of our advances in this field.

Keywords

Antimicrobial activity · Bacteria · Carbon nanotubes · Doped carbon nanotubes

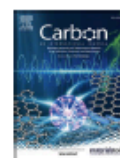
F. de Jesús Barraza-García · F. Lopez-Urias · E. Muñoz-Sandoval (✉)
División de Materiales Avanzados, IPICYT, San Luis Potosí, S.L.P., Mexico
e-mail: felipe.barraza@ipicyt.edu.mx; flo@ipicyt.edu.mx; ems@ipicyt.edu.mx

S. Pérez-Miranda
Laboratorio de Microbiología de productos naturales, CIIDZA, IPICYT, San Luis Potosí, S.L.P., Mexico

J. G. Munguía-Lopez
Faculty of Dentistry, McGill University, Montreal, QC, Canada
Department of Bioengineering, McGill University, Montreal, QC, Canada

© Springer Nature Switzerland AG 2021
J. Abraham et al. (eds.), *Handbook of Carbon Nanotubes*,
https://doi.org/10.1007/978-3-319-70614-6_47-1

1



The synthesis of sponge-type nitrogen-doped multiwall carbon nanotubes using ball-milled natural red-leptosol as catalyst precursor: A cycle voltammetry study

Felipe de Jesús Barraza-García^a, Felipe Caballero-Briones^b, Aarón Morelos-Gómez^c,
Nadia Martínez-Villegas^d, Jejanya Lucero Hernández-Martínez^d, Morinobu Endo^c,
Florentino López-Urías^a, Emilio Muñoz-Sandoval^{a,*}

^a Advanced Materials Division, IPICYT, Camino a la Presa San José 2055, Col Lomas 4a sección, San Luis Potosí S.L.P., 78216, Mexico

^b Instituto Politécnico Nacional, Materiales y Tecnologías para Energía, Salud y Medio Ambiente (GESMAT), CICATA Altamira, Km 14.5 Carretera Tampico-Puerto Industrial Altamira, 89600, Altamira, Mexico

^c Global Aqua Innovation Center and Research Initiative for Supra-Materials, Shizuoka University, 4-17-1 Wakasato, Nagano, 380-8553, Japan

^d Applied Geosciences Department, IPICYT, Camino a la Presa San José 2055, Col Lomas 4a sección, San Luis Potosí S.L.P., 78216, Mexico

ARTICLE INFO

Keywords:

Carbon nanotube
Doping
Nitrogen
Leptosol
AAOCVD
Natural sources

ABSTRACT

Sponge-type nitrogen-doped multiwall carbon nanotubes (N-MWCNTs), synthesized via an aerosol-assisted catalytic chemical vapor deposition (AAOCVD) method, were extensively studied. A ball-milled and oxidized red-leptosol (RL) was used as the catalyst precursor, and benzylamine worked as a carbon and nitrogen source. The ball-milled and oxidized RL increased their contact area and purity for the N-MWCNT synthesis. X-ray diffraction characterization revealed that raw RL contained kaolinite, quartz, graphite, hematite, and goethite. According to the electron microscopy analysis, the N-MWCNTs exhibited exotic morphologies and microstructures. The high-resolution X-ray photoelectron spectroscopy showed that the as-grown N-MWCNTs contained pyrrolic and pyridinic nitrogen species. The cyclic voltammetry studies demonstrated that the redox processes in the N-MWCNTs in 0.1 M H₂SO₄ were dominated by the carboxyl, pyridinic, and pyrrolic groups. Using the natural RL as a catalyst precursor in AAOCVD led to a large yield of N-MWCNTs mixed with different minerals, causing the observed morphologies and influencing the electrochemical behavior, which is of interest in energy-storage and sensing applications.

1. Introduction

Multiple applications of carbon nanotubes (CNTs) have been proposed since its first sighting [1] and posterior discovery in 1991 [2]. Hundreds of papers demonstrate excellent applications of single-wall carbon nanotubes (SWCNTs) [3] or multiwall carbon nanotubes (MWCNTs) [4]. However, carbon nanomaterials still exhibit many possibilities and discoveries [5–7]. CNTs have been used in diverse, novel, and advanced applications. For example, CNT composites have been employed for lithium-ion batteries [8,9], supercapacitors [10], heavy metal removal from aqueous solution [11], healthcare [12], microelectronics [13], food industry [14], construction [15], aerospace engineering [16], water desalination membranes [17] and medical applications [18]. Undoubtedly the importance of CNTs in the carbon field

is broadly relevant [4,19]. Looking for new routes for efficiently producing novel CNT architectures at low cost is a hot topic in carbon science. Synthetic catalysts may require further energy and costs nowadays.

Chemical vapor deposition (CVD) is probably the most efficient and competitive method to produce CNTs. The catalyst is an essential element in CNT fabrication [20,21], which provides the active surface for nanotube nucleation. Commonly Fe, Ni, or Co-based nanoparticles are used as active deposition centers of graphitic carbon during the synthesis of tubular carbon nanomaterials [22]. Studies on novel catalysts have been carried out to increase the yield of carbon nanostructures [20,22]. For example, using natural or waste sources to produce CNTs has become a significant investigation issue for cost production [5,6, 23–25]. Kumar et al. [26] used natural laterite as a catalyst for CNT

* Corresponding author.

E-mail address: ems@ipicyt.edu.mx (E. Muñoz-Sandoval).

<https://doi.org/10.1016/j.carbon.2022.05.025>

Received 20 March 2022; Received in revised form 3 May 2022; Accepted 11 May 2022

Available online 14 May 2022

0008-6223/© 2022 Elsevier Ltd. All rights reserved.

Mi experiencia en la Universidad de Saskatchewan

de las praderas Mexicanas a las praderas Canadienses

M.C. Felipe de Jesus Barraza Garcia

felipe33_81@hotmail.com

Exbecario "Convocatoria de becas para intercambio académico COPOCYT-Saskatchewan 2022"

Mi nombre es Felipe de Jesus Barraza Garcia, estudiante del Doctorado en Nanociencias y Materiales dentro del Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica (IPICYT). El año pasado tuve el honor de haber participado y recibido el apoyo dentro de la "Convocatoria de becas para intercambio académico COPOCYT-Saskatchewan 2022" parte de la alianza de colaboración entre el estado de San Luis Potosí y la provincia de Saskatchewan en Canadá. Esta convocatoria hace uso del programa Emerging Leaders in the Americas Program (ELAP) con la finalidad de otorgar becas para estudiar hasta 6 meses un intercambio estudiantil en programas de pre y posgrado a realizarse en Canadá.

Como parte del programa se me permitió realizar un intercambio estudiantil en la Universidad de Saskatchewan en el Departamento de Ingeniería Química y Biológica durante 6 meses como fortalecimiento a mi formación como Doctorante.

Mi travesía hacia la ciudad de Saskatoon, sede de la Universidad de Saskatchewan en Canadá, implicó diversos retos intelectuales, profesionales y hasta personales, abarcando desde largos y constantes trámites con la universidad así como con el gobierno de Canadá, así como la compra de tickets, seguros de viaje y diversos requisitos inherentes al traslado a otro país. Sin embargo estos desafíos no pueden sino

quedarse a un lado comparado con la enriquecedora experiencia profesional y personal que te otorga un intercambio académico en el extranjero.

Me gustaría destacar que ser parte del programa ELAP se convirtió en una experiencia enriquecedora en gran medida para mi desarrollo profesional. Uno de los retos claves en mi experiencia tras llegar a la ciudad fue principalmente el uso del inglés tanto fuera como dentro del ámbito profesional de la universidad, con sus plataformas y mecanismos internos de trabajo. Esto sumado a la responsabilidad de desarrollar tu proyecto de investigación de manera proactiva y autónoma para la consecución de los resultados esperados. Todo lo anteriormente mencionado de la mano de enfrentarse a un clima desafiante en la vida diaria invernal del norte de Canadá, con temperaturas de hasta -40°C que convirtieron esta experiencia en un deleite de emociones y aprendizajes que no pudieron sino dejar una huella indeleble en mi forma de experimentar la vida.

De regreso a San Luis Potosí, me encuentro por concluir mi Doctorado en Nanociencias y Materiales. Actualmente enfoco mis acciones en la implementación del trabajo y conocimientos adquiridos dentro de mi trabajo doctoral que se vio ampliamente nutrido al aportar otro enfoque nanotecnológico para la desinfección de superficies, tema principal de mi tesis doc-

MRS Advances
Microbial decontamination of barn surfaces using Engineered Water Nanostructures (EWNS)
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:									
Full Title:	Microbial decontamination of barn surfaces using Engineered Water Nanostructures (EWNS)								
Article Type:	Original Paper								
Funding Information:	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr> <td>Canadian Bureau for International Education</td> <td>Mr. Felipe de Jesus Barraza Garcia</td> </tr> <tr> <td>Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (636038)</td> <td>Mr. Felipe de Jesus Barraza Garcia</td> </tr> <tr> <td>University of Saskatchewan</td> <td>Not applicable</td> </tr> </table>	Canadian Bureau for International Education	Mr. Felipe de Jesus Barraza Garcia	Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (636038)	Mr. Felipe de Jesus Barraza Garcia	University of Saskatchewan	Not applicable		
Canadian Bureau for International Education	Mr. Felipe de Jesus Barraza Garcia								
Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (636038)	Mr. Felipe de Jesus Barraza Garcia								
University of Saskatchewan	Not applicable								
Abstract:	<p>Engineered water nanostructures (EWNS) technology produces highly charged nanoscale water droplets with encapsulated reactive oxygen species (ROS) emerges as green microbial decontamination method. In this work, an electro-nanospray system was developed for the decontamination of common surfaces found in pig barns. Microbial inactivation of the device was tested at different conditions in a laboratory-scale on the inactivation of Escherichia coli (E. coli) at a bacterial concentration similar to pig barn surfaces levels. Pig barn surfaces were characterized by scanning electron microscopy and contact angle to understand the behaviors between samples. Exposure time was the most influential operating parameter resulting in an E. coli log reduction of 2.66 after 40 minutes of exposure. On the other hand, decontamination efficiency was higher for wood, followed by concrete, metal and plastic with log reductions up to 2.96. EWNS technology was demonstrated as an efficient microbial decontamination method for animal confinement facilities surfaces treatment.</p>								
Corresponding Author:	Felipe de Jesus Barraza Garcia, M.C. Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica: Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica AC San Luis Potosí, San Luis Potosí MEXICO								
Corresponding Author Secondary Information:									
Corresponding Author's Institution:	Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica: Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica AC								
Corresponding Author's Secondary Institution:									
First Author:	Felipe de Jesus Barraza Garcia, M.C.								
First Author Secondary Information:									
Order of Authors:	<table border="1" style="width: 100%;"> <tr><td>Felipe de Jesus Barraza Garcia, M.C.</td></tr> <tr><td>Emilio Muñoz Sandoval, PhD</td></tr> <tr><td>Roger E. Bolo, M.C.</td></tr> <tr><td>Shelley Kirychuck, PhD</td></tr> <tr><td>Brooke Thompson, D.Biotechnology</td></tr> <tr><td>Huiqing Guo, PhD</td></tr> <tr><td>Bernardo Predicala, PhD</td></tr> <tr><td>Lifeng Zhang, PhD</td></tr> </table>	Felipe de Jesus Barraza Garcia, M.C.	Emilio Muñoz Sandoval, PhD	Roger E. Bolo, M.C.	Shelley Kirychuck, PhD	Brooke Thompson, D.Biotechnology	Huiqing Guo, PhD	Bernardo Predicala, PhD	Lifeng Zhang, PhD
Felipe de Jesus Barraza Garcia, M.C.									
Emilio Muñoz Sandoval, PhD									
Roger E. Bolo, M.C.									
Shelley Kirychuck, PhD									
Brooke Thompson, D.Biotechnology									
Huiqing Guo, PhD									
Bernardo Predicala, PhD									
Lifeng Zhang, PhD									
Order of Authors Secondary Information:									

Environmental Pollution
Pilot-scale Electro-nanospray System for Decontamination of Pig Barns
 --Manuscript Draft--

Manuscript Number:	ENVPOL-D-24-02046
Article Type:	Research Paper
Section/Category:	Mammals, birds, wildlife, Arctic, marine
Keywords:	Bioaerosol inactivation; Surface decontamination; Electro-nanospray; Engineered Water Nanostructures; Pig barn
Corresponding Author:	Lifeng Zhang, PHD University of Saskatchewan CANADA
First Author:	Roger Bolo, MSc
Order of Authors:	Roger Bolo, MSc Bernardo Predicala, PhD Felipe Barraza Garcia, MSc Myra Martel, PhD Brooke Thompson Huiqing Guo, PhD Shelley Kirychuk, PhD Lifeng Zhang, PHD
Abstract:	Exposure to high concentrations of bioaerosols, noxious gases, and airborne dust in confined livestock facilities has been linked to human and animal health hazards. Thus, air treatment in animal production facilities is crucial. However, most technologies are either costly or toxic to workers, animals, and the environment. In this study, an environment-friendly electro-nanospray system was tested for pig barn decontamination. This technology generates engineered water nanostructures (EWNS) that encapsulate reactive oxygen species that inactivate microbes. The method is cost-effective and safe because it uses water at a low flow rate (1 $\mu\text{L min}^{-1}$). This pilot-scale study used two identical mechanically ventilated small pig rooms (one control room and one treatment room), each with four grower/finisher pigs under conditions similar to those in commercial barns. Two electro-nanospray units were installed in the treatment room, and air samples were collected in both rooms over a period of eight weeks to evaluate the performance of the electro-nanospray system in reducing the levels of airborne bacteria, dust, and gases (i.e., ammonia (NH ₃), hydrogen sulfide (H ₂ S), and carbon dioxide (CO ₂)) as well as the bacterial concentrations on various types of barn surfaces. The average reductions achieved were 31%, 42%, 40%, and 43% for airborne bacteria, dust, NH ₃ , and CO ₂ , respectively. Average reductions in bacterial concentrations on concrete, metal, wood and plastic surfaces were 0.28, 0.21, 0.16, and 0.15 log ₁₀ CFU cm ⁻² , respectively, which are equivalent to 46%, 36%, 31%, and 29% reduction, respectively. No significant impact on pig performance was observed. The electro-nanospray system showed potential in decontaminating pig barn air and surfaces; however, larger scale tests are required before its full commercial application to validate its effectiveness and feasibility as well as its impact on animal productivity.
Suggested Reviewers:	Andre Aamink, PhD Wageningen University & Research andre.aamink@wur.nl Dr. Aamink is an expert on environmental technology for animal production systems. Larry Jacobson, PhD Professor, University of Minnesota jacob007@umn.edu Professor Jacobson is a well-recognized authority on air emissions in livestock housing



IPICYT
INSTITUTO POTOSINO DE
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA
Y TECNOLÓGICA, A.C.



Asociación
Mexicana de
Carbono, A.C.

El Comité Organizador del 3er Congreso de la Asociación Mexicana de Carbono
otorga el presente

RECONOCIMIENTO

A:

**F.J. Barraza-García, N. Martínez-Villegas,
F. López-Urías, E. Muñoz-Sandoval**

Por su participación con la Presentación Oral

*"Producción de nanotubos de carbono de pared múltiple dopados con nitrógeno utilizando
un Leptosol rico en hierro de Sierra de Álvarez, San Luis Potosí"*

Dr. José René Rangel Méndez
Presidente AMEXCarb



Sociedad Mexicana de Ciencia y Tecnología de Superficies y Materiales A.C.



The Conference Organizing Committee certifies that

**Felipe de Jesus Barraza Garcia, Nadia Martinez Villegas, Florentino Lopez
Urias, Emilio Muñoz Sandoval**

presented the following poster contribution

402-NSN
**"Production of nitrogen-doped multiwall carbon nanotubes using Fe-rich
Leptosol from Sierra de Alvarez, San Luis Potosí, México."**

At the XII International Conference on Surfaces, Materials and Vacuum.



September 23-27, 2019 • San Luis Potosí, México

Dr. Francisco Servando Aguirre Tostado
President SMCTSM



August 2022

TO WHOM IT MAY CONCERN
P r e s e n t

This is to certify that *Felipe de Jesus Barraza Garcia, Emilio Muñoz Sandoval, Florentino López Urias, Jejanny Lucero Hernandez Martinez, Nadia Valentina Martinez Villegas* presented the contribution: **SURFACTANT SUSPENDED MULTI-WALL CARBON NANOTUBE STABILITY IN AQUEOUS SYSTEMS: A SYSTEMATIC APPROACH** as Oral modality, in the *C3. Materials and the Environment* Symposium at the **XXX International Materials Research Congress and International Conference on Advanced Materials** held in Cancun, Mexico from August 14th to 19th, 2022.

Sincerely,

Patricia del Carmen Zambrano Robledo
President





August 2023

TO WHOM IT MAY CONCERN
P r e s e n t

This is to certify that *Felipe de Jesus Barraza Garcia, Emilio Muñoz Sandoval, Roger E. Bolo, Lifeng Zhang, Shelley Kirychuk, Brooke Thompson, Huiqing Guo, Bernardo Predicala* presented the contribution: **Microbial decontamination of barn surfaces using Engineered Water Nanostructures (EWNS) as Oral modality**, in the *D2. Fabrication of Nanostructures by Physical and Chemical Eco-Friendly Techniques for Biomedical Applications* Symposium at the **31st International Materials Research Congress** held in Cancun, Mexico from August 13th to 18th, 2023.

Sincerely,

Jesús González Hernández
President





2023 • Cádiz • Mexico
The World Conference on Carbon
July 16th to 21st
Renewing The World Through Carbon

The Carbon2023 Organizing Committee grants this

CERTIFICATE

to:

Felipe de Jesus Barraza-Garcia, Felipe Caballero-Briones, Sandra Perez-Miranda, José Gil Munguía-Lopez, Florentino Lopez-Urias, Emilio Muñoz-Sandoval

For the Oral Presentation entitled: "Synthesis of nitrogen-doped multivalled carbon nanotubes using NN-dimethylformamide/toluene and ferrocene as precursors in a CVD experiment: A cyclic voltammetry study"

Prof. Rene Rangel-Mendez
Chairman, Carbon2023.



Federación
Latinoamericana de
Carbono



Asociación
Mexicana de
Carbono, A.C.



The American Carbon Society



El Capítulo Estudiantil de la Sociedad Mexicana de Materiales de San Luis Potosí otorga la siguiente:

CONSTANCIA

Felipe de Jesús Barraza-García, Emilio Muñoz-Sandoval, Roger E. Bolo, Lifeng

A: Zhang, Shelley Kirychuk, Brooke Thompson, Huiqing Guo, Bernardo Predicala

Por su participación como **Ponente** en el Congreso Estatal de Ciencia e Ingeniería 2023: "Ciencia, Innovación y Sostenibilidad" en la modalidad de **Cartel** con el trabajo titulado "Microbial decontamination of barn surfaces using Engineered Water Nanostructures (EWNNS)".

2 al 4 de mayo de 2023, San Luis Potosí, México

Fra. Verónica Alexandra Quilumba Duran
Presidenta del CE-SMMater-SLP

Mtra. Hilda Guadalupe Cisneros Ontiveros
Vicepresidenta del CE-SMMater-SLP



El Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica, A.C.
Reconoce a:
Felipe de Jesús Barraza García

como
PARTICIPANTE
en el Concurso Institucional **Three Minute Thesis 2023**.

Dr. Luis Antonio Salazar Olivo
Director General

Dra. Lina Raquel Riego Ruiz
Secretaria Académica

San Luis Potosí, S.L.P., México,
22 de junio de 2023



GOBIERNO DE
MÉXICO



CONAHCYT
CONSEJO NACIONAL DE HUMANIDADES
CIENCIAS Y TECNOLOGÍAS



IPICYT
INSTITUTO POTOSINO DE
INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA
Y TECNOLÓGICA, A.C.

ipicyt.edu.mx

Referencias de anexos

1. Brundle, C.R., Evans, C.A., Wilson, S., 1992. Encyclopedia of Materials Characterization: Surfaces, Interfaces, Thin Films. Gulf Professional Publishing.
2. Goldstein, J., Newbury, D.E., Joy, D.C., Lyman, C.E., Echlin, P., Lifshin, E., Sawyer, L., Michael, J.R., 2003. Scanning Electron Microscopy and X-Ray Microanalysis: Third Edition, 3rd ed. Springer US.
3. Mackenzie, R.C., 1979. Nomenclature in thermal analysis, part IV. *Thermochim. Acta* 28, 1–6. [https://doi.org/10.1016/0040-6031\(79\)87001-X](https://doi.org/10.1016/0040-6031(79)87001-X).
4. Kaufmann, 2003. Characterization of Materials, 2nd Edition [WWW Document]. AZoM.com. URL <https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=7172> (accessed 6.24.19).
5. Elgrishi, N., Rountree, K.J., McCarthy, B.D., Rountree, E.S., Eisenhart, T.T., Dempsey, J.L., 2018. A Practical Beginner's Guide to Cyclic Voltammetry. *J. Chem. Educ.* 95, 197–206. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.7b00361>
6. Barraza Garcia, Felipe De Jesus, F. Caballero-Briones, Aarón Morelos-Gómez, Nadia Martínez-Villegas, Lucero Hernandez, Morinobu Endo, Florentino López-Urías, y Emilio Munoz-Sandoval. «The synthesis of sponge-type nitrogen-doped multiwall carbon nanotubes using ball-milled natural red-leptosol as catalyst precursor: A cycle voltammetry study». *Carbon* 196 (1 de mayo de 2022). <https://doi.org/10.1016/j.carbon.2022.05.025>.
7. Barraza Garcia, Felipe De Jesus, Lucero Hernandez, Florentino López-Urías, Emilio Munoz-Sandoval, y Nadia Martínez-Villegas. «Surfactant suspended multi-wall carbon nanotube stability in artificial water samples of different hydrogeochemical families». *Applied Geochemistry* 139 (1 de febrero de 2022): 105252. <https://doi.org/10.1016/j.apgeochem.2022.105252>.
8. Barraza Garcia, Felipe De Jesus, Sandra Pérez Miranda, Jose Munguía López, Florentino López-Urías, Emilio Oz-Sandoval, y Emilio Munoz-Sandoval. «Carbon Nanotubes as Antimicrobial Agents: Trends and Perspectives», 1-19, 2021. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70614-6_47-1.