



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS

DEPARTAMENTO DE QUÍMICA

TESIS

**SÍNTESIS BIOGÉNICA Y EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE
NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y ÓXIDO DE ZINC UTILIZANDO NEJAYOTE**

PRESENTA

M.C. Alejandra Ortiz De Lira

PARA OBTENER EL GRADO DE DOCTORA EN CIENCIAS BIOLÓGICAS

TUTORA

Dra. Iliana Ernestina Medina Ramírez

INTEGRANTES DEL COMITÉ TUTORAL

Dra. Norma Angélica Chávez Vela

Dr. Carlos Enrique Escárcega González

Aguascalientes, Ags., 06 de junio de 2025



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
DE AGUASCALIENTES

CENTRO DE CIENCIAS BÁSICAS
Departamento de Química

MTRO. EN C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS

PRESENTE

Por medio del presente como **TUTOR** designado del estudiante **ALEJANDRA ORTIZ DE LIRA** con ID 165261 quien realizó la tesis titulada: **SÍNTESIS BIOGÉNICA Y EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y ÓXIDO DE ZINC UTILIZANDO NEJAYOTE**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que *ella* pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"
Aguascalientes, Ags., a 02 día de junio de 2025.


Dra. Iliana Ernestina Medina Ramírez
TUTOR de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.
Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.
Aprobado por: Depto. Control Escolar/ Depto. Apoyo al Posgrado.

Código: DO-SEE-FO-07
Actualización: 01
Emisión: 17/05/19



MTRO. EN C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS

PRESENTE

Por medio del presente como **ASESOR** designado del estudiante **ALEJANDRA ORTIZ DE LIRA** con ID 165261 quien realizó la tesis titulada: **SÍNTESIS BIOTÉGICA Y EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y ÓXIDO DE ZINC UTILIZANDO NEJAYOTE**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que ella pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"
Aguascalientes, Ags., a 02 día de junio de 2025.

Dra. Norma Angélica Chávez Vela
ASESOR de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaría Técnica del Programa de Posgrado

Elaborado por: Depto. Apoyo al Posgrado.
Revisado por: Depto. Control Escolar/Depto. Gestión de Calidad.
Aprobado por: Depto. Control Escolar/ Depto. Apoyo al Posgrado.

uaa.mx /
Actualización: 01
Emisión: 17/05/19



FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS
Subdirección Académica de Ingeniería Química y Ambiental

MTRO. EN C. JORGE MARTÍN ALFÉREZ CHÁVEZ
DECANO (A) DEL CENTRO DE CIENCIAS

PRESENTE

Por medio del presente como **ASESOR** designado del estudiante **ALEJANDRA ORTIZ DE LIRA** con ID 165261 quien realizó *la tesis* titulada: **SÍNTESIS BIÓGÉNICA Y EVALUACIÓN ANTIBACTERIANA DE NANOPARTÍCULAS DE PLATA Y ÓXIDO DE ZINC UTILIZANDO NEJAYOTE**, un trabajo propio, innovador, relevante e inédito y con fundamento en el Artículo 175, Apartado II del Reglamento General de Docencia doy mi consentimiento de que la versión final del documento ha sido revisada y las correcciones se han incorporado apropiadamente, por lo que me permito emitir el **VOTO APROBATORIO**, para que *ella* pueda proceder a imprimirla así como continuar con el procedimiento administrativo para la obtención del grado.

Pongo lo anterior a su digna consideración y sin otro particular por el momento, me permito enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE
"Se Lumen Proferre"

Aguascalientes, Ags., a 02 día de *junio* de 2025.


Dr. Carlos Enrique Escárcega González
ASESOR de tesis

c.c.p.- Interesado
c.c.p.- Secretaria Técnica del Programa de Posgrado



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NUEVO LEÓN
Av. Universidad s/n, Cd. Universitaria, C.P. 66455, San Nicolás de los Garza, N.L. Tel.: 8183 29 40 00 Ext. 6349, 6281
e-mail: monica.alcalard@uanl.edu.mx



DICTAMEN DE LIBERACIÓN ACADÉMICA PARA INICIAR LOS TRÁMITES DEL EXAMEN DE GRADO



Fecha de dictaminación dd/mm/aaaa: 10 de junio de 2025

NOMBRE: Alejandra Ortiz De Lira **ID** 165261

PROGRAMA: Doctorado en Ciencias Biológicas, Modalidad Tradicional **LGAC (del posgrado):** Química y Biorremediación

TIPO DE TRABAJO: (X) Tesis () Trabajo Práctico

TÍTULO: Síntesis biogénica y evaluación antibacteriana de nanopartículas de plata y óxido de zinc utilizando nejayote

La generación de residuos agroindustriales representa un desafío ambiental importante, especialmente cuando estos residuos son vertidos directamente al ambiente sin tratamiento previo. Tal es el caso del nejayote, que es un subproducto alcalino generado durante la nixtamalización del maíz y es considerado como un efluente contaminante debido al alto contenido de materia orgánica en disolución, por lo que, su reutilización adquiere relevancia. Además, el nejayote presenta una composición química de gran interés, ya que sus compuestos bioactivos poseen propiedades antioxidantes y antibacterianas que pueden ser aprovechadas. Por lo que, en este estudio se plantea el aprovechamiento del nejayote como agente reductor y estabilizante en la síntesis biogénica de nanopartículas de plata (NPsAg) y óxido de zinc (NPs ZnO) a través de un proceso ecológico. Los resultados demuestran que el nejayote puede ser empleado como una fuente sustentable para la obtención de nanopartículas metálicas con propiedades antibacterianas interesantes, por lo que, esta investigación aporta una solución viable y sostenible con énfasis en la reducción de residuos con efectos negativos al ambiente. La reutilización del nejayote no solo contribuye a reducir la acción contaminante que éste genera, sino que también promueve la generación de productos de valor agregado, como las NPsAg y NPs ZnO con potencial para aplicaciones que contribuyan con el desarrollo tecnológico.

IMPACTO SOCIAL (señalar el impacto logrado):

INDICAR SI NO N.A. (NO APLICA) SEGÚN CORRESPONDA:

INDICAR	SI	NO	N.A. (NO APLICA)	SEGÚN CORRESPONDA:
Elementos para la revisión académica del trabajo de tesis o trabajo práctico:				
SI				El trabajo es congruente con las LGAC del programa de posgrado
SI				La problemática fue abordada desde un enfoque multidisciplinario
SI				Existe coherencia, continuidad y orden lógico del tema central con cada apartado
SI				Los resultados del trabajo dan respuesta a las preguntas de investigación o a la problemática que aborda
SI				Los resultados presentados en el trabajo son de gran relevancia científica, tecnológica o profesional según el área
SI				El trabajo demuestra más de una aportación original al conocimiento de su área
SI				Las aportaciones responden a los problemas prioritarios del país
NO				Generó transferencia del conocimiento o tecnológica
SI				Cumple con la ética para la investigación (reporte de la herramienta antiplagio)
El egresado cumple con lo siguiente:				
SI				Cumple con lo señalado por el Reglamento General de Docencia
SI				Cumple con los requisitos señalados en el plan de estudios (créditos curriculares, optativos, actividades complementarias, estancia, predoctoral, etc)
SI				Cuenta con los votos aprobatorios del comité tutorial, en caso de los posgrados profesionales si tiene solo tutor podrá liberar solo el tutor
N.A.				Cuenta con la carta de satisfacción del Usuario
SI				Coincide con el título y objetivo registrado
SI				Tiene congruencia con cuerpos académicos
SI				Tiene el CVU del Conacyt actualizado
SI				Tiene el artículo aceptado o publicado y cumple con los requisitos institucionales (en caso que proceda)
En caso de Tesis por artículos científicos publicados				
				Aceptación o Publicación de los artículos según el nivel del programa
				El estudiante es el primer autor
				El autor de correspondencia es el Tutor del Núcleo Académico Básico
				En los artículos se ven reflejados los objetivos de la tesis, ya que son producto de este trabajo de investigación.
				Los artículos integran los capítulos de la tesis y se presentan en el idioma en que fueron publicados
				La aceptación o publicación de los artículos en revistas indexadas de alto impacto

Con base a estos criterios, se autoriza se continúen con los trámites de titulación y programación del examen de grado:

SI
 No

Elaboró:

FIRMAS

* NOMBRE Y FIRMA DEL CONSEJERO SEGÚN LA LGAC DE ADSCRIPCIÓN:

Dr. Gilberto Alejandro Ocampo Acosta

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO TÉCNICO:

Dr. Gilberto Alejandro Ocampo Acosta

* En caso de conflicto de intereses, firmará un revisor miembro del NAB de la LGAC correspondiente distinto al tutor o miembro del comité tutorial, asignado por el Decano

Revisó:

NOMBRE Y FIRMA DEL SECRETARIO DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO:

Dr. Alejandro Padilla Díaz

Autorizó:

NOMBRE Y FIRMA DEL DECANO:

M. en C. Jorge Martín Alferez Chivez

Nota: procede el trámite para el Depto. de Apoyo al Posgrado

En cumplimiento con el Art. 105C del Reglamento General de Docencia que a la letra señala entre las funciones del Consejo Académico: ...Cuidar la eficiencia terminal del programa de posgrado y el Art. 105F las Funciones del Secretario Técnico, llevar el seguimiento de los alumnos.

Elaborado por: D. Apoyo al Posg.
Revisado por: D. Control Escolar/D. Gestión de Calidad.
Aprobado por: D. Control Escolar/D. Apoyo al Posg.

Código: DO-SEE-FO-19
Actualización: 01
Emisión: 28/04/20



clean technologies

an Open Access Journal by MDPI



CERTIFICATE OF ACCEPTANCE



The certificate of acceptance for the manuscript (cleantechnol-3602888) titled:
Synthesis of Silver (Ag) nanoparticles (NPs) with an enhanced antibacterial activity using nixtamalization
wastewater (nejayote).

Authored by:

Alejandra Ortiz-De Lira; J.A. Lozano-Álvarez; NA Chávez-Vela; Carlos Enrique Escárcega-González; Enrique
Díaz Barriga-Castro; Hilda E. Reynel-Ávila;
Iliana E. Medina-Ramirez

was accepted in *Clean Technol.* (ISSN 2571-8797) on 28 May 2025



Basel, May 2025

Stefan Tochev
Chief Executive Officer

Agradecimientos

Mi más sincero agradecimiento a mi tutora de tesis, la Dra. Iliana E. Medina Ramírez, por su apoyo constante, paciencia y orientación a lo largo de todo este proceso. Su experiencia y consejo fueron fundamentales para el desarrollo y culminación de este trabajo. Gracias por guiarme y permitirme ser parte de un gran equipo de trabajo. Agradezco a mis asesores de tesis, la Dra. Norma Angélica Chávez Vela y al Dr. Carlos Enrique Escárcega González, por sus aportaciones y observaciones a este trabajo.

Al Dr. Juan Antonio Lozano Álvarez, por su valioso apoyo y orientación en cada etapa de esta investigación. A la Mtra. Vero y a la Mtra. Gaby, por acompañarme y apoyarme siempre que lo requerí, gracias por creer en mí y por crear en el laboratorio un agradable ambiente laboral, fui muy feliz en el 117.

A mis papás, por ser mi pilar fundamental en cada paso, por sus consejos, comprensión y motivación constante. A mis hermanos, por darme ánimos cuando lo necesité.

A la Dra. Elizabeth Reynel, por su apoyo incondicional y su valiosa amistad. A mis compañeros de laboratorio. Gracias Enya, por tu apoyo.

A Darío, por ser un rayito de luz durante todo este camino. El mejor compañero y amigo. Gracias por no dejarme caer en los momentos más difíciles, por escucharme, motivarme a seguir, por creer en mí y por ser parte de mi vida. Gracias por siempre estar, por acompañarme en mis tiempos libres, por las risas y por ser incondicional tanto en lo personal como laboral.

Al Consejo Nacional de Humanidades, Ciencia y Tecnología, por apoyo económico para llevar a cabo este proyecto de tesis.

Los autores agradecen el apoyo otorgado por el Laboratorio Nacional de Materiales Porosos – MatPore.

Dedicatorias

Dedico esta tesis a la memoria del Dr. Juan Jáuregui Rincón †, con quien inicié este proyecto de investigación.

Dedico un agradecimiento especial a quien en vida me brindó su guía, conocimiento y apoyo en esta etapa. Su ejemplo y enseñanzas siguen presentes en este trabajo y en mi camino profesional. Su orientación académica y calidad humana dejaron huella en mi formación.

A ustedes, que siempre están presentes en mi vida.

Mis Padres: Juanita y Guadalupe

Mis hermanos: Alber, Edgar, Lioni †, Lua, Nivi.

Índice General

Índice General.....	1
Índice de Tablas	3
Índice de Figuras	4
Acrónimos	9
Resumen	11
Abstract	13
1. Marco Teórico	15
1.1. Generación de residuos agroindustriales con impacto ambiental	15
1.2. Nanotecnología y nanopartículas	17
1.3. Métodos de síntesis de nanopartículas	18
1.4. Síntesis biogénica de nanopartículas	20
1.5. Extracto vegetal como ruta de síntesis biogénica de nanopartículas	21
1.6. Factores que influyen en la síntesis biogénica de nanopartículas	25
1.7. El Nejayote	28
1.8. Producción de nejayote en México	29
1.9. Composición química y usos del nejayote	29
1.10. NPsAg	31
1.11. NPs ZnO	32
1.12. Aplicación de las nanopartículas.....	33
2. Antecedentes	34
3. Justificación.....	36
4. Hipótesis	36
5. Objetivos.....	37
5.1. Objetivo General	37
5.2. Objetivos específicos.....	37
6. Metodología	38
6.1. Obtención y pretratamiento del nejayote.....	38
6.2. Análisis fisicoquímico del nejayote	38
6.3. Cuantificación de AF en el nejayote	39
6.4. Síntesis biogénica de NPsAg	39
6.5. Caracterización de las nanopartículas sintetizadas.....	41

6.6.	Evaluación de la actividad antibacteriana de las NPsAg.....	43
6.7.	Ensayo de Hemólisis	44
6.8.	Síntesis de NPs ZnO	46
6.9.	Caracterización de NPs ZnO	46
6.10.	Evaluación antibacteriana de NPs ZnO	46
6.11.	Ensayo de Hemólisis de NPs ZnO	47
7.	Resultados y Discusión	48
7.1.	Obtención y pretratamiento del nejayote.....	48
7.2.	Análisis fisicoquímico del nejayote	48
7.3.	Cuantificación de AF en nejayote	50
7.4.	Síntesis biogénica de NPsAg	52
7.5.	Caracterización de las NPAg sintetizadas	55
7.6.	Evaluación de la actividad antibacteriana de las NPsAg	62
7.7.	Ensayo de Hemólisis	67
7.8.	Síntesis de NPs ZnO	73
7.9.	Caracterización de las NPs ZnO.....	75
7.10.	Evaluación antibacteriana de las NPs ZnO	82
7.11.	Ensayo de Hemólisis de NPs ZnO.....	85
8.	Conclusiones.....	87
9.	Glosario.....	89
10.	Bibliografía	91
11.	Apéndice	108

Índice de Tablas

Tabla 1.Principales procesos de síntesis de nanopartículas metálicas con sus ventajas y desventajas.	19
Tabla 2. Síntesis biogénica de diferentes nanopartículas metálicas mediante el uso de diversos extractos de vegetales.	22
Tabla 3.Diseño experimental Taguchi L ₉ para síntesis de NPsAg a partir del nejayote.	40
Tabla 4. Valores promedio del análisis fisicoquímico del nejayote.....	49
Tabla 5. Concentración de ácido ferúlico en muestras de nejayote.	51
Tabla 6. Valor de MIC (µg/mL) y valor de MBC (µg/mL) correspondientes a las dos rutas de síntesis de NPsAg.	63
Tabla 7. Valor de MIC y MBC (µg/mL) correspondiente al ácido ferúlico evaluado.	66
Tabla 8. Diseño experimental para la síntesis de NPs ZnO a partir del nejayote, evaluando diferentes factores de síntesis. Se presenta el rendimiento obtenido para cada experimento.	74

Índice de Figuras

Figura 1. Representación esquemática de la síntesis biogénica de NPsAg a partir de extractos vegetales, mostrando la reducción de iones de Ag^+ y estabilización por compuestos bioactivos.	24
Figura 2. Estructuras químicas de los compuestos principales del nejayote.	30
Figura 3. Estructura química del Ácido Ferúlico (ácido 4-hidroxi -3- metoxicinámico).	31
Figura 4. Nejayote fresco obtenido (A) sin filtrar y (B) nejayote libre de sólidos después del proceso de purificación.	48
Figura 5. Cromatogramas líquidos de alto rendimiento correspondientes a una solución estándar de AF de 40 $\mu g/mL$ y diferentes muestras de nejayote analizadas a 321 nm.	50
Figura 6. Representación esquemática de la síntesis de NPsAg mediada por nejayote. (A) muestra de nejayote, (B) interacción de los iones de Ag^+ y (C) solución coloidal de NPsAg sintetizadas a 80 °C.	53
Figura 7. Síntesis de nanopartículas de plata (NPsAg) utilizando AF como agente reductor. A y B muestran diferentes relaciones molares de $AgNO_3$: AF: 1:3 (A) y 1:2.5 (B). Las flechas rojas indican la formación de espejos de plata debido al crecimiento descontrolado de partículas de plata.....	54
Figura 8. Espectro de absorción UV-Vis de las NPsAg coloidales sintetizadas a partir de nejayote a diferentes temperaturas de reacción: 60 °C (azul) y 80 °C (rojo).	55
Figura 9. Difractograma de rayos X de NPsAg sintetizadas a partir de Nejayote, que representa las señales características de la Ag metálica (línea roja) y otras señales atribuidas a la formación de AgCl (línea verde).....	57
Figura 10. Caracterización por Microscopía Electrónica de Transmisión para el tamaño y la distribución de las NPsAg. Específicamente: (A) Micrografía TEM de baja resolución y (B) Micrografía HR-TEM de las NPsAg. (C) Patrón SAED con anillos concéntricos marcados. (D) Histograma que muestra la distribución del tamaño de partícula de las NPsAg.	58

Figura 11. Espectro EDS de NPsAg sintetizadas a partir de nejayote. 59

Figura 12. Análisis FTIR de nejayote (rojo) y NPsAg funcionalizadas con nejayote (negro)..... 60

Figura 13. Imágenes topográficas AFM (A1, A2, B1, B2) a diferentes aumentos para NPsAg sintetizadas a partir de Nejayote. C1, C2 Micrografías de fase de golpeteo de NPsAg a diferentes aumentos que denotan la presencia de plata. 61

Figura 14. Imágenes topográficas AFM (A1, A2, B1, B2) a diferentes aumentos para el nejayote empleado en la síntesis de NPsAg. C1, C2 Micrografías de fase de golpeteo a diferentes aumentos que denotan la ausencia de NPsAg. 62

Figura 15. Evaluación de la actividad antibacteriana de las NPsAg. Placas de Petri que muestran la actividad antibacteriana de las NPsAg contra E.coli. Fila superior: actividad antibacteriana de las NPsAg sintetizadas a partir de Nejayote. Fila inferior: actividad antibacteriana sintetizadas químicamente. Células bacterianas (1×10^5 células/mL) interactuaron con diferentes concentraciones de NPsAg durante tres horas. 63

Figura 16. Actividad antibacteriana de las NPsAg contra *E. coli*. Las NPsAg sintetizadas a partir de Nejayote (A) y un método químico (B), evaluación durante tres horas de interacción a una concentración de 1×10^5 células/ml. Los datos mostrados son promedios según la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas y letras iguales indican diferencias no significativas. La inhibición del crecimiento (%) se indica en la parte superior de las barras de cada tratamiento. 64

Figura 17. Actividad antibacteriana del AF, evaluado con tres concentraciones (2500, 1250 y 625 $\mu\text{g/mL}$) comparando con un control PBS. 66

Figura 18. Mecanismo antibacteriano de las NPsAg frente a las bacterias. La interacción de las NPsAg con la bacteria *E. coli* altera su pared celular, causando la inactivación de enzimas clave, la producción de ROS, daño al ADN, desestabilización de proteínas y desensamblaje de ribosomas. Estos efectos contribuyen colectivamente a la muerte de las células bacterianas. 67

Figura 19. Evaluación de la actividad hemolítica de las NPsAg. No se ejerce

actividad hemolítica a ninguna de las concentraciones evaluadas. (A) Síntesis biogénica y (B) Síntesis química. 68

Figura 20. Evaluación de la biocompatibilidad de las NPsAg en células de fibroblasto Detroit 548 (ATCC CCL-116). (A) Viabilidad celular de las células Detroit 548 tras la exposición a diferentes concentraciones (0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 $\mu\text{g/mL}$) de NPsAg biogénicas. (B) Viabilidad celular de las células Detroit después de la exposición a NPsAg (0.25, 0.50, 0.75 y 1 $\mu\text{g/mL}$) sintetizadas químicamente. Las diferencias estadísticas entre las muestras de prueba y el control se obtuvieron mediante la prueba de Tukey, y la significancia se calculó en ($p \leq 0.05$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos y letras iguales indican que no existe diferencia estadísticamente significativa. 69

Figura 21. Efectos de las NPsAg biosintetizadas y producidas químicamente en el fibroblasto Detroit 548 (ATCC CCL-116) mediante la prueba LDH. (A) Síntesis biogénica a varias concentraciones (0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 $\mu\text{g/mL}$) y (B) síntesis química (0.25, 0.50, 0.75 y 1 $\mu\text{g/mL}$) en relación con el control no tratado (0 $\mu\text{g/mL}$). Las diferencias estadísticas entre las muestras de prueba y el control se obtuvieron mediante la prueba de Tukey, y la significancia se calculó en ($p \leq 0.05$). Letras iguales indican no diferencia significativa, mientras que las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas..... 71

Figura 22. Las imágenes (A1, A2, B1, B2) muestran fibroblastos humanos a diferentes aumentos, en los que se observa una morfología y un tamaño celulares típicos. En las imágenes (C1, C2), no se detectan cambios de fase, lo cual sugiere una composición homogénea de las células. Por otro lado, en las imágenes (D1, D2, E1, E2), correspondientes a fibroblastos tratados con NPsAg, se mantiene la morfología típica, aunque se aprecian ligeras variaciones en el tamaño celular. Finalmente, en las imágenes (F1, F2) se observan cambios de fase poco notorios, que podrían indicar la entrada de NPsAg en el interior de la célula..... 72

Figura 23. Nanopartículas de ZnO sintetizadas a partir de nejayote tratadas térmicamente a diferentes temperaturas. Las muestras fueron calcinadas a 400 °C y 600 °C. El efecto de la temperatura se observa con el incremento en

- intensidad en el color blanco de las partículas obtenidas..... 73
- Figura 24. Mecanismo propuesto de formación de nanopartículas biogénicas de ZnO mediante la interacción de iones Zn^{2+} con compuestos bioactivos presentes en el nejayote, seguida de un proceso de calcinación que da lugar a la generación de NPs ZnO. 75
- Figura 25. Patrones de DRX de NPs ZnO sintetizadas con nejayote y tratadas térmicamente a diferentes temperaturas: NPs ZnO 400 °C (azul) y NPs ZnO 600 °C (negro). Las señales observadas corresponden a planos característicos de la fase wurtzita. La muestra b presenta mayor intensidad, lo que indica un incremento en la cristalinidad asociado al aumento en la temperatura de calcinación..... 76
- Figura 26. Caracterización por microscopía electrónica de la estructura cristalina, el tamaño y la distribución de la forma de las NPs ZnO obtenidas a 400°C. Específicamente: (A) Micrografía TEM de baja resolución y (B) Micrografía HR-TEM de las NPs ZnO. (C) Patrón SAED con anillos marcados. (D) Histograma que muestra la distribución del tamaño de partícula de las Ns ZnO..... 78
- Figura 27. Imágenes de SEM de NPs ZnO sintetizadas con nejayote y calcinadas a diferentes temperaturas: (A) 400 °C y (B) 600 °C. A 400 °C, las partículas muestran una morfología esférica y menor tamaño, mientras que a 600 °C se observa un aumento en el tamaño y mayor aglomeración, debido al efecto del tratamiento térmico sobre el crecimiento cristalino. Estos cambios evidencian la influencia de la temperatura en la morfología y distribución de las ZnO-NPs. 79
- Figura 28. . Espectros EDS de NPs ZnO sintetizadas con nejayote y calcinadas a diferentes temperaturas: (A) 400 °C y (B) 600 °C. En ambos espectros se identifican las señales características de zinc y oxígeno, confirmando la composición elemental del óxido de zinc. La presencia de los otros elementos es atribuible a los metabolitos presentes en el nejayote. 80
- Figura 29. Espectros FTIR de (a) Nejayote, ZnO NPs sintetizadas a diferentes concentraciones de nejayote (b) 1:10, (c) 1:5, (d) 1:1 v/v y (e) nejayote concentrado. Temperatura de calcinación 400 °C. Se identifican grupos –OH, vibraciones C–H y enlaces C=O y C=C relacionados con compuestos orgánicos

del nejayote. Las bandas entre 600–400 cm^{-1} corresponden a enlaces Zn-O y Zn-OH, confirmando la formación de ZnO. La reducción de las bandas orgánicas de (a) a (e) indica una eliminación gradual de materia orgánica conforme aumenta la temperatura o calcinación 82

Figura 30. Evaluación de la actividad antibacteriana de NPs ZnO. Placas de Petri que muestran la actividad antibacteriana de los NPs ZnO contra *E. coli*. Las células bacterianas (1×10^5 células/mL) interactuaron con diferentes concentraciones de NPs ZnO durante 12 horas. Línea superior indica la evaluación en oscuridad y la línea inferior muestra la evaluación mediante luz UV. 83

Figura 31. Actividad antibacteriana de las NPs ZnO contra *E. coli*. Las NPs ZnO evaluadas en oscuridad total (A) e irradiadas con luz UV (B) se evaluaron durante doce horas de interacción a una concentración de 1×10^5 células/mL. Los datos mostrados son el promedio según la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas y letras iguales indican diferencias no significativas. La inhibición del crecimiento (%) se indica en la parte superior de las barras de cada tratamiento. 84

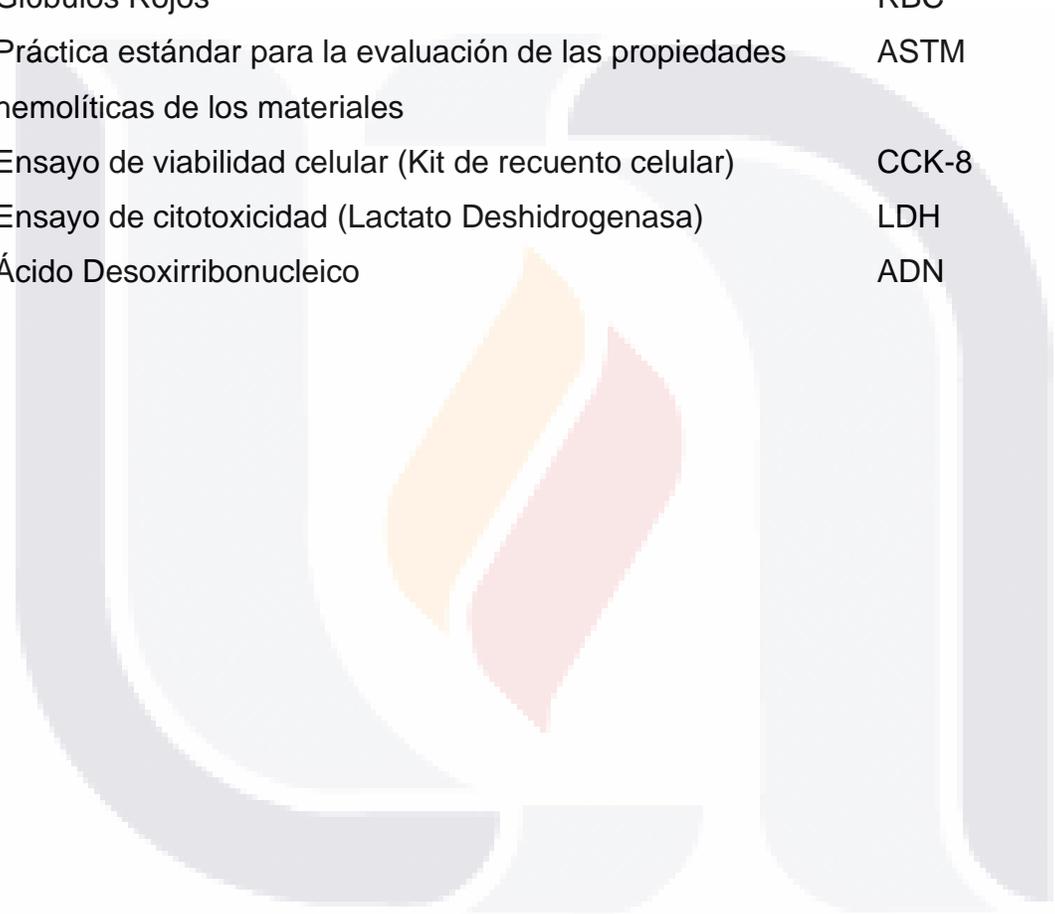
Figura 32. Mecanismo de acción de las NPs ZnO contra *E.coli*. Las NPs ZnO inducen daño celular mediante la generación de ROS, interacción con la membrana celular, liberación de iones Zn^{2+} , lo que conduce a estrés oxidativo, alteración de funciones y muerte celular. 85

Figura 33. Porcentaje de hemólisis de las NPs ZnO evaluadas en (A) total oscuridad y (B) bajo irradiación UV. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar de tres réplicas independientes. $p < 0.05$ indica diferencias estadísticamente significativas. Las NPs evaluadas muestran porcentajes de hemólisis superior al 2 % a 350 $\mu\text{g/mL}$, lo que sugiere un comportamiento ligeramente hemolítico a esta concentración..... 86

Acrónimos

Ácido Ferúlico	AF
Nanopartículas de Plata	NPsAg
Nanopartículas de ZnO	NPs ZnO
<i>Escherichia coli</i>	<i>E.coli</i>
Nanopartículas	NPs
Especies Reactivas de Oxígeno	ROS
Nanomateriales	NMs
Arabinosilanos	AX
Demanda Química de Oxígeno	DQO
Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas	DENUE
Instituto Nacional de Estadística y Geografía	INEGI
Nanopartículas de Óxido de Níquel	NPs NiO
Sólidos Totales	ST
Demanda Biológica de Oxígeno	DBO
Sólidos Suspendedos Totales	SST
Sólidos Sedimentables	SSED
Ácido Dinitrosalicílico	DNS
Ácido Clorhídrico	HCl
Densidad Relativa	DR
Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia	HPLC
Señal-Ruido	S/N
Análisis de Varianza	ANOVA
Difracción de Rayos X	DRX
Ancho total a la mitad del máximo	FWHM
Microscopía Electrónica de Transmisión	TEM
Microscopía Electrónica de Transmisión de Alta Resolución	HR-TEM
Difracción de Electrones de Área Seleccionada	SAED
Espectroscopía de Dispersión de Energía	EDS
Microscopía Electrónica de Barrido	SEM

Espectroscopia Infrarroja por Transformada de Fourier	FTIR
Colección Americana de Cultivos Tipo	ATCC
Concentración Mínima Inhibitoria	CMI
Concentración Mínima Bactericida	CMB
Infusión Cerebro-Corazón	ICC
Solución Salina Tamponada con Fosfatos	PBS
Glóbulos Rojos	RBC
Práctica estándar para la evaluación de las propiedades hemolíticas de los materiales	ASTM
Ensayo de viabilidad celular (Kit de recuento celular)	CCK-8
Ensayo de citotoxicidad (Lactato Deshidrogenasa)	LDH
Ácido Desoxirribonucleico	ADN



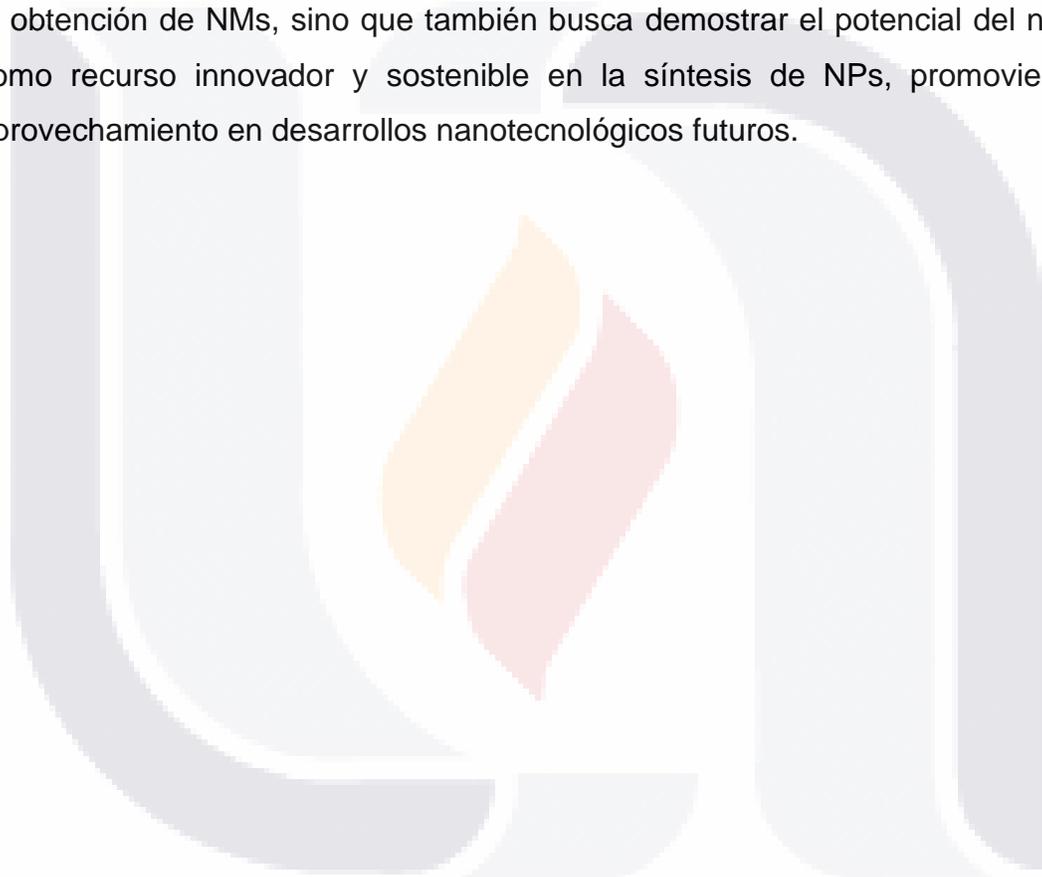
Resumen

El Nejayote es un efluente alcalino derivado del proceso de nixtamalización y es considerado por su alta carga de materia orgánica en disolución y suspensión como un residuo altamente contaminante si se descarga directamente al medio ambiente sin tratamiento previo. No obstante, su reutilización sostenible resulta de gran relevancia debido a la presencia de compuestos bioactivos de alto valor, como el ácido ferúlico (AF), que en combinación con otros metabolitos presentes en el nejayote actúan como agentes reductores y estabilizantes en la síntesis biogénica de nanopartículas metálicas. Este estudio se enfoca en la síntesis biogénica de nanopartículas de plata (NPsAg) y óxido de zinc (NPs ZnO) utilizando nejayote como medio de reacción, así como su caracterización de sus propiedades fisicoquímica, su potencial actividad antibacteriana frente a *Escherichia coli* (*E.coli*) y su toxicidad hemolítica.

Las Nanopartículas (NPs) obtenidas mostraron propiedades ópticas y estructurales características, con morfología predominantemente esféricas en el caso de las NPsAg (20 nm en promedio) con estructura cúbica centrada en las caras y una estructura tipo wurtzita en las NPs ZnO (52.4 nm en promedio). La espectroscopía FTIR evidenció la presencia de grupos funcionales como fenoles y flavonoides en la superficie de las NPs, mientras que el análisis por HPLC confirmó la presencia de AF en el nejayote. Los metabolitos derivados contribuyeron a la estabilización superficial de las NPs y potenciar su actividad antibacteriana mediante la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS). Las NPsAg biogénicas exhibieron una mayor actividad antibacteriana debido a la adsorción de estos grupos funcionales en su superficie, lo que contribuye a la disrupción de la membrana bacteriana. Mientras que las NPs ZnO irradiadas con luz ultravioleta (UV) presentaron mayor eficiencia en la inhibición del crecimiento de *E.coli*.

Finalmente, en el caso de las NPsAg no se observó actividad hemolítica ni citotóxica, lo que sugiere que las NPsAg ejercen actividad antibacteriana sin dosis potencialmente dañinas. Sin embargo, los ensayos de hemólisis para las NPs ZnO

revelaron que, si bien las concentraciones efectivas presentaron biocompatibilidad en algunos casos, las NPs ZnO mostraron efectos hemolíticos dependientes de la dosis y potenciados por la irradiación de luz UV. Estos resultados subrayan el potencial del nejayote como una fuente agroindustrial alternativa para la obtención de nanomateriales (NMs) funcionales con aplicaciones tecnológicas y biomédicas, siempre que se consideren cuidadosamente sus efectos citotóxicos. La relevancia de esta investigación radica no solo en la búsqueda de soluciones sustentables para la obtención de NMs, sino que también busca demostrar el potencial del nejayote como recurso innovador y sostenible en la síntesis de NPs, promoviendo su aprovechamiento en desarrollos nanotecnológicos futuros.



Abstract

Nejayote is an alkaline effluent derived from the nixtamalization process and is considered due to its high load of organic matter in solution and suspension as a highly polluting waste if it is discharged directly into the environment without prior treatment. However, its sustainable reuse is of great relevance due to the presence of high-value bioactive compounds, such as ferulic acid (AF), which in combination with other metabolites present in nejayote act as reducing and stabilizing agents in the biogenic synthesis of metal nanoparticles. This study focuses on the biogenic synthesis of silver nanoparticles (NPsAg) and zinc oxide (NPs ZnO) using nejayote as a reaction medium, as well as its characterization of its physicochemical properties, its potential antibacterial activity against *Escherichia coli* (*E.coli*) and its hemolytic toxicity.

The nanoparticles (NPs) obtained showed characteristic optical and structural properties, with predominantly spherical morphology in the case of NPsAg (20 nm on average) with a cubic structure centered on the faces and a wurtzite-like structure in the ZnO NPs (52.4 nm on average). FTIR spectroscopy showed the presence of functional groups such as phenols and flavonoids on the surface of the NPs, while HPLC analysis confirmed the presence of AF in nejayote. The derived metabolites contributed to the surface stabilization of NPs and enhanced their antibacterial activity through the generation of reactive oxygen species (ROS). Biogenic NPsAg exhibited increased antibacterial activity due to the adsorption of these functional groups on their surface, which contributes to bacterial membrane disruption. While ZnO NPs irradiated with ultraviolet (UV) light showed greater efficiency in inhibiting *E.coli* growth.

Finally, in the case of NPsAg, no hemolytic or cytotoxic activity was observed, suggesting that NPsAg exert antibacterial activity without potentially harmful doses. However, hemolysis assays for ZnO NPs revealed that while effective concentrations were biocompatible in some cases, ZnO NPs showed dose-dependent hemolytic effects enhanced by UV light irradiation. These results underscore the potential of nejayote as an alternative agro-industrial source for

obtaining functional nanomaterials (NMs) with technological and biomedical applications, provided that their cytotoxic effects are carefully considered. The relevance of this research lies not only in the search for sustainable solutions to obtain NMs but also seeks to demonstrate the potential of nejayote as an innovative and sustainable resource in the synthesis of NPs, promoting its use in future nanotechnological developments.



1. Marco Teórico

1.1. *Generación de residuos agroindustriales con impacto ambiental*

En los últimos años, la generación de residuos agroindustriales ha aumentado significativamente, representando una amenaza creciente para los ecosistemas. La agroindustria mexicana genera una gran cantidad de residuos orgánicos e inorgánicos que si no son tratados adecuadamente, representan un riesgo significativo para el ambiente y la salud pública (Castro-Muñoz & Yáñez-Fernández, 2015). Particularmente, uno de estos residuos es el nejayote, el cual es un subproducto alcalino del proceso de nixtamalización del maíz, que se genera en grandes volúmenes y suele ser desechado sin tratamiento previo (Díaz-Montes et al., 2016). Este efluente ha sido considerado un residuo sin valor agregado, contiene compuestos bioactivos como ácidos fenólicos, ácido ferúlico, lignina, hemicelulosa, proteínas y sales minerales (Valderrama Bravo et al., 2020) con propiedades antioxidantes y antiinflamatorias. Además, presenta un pH entre 9 y 11 y alta carga orgánica, lo que provoca alteraciones en el oxígeno disuelto y toxicidad en cuerpos de agua al ser vertido directamente al ambiente (Téllez et al., 2016).

En México, donde el maíz se constituye uno de los cultivos más importantes tanto a nivel económico como cultural, se estima que anualmente se desechan más de 16 millones de m³ de nejayote (Román-Escobedo et al., 2024), lo cual lo convierte un residuo prioritario desde el punto de vista ambiental. El aprovechamiento de residuos como el nejayote se alinea con los principios de la economía circular, un modelo que busca extender el ciclo de vida de los recursos mediante su reutilización, reciclaje, reintegración a procesos (Castro-Muñoz & Yáñez-Fernández, 2015). En este contexto, la revalorización de residuos agroindustriales no solo permite mitigar los efectos contaminantes, sino que también promueve la generación de productos de alto valor agregado con aplicaciones en sectores como salud, agricultura e industria química (Castro-Muñoz & Yáñez-Fernández, 2015).

Existen propuestas para su aprovechamiento, como su uso como fertilizante, suplemento alimenticio o sustrato para la generación de semillas (Valderrama Bravo

et al., 2020). No obstante, su composición química lo convierte en un candidato prometedor para ser revalorizado mediante procesos sustentables. Su potencial como agente reductor y estabilizante en la síntesis de NPs ha sido escasamente explorado. Ante este escenario, la nanotecnología ha emergido como una alternativa innovadora para el desarrollo de nanomateriales con diversos campos de aplicación.

Estudios recientes han demostrado que el nejayote puede emplearse para sintetizar NMs (Escobar Morales et al., 2018a; López-Mercado et al., 2023) con aplicaciones en biomedicina, remediación ambiental y recubrimientos antibacterianos (Castro-Muñoz & Yáñez-Fernández, 2015b; Román-Escobedo et al., 2024; Téllez et al., 2016). Sin embargo, a pesar de estos avances, la mayor cantidad del nejayote aún se desecha directamente en el medio ambiente, contribuyendo a la contaminación ambiental. Por lo que es fundamental desarrollar estrategias que promuevan su reutilización sostenible y reduzcan su impacto ecológico.

En este contexto, El uso de extractos vegetales ricos en compuestos con capacidad reductora para la síntesis biogénica de NPs se ha considerado una alternativa rentable y sostenible, de acuerdo con estudios previos (Joshi, 2018; Ali, 2020; Alharbi et al., 2022) y continua la investigación sobre el potencial reductor de los efluentes generados por la industria del maíz (Díaz-Montes et al., 2016; Valderrama Bravo et al., 2020), ya que se ha demostrado que éstos presentan una alta concentración de compuestos bioactivos con potenciales aplicaciones (Téllez-Pérez et al., 2018), lo que podría facilitar la obtención de productos de valor agregado. La implementación de estos enfoques contribuye simultáneamente a la remediación ambiental y al desarrollo de materiales funcionales con potencial antibacteriano, catalítico o farmacológico (Valderrama Bravo et al., 2020).

Particularmente, el nejayote presenta propiedades fisicoquímicas derivada de los compuestos liberados del maíz durante el tratamiento térmico y alcalino (Díaz-Montes et al., 2016), lo que incluye su actividad reductora, atribuida a la presencia de compuestos como grupos fenoles, cumarinas, flavonoides, arabinosilanos (AX)

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

y carotenoides (Gutiérrez-Uribe et al., 2010; Valderrama Bravo et al., 2020; Buitimea-Cantúa, 2023).

Sin embargo, el nejayote ha sido considerado como un efluente contaminante ambiental debido a su pH alcalino y su alta carga de materia orgánica, con valores de Demanda Química de Oxígeno (DQO= 25,000 – 28,000 mg O₂/L (Díaz-Montes et al., 2016). Además, contiene sólidos sedimentables como lo son fragmentos de endospermo y pericarpio que son desprendidos del grano de maíz durante el proceso de nixtamalización (Téllez-Pérez et al., 2018). A pesar de su potencial, este subproducto ha sido raramente aprovechado y la mayoría de los estudios reportados se han centrado en reducir el impacto ambiental que se genera tras su descarga directamente al ambiente (Castro-Muñoz y Yáñez-Fernández, 2015).

1.2. Nanotecnología y nanopartículas

La nanotecnología es un campo interdisciplinario que estudia y manipula materiales en escala nanométrica (1-100 nm) (Köhler, 2021). Las primeras ideas sobre nanotecnología fueron de Richard Feynman, expuestas durante su discurso en la Sociedad Americana de Física en 1959, sin embargo, la palabra *nanotecnología* fue usada por primera vez en 1974 por Norio Taniguchi, refiriéndose a una técnica de producción en escala nanométrica (Gómez-Garzón, 2018), pero fue hasta 1986 cuando el concepto comenzó a difundirse y se encuentra en constante evolución desde 1980 (Chandra et al., 2020).

Dentro de los NMs se encuentran las NPs, las cuales según la unión europea se definen como un material natural, secundario o fabricado que contenga partículas, sueltas, formando un agregado o aglomerado y en el que el 50% o más de las partículas presente una o más dimensiones externas en el intervalo de tamaños comprendidos entre 1 – 100 nm (Quintana San José, 2015) se pueden encontrar en diferentes tamaños, morfologías y composición química que van a depender de las variables de síntesis (Shaalan et al., 2018). El interés por la obtención de NMs ha incrementado durante los últimos años debido a las propiedades que poseen y a la

gran demanda que podrían tener debido a sus aplicaciones (Saleh, 2020). Actualmente, existe una amplia diversidad de NMs con diferentes tamaños y formas (Shaalan et al., 2016), estos pueden ser clasificados de acuerdo con la medida de las dimensiones de sus componentes en las direcciones (x, y y z) en cuatro grupos principales:

1. Dimensión cero (0D): En esta clasificación, las tres dimensiones (x, y y z) se encuentran dentro de la escala de los 100 nm, incluyen puntos cuánticos, partículas coloidales y nanoclusters (Estrada-Flores et al., 2023).
2. Materiales unidimensionales (1D): Incluyen filamentos o fibras metálicas, poliméricos, cerámicos, nanotubos, nanovarillas, nanocables y nanofibras (Saleh, 2020), en los cuales dos de sus dimensiones (x y z) se encuentran dentro de la escala nométrica.
3. Materiales bidimensionales (2D): Incluyen películas delgadas, nanoplacas y nano revestimientos de una o varias capas cristalinas o amorfas (Köhler, 2021) y solo una de sus dimensiones se encuentra en la nanoescala.
4. Materiales tridimensionales (3D): Son materiales que sus dimensiones (x, y y z) van más allá de los 100 nm, éstos combinan múltiples nanocristales, como fibras, nanotubos de carbono y partículas más grandes (Gleiter et al, 2000).

La nanotecnología es un campo multidisciplinario que se centra en la manipulación de la materia a nivel atómico y molecular, lo que permite la creación de NPs con propiedades únicas, las cuales son aprovechadas en diversas aplicaciones, desde la medicina hasta la electrónica, lo que enfatiza la importancia de entender no solo la naturaleza de las NPs, sino también los métodos de síntesis que se utilizan para producirlas.

1.3. Métodos de síntesis de nanopartículas

Las nanopartículas metálicas han registrado un crecimiento en su producción

durante los últimos años, convirtiéndolas en las unas de las más empleadas (Pulit-Prociak & Banach, 2016). Existen varios métodos para la síntesis de NPs, que pueden clasificarse en dos enfoques principales: de arriba hacia abajo (*Top – Down*) y de abajo hacia arriba (*Bottom - Up*). El enfoque de arriba hacia abajo implica la descomposición de piezas de material para generar las nanoestructuras, es decir, comienza con un material de interés que luego se somete a una reducción de tamaño (Ramanathan et al., 2021), mientras que la estrategia de abajo hacia arriba sugiere una síntesis a partir de átomos o moléculas (Saha, 2017). Los procesos biológicos se clasifican dentro de la estrategia de abajo hacia arriba, en el cual las biomoléculas se incorporan con iones metálicos para la formación de partículas.

Se han reportado diferentes métodos físicos y químicos para sintetizar NPs, sin embargo, el principal inconveniente de estos métodos es que son procesos costosos, requieren alto consumo de energía y son considerados como nocivos ambientales (Köhler, 2021), es por ello que, surge el interés por procesos de síntesis que impliquen menor impacto ambiental. Los principales procesos para la síntesis que se han encontrado en la literatura se enlistan en la Tabla 1.

Tabla 1. Principales procesos de síntesis de nanopartículas metálicas con sus ventajas y desventajas.

Proceso	Ventajas	Desventajas	Referencia
Sol – gel	Productos con alta adherencia, procesamiento a baja temperatura, la forma y la longitud deseadas se pueden obtener, alta pureza y estructura homogénea.	El producto contiene componentes de la matriz sol- gel, los alcóxidos metálicos son costosos.	Chandra et al. (2020); Parashar et al. (2020)

Hidrotermal	Amigable con el medioambiente, versátil, los reactivos han aumentado reactividad y la morfología de los productos puede ser alterada fácilmente.	Equipos costosos. El producto depende de las condiciones del proceso y los reactivos utilizados.	Movlaee et al.(2017)
Microemulsión	Propiedades uniformestamaño de poro estrecho distribución	Los tensioactivos son difíciles de retirar, dificultad en la ampliación de procedimientos.	Movlaee et al. (2017); Chandra et al. (2020)
Co-precipitación	Más simple, económico y amigable con el medio ambiente.	Limitado por el punto de ebullición de agua, bajo estas situaciones muestra alta dispersidad y baja cristalinidad.	Petcharoen and Sirivat. (2012)
Síntesis biogénica	Sin solventes tóxicos. Sin equipos costosos. Tecnología respetuosa con el medio ambiente. Técnica rentable y ecológica.	Las principales desventajas son las limitaciones relacionadas con el escalado de procesos y los mecanismos de formación de nanopartículas no están completamente aclarados.	Vijayaraghavan and Nalini. (2010); Shah et al. (2015); Singh et al. (2020)

1.4. Síntesis biogénica de nanopartículas

La síntesis biogénica se refiere a aquella que emplea como agente reductor o

estabilizador extracto de plantas, microorganismos, recurso de origen biológico, proteínas o enzimas para la obtención de NMs (Ticllacuri Perales, 2019). Esta técnica surgió como alternativa a los métodos convencionales por su enfoque ecológico (Azizi, 2020) y representa un enfoque prometedor debido a la presencia de una mayor cantidad de compuestos bioactivos en el extracto vegetal, que pueden reducir y estabilizar los iones metálicos (Singh et al., 2020). Actualmente está ganando aceptación dentro de la comunidad científica, y ha tomado relevancia al ser rentable, incluye menor impacto ambiental, así como una relativa facilidad de síntesis (Köhler, 2021; Singh et al., 2020) debido a la facilidad de obtención de la materia prima, gran disponibilidad y seguridad de manejo, al mismo tiempo reduce el desperdicio del residuo vegetal y minimiza los consumos de energía (Santos-Espinoza et al., 2020).

Los extractos biológicos se han convertido en medios adecuados para la síntesis de nanopartículas debido a su naturaleza no tóxica y no volátil; dichos extractos son generalmente una mezcla de diferentes tipos de biomoléculas activas como lo son las proteínas, carbohidratos, vitaminas y otros compuestos que proporcionan alta estabilidad y mayor dispersión de las partículas sintetizadas (Singh et al., 2020). Se han encontrado diferentes rutas de síntesis biogénica empleando microorganismos (bacterias, virus, hongos, levaduras) y plantas y sus extractos, entre otros recursos naturales se hacen reaccionar con iones metálicos llevándose a cabo una reacción de reducción que conduce a la formación de NPs de manera sostenible y que han demostrado ser seguros, eficientes y rentables (Vijayaraghavan & Nalini, 2010; Khandel & Shahi, 2018; Ali, 2020; Singh et al., 2020).

1.5. Extracto vegetal como ruta de síntesis biogénica de nanopartículas

La capacidad de los extractos de plantas para reducir los iones metálicos se conoce desde principios del siglo XX (Vijayaraghavan & Nalini, 2010) y han atraído una atención considerable en los últimos 30 años (Saha, 2017). Las nanopartículas formadas a través de las plantas son comparativamente un

método sencillo frente a los métodos químicos y físicos. La reducción bioquímica de las sales comienza de forma inmediata y la formación de las partículas se ve reflejada por el cambio de color en la mezcla de reacción (Santos-Espinoza et al., 2020). La Tabla 2 resume algunos informes relacionados con la síntesis de nanopartículas metálicas mediados por extractos de diferentes plantas.

Tabla 2. Síntesis biogénica de diferentes nanopartículas metálicas mediante el uso de diversos extractos de vegetales.

Extracto	Metal	Morfología	Tamaño (nm)	Referencia
<i>Extracto de café gastado</i>	Ag	Esférica	10-20	Akhtar et al. (2013); Srikhao et al. (2022)
<i>Eucalipto macrocarpa</i>	Ag	Esférica	16	Chandra et al. (2020)
<i>Carica papaya</i>	Ag	Cúbica/esférica	15-20	Potdar et al. (2022)
<i>Elaeagnus angustifolia</i>	Zn O	Esférica	30 - 80	Iqbal et al. (2021)
<i>Lagenaria siceraria</i>	Au	Esférica	32.89	Ali et al. (2020)
<i>Clavo y café verde</i>	Fe ₃ O ₄	Esférica	10-30	Mohamed et al. (2023)
<i>Limonium pruinsum</i>	ZnO	Esférica, cúbicas, hexágonal	41	Naiel et al. (2022)
<i>Acacia cyanophylla</i>	Ag	Cúbica/ esférica	62.41	Jalab et al. (2021)

<i>Azadirachta indica</i>	Cu	-	10.5	Nagar and Devra, (2018)
<i>Citrus maxima</i>	Ag	Esférica	19.8 – 44.9	Ali et al. (2020)

Con base en la Tabla 2, se comprueba que los extractos de plantas poseen potencial para reducir los iones metálicos y dar lugar a la formación de NPs con diversos tamaños, morfologías y con un amplio potencial en diversas aplicaciones. Es por ello que, la síntesis biogénica plantea un interés de investigación relevante, con el propósito de aprovechar los recursos biológicos o residuos con poder reductor (Rodríguez Ortiz et al., 2021).

El extracto acuoso posee diferentes compuestos como: polisacáridos, proteínas, aminoácidos, ácidos orgánicos y compuestos fitoquímicos, como los grupos fenoles, siendo estos compuestos los que participan en los mecanismos de reducción y estabilización de las nanopartículas (Santos-Espinoza et al., 2020), también se encuentran presentes flavonoides, terpenoides, alcaloides, taninos y algunas sustancias alcohólicas que pueden participar en el proceso de síntesis biogénica (Vijayaraghavan & Nalini, 2010; Ali, 2020) y las plantas son conocidas por poseer compuestos fenólicos, los cuales son de gran relevancia para llevar a cabo el mecanismo de reacción para la formación de nanopartículas.

El éxito de la síntesis biogénica depende de la presencia de compuestos bioactivos en los extractos empleados, por lo que los compuestos bioactivos actúan como agentes reductores y estabilizantes de las NPs formadas, evitando su agregación. En extractos vegetales se ha demostrado que los grupos -OH y COOH de estos compuestos refuerzan la formación y recubrimiento de las NPs, lo que además influye en sus propiedades superficiales y biológicas (Aziz et al., 2014; Mittal et al., 2013).

1.5.1. Compuestos fenólicos

Los compuestos fenólicos son sustancias presentes en las plantas, se ha reportado que existen diferentes categorías, se definen de acuerdo con el número de anillos fenólicos que poseen, así como de elementos estructurales con los que cuentan dichos anillos (Santos-Espinoza et al., 2020), entre ellos se encuentran los ácidos fenólicos que son los principales grupos de polifenoles y también se encuentran los estilbenos, lignanos, alcoholes fenólicos y flavonoides. Los compuestos fenólicos se encuentran entre los metabolitos secundarios más abundantes en el reino vegetal, contribuyen con el crecimiento y reproducción de las plantas (Lamuela-Raventós, 2017).

Los compuestos fenólicos son sumamente importantes para la formación de nanopartículas mediante síntesis biogénica (Lin et al., 2016), se reporta que las plantas producen una extraordinaria diversidad de estos metabolitos (Simić et al., 2007). De acuerdo con Santos-Espinoza et al. (2020) cuanto mayor sea el número de grupos hidroxilo, mejores serán sus propiedades reductoras. La participación de los compuestos fenólicos en el proceso de síntesis biogénica tiene gran relevancia, ya que la reacción de reducción se lleva a cabo mediante la presencia de estos compuestos en los extractos vegetales (Simić et al., 2007). Aunque aún no es claro el mecanismo que se sigue para la síntesis de NPs utilizando extractos de plantas, existen mecanismos propuestos para una reacción redox, este proceso consta de tres etapas principales: activación, crecimiento y terminación (Figura 1).



Figura 1. Representación esquemática de la síntesis biogénica de NPsAg a partir de extractos vegetales, mostrando la reducción de iones de Ag^+ y estabilización por compuestos bioactivos.

En la fase de activación se realiza la reducción de iones metálicos a átomos neutros a partir de los precursores salinos en contacto con los compuestos bioactivos presentes en el extracto vegetal, seguido de proceso de nucleación, que permite la formación de las partículas. En la segunda etapa de crecimiento, se produce la formación de aglomeraciones de pequeñas partículas mediante fuerzas electromagnéticas y de Van Der Waals, dando lugar a la formación de NPs de diferentes formas y tamaños (Shnoudeh et al., 2019) y por último, la etapa de terminación o estabilización determina la forma y tamaño, donde los metabolitos se encargan de la estabilización de las partículas obtenidas (Serrano & Juan, 2015; Santos-Espinoza et al., 2020).

De acuerdo con Simić et al. (2007) para la transformación biológica, un factor relevante es el potencial redox, es decir, la reducción de los iones metálicos a su forma de valencia cero (M^+ a M^0). Es por ello que, la síntesis biogénica de NPs depende del elemento metálico de interés y del extracto vegetal, ya que Kuppusamy et al. (2016) en su estudio indican que la suma de las capacidades reductoras de los grupos fenólicos presentes el extracto vegetal, da como resultado un mayor potencial reductor global.

1.6. Factores que influyen en la síntesis biogénica de nanopartículas

De acuerdo con la literatura, durante la síntesis biogénica, diferentes factores de control se encuentran involucrados en la nucleación y posterior formación de nanopartículas estabilizadas (Shah et al., 2015). La morfología de las partículas puede depender de las concentraciones de productos químicos y las condiciones de reacción, se han encontrado trabajos de investigación para estudiar estos factores, entre los que se encuentran la temperatura, el pH, tiempo de reacción y concentración de la sal (B. Ali, 2020; Singh et al., 2020).

1.6.1. Temperatura

La temperatura es uno de los factores más influyentes que afectan el tamaño y la morfología de las nanopartículas. Conforme aumenta la temperatura,

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

aumenta la velocidad de reacción formando centros de nucleación (Sneha et al., 2010), con lo que la velocidad de reacción y la velocidad de formación de partículas se vuelven más rápidas cuando aumenta la temperatura; sin embargo, el tamaño promedio de las partículas se reduce y la velocidad de conversión aumenta constantemente con la temperatura (Shah et al., 2015).

1.6.2. pH

El pH de la reacción desempeña un papel importante en la formación de nanopartículas al regular la formación de centros de nucleación (Y. Chen et al., 2013). Es decir, a medida que el pH aumenta, también aumenta el número de centros de nucleación, y con ello una mayor formación de partículas (Mittal et al., 2013). Se ha reportado que el pH impacta significativamente en la morfología y el tamaño de las NPs (Shah et al., 2015). En particular, se ha encontrado que las partículas más grandes tienden a obtenerse a valores de pH ácidos más bajos, en comparación con valores de pH altos (Saha, 2017; Singh et al., 2020).

1.6.3. Concentración de iones metálicos

Dwivedi & Gopal. (2010) indican que, con el aumento en la concentración del ion metálico, se tiene un aumento en el tamaño de las partículas. Es un factor crítico en la síntesis de NPs debido a su influencia en control de tamaño y morfología, estabilidad, aportación a propiedades físicas y químicas propias de las NPs. También, contribuye a las interacciones con el medio, incluyendo solubilidad y toxicidad.

1.6.4. Presión

La presión es un factor importante para la síntesis de nanopartículas, debido a que la presión aplicada al medio de reacción afecta la forma y el tamaño de las partículas. Patra & Baek. (2014) indican que la tasa de reducción de iones metálicos usando agentes biológicos es más rápida la reacción en condiciones

de presión ambiental.

1.6.5. Tiempo de agitación y tiempo de almacenamiento

El tiempo de agitación es un factor relevante en la síntesis, debido a que permite la interacción entre el precursor metálico con los componentes del agente reductor. D. Lade & S. Shanware. (2020) señalan que, la variación en los tiempos de reacción controlan el tamaño y morfología de las NPs, ya que, durante el proceso de síntesis biogénica la reducción requiere entre 5 y 15 minutos (Rao & Tang, 2017), aunque en otros casos ocurre de manera inmediata al poner en contacto el extracto vegetal con la sal metálica, y también puede darse una reacción completa hasta en 45 – 120 minutos, dependiendo de la eficacia del agente reductor (Jalab et al., 2021).

El aumento del tiempo de reacción es directamente proporcional al tamaño de las partículas y al número de núcleos generados, esto se debe al tiempo de reacción prolongado, por lo que las NPs pueden formar agregados o estructuras más grandes (Miu & Dinischiotu, 2022). Las características de las nanopartículas sintetizadas pueden verse alteradas con el tiempo y condiciones de almacenamiento, ya que las variaciones pueden ocurrir de diversas maneras, como la agregación de partículas debido al almacenamiento prolongado, además las NPs pueden incrementar o reducir su tamaño si el tiempo de almacenamiento es extenso, afectando así su potencial (Patra & Baek, 2014).

1.6.6. Concentración del extracto vegetal

Otro factor importante en la síntesis de NPs es la concentración del agente reductor; éste puede modificar la morfología y tamaño (Jameel et al., 2020). D. Lade & S. Shanware. (2020) informan que, el tamaño medio de las NPs está influenciado por la concentración del extracto verde, debido a su composición química que contribuye de manera significativa en la reducción de iones metálicos para la formación de átomos estables a nanoescala. Por lo anterior,

el uso de extractos vegetales ricos en compuestos con poder reductor para la síntesis de nanopartículas representa una alternativa prometedora, debido al potencial de diversos extractos vegetales, platas, frutos, cáscaras y algunos efluentes agroindustriales, como lo son las vinazas tequileras y efluentes procedentes de la industria del maíz, los cuales poseen una composición rica en compuestos bioactivos que al ser aprovechados, se reduce la acción contaminante que estos generan al ser vertidos al ambiente.

1.7. El Nejayote

El maíz (*Zea mays L.*) es el cereal de mayor producción y consumo en México, ya que es la materia prima para la elaboración de masa y tortilla (Valderrama Bravo et al., 2020), su estructura se compone de cuatro partes principales: pericarpio, que es la capa exterior compuesta principalmente de celulosa, hemicelulosa, lignina, y ácidos fenólicos; el endospermo, que está constituido por almidón y proteínas; el germen y el pedicelo, los cuales son ricos en lípidos (Martínez-Bustos et al., 2001). El procesamiento del maíz depende del producto que se desea obtener; ya sea harina o productos a partir del maíz nixtamalizado (masa).

La nixtamalización es un proceso de cocción de maíz con hidróxido de calcio (Ca(OH)_2), seguido de un proceso de reposo y posterior enjuague del grano. De este proceso se obtienen dos subproductos: el nixtamal, que es el grano sin el pericarpio y el residuo líquido de color amarillento con alto contenido de sólidos disueltos y suspendidos (nejayote) (Valderrama Bravo et al., 2020). Desde el punto de vista químico, el nejayote se caracteriza por un pH alcalino y la presencia de compuestos bioactivos, también contiene partes hidrolizadas del grano como tejido del pericarpio, germen y endospermo, por lo que es rico en carbohidratos, calcio, compuestos fenólicos y proteínas (Buitimea-Cantúa et al., 2020). La composición puede variar según el tipo de maíz, la concentración de Ca(OH)_2 , la temperatura y tiempo de cocción, lo que influye en su potencial de aprovechamiento biotecnológico (Instituto Politécnico

Nacional et al., 2016).

Se han realizado investigaciones enfocadas al estudio de este efluente residual (Valderrama- Bravo et al., 2013; Méndez-Albores et al., 2014; Acosta-Estrada et al., 2019), en donde se ha reportado que contiene compuestos con poder reductor que pueden ser aprovechados, 50 % de los sólidos del nejayote están suspendidos (Ramírez Romero et al., 2013) y sus propiedades fisicoquímicas dependen de los componentes presentes en el grano (Castro-Muñoz y Yáñez-Fernández, 2015).

1.8. Producción de nejayote en México

Se informa que una producción de 600 toneladas de maíz por día genera entre 1500 – 2000 m³ de nejayote (Castro-Muñoz y Yáñez-Fernández, 2015; Acosta-Estrada et al., 2019), lo que desafortunadamente contribuye con el deterioro ambiental al ser vertido directamente al medio ambiente (Díaz-Montes et al., 2016) debido al pH alcalino (12 -14) y a la elevada carga de materia orgánica (2540 mg/L) (Díaz-Montes et al., 2016), pocas veces se ha intentado darle una aplicación, por lo que es importante reutilizar este residuo. De acuerdo con el Directorio Estadístico Nacional de Unidades Económicas (DENUE) 2019 del INEGI, en México existen más de 110,000 tortillerías donde se produce una gran cantidad de nejayote, por lo que resulta conveniente proponer alternativas de reutilización. Sin embargo, es un subproducto no valorado y sus componentes fenólicos se han considerado sustancias de valor agregado por sus diversas funciones (Díaz-Montes et al., 2016).

1.9. Composición química y usos del nejayote

Investigaciones han revelado la presencia de importantes compuestos reductores y carotenoides en el nejayote, así como la liberación de fitoquímicos ligados a las paredes celulares (Gutiérrez-Urbe et al., 2010). Se ha reportado que dentro de los componentes bioactivos presentes se encuentran fenoles,

fitoesteroles, flavonoides, polisacáridos, glucósidos y cumarinas (Valderrama-Bravo et al., 2013), así como AX (Castro-Muñoz & Yáñez-Fernández, 2015), siendo el AF el principal compuesto de este efluente residual (Martínez-Bustos et al., 2001; Serna-Saldivar et al., 2015), (Figura 2) (López-Maldonado & Oropeza-Guzmán, 2021).

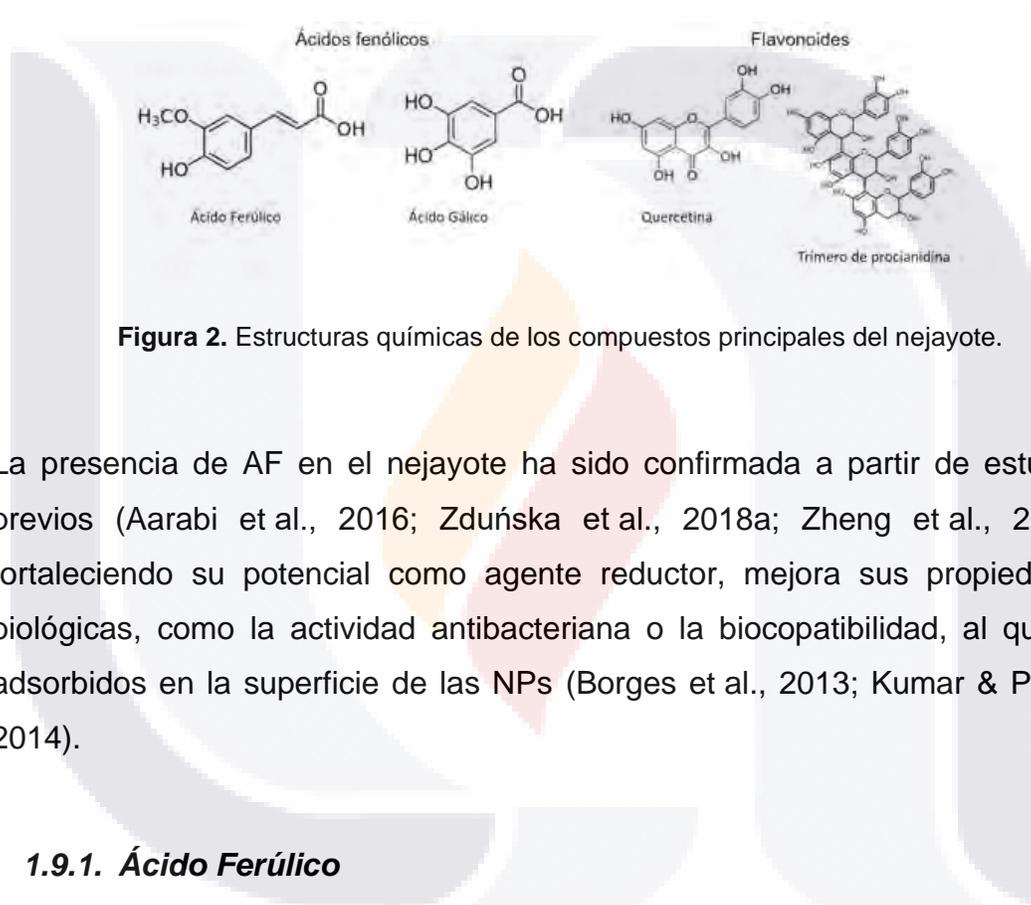


Figura 2. Estructuras químicas de los compuestos principales del nejayote.

La presencia de AF en el nejayote ha sido confirmada a partir de estudios previos (Aarabi et al., 2016; Zduńska et al., 2018a; Zheng et al., 2024), fortaleciendo su potencial como agente reductor, mejora sus propiedades biológicas, como la actividad antibacteriana o la biocompatibilidad, al quedar adsorbidos en la superficie de las NPs (Borges et al., 2013; Kumar & Pruthi, 2014).

1.9.1. **Ácido Ferúlico**

Es un compuesto fenólico de la familia de los ácidos hidroxicinámicos, ampliamente distribuido en las paredes celulares de las plantas (Kumar & Pruthi, 2014). Su extracción se ha reportado a partir de una amplia variedad de fuentes vegetales y residuos agroindustriales (Ou & Kwok, 2004). La estructura química del AF se muestra en la Figura 3, se incluye un grupo hidróxilo, un grupo carboxilo y un doble enlace carbono conjugado, los cuales le otorgan propiedades bioactivas de interés (Bao et al., 2023), tales como actividad

antioxidante, antimicrobiana, antiinflamatoria, antitrombótica, antiviral, antialérgica y anticancerígena (Balali-Dehkordi et al., 2024).

Su capacidad para neutralizar radicales libres lo posicionan como un antioxidante natural seguro con aplicaciones consolidadas en la industria alimentaria, farmacéutica y cosmética (Zhai et al., 2023), recientemente se ha propuesto su utilización en la síntesis de bioconjugados, como películas comestibles de quitosano - AF, con aplicaciones en la conservación de alimentos, cosméticos antienvjecimiento y sistemas en el ámbito biomédico (Zheng et al., 2024), por lo que el uso de residuos agroindustriales representa una estrategia sostenible para la producción de antioxidantes naturales, promoviendo la valorización de subproductos y reduciendo el uso de antioxidantes sintéticos (Ou & Kwok, 2004).

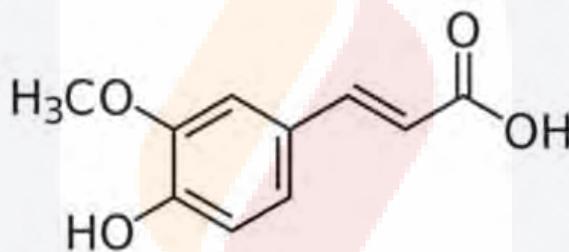


Figura 3. Estructura química del Ácido Ferúlico (ácido 4-hidroxi -3- metoxicinámico).

1.10. NPsAg

Las NPsAg son una de las NPs más estudiadas utilizadas debido a sus interesantes propiedades fisicoquímicas y su potencial actividad antibacteriana. Dichas propiedades se deben a su tamaño, morfología, carga superficial y comportamiento óptico (Aziz et al., 2014; Dwivedi & Gopal, 2010; Rao & Tang, 2017). El tamaño y morfología de las NPsAg influye directamente en su actividad biológica, las formas esféricas son las más reportadas en síntesis biogénica (Jalab et al., 2021).

Además, presentan una actividad antibacteriana de amplio espectro, afectando

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

bacterias Grampositivas y Gramnegativas. Su mecanismo de acción se basa en procesos sinérgicos entre los compuestos bioactivos adsorbidos en la superficie de las NPsAg y los iones de Ag^+ (Srikhao et al., 2022). Debido a sus propiedades, las NPsAg tienen una amplia gama de aplicaciones en diversos sectores. Estudios han reportado que en concentraciones elevadas, las NPsAg pueden inducir citotoxicidad, hemólisis y estrés oxidativo en células (Saleh, 2020), el grado de toxicidad va a depender del tamaño de partícula, concentración de iones y morfología.

1.11. NPs ZnO

Las nanopartículas de ZnO son conocidas por su bajo costo de obtención, versatilidad, alta estabilidad y sus destacadas propiedades en aplicaciones antibacterianas, fotocatalíticas y ópticas (Rodríguez Ortiz et al., 2021). Estas NPs son semiconductores con una banda prohibida de aproximadamente 3.30 eV (Doan Thi et al., 2020). El comportamiento fisicoquímico se ve influenciado por factores como la temperatura de calcinación, el pH y la presencia de estabilizantes. Las NPs ZnO presentan actividad antibacteriana contra bacterias tanto Grampositivas como Gramnegativas, hongos e inclusive algunas cepas resistentes a antibióticos (Nguyen et al., 2024).

La eficiencia antibacteriana puede verse incrementada debido a la presencia de grupos funcionales orgánicos adsorbidos en la superficie; provenientes de extractos vegetales (Suresh et al., 2015). Las NPs ZnO al ser empleadas en concentraciones elevadas pueden generar efectos citotóxicos debido a su acumulación en las células y la producción de ROS. En este contexto, la síntesis biogénica presenta una estrategia útil para reducir riesgos al usar estabilizantes naturales (Vijayaraghavan & Nalini, 2010).

1.12. Aplicación de las nanopartículas

Actualmente, los NMs han abierto camino en diferentes sectores, como la energía el medio ambiente, la industria alimentaria, la medicina, la electrónica, aplicaciones biológicas, entre otros y siguen ganando interés para los investigadores (Yaqoob et al., 2020), esto debido a que poseen propiedades eléctricas, estabilidad mecánica y térmica, así como propiedades ópticas y magnéticas (Khoshnevisan et al., 2019). Por otro lado, los óxidos de metálicos presentan amplio rango de aplicaciones, pueden reciclarse y poseen buena selectividad (Yaqoob et al., 2020). Poseen funciones vitales en diferentes áreas de la tecnología vegetal, por ejemplo, germinación de semillas o el crecimiento de las raíces en las plantas (Shnoudeh et al., 2019); algunos óxidos metálicos son ampliamente usados en remediación ambiental, la biomedicina, en la industria del petróleo, entre otras aplicaciones.

Las NPs metálicas y óxidos metálicos sintetizados por métodos biogénicos, poseen potencial para diversas aplicaciones en áreas industriales y biomédicas debido a sus propiedades antibacterianas, estabilidad coloidal y biocompatibilidad (Pulit-Prociak & Banach, 2016; Shnoudeh et al., 2019; Diel et al., 2021). Una de las aplicaciones más destacadas es su uso como recubrimientos antibacterianos en superficies de contacto, donde sea prioridad la prevención de la propagación de microorganismos patógenos (Radulescu et al., 2023).

2. Antecedentes

El nejayote, debido a su interesante composición química tiene el potencial de actuar como agente reductor y estabilizante en la síntesis de NPs. Además de ser un efluente altamente contaminante, su aprovechamiento representa una estrategia con doble propósito: la obtención de materiales con valor agregado y la reducción de residuos con impacto ambiental negativo. En las últimas décadas, el interés de la investigación hacia este efluente se ha incrementado hacia su valorización como recurso (Buitimea-Cantúa et al., 2020), destacando su potencial como fuente de energía, agente reductor y alto contenido en compuestos bioactivos. López-Maldonado y Oropeza-Guzmán. (2021) informan algunos usos que se ha dado al nejayote, los cuales están enfocados a la recuperación de componentes de valor agregado.

Investigadores evaluaron la aplicación a un proceso de electrocoagulación utilizando electrodos de aluminio y hierro para tratar el nejayote, donde se logró reducir significativamente la DQO (Loredo Cancino et al., 2021). Se reporta el uso como biofertilizante derivados del nejayote (Consortio UNAM-TEC, 2025), demostrando que su aplicación en suelos incrementa el contenido de nitrógeno y fósforo disponible para cultivos en condiciones de invernadero. Un estudio evaluó la aplicación foliar de nejayote, tanto crudo como tratado en el cultivo de maíz azul, donde registraron efectos positivos en etapas tempranas de desarrollo de la planta, así como en el rendimiento del maíz (Leal-Cortez, 2023).

Otras investigaciones están enfocadas al tratamiento del nejayote con materiales floculantes, tecnología de membranas o sistemas biológicos, para poder reducir la acción contaminante que éste genera (Castro-Muñoz & Yáñez-Fernández, 2015). Se ha empleado como medio aglutinante para la formación de aglomerados de carbón y como base de alimentación de ganado avícola en combinación con soya y sorgo (Díaz-Montes et al., 2016). En el área de síntesis biogénica, el nejayote aún presenta literatura limitada, sin embargo, ha empezado a explorarse como medio eficaz para la obtención de NPs. El estudio de Escobar Morales et al. (2018)

informan el uso del nejayote como agente reductor para la síntesis de nanopartículas de óxido de níquel (NPs NiO), utilizando extractos acuosos de residuos de *Manihot Esculenta* (yuca) en presencia de nejayote como agentes reductores y estabilizantes. Los extractos se mezclaron con $\text{Ni}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ para dar lugar a la formación de NPs, el estudio reporta diferentes formas y tamaños de las NPs obtenidas eficazmente.

Por otro lado Vacio-Muro et al. (2020) evaluaron la eficiencia del alginato de sodio y quitosano, aplicados tanto de forma individual como secuencial para reducir la carga contaminante del nejayote en términos de DQO, fenoles totales, azúcares reductores y sólidos totales (ST), destacando que los tratamientos secuenciales representan una alternativa viable y ecológica para el tratamiento del nejayote.

Por lo anterior, y con base en sus características funcionales, el presente estudio se enfoca en el uso del nejayote como agente reductor y estabilizador en la síntesis biogénica para la formación de nanopartículas de NPs Ag y NPs ZnO y evaluación de su actividad antibacteriana. Con lo que, se promueve el reciclaje para reducir el impacto ecológico negativo del nejayote en el medio ambiente y encontrar una alternativa viable al problema de contaminación que genera al medio ambiente, ya que, el tratamiento adecuado de los residuos y subproductos de las diferentes actividades industriales es hoy una prioridad global y su solución requiere un enfoque integral y sostenible (Díaz-Montes et al., 2016).

3. Justificación

El Nejayote es considerado un subproducto altamente contaminante debido a su elevada carga orgánica, alcalinidad, presencia de compuestos fenólicos y sólidos en suspensión. Su disposición inadecuada, comúnmente en cuerpos de agua, drenajes o suelos, provoca alteraciones en los ecosistemas, generando problemas ambientales, por lo que se ha impulsado la búsqueda de estrategias para su aprovechamiento sustentable. En este contexto, se ha demostrado que el nejayote presenta una composición rica en compuestos bioactivos como ácidos fenólicos, AX y otros metabolitos secundarios que pueden funcionar como agentes reductores y estabilizadores durante la síntesis biogénica, permitiendo así la formación de nanopartículas de plata y óxido de zinc, sin recurrir a los métodos fisicoquímicos.

Además de ofrecer una alternativa ecológica para la producción de nanomateriales, esta estrategia se alinea con los principios de economía circular, al transformar un desecho agroindustrial en recursos de valor agregado. Asimismo, las nanopartículas obtenidas a partir de extractos vegetales han demostrado potencial aplicación en el control de bacterias patógenas, lo que sitúa a esta investigación en la integración de innovación tecnológica, la sostenibilidad ambiental y aplicaciones biomédicas. Por lo anterior, el presente estudio no solo aborda la mitigación del impacto ambiental del nejayote, sino que también propone una solución integral mediante su reutilización para la síntesis de nanomateriales y al desarrollo de alternativas efectivas frente a la resistencia antibacteriana.

4. Hipótesis

La composición química y las propiedades antioxidantes de los compuestos presentes en el nejayote pueden llevar a cabo la síntesis biogénica para la obtención de nanopartículas de plata y óxido de zinc, las cuales presentarán

capacidad antibacteriana.

5. Objetivos

5.1. Objetivo general.

Obtener nanopartículas de plata y óxido de zinc vía síntesis biogénica usando nejayote y evaluar su actividad antibacteriana.

5.2. Objetivos específicos.

- i. Obtener el nejayote y determinación del contenido de compuestos reductores.
- ii. Realizar síntesis biogénica de nanopartículas de plata y óxido de zinc utilizando nejayote.
- iii. Determinar las mejores condiciones de síntesis biogénica de nanopartículas de plata evaluando los factores: concentración del nejayote, concentración de la sal de plata, pH.
- iv. Determinar las mejores condiciones de síntesis biogénica de nanopartículas de óxido de zinc evaluando los factores: concentración del nejayote, pH y temperatura de calcinación.
- v. Caracterizar las nanopartículas obtenidas mediante diferentes técnicas analíticas, tales como: espectroscopía UV-Visible, Difracción de Rayos X (DRX), Espectroscopía Infrarroja por Transformada de Fourier (FTIR), Microscopía Electrónica de Transmisión, (TEM) y Microscopía de Fuerza Atómica (MFA).
- vi. Evaluar la actividad antibacteriana de las nanopartículas sintetizadas.

6. Metodología

6.1. Obtención y pretratamiento del nejayote

El nejayote fresco se recolectó de un molino local de tortillas de maíz. Para eliminar las partículas sólidas en suspensión y obtener un efluente libre de sólidos, el nejayote recolectado fue purificado mediante filtración seguida de centrifugación usando una centrifuga refrigerada pequeña de alta velocidad Mega 17R (Hanil Scientific, Corea del Sur). Las condiciones de operación utilizadas fueron: 15,000 rpm durante 15 minutos a 20 °C. El nejayote purificado se empleó para la síntesis de NPsAg y NPs ZnO. Finalmente, el nejayote purificado se almacenó en contenedores a 4 °C.

6.2. Análisis fisicoquímico del nejayote

Las muestras se analizaron considerando los siguientes parámetros (Díaz-Montes et al., 2016): DQO por el método del dicromato de potasio; Demanda Biológica de Oxígeno (DBO₅) por el método de Winkler; dureza por el método de valoración EDTA. Sólidos Suspendidos Totales (SST), Sólidos Sedimentables (SSSED) y ST. La concentración de fenoles totales se determinó por el método de Folin-Ciocalteu (Lamuela-Raventos et al., 2017); la reducción del contenido de azúcar en las muestras de nejayote se midió por el método del ácido dinitrosalicílico (DNS) (Núñez et al., 2012); determinación de cloruros se realizó por el método de Mohr, los iones de carbonato se cuantificaron por titulación con el ácido clorhídrico (HCl). La densidad se midió utilizando un densímetro (TDM1107, Robsan, México) calibrado en unidades de densidad relativa (DR) a una temperatura estándar de 15 °C. El pH y la conductividad eléctrica se midieron utilizando un medidor portátil de doble canal (LAQUAact PC110-K, Horiba, Japón), con capacidad de registro de datos de 1000 entradas.

6.3. Cuantificación de AF en nejayote

El contenido de ácido Ferúlico en el nejayote se determinó mediante un sistema de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), utilizando un equipo Ultimate 3000 Thermo Scientific™ uHPLC, Waltham, MA, EE. UU.) con un detector de diodos (UV-Vis) y una columna Hypersil Gold aQ (150 mm x 4,6 mm y 5 µm). Se utilizaron dos fases; la fase A consistió en ácido fórmico (0.1%) y la fase B consistió en acetonitrilo. Se empleó un método isocrático con una relación de fase 70/30, caudal de 0.8 mL/min, temperatura de columna a 25 °C, longitud de onda de 321 nm y volumen de inyección de la muestra de 10 µL. Se utilizó una curva de calibración utilizando ácido ferúlico como patrón (5 – 40 µg/mL) para evaluar su contenido en las muestras de nejayote. Antes de la medición por HPLC, el nejayote se filtró usando un filtro con una jeringa estéril de PTFE B de 0.45 µm (Choice™, Thermo Scientific™) y se desgasificó durante 10 minutos en un baño ultrasónico Branson 8800 (Ultrasonic™ Digital Bench Top Cleaner, modelo CPX8800H). Los extractos diluidos se inyectaron directamente en el sistema de HPLC. Las áreas de pico de las muestras se monitorearon a 321 nm. El análisis de cada muestra se realizó por triplicado. El mismo protocolo se utilizó para determinar la concentración de ácido ferúlico en el coloide de AgNPs.

6.4. Síntesis biogénica de NPsAg

Las NPsAg se prepararon mezclando una solución acuosa de AgNO₃ 10 mM con nejayote previamente purificado y diluido (1:20). La reacción se mantuvo continuamente en agitación magnética a 250 rpm durante 1 hora para lograr la reducción de los iones de plata (Ag⁺). Asimismo, se realizó un diseño experimental de Taguchi L₉ para estudiar el efecto de las variables sobre el tamaño y la distribución de tamaños de las NPs: pH, concentración de sal de plata y concentración de agente reductor (ver tabla 3). La concentración de ST en el nejayote se determinó bajo tres condiciones de dilución diferentes basadas en una densidad medida. Las condiciones de síntesis se optimizaron mediante un análisis de varianza.

De acuerdo con el análisis de señal-ruido (S/N), se sintetizaron nanopartículas de plata con las condiciones propuestas como óptimas, evaluando dos temperaturas de síntesis (60 y 80°C) y se ajustó el pH del nejayote a 10. La relación S/N se calculó mediante la ecuación 1.

$$\frac{S}{N} = -10 \log \left(\frac{1}{n_{dat}} \sum_{i=1}^{n_{dat}} \frac{1}{Rq_i^2} \right) \tag{1}$$

Donde, $n_{dat} = 3$ (número de réplicas), Rq_i es la variable de respuesta utilizada para este análisis de acuerdo con las condiciones mencionadas en el diseño experimental.

Tabla 3. Diseño experimental Taguchi L_9 para síntesis de NPsAg a partir del nejayote.

Muestra	pH	Concentración de $AgNO_3$ (mM)	Concentración de Nejayote (v/v)
1	6	5	Concentrado
2	6	10	1:20
3	6	15	1:10
4	8	5	1:20
5	8	10	1:10
6	8	15	Concentrado
7	10	5	1:10
8	10	10	Concentrado
9	10	15	1:20

El análisis de varianza (ANOVA) se emplea para comparar grupos de datos y es fundamental en el análisis de resultados de cualquier diseño experimental. Se utilizaron los valores calculados de la relación S/N para evaluar el efecto de las variables de síntesis de NPsAg, lo que permitió identificar el experimento con las condiciones óptimas que favorecen la síntesis, para lo cual se emplearon las siguientes ecuaciones (Ec. 2-4) (Guijarro-Aldaco et al., 2011):

$$SS_T = \left[\sum_{i=1}^{n_{dat}} y_i^2 \right] - \frac{T_t^2}{n_{dat}} \quad (2)$$

$$SS_F = \left[\sum_{i=1}^{k_F} \left(\frac{F_i^2}{n_{Fi}} \right) \right] - \frac{T_t^2}{n_{dat}} \quad (3)$$

$$\sigma_F = \frac{SS_F}{v_F} \quad (4)$$

Donde n_{dat} es el número total de datos experimentales, n_{Fi} es el número de ejecuciones experimentales bajo el nivel i , F_i se obtiene de la suma de la variable de respuesta para las corridas experimentales bajo el nivel i , T_t es la suma de la variable de respuesta para todas las corridas experimentales, y_i es el valor de la relación S/N, SST es la suma total de cuadrados, k_F es el número de niveles de factor F (la variable analizada en la síntesis de adsorbentes), v_F es los grados de libertad del factor $F(1/k_f)$, σ_F es la varianza para el factor F y SSF es la suma de los cuadrados para el factor F , respectivamente.

6.5. Caracterización de las nanopartículas sintetizadas

Las nanopartículas sintetizadas fueron caracterizadas utilizando diferentes técnicas: sus propiedades ópticas se investigaron utilizando un espectrofotómetro UV-Visible Thermo Scientific™ Evolution 201 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) que opera en un rango de longitud de onda de 300 a 700 nm. El análisis de difracción de rayos X (DRX) permitió identificar la naturaleza cristalina de las nanopartículas. Los datos de DRX se obtuvieron utilizando un difractómetro Malvern-Panalytical Empyrean (Malvern Panalytical Ltd., Malvern, Reino Unido) equipado con un detector PIXEL 1D a 45 kV y 40 mA, empleando la configuración de Bragg-Brentano y radiación CuK α_1 ($\lambda=1,5406\text{\AA}$) a una velocidad de barrido de 147 °/s con un tamaño de paso de 0.02° en un rango de 0 a 60°. El tamaño del cristalito se calculó a partir de la anchura de las señales de difracción utilizando la

ecuación de Debye-Scherrer (ecuación 5) de Debye-Scherrer (Holzwarth & Gibson, 2011):

$$D = \frac{K \lambda}{\beta \cos \theta} \quad (5)$$

Donde:

D= Tamaño del cristalito en nm, K= Constante de Scherrer, 0.9 – 0.98 (factor de forma) λ = Longitud de onda del haz de rayos-X utilizado (1.54178 Å), β = Ancho total a la mitad del máximo (FWHM) del pico de difracción (en radianes), θ = Ángulo de difracción de Bragg (posición del pico de difracción en radianes). La constante de Scherrer denota la forma de la partícula y su valor suele tomarse como 0.9 y es empleada para la estimación del tamaño promedio del cristalito a partir del ancho medio de los picos de difracción (Küünal et al., 2019).

Las características estructurales morfológicas de las nanopartículas se analizaron mediante microscopía electrónica de transmisión (TEM), TEM de alta resolución (HR-TEM) y difracción de electrones de área seleccionada (SAED) con un microscopio FEI-TITAN 80-300 kV (FEI Company, Hillsboro, OR, USA) operado a 300 kV. La composición elemental se determinó mediante espectroscopia de dispersión de energía (EDS) integrada en el sistema TEM. La distribución del tamaño de partícula se evaluó midiendo los diámetros de las nanopartículas a partir de imágenes TEM utilizando el software ImageJ. Asimismo, se empleó microscopía electrónica de barrido (SEM) utilizando un microscopio JEOLJSM-5900 LV (JEOL Ltd., Tokio, Japón).

El análisis de espectroscopia infrarroja por transformada de Fourier (FTIR) identificó grupos funcionales en la superficie de las NP utilizando un espectrofotómetro infrarrojo Thermo Scientific™ Nicolet™ iS10 (Thermo Fisher Scientific, Waltham, MA, EE. UU.) en un rango de número de onda de 4,000 a 400 cm^{-1} , realizando 32 barridos y diluyendo en gránulos de bromuro de potasio (KBr). Finalmente, se determinó el tamaño y la topografía de las nanopartículas utilizando un microscopio

de fuerza atómica (AFM) ScanAsyst Bruker, Dimension Edge with ScanAsyst (Bruker Corporation, Billerica, MA, USA). Para el análisis de imágenes se utilizó el software Nanoscope. La concentración de AF en el coloide de las NPsAg se determinó por HPLC.

6.6. Evaluación de la actividad antibacteriana de las NPsAg

La actividad antibacteriana de las nanopartículas de plata se estudió por el método de dilución seriada en placas de agar; la cepa bacteriana Gramnegativa utilizada fue *E.coli* ATCC 25922. Los resultados se expresaron en UFC/mL mediante la determinación de la concentración mínima inhibitoria (CMI) y la concentración mínima bactericida (CMB). *E.coli* se cultivó en un medio líquido de infusión cerebro-corazón (ICC) a 37 °C durante 20 horas. El ajuste bacteriano se realizó en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 625 nm para obtener una concentración de 1×10^7 células/mL, seguido de diluciones seriadas para alcanzar 1×10^5 células/mL. Posteriormente, las células bacterianas interactuaron con NPsAg (biogénicas y sintetizadas químicamente) durante 3 h (65 rpm y 37 °C) a diferentes concentraciones. Para la síntesis biogénica se evaluaron las siguientes concentraciones (0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 $\mu\text{g/mL}$) utilizando nejayote como control.

También se investigó la actividad antibacteriana de las NPsAg preparadas químicamente a concentraciones de (0.25, 0.50, 0.75 1 $\mu\text{g/mL}$) utilizando solución salina tamponada con fosfato (PBS) como control. Después se vertieron 100 μL de cada tratamiento a las placas de agar MacConkey y se distribuyeron uniformemente. Finalmente, las placas se incubaron a 37 °C durante 24 h. La actividad antibacteriana se evaluó mediante la evaluación del número de UFC, que determinó la CMI y la CMB. Donde la CMI es la concentración más baja de un agente antibacteriano que previene el crecimiento bacteriano, mientras que la CMB se define como la concentración más baja del agente antibacteriano que inhibe completamente el crecimiento bacteriano. El análisis estadístico se realizó mediante

la prueba de *Tukey*; este método de comparación múltiple se utiliza para identificar diferencias significativas entre grupos ($p < 0.05$).

6.6.1. Evaluación de la actividad antibacteriana de AF

La actividad antibacteriana de AF se investigó utilizando la prueba de dilución por goteo en placas de agar. La cepa bacteriana gramnegativa utilizada fue *E. coli* ATCC 25922. *E. coli* se cultivó en un medio ICC a 37 °C durante 20 horas. El ajuste bacteriano se realizó en un espectrofotómetro a una longitud de onda de 625 nm para obtener una concentración de 1×10^7 células/mL, seguido de diluciones seriadas para alcanzar 1×10^5 células/mL. Posteriormente, las células bacterianas interactuaron con AF durante 3 horas a 65 rpm y 37 °C con diferentes concentraciones de AF (2500, 1250 y 625 $\mu\text{g/mL}$) utilizando PBS como control. Transcurrido el tiempo de interacción, se vertieron por goteo 10 μL de cada concentración en placas de agar MacConkey y se incubaron a 37 °C durante 24 horas.

6.7. Ensayo de Hemólisis

Para demostrar el uso seguro de las NPs en estudio, se investigó la actividad hemolítica y citotóxica de los materiales. Los glóbulos rojos (RBC) se expusieron a las NPs utilizando las concentraciones evaluadas en la prueba antibacteriana. La actividad hemolítica se evaluó siguiendo el protocolo estándar ASTM F756-13 (Práctica estándar para la evaluación de las propiedades hemolíticas de los materiales). Se recolectó sangre humana estabilizada con heparina. Para cada muestra se utilizó un volumen total de 10 mL, donde se mezclaron las diferentes concentraciones de NPs con la solución salina al 0.9% y se añadieron 100 μL de sangre.

Las muestras en blanco se prepararon con agua destilada como control positivo, solución salina como control negativo y, como tercer control, el medio en el que se resuspendieron las NPs (ruta biogénica y ruta química), que consistió en nejayote y

goma arábica, respectivamente. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y se incubaron a 37 °C en un baño de agua a 65 rpm durante 3 horas. Posteriormente, las muestras se centrifugaron a 3,500 rpm durante 5 minutos, y se midió la absorbancia del sobrenadante a 540 nm una longitud de onda correspondiente a la banda de absorción de la oxihemoglobina (Jimenez-Chavez et al., 2024). La actividad hemolítica se calculó mediante la ecuación 6:

$$\text{Actividad hemolítica \%} = \frac{\text{Absorbancia de la muestra}}{\text{Absorbancia del control negativo}} \times 100 \quad (6)$$

6.7.1. Ensayo de viabilidad celular (CCK-8)

Después del período de exposición (24 h) a los NMs, las células se lavaron (dos veces) con solución de PBS. Se añadieron 100 µL de solución MTS (1:10) en medio DMEM a cada pocillo y se incubaron durante 2.5 h para obtener la sal soluble de formazano (Alharbi et al., 2022). Posteriormente, se retiró el medio con la sal de formazano formada y se midió la viabilidad celular mediante espectroscopia UV-Vis. La absorbancia se midió a 450 nm utilizando un lector de placas.

6.7.2. Ensayo de citotoxicidad (LDH)

La liberación de LDH a los medios celulares se midió siguiendo el protocolo del fabricante (LDH Cytotoxicity Detection Kit Roche, catálogo n.º 116447930001) (Alharbi et al., 2022). Se preparó una solución reactiva adicionando 48.9 µL de reactivo 2 y 1.1 µL de reactivo 1 para cada pocillo. Se añadieron 50 µL de esta mezcla a cada muestra y se dejó reaccionar durante 25 minutos. Finalmente, el LDH liberado se cuantificó mediante espectroscopía UV-Vis (a 450 nm en un lector de placas). Para la obtención de imágenes de AFM, antes de la siembra de células en placa de 24 pocillos, se colocó un cubreobjetos circular estéril en el fondo de los pocillos. A continuación, las células se fijaron con formalina al 10% y se deshidrataron con soluciones de etanol creciente (40 a 100%) durante 10 minutos y

los pocillos se dejaron secar durante 20 minutos. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y se incubaron a 37 °C en condiciones controladas.

6.8. Síntesis de NPs ZnO

Se siguió la metodología descrita por Doan Thi et al. (2020). En un procedimiento típico, se disolvieron 2 g de nitrato de zinc hexahidratado ($\text{Zn}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), empleado como sal precursora en 42.5 mL de nejayote a diferentes concentraciones (1:10, 1:5, 1:1 v/v y concentrado), la solución resultante se mantuvo en agitación magnética a 250 rpm y temperatura controlada de 60 °C durante 60 minutos. Posteriormente, las mezclas de reacción se secaron a 60 °C durante 12 horas y fueron sometidas a un tratamiento térmico a 400 y 600 °C durante 1 hora. Finalmente, las NPs ZnO obtenidas fueron lavadas repetidas veces con agua desionizada y etanol para eliminar impurezas.

6.9. Caracterización de NPs ZnO

Las NPs sintetizadas fueron caracterizadas mediante diferentes técnicas analíticas como DRX, SEM, TEM y FTIR mediante el uso de los equipos descritos en la sección 6.5., manteniendo cada técnica de caracterización en las condiciones adecuadas para el análisis, con el objetivo de obtener información referente a tamaño, morfología, cristalinidad y grupos funcionales presentes en la superficie de las NPs.

6.10. Evaluación antibacteriana de NPs ZnO

Para evaluar la actividad antibacteriana, se utilizaron diferentes concentraciones de NPs ZnO (150, 200, 250, 300 y 350 $\mu\text{g}/\text{mL}$) y se incorporó la evaluación del efecto bajo condiciones de irradiación con luz UV a 254 nm, 10 W y en oscuridad total, con el objetivo de analizar la influencia de estas variables en la actividad antibacteriana durante 12 horas de interacción en agitación continua a 65 rpm y 37°C en baño de

agua. La prueba se evaluó por el método de dilución seriada en placas de agar, usando la cepa bacteriana Gramnegativa *E.coli* ATCC 25922.

Los resultados se expresaron en UFC/mL para determinar la CMI. *E.coli* se cultivó en un medio ICC a 37 °C durante 20 horas. Se realizó el ajuste bacteriano en un espectrofotómetro con una longitud de onda de 625 nm hasta obtener una concentración de 1×10^7 células/mL, seguido de diluciones seriadas para alcanzar 1×10^5 células/mL.

6.11. Ensayo de hemolisis de NPs ZnO

Los RBC se expusieron a las NPs ZnO utilizando las concentraciones evaluadas en la prueba antibacteriana y se empleó la metodología descrita en la sección 6.7. Para cada muestra se preparó un volumen total de 10 mL, en el cual se combinaron distintas concentraciones de NPs (150, 200, 250, 300 y 350 $\mu\text{g/mL}$) con solución salina al 0.9% y se incorporaron 100 μL de sangre. En este sentido, las muestras se expusieron a dos condiciones distintas de iluminación: luz UV y oscuridad total.

Las muestras en blanco se prepararon con agua destilada como control positivo, solución salina como control negativo y, como tercer control; nejayote. Todos los experimentos se realizaron por triplicado y se incubaron a 37 °C en un baño de agua a 65 rpm durante 6 horas, con el fin de evaluar el posible efecto fotocatalítico de las NPs sobre la integridad de los eritrocitos humanos.

7. Resultados y Discusión

7.1. Obtención y pretratamiento del nejayote

La recolección del nejayote consistió en separar el maíz del agua residual, la cual presentó una coloración amarilla, una alta densidad y sólidos suspendidos como restos de granos de maíz y pericarpio, como se observa en la Figura 4A. Posteriormente, tras el proceso de purificación mediante centrifugación, se obtuvo una solución libre de sólidos, adecuada para su uso en la síntesis de nanopartículas. La centrifugación permitió la eliminación de impurezas insolubles, lo que indica que el proceso de purificación fue eficiente en la obtención de nejayote libre de sólidos. (Figura 4B).

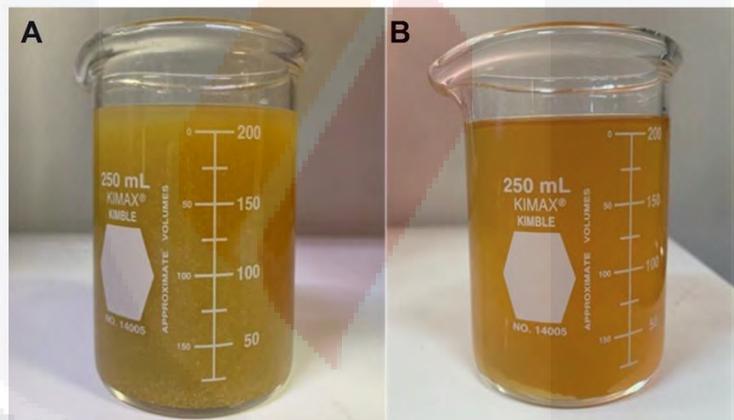


Figura 4. Nejayote fresco obtenido (A) sin filtrar y (B) nejayote libre de sólidos después del proceso de purificación.

7.2. Análisis Físicoquímico del nejayote

La composición del maíz varía según el tipo de maíz, la cantidad por lote, el agua utilizada, la cantidad de hidróxido de calcio ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) añadida, así como el tiempo de cocción, el periodo de reposo y la temperatura del proceso (Castro-Muñoz et al., 2016; Valderrama-Bravo et al., 2020). En la Tabla 4 se muestran los resultados del análisis físicoquímico del nejayote utilizado en este estudio. Los altos niveles de

SST y SSED en la muestra se deben principalmente a los fragmentos de pericarpio y otras partículas orgánicas que se desprenden del maíz durante el proceso de nixtamalización, lo cual contribuye con la turbidez y densidad del nejayote. Además, se ha observado que los componentes del nejayote incluyen varios constituyentes del maíz, como AX y compuestos fenólicos, compuestos cumáricos, junto con sustancias disueltas como fenoles totales, azúcares reductores y carotenoides; que imparten el color amarillo característico. Estos factores contribuyen a su importante potencial de contaminación (Buitimea-Cantúa, 2023).

Tabla 4. Valores promedio del análisis fisicoquímico del nejayote.

Parámetro	Valores promedio
Ph	11.98 ± 0.64
Dureza (mg/L CaCO ₃)	4 150 ± 185.71
Densidad (kg/m ³)	1010.14 ± 10.11
Conductividad eléctrica (ms/cm)	4.85 ± 0.40
Fenoles totales (mg/L)	839.64 ± 37.96
Azúcares reductores (mg/L)	48.48 ± 8.11
DQO (mg/L)	30 500 ± 786.63
DBO ₅ (mg/L)	3 000 ± 443,84
TSM (mg/L)	11 400 ± 469.19
SSED (MI/L)	315 ± 51.79
ST (mg/L)	21 500 ± 885.77
Cloruros (mg/MI)	0.02272 ± 0.0029
Carbonatos (mg/MI)	0.05040 ± 0.0047
Bicarbonatos (mg/MI)	0.16714 ± 0.0124

De acuerdo con datos reportados en otros estudios (Gutiérrez-Urbe et al., 2010; Díaz-Montes et al., 2016) los valores típicos de DQO del nejayote se encuentran entre 10,000 – 28,000 mg/L. Esta variación se debe a la presencia de materia orgánica (Gutiérrez-Urbe et al., 2010; Díaz-Montes et al., 2016), la cual está compuesta por carbohidratos, proteínas, lípidos y compuestos fenólicos que contribuyen a la contaminación del medio ambiente cuando este efluente se vierte en cuerpos de agua. Asimismo, los elevados niveles de DBO₅ reflejan un fuerte impacto negativo sobre la calidad del agua, ya que los microorganismos consumen

rápidamente el oxígeno disuelto al descomponer la materia orgánica presente en él (Castro-Muñoz et al., 2015; Valderrama Bravo et al., 2020).

7.3. Cuantificación de AF en nejayote

La Figura 5 presenta el análisis por HPLC de AF, tanto de la solución estándar como del nejayote. En la figura se puede observar que el tiempo de retención del nejayote (3.79 minutos) coincide con el de la solución estándar de AF, lo cual confirma la presencia de este compuesto en las muestras de nejayote. La curva de calibración se obtuvo trazando las áreas de pico de las soluciones estándar contra la concentración de AF y ambas áreas de pico del patrón (40 µg/mL) y del nejayote se utilizaron para determinar el contenido de AF en el nejayote. Las señales adicionales en el cromatograma del nejayote pueden estar relacionadas con otros compuestos fenólicos con estructuras químicas similares y tiempos de retención cercanos al AF (Aarabi et al., 2016; Castro-Muñoz & Yáñez-Fernández, 2015) e incluso algunos otros ácidos orgánicos presentes. Estos resultados coinciden con lo reportado en estudios previos (Antunes Ricardo et al., 2021; Vacio-Muro et al., 2020).

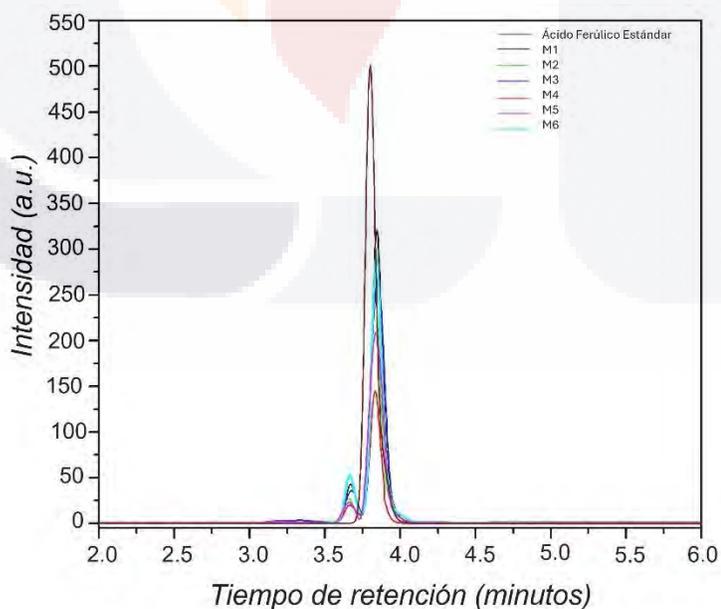


Figura 5. Cromatogramas líquidos de alto rendimiento correspondientes a una solución estándar

de AF de 40 µg/mL y diferentes muestras de nejayote analizadas a 321 nm.

En la Tabla 5 se muestran las concentraciones de AF obtenidas en las diferentes muestras de nejayote. Como se puede observar, existe una variación en el contenido de este compuesto, esto se debe a que la concentración dependerá de las condiciones de operación aplicadas en el proceso de nixtamalización, como la temperatura, tiempo de cocción, cantidad de agua y Ca(OH)₂, y el tipo de maíz, estos valores se encuentran dentro del rango reportado en la literatura (Aarabi et al., 2016; Antunes Ricardo et al., 2021; Vázquez-López et al., 2023). Por lo tanto, las muestras de nejayote obtenidas pueden llevar a cabo la síntesis de NPsAg debido a su contenido de AF, así como algunos otros compuestos bioactivos que pueden usarse como agentes reductores o estabilizantes en el proceso.

Tabla 5. Concentración de ácido ferúlico en muestras de nejayote.

Muestra	Concentración de AF mg/mL en nejayote
M1	0.81607
M2	0.34481
M3	0.55771
M4	0.05181
M5	0.33595
M6	0.69290

La Figura S1 muestra la curva de calibración para el AF utilizando HPLC para la determinación cuantitativa. La curva de calibración abarca concentraciones de 1 a 40 µg/mL y muestra un comportamiento lineal en ese rango de concentración, con una regresión lineal sólida y un coeficiente de correlación elevado. Además, los valores bajos de desviación estándar indican que el método es preciso y confiable para la cuantificación de AF. El análisis mediante HPLC evidencia una elevada especificidad, observándose un pico bien definido correspondiente al AF, cuyos tiempos de retención son consistentes tanto en las muestras estándar como en el nejayote.

Investigaciones anteriores destacan la importancia de extraer los ácidos fenólicos presentes en el nejayote. En este contexto, el AF ha sido inmovilizado en quitosano para desarrollar películas bioactivas con propiedades antioxidantes mejoradas (Arias et al., 2024). Estudios recientes han evidenciado la amplia bioactividad del AF, incluyendo efectos antioxidantes, antiinflamatorios, antimicrobianos, hepatoprotectores, anticancerígenos, antitrombóticos y antivirales. También se ha informado que participa en procesos como la modulación enzimática, la activación de factores de transcripción, la regulación de la expresión genética, la transducción de señales y la quelación de metales, lo cual respalda su potencial aplicación en las industrias médica y cosmética (Kumar & Pruthi, 2014; Zduńska et al., 2018). La detección de ácidos fenólicos en el efluente de nejayote refuerza su valor como recurso y promueve el desarrollo de estrategias para su utilización sostenible.

7.4. Síntesis biogénica de NPsAg

Las nanopartículas de plata se sintetizaron utilizando nejayote como fuente de agentes reductores y estabilizante. La formación de NPsAg se observó por un cambio de color de amarillo a marrón oscuro durante los primeros minutos de la reacción de síntesis. El nejayote funcionó como agente reductor y como recubrimiento, actuando como un surfactante natural que regula el tamaño y la estabilidad de las nanopartículas, esto coincide con otros estudios reportados donde la síntesis está mediada por extractos vegetales (Abbasi et al., 2017a; Alharbi et al., 2022b; Choukade et al., 2020; Fahim et al., 2024; Rodríguez-Serrano et al., 2020; Zheng et al., 2024).

El proceso de síntesis se muestra en la figura 6. Al inicio de la reacción (Figura 6A), los iones de Ag^+ se disuelven y comienzan a interactuar con los agentes reductores y tensioactivos presentes. En la Figura 6B, al aplicar calor a la mezcla, la velocidad de reacción se incrementa, lo que conduce a un cambio de color característico de la formación de plata coloidal (Medina-Ramírez et al., 2020), como se muestra en la Figura 6C.

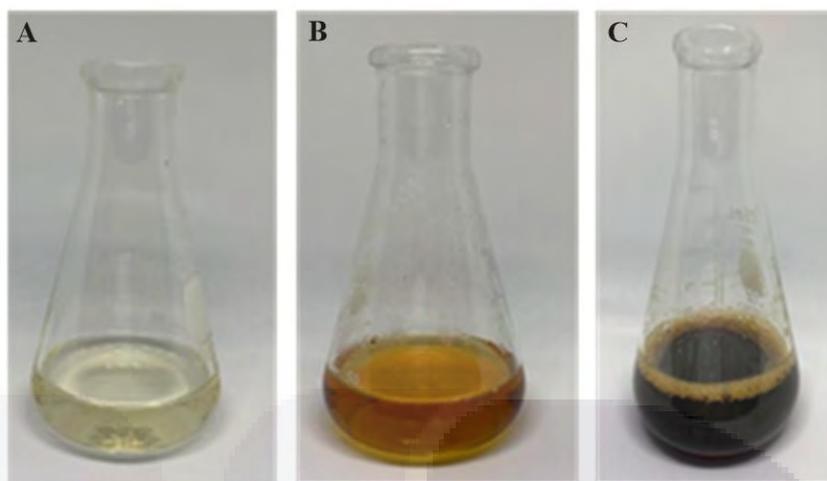


Figura 6. Representación esquemática de la síntesis de NPsAg mediada por nejayote. (A) muestra de nejayote, (B) interacción de los iones de Ag^+ y (C) solución coloidal de NPsAg sintetizadas a $80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Además, la Figura 7 muestra la capacidad surfactante del nejayote; al reducir el AgNO_3 con AF en grado reactivo, la reducción de los iones de plata es seguida por procesos de agregación y deposición. Este compuesto fenólico posee una capacidad redox adecuada para reducir iones de Ag^+ , como lo demuestra la formación visible de un espejo de plata en las paredes del matraz. No obstante, no tiene la capacidad de controlar el tamaño de partícula, lo que da como resultado la formación de una superficie plateada en lugar de nanopartículas bien definidas. Además, la velocidad de esta reacción es considerablemente menor en comparación con la obtenida al utilizar nejayote para la síntesis de plata coloidal, lo que indica que en nejayote probablemente intervienen otros compuestos con capacidad reductora.

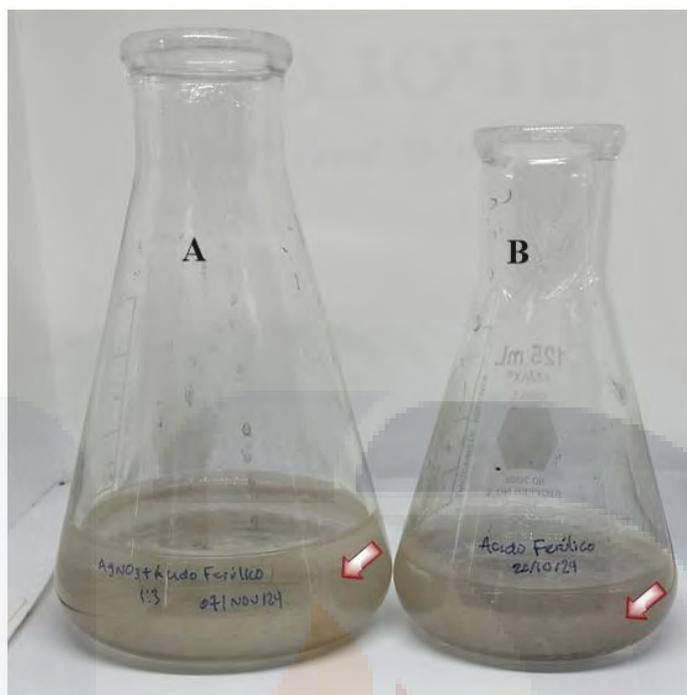


Figura 7. Síntesis de nanopartículas de plata (NPsAg) utilizando AF como agente reductor. A y B muestran diferentes relaciones molares de AgNO_3 : AF: 1:3 (A) y 1:2.5 (B). Las flechas rojas indican la formación de espejos de plata debido al crecimiento descontrolado de partículas de plata.

Asimismo, se investigó la influencia de la concentración de pH, AgNO_3 y nejayote para la síntesis de NPsAg mediante el análisis de S/N. El análisis estadístico ANOVA indicó que el pH fue la variable con mayor influencia en el proceso de síntesis. De acuerdo con Miu and Dinischiotu et al. (2022) las moléculas bioactivas involucradas en el proceso de síntesis biogénica podrían tener diferentes niveles de actividad reductora dependiendo del valor del pH del extracto. En este sentido, los valores bajos de pH favorecen la protonación de algunos grupos funcionales (Vanaja et al., 2014), dificultando la interacción con los iones de (Ag^+). Además, se ha informado que el pH desempeña un papel importante en la síntesis para el control de tamaño y la forma de las NPs (Sharma et al., 2022), lo que se atribuye a las interacciones electrostáticas entre las partículas y los grupos funcionales cargados de los compuestos fitoquímicos. La Figura S2 muestra el análisis de S/N para las condiciones de síntesis de NPsAg donde el pH y la concentración de AgNO_3 fueron

las variables relevantes que impactaron la formación de NPsAg. Los resultados del análisis ANOVA se muestran en la Tabla S1.

7.5. Caracterización de las NPsAg sintetizadas

7.5.1. Espectroscopía UV-Visible

La formación de las NPsAg se analizó midiendo la resonancia del plasmón superficial (SPR) a lo largo de 300 -700 nm (Figura 8). Las NPsAg presentan una banda centrada SPR en 434 nm, que es característico de este metal (Sharma et al., 2022, Srikhao et al., 2022). Los espectros de las NPsAg muestran que el efecto de la temperatura favorece la reacción de reducción de los iones de (Ag^+), lo que resulta en una mayor formación de NPs en un menor tiempo (Srikhao et al., 2022; Tam et al., 2022). Además, la banda de absorción de las NPs producidas a 80 °C es estrecho, lo que denota una baja dispersión en el tamaño.

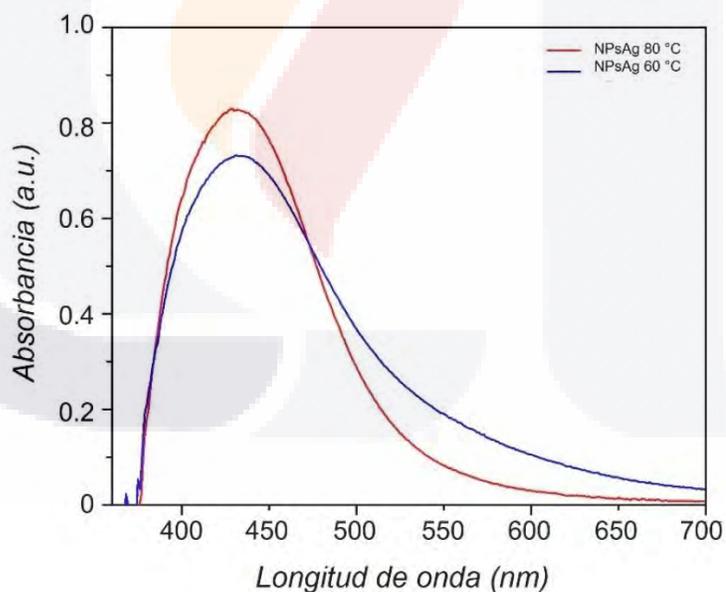


Figura 8. Espectro de absorción UV-Vis de las NPsAg coloidales sintetizadas a partir de nejayote a diferentes temperaturas de reacción: 60 °C (azul) y 80 °C (rojo).

7.5.2. DRX

La naturaleza cristalina de las NPsAg fue confirmada por XRD. La Figura 9 muestra el patrón DRX donde se observan las reflexiones de Bragg a valores de 2θ en 38.07, 43.98, 46.32, 64.72 y 77.59° correspondientes a los planos cristalográficos (111), (200), (231), (220) y (311) respectivamente, reflejando la naturaleza cúbica centrada en las caras de las NPsAg (JCPDS N° 040783 (Rahman et al., 2019; Alharbi et al., 2022; Tam et al., 2022)). Además, se identifica la existencia de señales de difracción adicionales a valores de 2θ en 27.96, 32.29, 46.32, 54.77 y 57.32° correspondientes a los planos cristalográficos (111), (200), (220), (311) y (222), asociados a la formación de cloruro de plata (AgCl) (Choukade et al., 2020; Rahman et al., 2019; Tam et al., 2022).

La síntesis biogénica de NPs metálicas produce partículas modificadas en la superficie debido al componente orgánico del extracto empleado para la reducción de iones metálicos (Castro-Muñoz & Yáñez-Fernández, 2015). Además, la presencia de cloruros y carbonatos en el nejayote favorece la formación de compuestos poco solubles como cloruro de plata ($K_{ps}: 1.8 \times 10^{-10}$) o carbonato de plata ($K_{ps}: 8 \times 10^{-12}$) (Castro-Muñoz & Yáñez-Fernández, 2015), lo cual reduce la disponibilidad de iones (Ag^+) libres en solución. Esta limitación puede influir en la nucleación y crecimiento de las NPs, y por ende en su tamaño y distribución. Las NPsAg obtenidas presentaron un tamaño de cristalito de 25.65 nm, calculado mediante la ecuación de Debye-Scherrer.

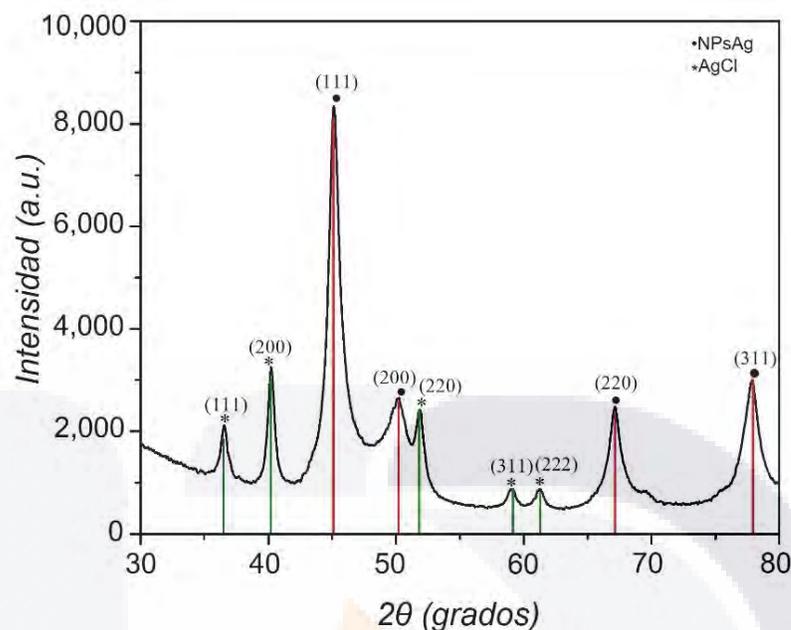


Figura 9. Difractograma de rayos X de NPsAg sintetizadas a partir de Nejayote, que representa las señales características de la Ag metálica (línea roja) y otras señales atribuidas a la formación de AgCl (línea verde).

7.5.3. TEM

Las micrográficas TEM y HR-TEM (Figura 10A y 10B) muestran que las NPsAg exhiben predominantemente una morfología esférica con algunas formas irregulares y tamaños variables. El patrón SAED en la Figura 10C muestra puntos brillantes en anillos circulares, correspondientes a los planos (111), (200), (220) y (311) atribuidos a la estructura cúbica centrada en las caras (Srikhao et al., 2022). Según las distancias interplanares y los datos cristalográficos, los planos (111), (200), (220), (311) y (222) están asociados con la formación de AgCl (Balashanmugam et al., 2016; Ghiuta et al., 2021; Huo et al., 2021). La distribución de tamaño de partícula oscila entre 9 y 85 nm, con un diámetro medio de 20 nm. La presencia de cloruros en el nejayote da lugar a la formación de AgCl debido a una baja solubilidad, lo que conduce a la formación de AgCl, esto contribuye a una mayor actividad microbicida, debido a la liberación controlada de iones Ag^+ (Al Aboody, 2019; Kubasheva et al., 2020; Muthusamy et al., 2015).

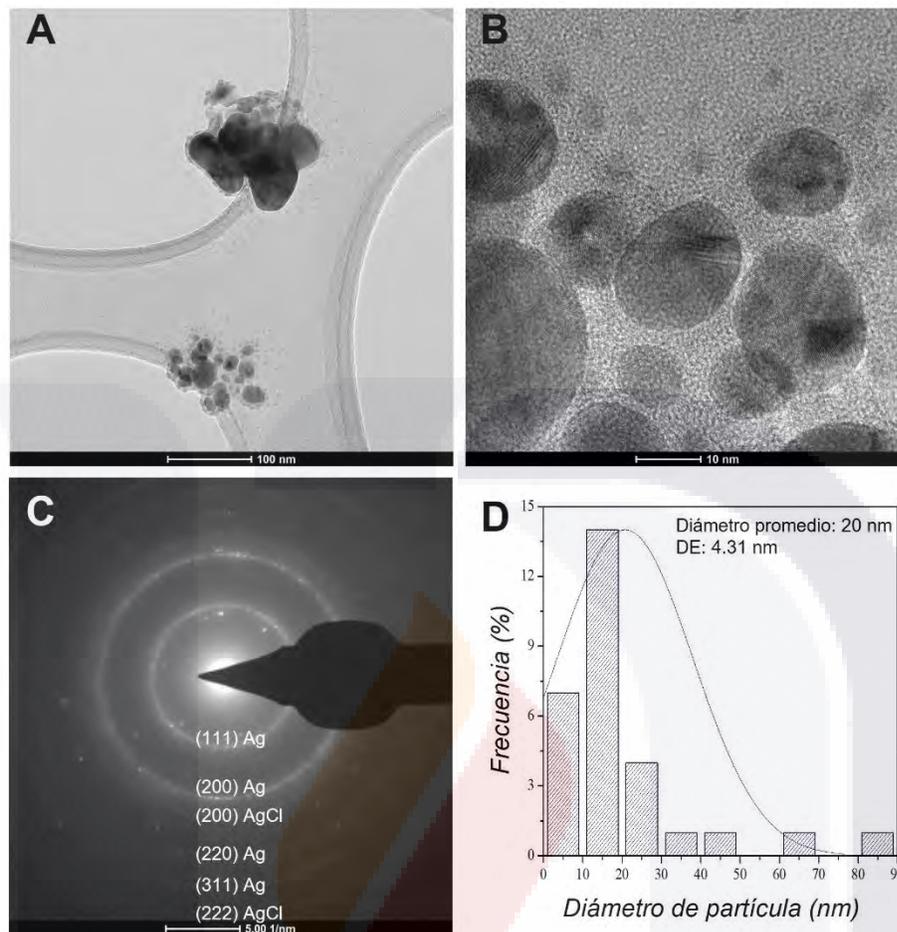


Figura 10. Caracterización por Microscopía Electrónica de Transmisión para el tamaño y la distribución de las NPsAg. Específicamente: (A) Micrografía TEM de baja resolución y (B) Micrografía HR-TEM de las NPsAg. (C) Patrón SAED con anillos concéntricos marcados. (D) Histograma que muestra la distribución del tamaño de partícula de las NPsAg.

El análisis EDS se muestra en la Figura 11, se confirmó la presencia de Ag, evidenciando la formación de NPs con una concentración de 16.55% en masa atómica, lo que muestra una cantidad significativa de este elemento. La presencia de cobre se debe a la rejilla de cobre utilizada en el equipo y el calcio se atribuye al $\text{Ca}(\text{OH})_2$ que se añade al maíz en el proceso de nixtamalización. Los elementos como el oxígeno y el silicio se atribuyen a extractos de plantas según Qayyum et al. (2017), mientras que el boro y el magnesio pueden estar asociados con impurezas o residuos orgánicos de nejayote. Elementos adicionales se atribuyen a la composición natural del nejayote, ya que contienen varios compuestos inorgánicos

y metabolitos, lo que puede explicar la presencia de estos elementos (Díaz-Montes et al., 2016; Rojas-Candelas et al., 2023).

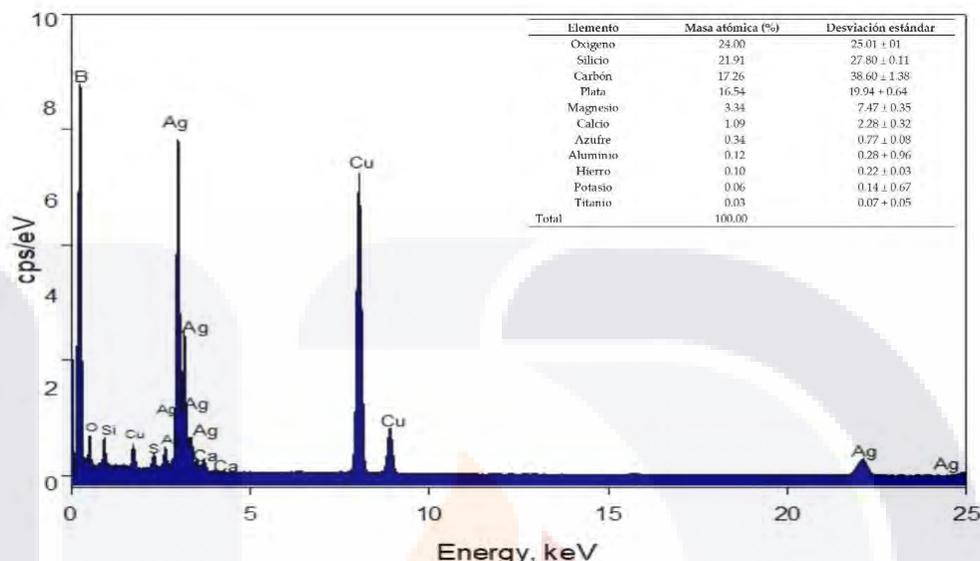


Figura 11. Espectro EDS de NPsAg sintetizadas a partir de nejayote.

7.5.4. FTIR

El análisis FTIR identifica los grupos funcionales de las biomoléculas que estén presentes en el nejayote y son responsables de la reducción y estabilización de las NPsAg. La Figura 12 ilustra las diferencias espectrales entre el nejayote y las las NPsAg funcionalizadas con nejayote. Ambos espectros exhiben patrones similares, con una banda de vibración a $3,411\text{ cm}^{-1}$ atribuida a grupos OH de compuestos fenólicos, formando enlaces de hidrógeno. La disminución de la intensidad de esta banda sugiere la interacción del grupo fenólico con las NPsAg. El estiramiento C-H se confirma mediante bandas a $2,921$ y $2,919\text{ cm}^{-1}$ (Abbasi et al., 2017; Qayyum et al., 2017).

Las bandas a $1,381\text{ cm}^{-1}$ y $1,417\text{ cm}^{-1}$ corresponden a grupos C=C (Escobar Morales et al., 2018) con mayor intensidad después de la reacción, probablemente debido a las interacciones C-H con los grupos hidroxilo (Abbasi et al., 2017). Los grupos carbonilo (C=O) aparecen en el rango de $1,598$ a $1,615\text{ cm}^{-1}$. Srikhao et al.

(2022) informaron bandas C=O y C=C a $1,649\text{ cm}^{-1}$ y $1,328\text{ cm}^{-1}$ respectivamente. Se observan grupos funcionales similares en muestras de nejayote, con la banda de $1,598\text{ cm}^{-1}$ vinculada al FA, según lo respaldado por los datos FTIR en AX (Panja et al., 2016; Qayyum et al., 2017) . Además, la banda a $1,042\text{ cm}^{-1}$ corresponde al estiramiento del éter (C-O), mientras que los picos a 824 cm^{-1} y 558 cm^{-1} indican el estiramiento C-H y las vibraciones C-O-C de compuestos bioactivos (B. Ali, 2020).

La comparación espectral confirma los grupos funcionales involucrados en la estabilización de nanopartículas y el recubrimiento de superficies (Fafal et al., 2017; Alharbi et al., 2022).

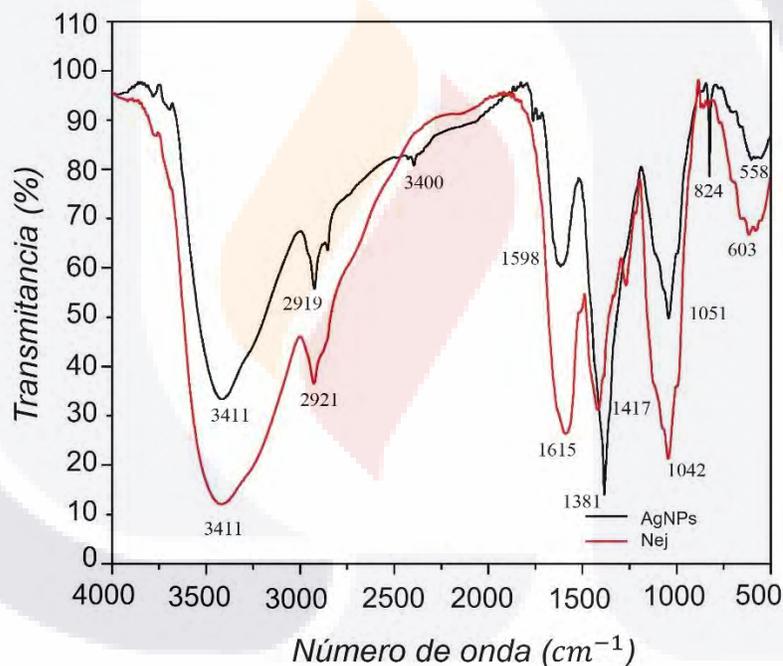


Figura 12. Análisis FTIR de nejayote (rojo) y NPsAg funcionalizadas con nejayote (negro).

7.5.5. AFM

La Figura 13 contiene las imágenes AFM de las NPsAg sintetizadas utilizando nejayote como agente reductor y estabilizador. Las imágenes de sensor de altura muestran la presencia de estructuras ordenadas tridimensionales (3D) (Figuras

13A-1 y 13A-2) correspondientes a la materia orgánica y/o inorgánica presente en el nejayote y responsables de la estabilidad y control de tamaño de las partículas. Las Figuras 13B-1 y 13-B2 muestran una representación 3D de las estructuras estabilizantes de la suspensión de NPsAg. Además, la Figura 13C-1 Y 13C-2 indican la existencia de NPsAg con tamaño y morfologías que coinciden con el análisis TEM.

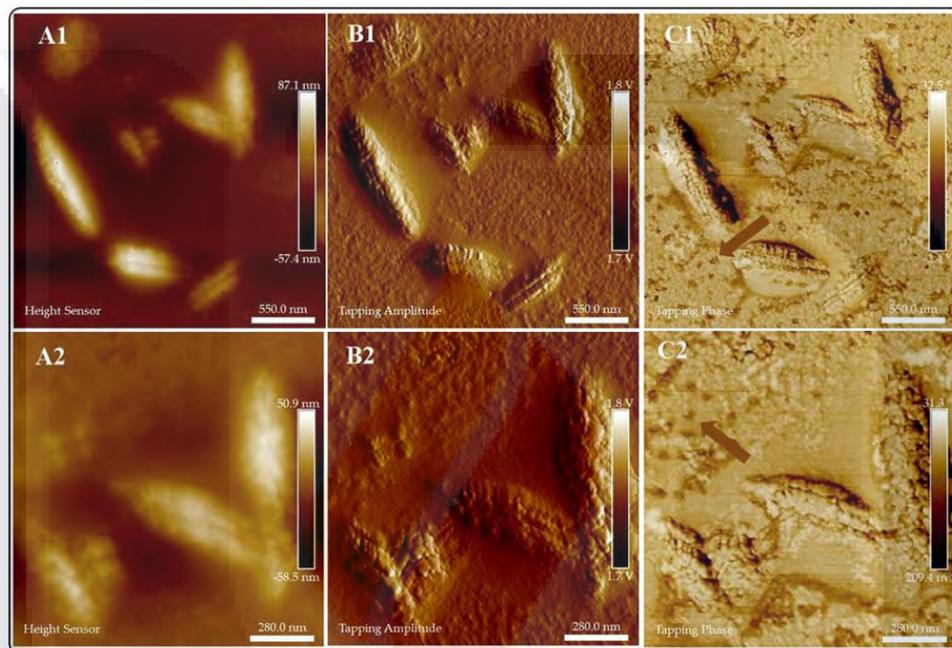


Figura 13. Imágenes topográficas AFM (A1, A2, B1, B2) a diferentes aumentos para NPsAg sintetizadas a partir de Nejayote. C1, C2 Micrografías de fase de golpeteo de NPsAg a diferentes aumentos que denotan la presencia de plata.

La Figura 14 ilustra el análisis de AFM del nejayote, donde se observan agregados; sin embargo, su forma y tamaño difieren significativamente de los que se encuentran alrededor de las NPsAg. Además, la Figura 14C-1 y 14C-2 no muestra diferentes fases, lo que indica la homogeneidad del nejayote y la ausencia de NPsAg.

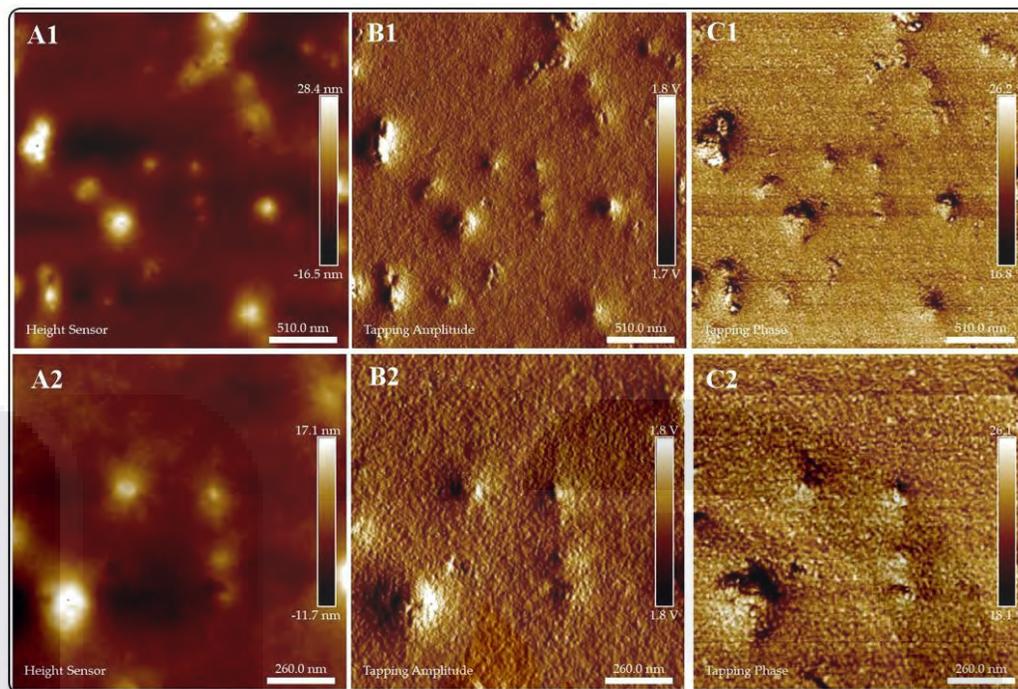


Figura 14. Imágenes topográficas AFM (A1, A2, B1, B2) a diferentes aumentos para el nejayote empleado en la síntesis de NPsAg. C1, C2 Micrografías de fase de golpeteo a diferentes aumentos que denotan la ausencia de NPsAg.

7.6. Evaluación de la actividad antibacteriana de las NPsAg

Se evaluó la capacidad antibacteriana de las NPsAg mediante ensayos para determinar la CMI y CMB. Las NPsAg obtenidas se analizaron para medir su eficacia contra *E.coli*, expresando los resultados en CFU/mL. En la Figura 15 se observa el crecimiento bacteriano en placas de agar; la reducción en dicho crecimiento indica que las NPsAg poseen propiedades antibacterianas capaces de inhibir cepas como *E.coli* (Girma et al., 2024; Urnukhsaikhan et al., 2021). Los resultados confirmaron que las NPsAg sintetizadas mediante el método biogénico y químico presentan actividad antibacteriana frente a *E.coli*. Asimismo, se observó que el nejayote por sí solo no tuvo efecto antibacteriano, lo cual sugiere que las NPsAg son las responsables de esta actividad. La Tabla 6 presenta un resumen de los datos

obtenidos en las pruebas de actividad antibacteriana, así como los valores de CMI y CMB.

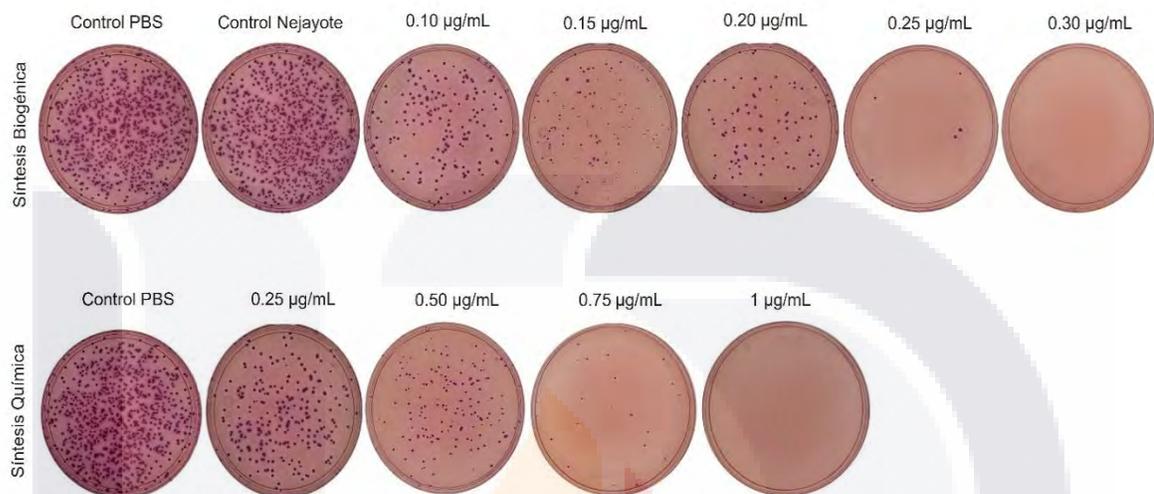


Figura 15. Evaluación de la actividad antibacteriana de las NPsAg. Placas de Petri que muestran la actividad antibacteriana de las NPsAg contra *E.coli*. Fila superior: actividad antibacteriana de las NPsAg sintetizadas a partir de Nejayote. Fila inferior: actividad antibacteriana sintetizadas químicamente. Células bacterianas (1×10^5 células/mL) interactuaron con diferentes concentraciones de NPsAg durante tres horas.

Tabla 6. Valor de MIC ($\mu\text{g/mL}$) y valor de MBC ($\mu\text{g/mL}$) correspondientes a las dos rutas de síntesis de NPsAg.

Bacteria	Ruta de síntesis	CMI ($\mu\text{g/mL}$)	CMB ($\mu\text{g/mL}$)
<i>Escherichia coli</i>	Síntesis Biogénica	0.25	0.30
	Síntesis Química	0.75	1

La Figura 15 muestra que las NPsAg sintetizadas a partir de nejayote exhiben una mayor actividad antibacteriana que las obtenidas por síntesis química. Las NPsAg actuaron rápida y eficientemente contra *E. coli*; la reducción en el número de UFC/mL fue evidente con un alto porcentaje de crecimiento de inhibición a dosis muy bajas (0.10 a 0.3 $\mu\text{g/mL}$, síntesis biogénica y 0.5 a 1 $\mu\text{g/mL}$ síntesis química) durante un tiempo de exposición de 3 horas. Las diferencias en la actividad antibacteriana de la síntesis de NPsAg mediada por nejayote pueden asociarse a la

adsorción de compuestos fenólicos y otros metabolitos secundarios en su superficie durante el proceso biogénico (Girma et al., 2024; Urnukhsaikhan et al., 2021; Ameen et al., 2021).

Estos compuestos aumentan la estabilidad del coloide y pueden actuar sinérgicamente con la plata, mejorando la capacidad de las NPs para dañar las paredes celulares de las bacterias y promover la generación de ROS, que son letales para los microorganismos (Ameen et al., 2021). Además, el nejayote actúa como estabilizante, facilitando la formación de NPs pequeñas y dispersas, que tienen una mayor superficie activa alrededor de su volumen, lo que permite una interacción más efectiva con las células bacterianas y, en consecuencia, aumenta su efectividad antibacteriana (Loo et al., 2018; Pernas-Pleite et al., 2023; Swarnalatha et al., 2017).

Estudios anteriores investigaron la actividad antimicrobiana de las NPsAg sintetizadas a partir de caldos de cultivo de *Lysinibacillus sp.* Contra *E. coli* (ATCC 25922). Estos autores reportan que la plata iónica es más eficiente en la inhibición del crecimiento de esta bacteria; sin embargo, las NPsAg biogénicas actúan a dosis más bajas (Nie et al., 2023). El presente estudio reporta NPsAg con CMI por debajo de las reportadas previamente, destacando la mayor actividad antimicrobiana debido a las moléculas bioactivas presentes en el nejayote.

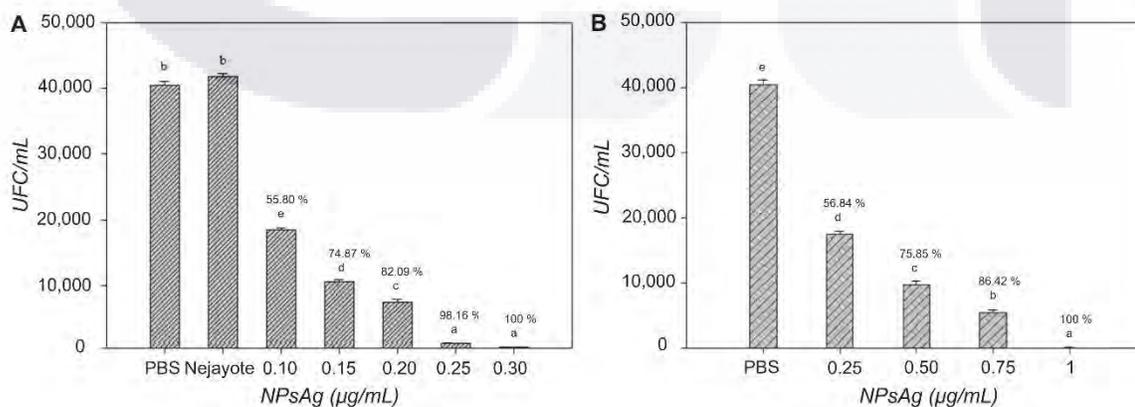


Figura 16. Actividad antibacteriana de las NPsAg contra *E. coli*. Las NPsAg sintetizadas a partir de Nejayote (A) y un método químico (B), evaluación durante tres horas de interacción a una

concentración de 1×10^5 células/ml. Los datos mostrados son promedios según la prueba de *Tukey* ($p < 0,05$). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas y letras iguales indican diferencias no significativas. La inhibición del crecimiento (%) se indica en la parte superior de las barras de cada tratamiento.

En la Figura 16A se muestra el análisis estadístico realizado mediante la prueba de *Tukey*, sin indicar diferencias significativas considerando la cantidad de UFC/mL entre los grupos control PBS y nejayote. Estos resultados se atribuyen al hecho de que ambos controles no tienen un efecto antibacteriano notable sin NPs. Además, se puede observar que a medida que aumenta la concentración de NPsAg, se observa una disminución significativa en el número de UFC/mL. Las NPs ejercen una actividad antibacteriana eficiente, disminuyendo el crecimiento bacteriano a dosis bajas. Esta mayor actividad antibacteriana da como resultado el uso de dosis bajas de NPsAg para el tratamiento de infecciones bacterianas o procesos de desinfección (Borges et al., 2013; Tareq et al., 2022). Mientras que la Figura 16B muestra una tendencia similar, mostrando diferencia significativa entre el control y las concentraciones evaluadas en la síntesis química.

7.6.1. Evaluación de la actividad antibacteriana de AF

La Figura 17 y la Tabla 7 muestran los resultados de la actividad antibacteriana del AF contra *E. coli* a diferentes dosis. De la Tabla 7, la CMI de AF es $625 \mu\text{g/mL}$, mientras que la CMB es de $2500 \mu\text{g/mL}$. Se midió la concentración de AF en el coloide de NPsAg mediante HPLC, encontrando una concentración de $3.849 \pm 0.087 \mu\text{g/mL}$ de AF y algunos otros compuestos bioactivos que contribuyen a la actividad antibacteriana de las NPsAg biogénicas en estudio. El análisis de HPLC confirmó la existencia de AF en el coloide; sin embargo, su concentración está por debajo de la requerida para ejercer acción antibacteriana; por lo tanto, las NPsAg son las responsables de inhibir el crecimiento bacteriano contra *E.coli*.

Estudios previos demostraron la actividad antibacteriana del AF contra bacterias patógenas (Jalab et al., 2021). El mecanismo de actividad antibacteriana de este compuesto se basa en dañar la membrana citoplasmática bacteriana. Otros

estudios investigan la actividad antioxidante de la AF (Zduńska et al., 2018). Este compuesto actúa como un eliminador de radicales libres, como un inhibidor de las enzimas que catalizan la generación de radicales libres y como un potenciador de la actividad de las enzimas eliminadoras. Por lo que, el AF ejerce una acción protectora de las células expuestas a las NPsAg aumentando la biocompatibilidad de las NPsAg biogénicas.

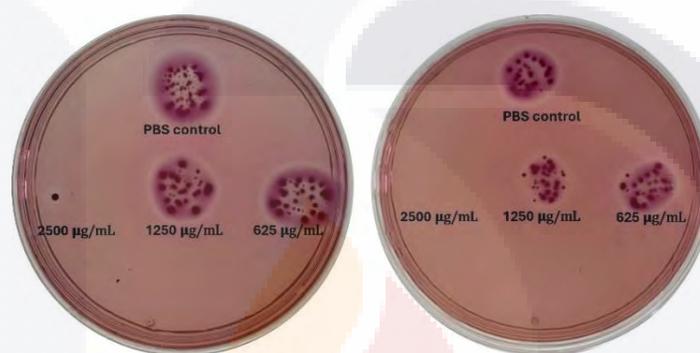


Figura 17. Actividad antibacteriana del AF, evaluado con tres concentraciones (2500, 1250 y 625 µg/mL) comparando con un control PBS.

Tabla 7. Valor de MIC y MBC (µg/mL) correspondiente al ácido ferúlico evaluado.

Bacteria	Concentración AF (µg/mL)	UFC/mL	CMI (µg/mL)	CMB (µg/mL)
<i>Escherichia coli</i>	PBS Control	5350	1250	2500
	625	3550		
	1250	2950		
	2500	50		

7.6.2. Mecanismo de acción antibacteriana

Las NPsAg han demostrado una actividad antibacteriana eficaz. Sin embargo, el mecanismo exacto por el cual inhiben el crecimiento celular aún no está completamente definido. Además, la actividad antibacteriana de las NPsAg depende en gran medida de las propiedades fisicoquímicas de las NPs. Algunos investigadores proponen que la acción antibacteriana de las NPsAg se debe a su capacidad para atravesar y alterar la membrana celular externa, dañando su

estructura (Urnukhsaikhan et al., 2021), como se muestra en la Figura 18. La adhesión de NPsAg a la membrana celular la desestabiliza y daña, aumentando su permeabilidad y provocando la pérdida de contenido celular (Slavin et al., 2017).

Además, la liberación de iones Ag^+ de las NPs permite su interacción con las enzimas, inactivándolas (Bruna et al., 2021), este problema también puede dar lugar a la generación de ROS y causar daños a la célula. Por último, las NPsAg pueden interactuar con los ribosomas, promoviendo su desintegración e inhibiendo la síntesis de proteínas estructural (Urnukhsaikhan et al., 2021). Este proceso, a su vez, conduce al daño del ácido desoxirribonucleico (ADN), alterando sus funciones y estructura y, en última instancia, causando la muerte celular (Ashokraja et al., 2017; Bruna et al., 2021).

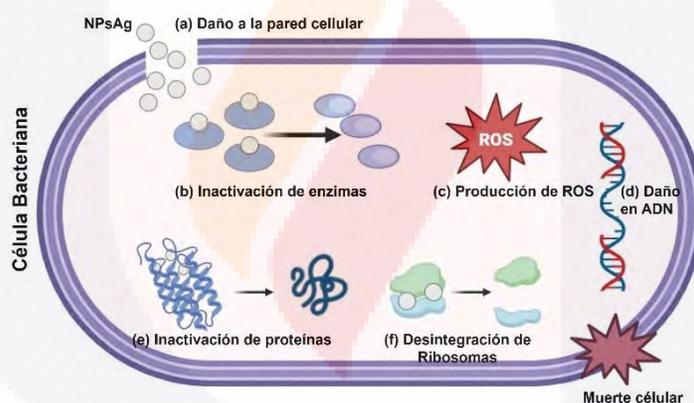


Figura 18. Mecanismo antibacteriano de las NPsAg frente a las bacterias. La interacción de las NPsAg con la bacteria *E. coli* altera su pared celular, causando la inactivación de enzimas clave, la producción de ROS, daño al ADN, desestabilización de proteínas y desensamblaje de ribosomas. Estos efectos contribuyen colectivamente a la muerte de las células bacterianas.

7.7. Ensayo de Hemólisis

El análisis de la actividad hemolítica de las NPs es una referencia para evaluar su biocompatibilidad. En la figura 19 se observa que las NPsAg ejercen un efecto negativo casi nulo sobre los eritrocitos. Las NPsAg sintetizadas a partir de nejayote tienen un porcentaje de hemólisis ligeramente superior a las obtenidas por métodos

químicos, lo que podría atribuirse a su tamaño, y a la presencia de metabolitos del nejayote adsorbidos a la superficie de las NPs, los cuales pueden modificar las propiedades fisicoquímicas de la capa externa de estas partículas (Ashokraja et al., 2017). Los valores de hemólisis son inferiores al 1%, dentro del rango no hemolítico según la norma ISO 10993-4 (F04 Committee), lo que sugiere que las concentraciones evaluadas son seguras para aplicaciones biomédicas.

El proceso de hemólisis implica la desnaturalización de los eritrocitos debido a la interacción fisicoquímica entre las NPs y la membrana celular. La carga superficial de las NPsAg desempeña un papel crucial en esta interacción (Garcidueñas-Piña et al., 2016). En este estudio, las NPs ejercieron actividad antibacteriana a dosis bajas. Además, su pequeño tamaño favorece su absorción por células o microorganismos, se muestra que la absorción de NPsAg por parte de las bacterias podría dar lugar a diferentes mecanismos que conducen a la muerte celular bacteriana; sin embargo, en los glóbulos rojos, el estrés oxidativo puede ser evitado por las moléculas presentes como estabilizantes.

Este estudio demuestra la biocompatibilidad de NPsAg a dosis que ejercen una mayor actividad antibacteriana en tiempos de exposición cortos (Ashokraja et al., 2017; Chahardoli et al., 2025; L. Q. Chen et al., 2015; Garcidueñas-Piña et al., 2016; Korolev et al., 2021).

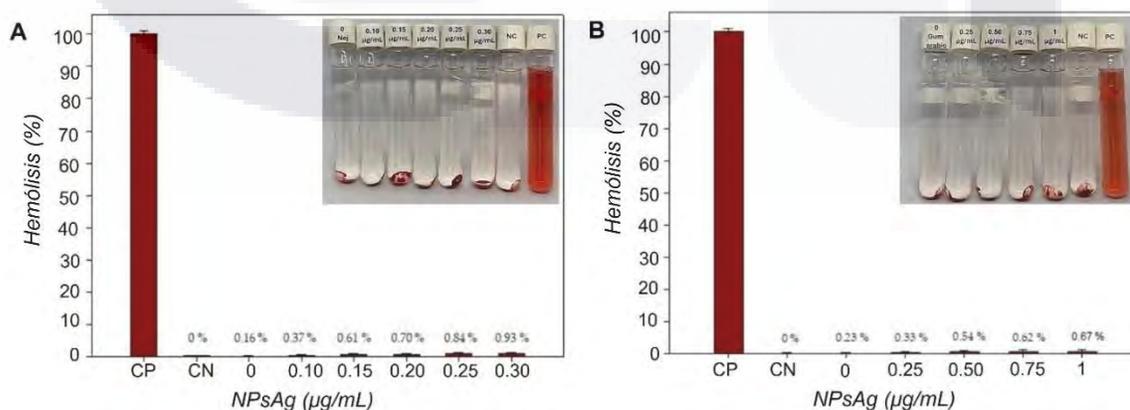


Figura 19. Evaluación de la actividad hemolítica de las NPsAg. No se ejerce actividad hemolítica a ninguna de las concentraciones evaluadas. (A) Síntesis biogénica y (B) Síntesis química.

7.7.1. Ensayos de toxicidad y viabilidad celular de NPsAg

La citotoxicidad de las NPsAg en fibroblastos humanos se evaluó mediante los ensayos CCK-8 y LDH para determinar su efecto sobre la viabilidad celular. Los resultados obtenidos con el ensayo CCK-8, se muestran en la Figura 20, se observa una disminución progresiva en la viabilidad celular a medida que aumenta la concentración de NPsAg, se observan diferencias significativas a partir de 0.30 $\mu\text{g/mL}$ para las NPs sintetizadas por vía biogénica y en concentraciones mayores a 0.75 $\mu\text{g/mL}$ en NPs sintetizadas por el método químico. A concentraciones más bajas, no se detectaron diferencias significativas en la viabilidad celular para ninguno de los métodos de síntesis.

Estos resultados respaldan la biocompatibilidad de las NPsAg evaluadas, especialmente en las concentraciones que resultan efectivas para ejercer actividad antibacteriana. Se considera que las NPs son citotóxicas cuando la viabilidad celular supera el 80% (Liaqat et al., 2022; Tamayo et al., 2015). En la Figura 20, la viabilidad de los fibroblastos tratados con NPsAg se mantiene por encima del 80% en las concentraciones evaluadas. Dado que no se observó actividad hemolítica ni citotóxica, las NPsAg obtenidas por síntesis biogénica presentan propiedades adecuadas para aplicaciones biomédicas (Al-Nazhan & Al-Nasser, 2006; Biswal & Misra, 2020).

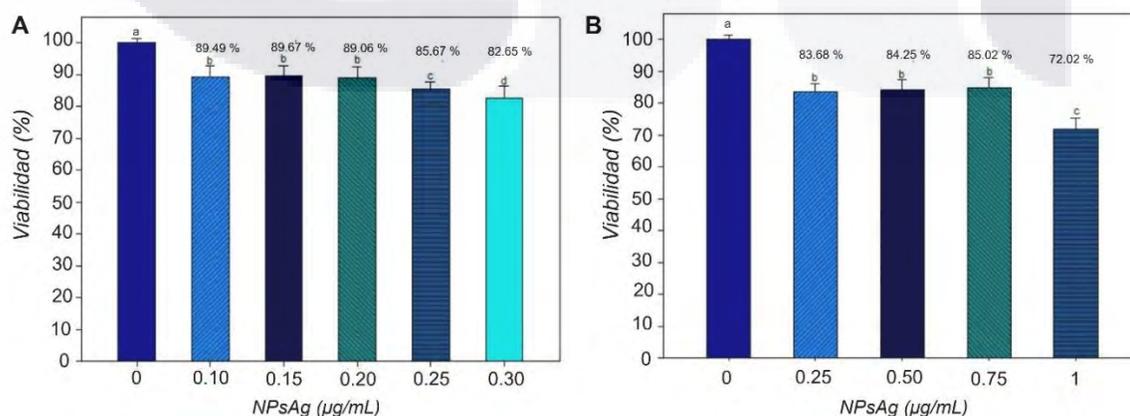


Figura 20. Evaluación de la biocompatibilidad de las NPsAg en células de fibroblasto Detroit 548

(ATCC CCL-116). (A) Viabilidad celular de las células Detroit 548 tras la exposición a diferentes concentraciones (0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$) de NPsAg biogénicas. (B) Viabilidad celular de las células Detroit después de la exposición a NPsAg (0.25, 0.50, 0.75 y 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$) sintetizadas químicamente. Las diferencias estadísticas entre las muestras de prueba y el control se obtuvieron mediante la prueba de *Tukey*, y la significancia se calculó en ($p \leq 0.05$). Letras diferentes indican diferencias significativas entre grupos y letras iguales indican que no existe diferencia estadísticamente significativa.

La Figura 21 muestra el ensayo de liberación de LDH, el cual mostró resultados similares a los obtenidos en CCK-8, evidenciando viabilidades superiores al 80% (lo que corresponde a una liberación de LDH inferior al 15%) para casi todas las concentraciones evaluadas de NPsAg biogénicas, con excepción de la concentración 0.30 $\mu\text{g}/\text{mL}$, en la que se observó una liberación de LDH ligeramente superior al límite considerado como no citotóxico. Asimismo, en las NPsAg sintetizadas químicamente, se detectó un leve aumento en la liberación de LDH, lo cual podría atribuirse a las mayores concentraciones necesarias de estas NPs para lograr una inhibición bacteriana completa.

El análisis estadístico reveló diferencias significativas entre los grupos tratados con las concentraciones más altas ($p \leq 0.05$), lo que respalda la existencia de una relación dosis-dependiente en la citotoxicidad. Estos resultados son consistentes con estudios previos que señalan efectos mínimos de las NPsAg a bajas concentraciones sobre diferentes tipos celulares, Travan et al. (2009) evaluó la viabilidad de fibroblastos del ligamento periodontal humano expuestos a diversas dosis de NPsAg incorporadas en materiales dentales y no encontró alteraciones en la viabilidad celular. De manera similar, Korolev et al. (2021) reportó que concentraciones elevadas de NPsAg redujeron significativamente la viabilidad celular de un 75 a un 7% en un rango de 6 a 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$.

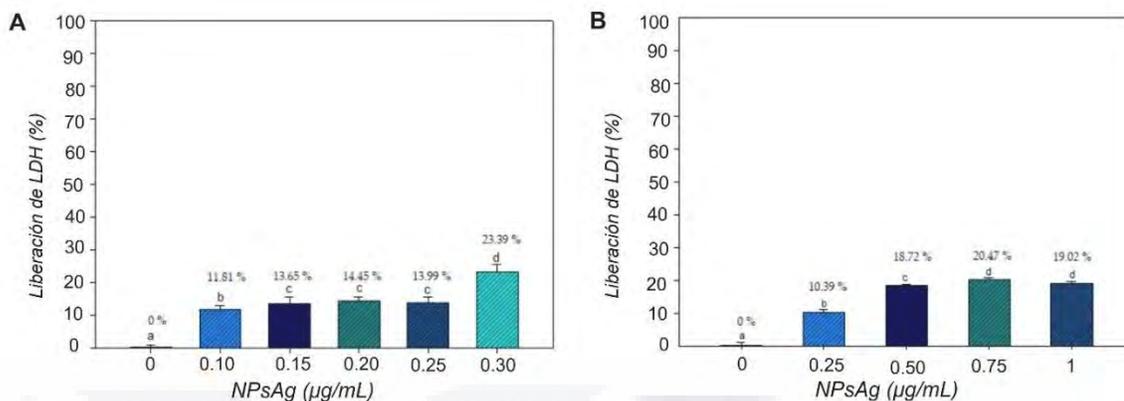


Figura 21. Efectos de las NPsAg biosintetizadas y producidas químicamente en el fibroblasto Detroit 548 (ATCC CCL-116) mediante la prueba LDH. (A) Síntesis biogénica a varias concentraciones (0.10, 0.15, 0.20, 0.25 y 0.30 µg/mL) y (B) síntesis química (0.25, 0.50, 0.75 y 1 µg/mL) en relación con el control no tratado (0 µg/mL). Las diferencias estadísticas entre las muestras de prueba y el control se obtuvieron mediante la prueba de Tukey, y la significancia se calculó en ($p \leq 0.05$). Letras iguales indican no diferencia significativa, mientras que las letras diferentes denotan diferencias estadísticamente significativas.

El uso de NPsAg para combatir enfermedades infecciosas tiene muchas ventajas, sin embargo, aún falta un mecanismo molecular preciso de la toxicidad de las NPsAg, esto debido a su dependencia de las propiedades fisicoquímicas de los nanomateriales. Sin embargo, estudios previos señalan que la absorción masiva de NPsAg por parte de las células eucariotas conduce a la toxicidad o muerte celular (Travan et al., 2009).

La Figura 22 muestra el análisis realizado por MFA en fibroblastos, tanto del grupo control como del grupo tratado con NPsAg. Las imágenes correspondientes al grupo control, las Figuras 22A, 22B y 22C) muestran células con morfología y tamaño característicos de la línea celular utilizada. Por otro lado, las imágenes del grupo tratado con NPsAg presentadas en las Figuras 22D, 22E y 22F muestran células que conservan sus propiedades estructurales como tamaño y forma. Además, en las ampliaciones presentadas en las Figuras 22F1 y 22F2 no se observaron cambios de fase significativos, lo cual sugiere una baja difusión de las NPs en el interior celular, minimizando así la posibilidad de efectos tóxicos.

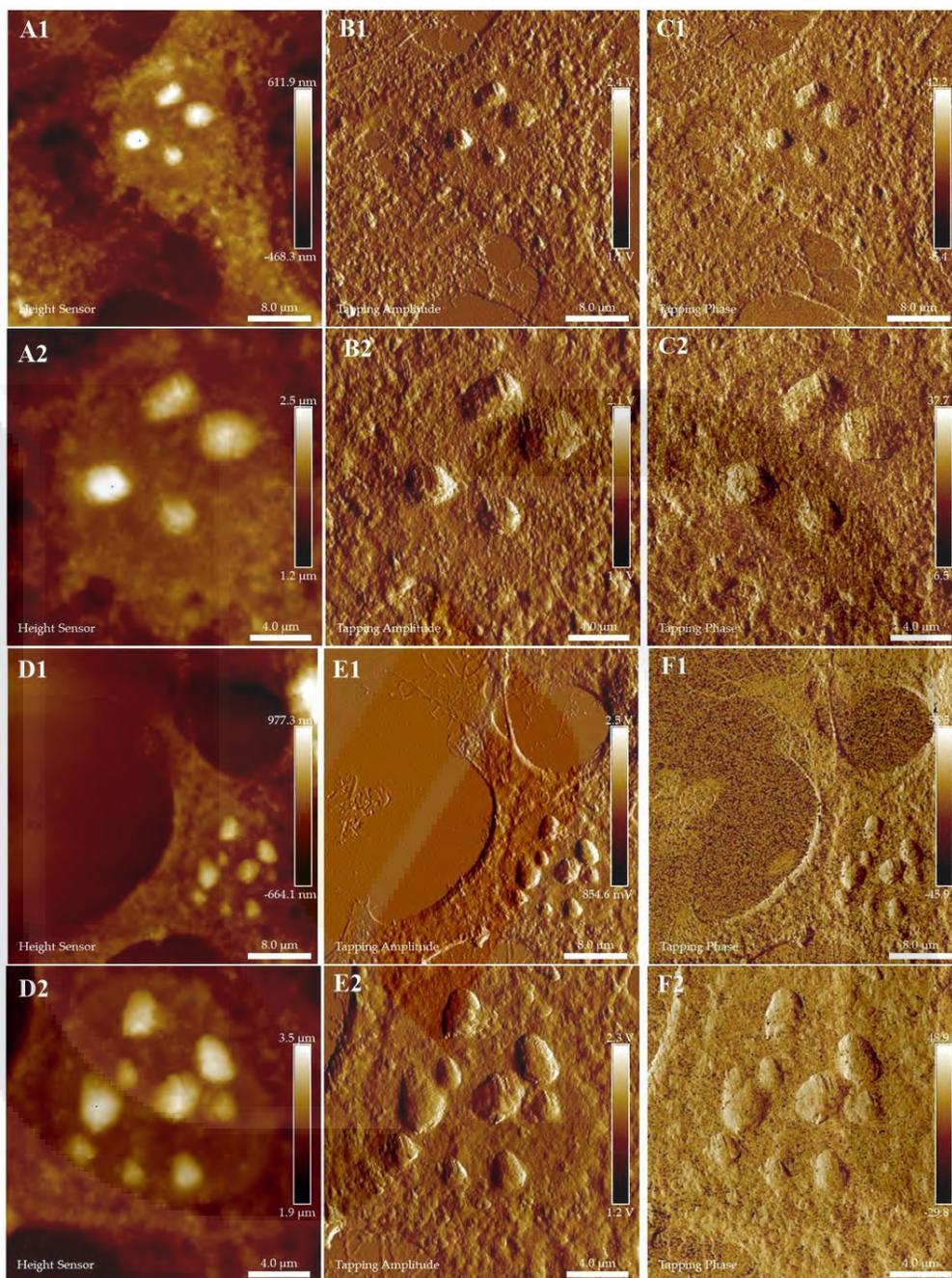


Figura 22. Las imágenes (A1, A2, B1, B2) muestran fibroblastos humanos a diferentes aumentos, en los que se observa una morfología y un tamaño celulares típicos. En las imágenes (C1, C2), no se detectan cambios de fase, lo cual sugiere una composición homogénea de las células. Por otro lado, en las imágenes (D1, D2, E1, E2), correspondientes a fibroblastos tratados con NPsAg, se mantiene la morfología típica, aunque se aprecian ligeras variaciones en el tamaño celular. Finalmente, en las imágenes (F1, F2) se observan cambios de fase poco notorios, que podrían indicar la entrada de NPsAg en el interior de la célula.

7.8. Síntesis de NPs ZnO

Las reacciones se llevaron a cabo bajo las condiciones de síntesis específicas para cada experimento, como se muestra en la Tabla 8. El cambio de color observado antes del proceso de calcinación (Figura 23) se atribuye al incremento en la concentración de nejayote, lo cual está relacionado con una mayor presencia de compuestos orgánicos, como ácidos fenólicos y otros metabolitos (Doan Thi et al., 2020) que quedan adsorbidos en la superficie de las NPs, los cuales pueden formar complejos con el zinc. Posteriormente, tras el tratamiento térmico, se obtuvieron nanopartículas de óxido de zinc en polvo blanco. A medida que se incrementó la temperatura de calcinación, el color blanco se intensificó, este fenómeno se asocia con la degradación progresiva de la materia orgánica residual (Hassan Basri et al., 2020).

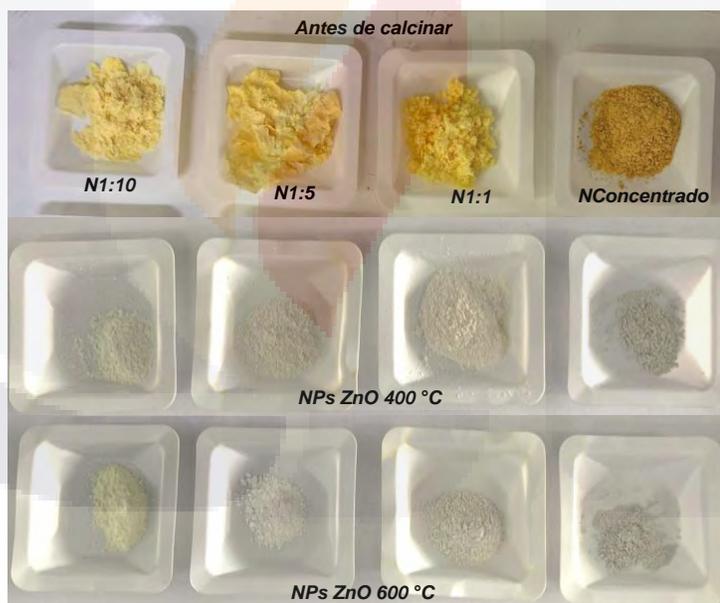


Figura 23. Nanopartículas de ZnO sintetizadas a partir de nejayote tratadas térmicamente a diferentes temperaturas. Las muestras fueron calcinadas a 400 °C y 600 °C. El efecto de la temperatura se observa con el incremento en intensidad en el color blanco de las partículas obtenidas.

Tabla 8. Diseño experimental para la síntesis de NPs ZnO a partir del nejayote, evaluando diferentes factores de síntesis. Se presenta el rendimiento obtenido para cada experimento.

Experimento	Concentración de Nejayote, v/v	Temperatura de calcinación, °C	Rendimiento, %
1	1:10	400	93.06
2	1:10	600	94.29
3	1:5	400	92.72
4	1:5	600	88.48
5	1:1	400	82.21
6	1:1	600	84.91
7	Concentrado	400	61.28
9	Concentrado	600	77.08

Con base en los datos presentados en la Tabla 8, se observa que el rendimiento de las NPs ZnO incrementa con el aumento de la temperatura de calcinación. Este comportamiento se asocia a una conversión más eficiente del $Zn(NO_3)_2$ en óxido de zinc, así como a la eliminación más efectiva de compuestos orgánicos residuales (Karam & Abdulrahman, 2022a). Temperaturas más elevadas favorecen el proceso de cristalización, lo que mejora la estructura cristalina de las nanopartículas y, en consecuencia, su rendimiento final. Además, se identificó que un aumento en la proporción de nejayote como fuente orgánica en la reacción conlleva a una disminución en el rendimiento de ZnO. Esta tendencia puede explicarse debido a la presencia elevada de compuestos orgánicos como ácidos fenólicos, proteínas, polisacáridos; que actúan como agentes reductores y estabilizantes, pero que en mayor contenido pueden interferir con la nucleación y crecimiento de las NPs ZnO (Kwabena et al., 2021). Este efecto resalta la importancia de optimizar la concentración de biomoléculas presentes durante la síntesis biogénica para lograr un equilibrio entre estabilización y eficiencia de conversión.

La Figura 24 muestra el posible mecanismo de reacción durante la síntesis de NPs ZnO mediada por nejayote. En este proceso, los grupos funcionales presentes en los compuestos orgánicos del nejayote interactúan con los iones Zn^{2+} (Doan Thi et al., 2020) provenientes del $Zn(NO_3)_2$ favoreciendo la nucleación inicial. Asimismo, se ha propuesto que grupos funcionales como los anillos fenólicos con hidroxilos forman ligandos complejos con el ion zinc, generando una fase intermedia

representada por hidróxido de zinc ($Zn(OH)_2$) (Nguyen et al., 2024). Esta fase intermedia se deshidrata durante la etapa de calcinación, promoviendo la formación de NPs ZnO con diversas morfologías (Hassan Basri et al., 2020). Este tipo de mecanismos concuerda con lo observado en otros métodos de síntesis biogénica, donde biomoléculas provenientes de extractos vegetales o residuos agroindustriales actúan como agentes quelantes y estructurantes, aportando control sobre el tamaño y forma de las nanopartículas (Kwabena et al., 2021).

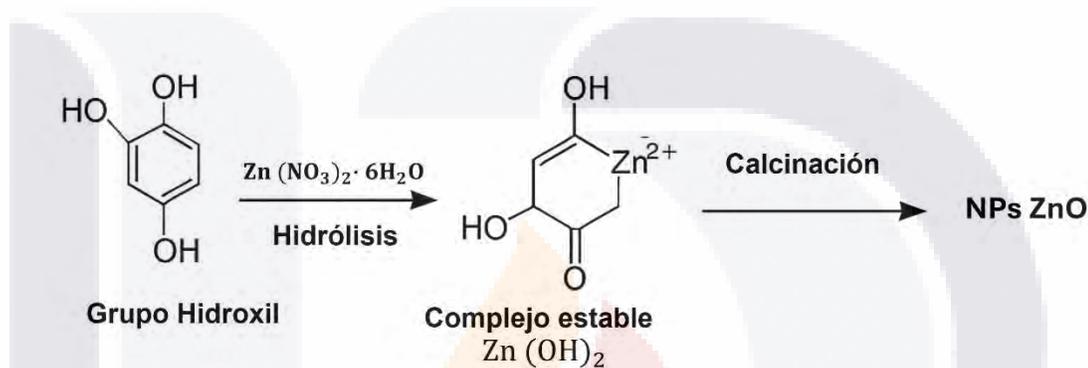


Figura 24. Mecanismo propuesto de formación de nanopartículas biogénicas de ZnO mediante la interacción de iones Zn^{2+} con compuestos bioactivos presentes en el nejayote, seguida de un proceso de calcinación que da lugar a la generación de NPs ZnO.

7.9. Caracterización de las NPs ZnO

7.9.1. DRX

Los patrones de DRX correspondientes a las NPs ZnO sintetizadas a partir de nejayote y tratadas térmicamente a 400 y 600 °C se muestran en la Figura 25. En ambos difractogramas se observan tres señales predominantes ubicados en 2θ en 31.90, 34.94, 37.34, 47.67, 56.70, 63.00° que corresponden a los planos cristalográficos de (100), (002), (101), (102), (110) y (113) respectivamente, los cuales corresponden con la estructura hexagonal tipo wurtzita (Faisal et al., 2021). Además de las señales características del ZnO, se observan señales adicionales con menor intensidad ubicadas en 2θ en 68.05 y 69.16 °, estas señales se asignan a los planos cristalográficos (112) y (210) respectivamente, de acuerdo con el patrón

de referencia JCPDS No. 98-0185829 (Ardeshiri et al., 2018).

La presencia de estas señales adicionales podría asociarse a la presencia de carbonato de zinc ($ZnCO_3$) como fase secundaria, probablemente originada por la existencia de carbonatos presentes en el nejayote utilizado como agente reductor. La asignación de estas señales es consistente con el patrón de difracción reportado por Wang et al. (2013), el cual reporta señales en posiciones similares.

La variación en la intensidad de las señales de difracción se atribuye al incremento de la temperatura de calcinación, lo que confirma la formación de una estructura cristalina hexagonal de tipo wurtzita (Karam & Abdulrahman, 2022a). Estos resultados, concuerdan con estudios reportados en la literatura (Faisal et al., 2021; Karam & Abdulrahman, 2022; Nguyen et al., 2024). El tamaño promedio del cristalito calculado a partir de las señales de difracción fue de 31.28 y 43.30 nm respectivamente, evidenciando un aumento en el tamaño del cristalito con el incremento de la temperatura de calcinación.

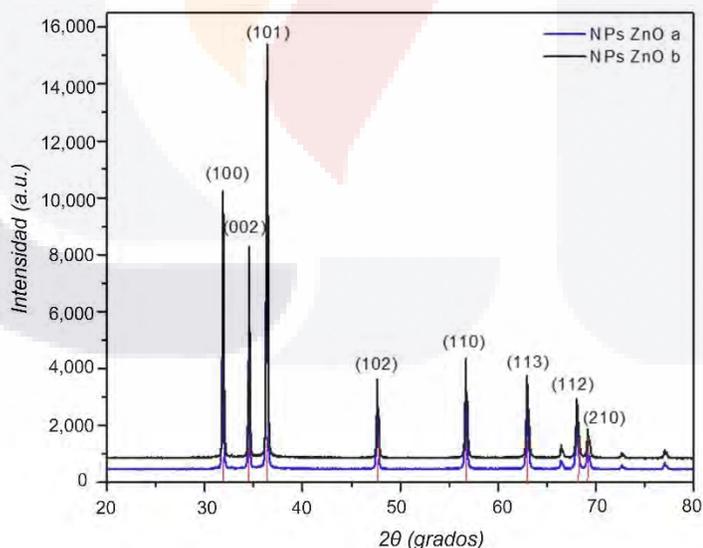


Figura 25. Patrones de DRX de NPs ZnO sintetizadas con nejayote y tratadas térmicamente a diferentes temperaturas: NPs ZnO 400 °C (azul) y NPs ZnO 600 °C (negro). Las señales observadas corresponden a planos característicos de la fase wurtzita. La muestra b presenta mayor intensidad, lo que indica un incremento en la cristalinidad asociado al aumento en la temperatura de calcinación.

7.9.2. TEM

Las características morfológicas, estructurales y de tamaño de partícula de las NPs ZnO obtenidas a 400°C fueron evaluadas mediante TEM. La Figura 26 muestra las imágenes representativas obtenidas. En la Figura 26A y 26D se observa que las nanopartículas presentan una morfología predominantemente esférica, aunque se observan diversas morfologías y una distribución heterogénea de tamaño. Las partículas tienden a formar agregados, que se asocian a la alta energía superficial característica de los NMs. Este tipo de agregación ha sido reportado previamente en métodos biogénicos (Karam & Abdulrahman, 2022). Se observa que a mayor aumento (Figura 26B y 26D) en la imagen HRTEM revela las franjas de difracción bien definidas, evidenciando la naturaleza cristalina de las nanopartículas sintetizadas. La presencia de planos interplanares claramente visibles es asociada con una estructura ordenada, lo cual es consistente con los resultados presentados por DRX. Este patrón sugiere que las NPs ZnO poseen una estructura de tipo wurtzita, característica del ZnO (JCPDS No. 98-018-5829), con orientación preferencial en los planos (100), (002) y (101).

Asimismo, la imagen SAED mostrada en la Figura 26C muestra anillos concéntricos brillantes, lo que confirma la cristalinidad de las NPs ZnO, los cuales se asocian a los planos cristalográficos (100), (002), (101), (102), (110), (103), (112) y (113) y que son consistentes con la fase hexagonal del ZnO obtenido por métodos mediados por extractos vegetales (Suresh et al., 2015; Wang et al., 2013). Por otro lado, la distribución de tamaño de partícula se presenta en el histograma de la Figura 26F, donde se observa una distribución asimétrica con un intervalo de diámetros entre 20 y 90 nm. La media del tamaño de partícula estimado es aproximadamente 52.4 ± 15.6 nm, lo que coincide con el tamaño del cristalito calculado mediante la ecuación de Scherrer, por lo que estos resultados confirman la obtención de nanopartículas de ZnO.

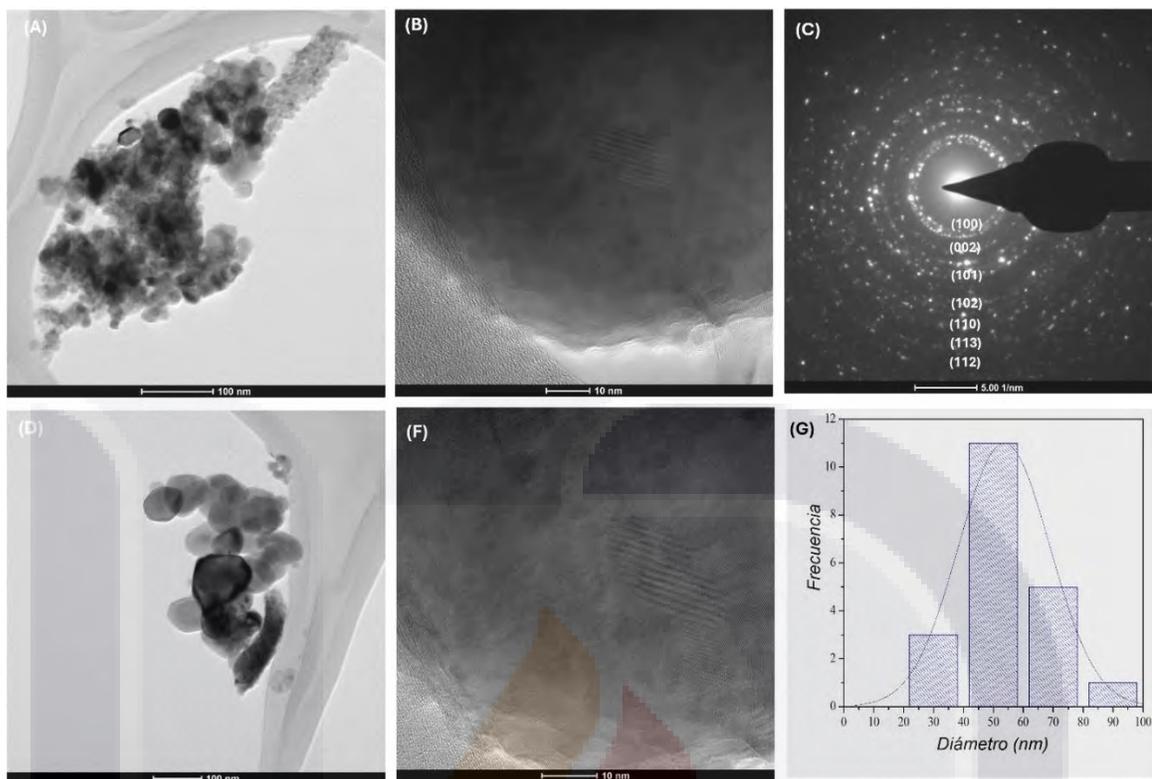


Figura 26. Caracterización por microscopía electrónica de la estructura cristalina, el tamaño y la distribución de la forma de las NPs ZnO obtenidas a 400°C. Específicamente: (A) Micrografía TEM de baja resolución y (B) Micrografía HR-TEM de las NPs ZnO. (C) Patrón SAED con anillos marcados. (D) Histograma que muestra la distribución del tamaño de partícula de las Ns ZnO.

7.9.3. SEM

La morfología de las NPs ZnO se estudió mediante el análisis SEM, las imágenes de la Figura 27 muestra partículas con diversos tamaños y morfologías. Se observa la formación de aglomeraciones y una baja dispersión.

Durante el proceso térmico, se observó un aumento del tamaño de partícula, así como una reestructuración en la morfología de las NPs ZnO con el incremento de la temperatura de calcinación (Che Mohamed Hussein et al., 2020) y de acuerdo con diversos trabajos reportados en la literatura (Jyoti et al., 2013; Mayecar et al., 2013; Hadia et al., 2014; Mohan & Renjanadevi et al., 2016 y Hassan Basri et al., 2020) reportan que la temperatura es considerado un parámetro importante que influye en la morfología estructural y tamaño de las NPs ZnO. Asimismo, la Figura 27A, muestra las NPs ZnO con tratamiento térmico a 400 °C donde se encontraron

tamaños de partícula entre los 27 – 48 nm. Al incrementar la temperatura a 600 °C (Figura 27B) no se observó mayor variación en el tamaño de partícula (≈ 53 nm); Se observa una alta densidad de partículas distribuidas de manera uniforme, estas morfologías son típicas en la síntesis mediada por agentes reductores provenientes de extractos naturales, que pueden evidenciar aglomeraciones de partículas (Faisal et al., 2021; Pourrahimi et al., 2015).

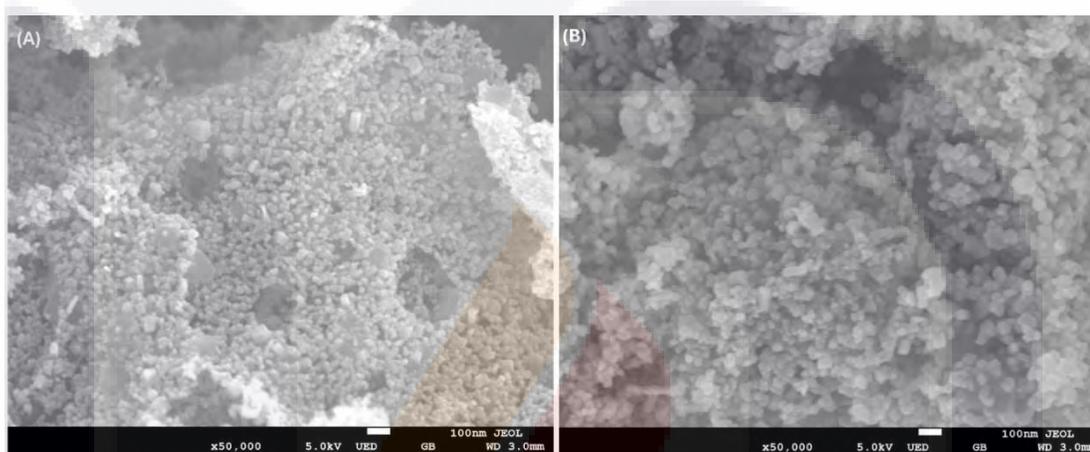


Figura 27. Imágenes de SEM de NPs ZnO sintetizadas con nejayote y calcinadas a diferentes temperaturas: (A) 400 °C y (B) 600 °C. A 400 °C, las partículas muestran una morfología esférica y menor tamaño, mientras que a 600 °C se observa un aumento en el tamaño y mayor aglomeración, debido al efecto del tratamiento térmico sobre el crecimiento cristalino. Estos cambios evidencian la influencia de la temperatura en la morfología y distribución de las ZnO-NPs.

7.9.4. Análisis EDS

La Figura 28 muestra los espectros de EDS de las NPs ZnO calcinadas a diferentes temperaturas (Figura 28A y 28B) en los cuales se observan las principales señales correspondientes a zinc en ~ 1.0 , 8.6 y 9.6 keV y oxígeno en ~ 0.5 keV con porcentajes atómicos de Zn (33.42 %) y O (66.57 %), para la muestra calcinada a 600 °C (Figura 28B), los valores fueron Zn (35.90 %) y O (63.12 %), lo cual confirma la presencia predominante de ZnO como fase principal. Además, la ligera variación en los porcentajes atómicos se atribuye al incremento en la temperatura de calcinación, la cual favorece la eliminación de materia orgánica y mejorar la cristalinidad. Estos resultados concuerdan con estudios previos donde se ha reportado que las señales características del Zn aparecen principalmente en esas

regiones de energía (Sharmila et al., 2022; Rameshraddy et al., 2022). Además, se identificaron otros elementos en menor proporción, los cuales se asocian a los metabolitos del nejayote, los cuales se originan a partir de extractos de plantas (Acosta-Estrada et al., 2019).

El nejayote como subproducto alcalino del proceso de nixtamalización, es rico en compuestos orgánicos, minerales y sales como carbonatos y cloruros (Rojas-Candelas et al., 2023), lo que podría atribuirse a carbonatos de zinc ($ZnCO_3$) que se encuentran en cantidades menores. La presencia de carbono puede atribuirse a la cinta de adhesión, o a la materia orgánica procedente del extracto vegetal (Bala et al., 2015) el cual se va reduciendo conforme incrementa la temperatura de calcinación (Figura 28A – 28B). La presencia de calcio se atribuye al hidróxido de calcio $Ca(OH)_2$ residual procedente del nejayote.

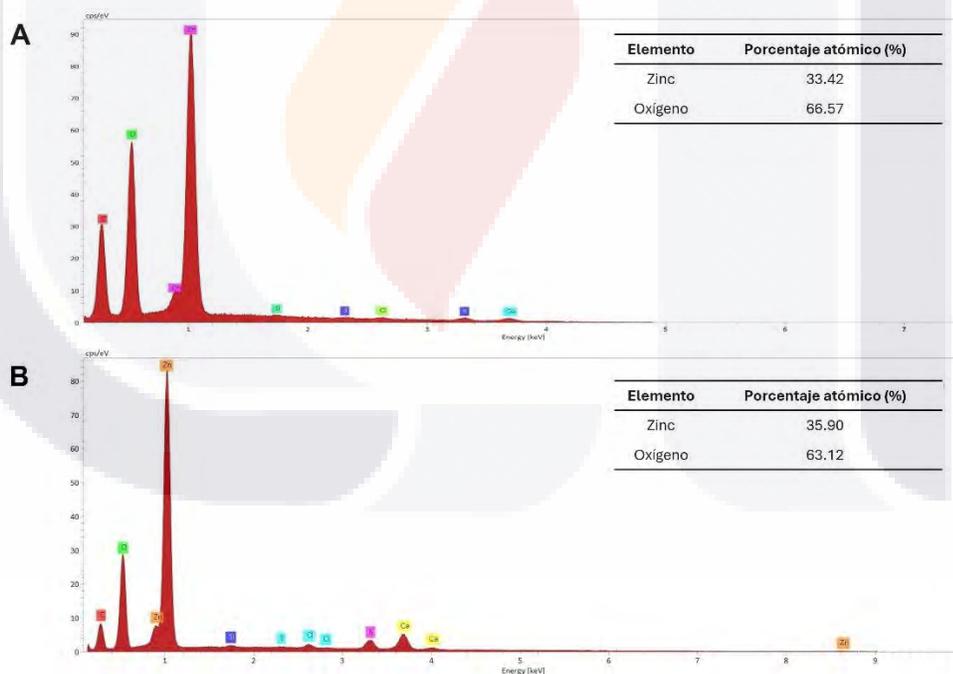


Figura 28. . Espectros EDS de NPs ZnO sintetizadas con nejayote y calcinadas a diferentes temperaturas: (A) 400 °C y (B) 600 °C. En ambos espectros se identifican las señales características de zinc y oxígeno, confirmando la composición elemental del óxido de zinc. La presencia de los otros elementos es atribuible a los metabolitos presentes en el nejayote.

7.9.5. FTIR

Los espectros FTIR del nejayote y las NPs de ZnO sintetizadas a 400 °C a diferentes concentraciones de nejayote se muestran en la Figura 29. Se observaron bandas correspondientes a grupos unidos por enlaces de hidrógeno alrededor de 3,849 y 3,675 cm^{-1} . Los compuestos aromáticos se encontraron en 2,969 y 1,045 cm^{-1} , estas bandas indican la presencia de compuestos orgánicos que pueden estar adsorbidos en las NPs durante la síntesis. Las señales encontradas en 2,352 cm^{-1} podría asociarse a la presencia de nitrilos (Faroudi et al., 2023). La banda a 1,550 cm^{-1} en el espectro FTIR del nejayote indica las bandas de estiramiento de los grupos funcionales C=O y C=C en 1,226 cm^{-1} que están relacionadas con alcaloides, flavonoides y compuestos fenólicos (Che Mohamed Hussein et al., 2020).

Se observa en los espectros FTIR de las NPs ZnO (b–e) que el incremento en la concentración de compuestos bioactivos en la síntesis muestra cambios notables debido a la mayor cantidad de estos compuestos que quedan adsorbidos en la superficie de las NPs, lo que se atribuye al aumento en la intensidad de las bandas asociadas a los grupos funcionales como los compuestos C-H, C=O y C=C. Así como la aparición de nuevas bandas relacionadas con vibraciones de enlaces C-O y C-N provenientes de otros metabolitos secundarios (Fakhari et al., 2019; Doan Thi et al., 2020). Se observa que todas las muestras sintetizadas (b-e) presentaron bandas de vibración alrededor de 867 cm^{-1} , asociadas a la vibración de estiramiento del enlace Zn-O (Doan Thi et al., 2020), mientras que la banda que se atribuye a la unión de Zn-O se encuentra en la región de 540 cm^{-1} (Karam & Abdulrahman, 2022; Faroudi et al., 2023).

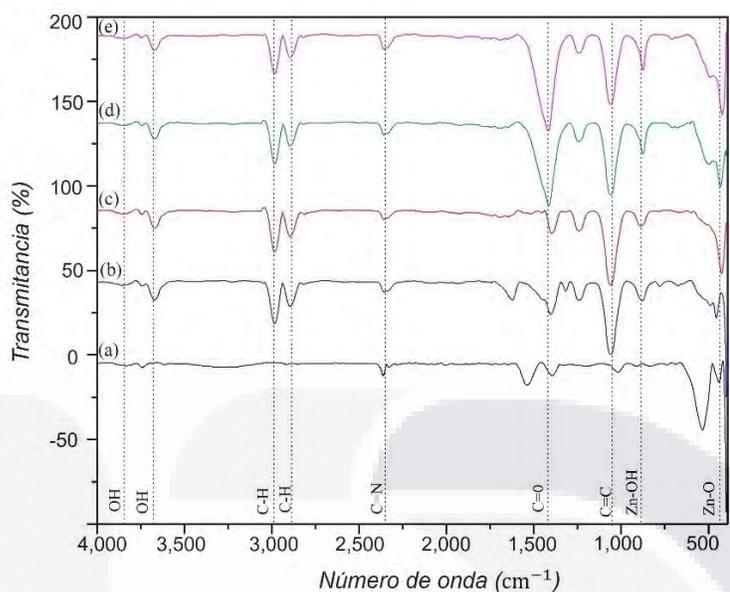


Figura 29. Espectros FTIR de (a) Nejayote, ZnO NPs sintetizadas a diferentes concentraciones de nejayote (b) 1:10, (c) 1:5, (d) 1:1 v/v y (e) nejayote concentrado. Temperatura de calcinación 400 °C. Se identifican grupos –OH, vibraciones C–H y enlaces C=O y C=C relacionados con compuestos orgánicos del nejayote. Las bandas entre 600–400 cm⁻¹ corresponden a enlaces Zn–O y Zn–OH, confirmando la formación de ZnO. La reducción de las bandas orgánicas de (a) a (e) indica una eliminación gradual de materia orgánica conforme aumenta la temperatura o calcinación

7.10. Evaluación antibacteriana de NPs ZnO

La actividad antibacteriana de los NPs ZnO sintetizadas se evaluó mediante ensayos de MIC. El porcentaje de inhibición bacteriana después de 24 horas de incubación se determinó mediante el conteo de las UFC/mL. Los resultados se muestran en la Figura 30, donde se puede observar que a una mayor concentración de ZnO provocó una inhibición bacteriana significativa. Además, la irradiación con luz UV potenció este efecto y es consistente con lo reportado en estudios previos donde se destaca la capacidad fotocatalítica del ZnO para generar ROS al ser irradiado mediante luz UV (Bouttier-Figueroa et al., 2024) generando daño celular.

Alam. (2021) informa que la exposición a la luz UV induce la excitación de electrones en la estructura del ZnO, promoviendo la generación de oxígeno reactivo y ROS altamente tóxico para las bacterias. Estos resultados coinciden con otros estudios (Asmat-Campos et al., 2024; Che Mohamed Hussein et al., 2020; Mutukwa et al.,

2024), que asocian la mejora en la actividad antibacteriana del ZnO a una mayor producción de ROS bajo la luz UV. Asimismo, este estudio coincide con Zheng et al. (2024), que informan que parte del efecto se debe al contacto directo entre las NPs con la membrana bacteriana. Los resultados demostraron que las NPs ZnO sintetizadas exhibieron una actividad antibacteriana significativa. Por el contrario, el nejayote por sí solo no mostró ningún efecto antibacteriano, lo que sugiere que la actividad antibacteriana observada es atribuible a la presencia de NPs ZnO (Asmat-Campos et al., 2024; Wang et al., 2013).

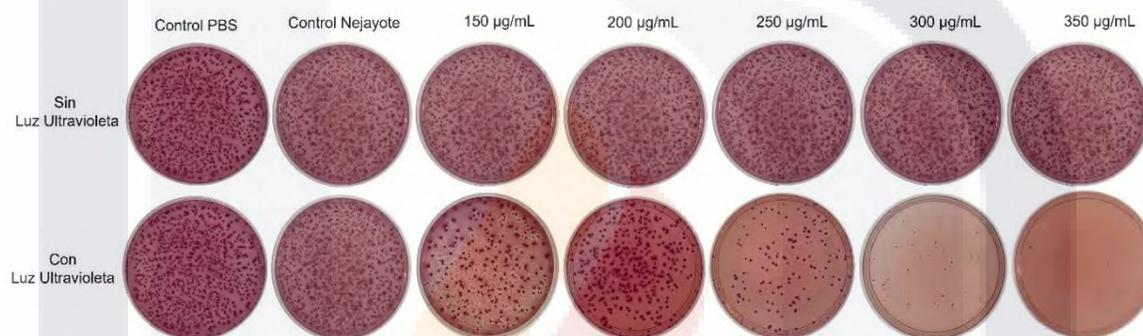


Figura 30. Evaluación de la actividad antibacteriana de NPs ZnO. Placas de Petri que muestran la actividad antibacteriana de los NPs ZnO contra *E. coli*. Las células bacterianas (1×10^5 células/mL) interactuaron con diferentes concentraciones de NPs ZnO durante 12 horas. Línea superior indica la evaluación en oscuridad y la línea inferior muestra la evaluación mediante luz UV.

Las NPs ZnO mostraron una acción efectiva contra *E.coli*, evidenciada por una significativa disminución en el número de UFC/mL. En la Figura 31 se observó un alto porcentaje de inhibición del crecimiento bacteriano con la irradiación de luz UV tras un tiempo de exposición de 12 horas. Además, los compuestos orgánicos presentes en la superficie de las NPs ZnO evidenciados en el análisis FTIR podrían contribuir de forma significativa en la actividad bactericida bajo irradiación UV, debido a que estos compuestos actúan como agentes reductores y estabilizantes, que en conjunto potencian el efecto fotocatalítico del ZnO y por tanto su eficiencia antibacteriana (Ardeshiri et al., 2018; Sirelkhatim et al., 2015). El presente estudio reporta NPs ZnO con CMI de 350 µg/mL que se encuentra dentro del rango que

reportan trabajos previos (Król et al., 2017; Padmavathy & Vijayaraghavan, 2008; Zhang et al., 2010).

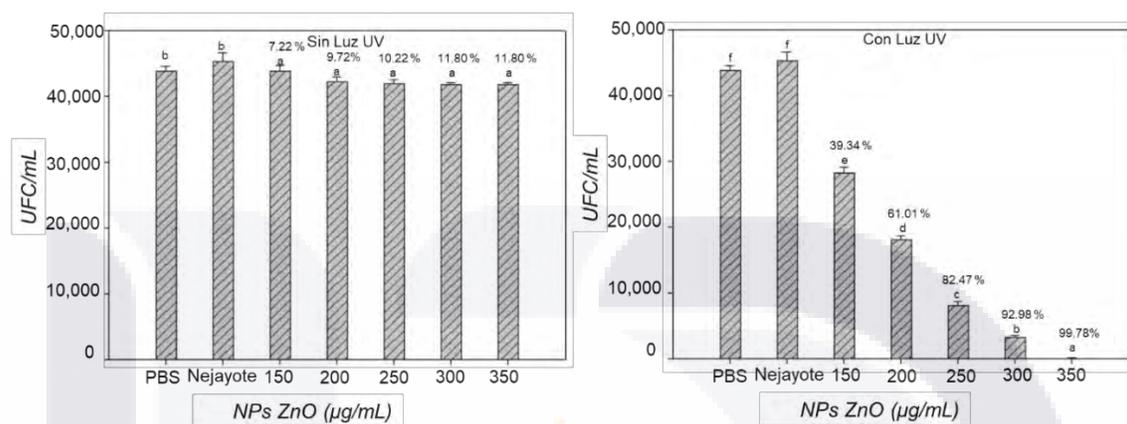


Figura 31. Actividad antibacteriana de las NPs ZnO contra *E. coli*. Las NPs ZnO evaluadas en oscuridad total (A) e irradiadas con luz UV (B) se evaluaron durante doce horas de interacción a una concentración de 1×10^5 células/mL. Los datos mostrados son el promedio según la prueba de Tukey ($p < 0,05$). Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas y letras iguales indican diferencias no significativas. La inhibición del crecimiento (%) se indica en la parte superior de las barras de cada tratamiento.

7.10.1. Mecanismo de acción NPs ZnO

Uno de los mecanismos de acción propuestos (Figura 32) donde las NPs ZnO ejercen su efecto antibacteriano involucra principalmente la generación de ROS, el daño generado a la membrana celular y la liberación de iones Zn^{2+} . Bajo condiciones de irradiación UV, las NPs actúan como fotocatalizadores (Asmat-Campos et al., 2024; Król et al., 2017), excitando los electrones desde la banda de valencia hacia la banda de conducción, lo que favorece la formación de radicales hidroxilo ($OH\cdot$), aniones superóxido (O_2^-) y peróxido de hidrógeno (H_2O_2). Las ROS interactúan con las proteínas y enzimas induciendo estrés oxidativo y dañando su integridad celular. Además, con el contacto directamente de las NPs ZnO en la superficie bacteriana puede provocar disrupción estructural (Mutukwa et al., 2024; Zhang et al., 2010) de la membrana externa.

Finalmente, la liberación gradual de Zn^{2+} contribuye a la desestabilización de procesos metabólicos, intensificando su efecto bactericida. Adicionalmente, la

presencia de compuestos orgánicos provenientes del nejayote; además de actuar como agentes reductores, pueden incrementar la generación de ROS (Asmat-Campos et al., 2024; El Faroudi et al., 2023). Todos los efectos actúan de forma sinérgica, obteniendo como resultado un alto porcentaje de inhibición bacteriana.

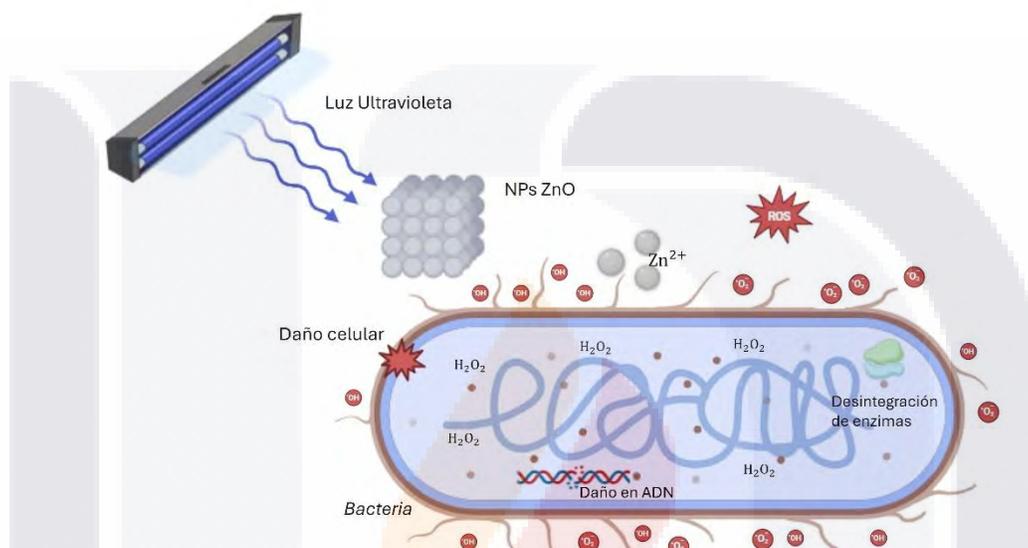


Figura 32. Mecanismo de acción de las NPs ZnO contra *E.coli*. Las NPs ZnO inducen daño celular mediante la generación de ROS, interacción con la membrana celular, liberación de iones Zn^{2+} , lo que conduce a estrés oxidativo, alteración de funciones y muerte celular.

7.11. Ensayos de Hemolisis de NPs ZnO

Las NPs ZnO sintetizadas a partir de nejayote fueron evaluadas en un rango relevante para su actividad antibacteriana, ya que es una referencia para evaluar su biocompatibilidad. Los ensayos hemolíticos se presentan en la Figura 33, tanto en condiciones oscuras como bajo irradiación UV. Se observa que, sin irradiación, el porcentaje de hemolisis fue inferior al 3% incluso a 350 $\mu\text{g/mL}$, con un valor máximo de 2.61 %, mientras que bajo la luz UV se observó un ligero aumento alcanzando 3.30 % a la misma concentración. Según la norma ISO 10993-4 (F04 Committee), las NP ZnO se comportaron como materiales levemente hemolíticos a partir de la

concentración a 350 $\mu\text{g/mL}$, lo que se asocia a una aceptable biocompatibilidad hemática, especialmente en concentraciones inferiores.

Asimismo, la diferencia observada al aplicar luz UV podría aplicarse por la activación de las propiedades fotocatalíticas del ZnO, que promueve la generación de ROS, (O_2^-), peróxidos y radicales hidroxilo ($\text{OH}\cdot$), los cuales inducen estrés oxidativo en las membranas celulares, incluyendo los eritrocitos (Stanić & Tanasković, 2020). Sin embargo, estos resultados no indican un incremento hemolítico significativo que comprometa la seguridad hemática de las NPs ZnO, lo cual puede asociarse al efecto protector de los compuestos orgánicos provenientes del nejayote usando en la síntesis, los cuales actúan como agentes estabilizantes y que quedan adsorbidos en la superficie de las NPs (Scherzad et al., 2017), que además pueden modificar las propiedades fisicoquímicas de la capa externa (Korolev et al., 2021). Este comportamiento es consistente con estudios previos que señalan que las NPz ZnO obtenidas a partir de extractos vegetales tienden a presentar menor toxicidad (Mutukwa et al., 2024). Por lo que, estos resultados indican que las NPs ZnO evaluadas poseen perfil de hemocompatibilidad incluso bajo radiación UV, lo cual es de relevancia para su aplicación en sistemas antibacterianos o recubrimientos biomédicos que pudieran estar expuestos a luz o radiación (Asmat-Campos et al., 2024), seleccionando cuidadosamente las concentraciones a evaluar.

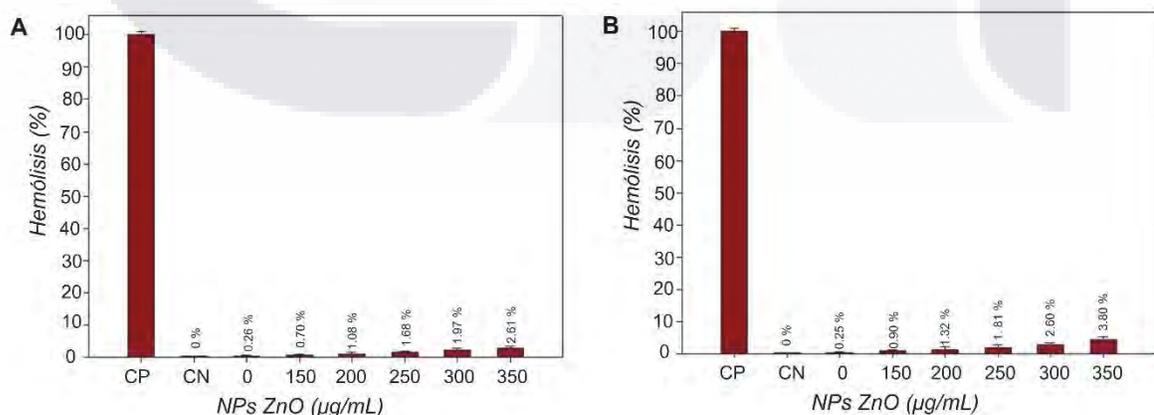


Figura 33. Porcentaje de hemólisis de las NPs ZnO evaluadas en (A) total oscuridad y (B) bajo irradiación UV. Los valores representan el promedio \pm desviación estándar de tres réplicas

independientes. $p < 0.05$ indica diferencias estadísticamente significativas. Las NPs evaluadas muestran porcentajes de hemólisis superior al 2 % a 350 $\mu\text{g/mL}$, lo que sugiere un comportamiento ligeramente hemolítico a esta concentración.

La hemólisis se produce como resultado de la alteración estructural de los eritrocitos, inducida por la generación de ROS las NPs ZnO e interacción directa con la membrana plasmática. Estas interacciones pueden alterar la integridad de la bicapa lipídica, provocando la liberación de hemoglobina. Además, el tamaño y morfología de las NPs son factores determinantes en su toxicidad hemática. Aunque, las NPs ZnO son ampliamente valoradas por su actividad antibacteriana y potencial en aplicaciones biomédicas, se ha reportado que en dosis elevadas pueden inducir hemólisis significativa (Zhang et al., 2010).

8. Conclusiones

La síntesis biogénica de nanopartículas de Ag y ZnO utilizando nejayote como agente reductor y estabilizante representa una alternativa eficiente, sustentable y de bajo costo. Los compuestos bioactivos (flavonoides, fenoles, ácido ferúlico) presentes en este efluente agroindustrial facilitaron la formación y estabilización de las nanopartículas confiriéndoles propiedades únicas. Asimismo, se encontró que el pH es el factor con mayor influencia en el proceso de síntesis de NPsAg, las fueron caracterizadas mediante diferentes técnicas analíticas, donde se confirmó la obtención éstas. El análisis de DRX demostró que las NPsAg presentan una estructura cúbica centrada en las caras, además de contener AgCl, mientras que TEM, HRTEM Y SAED evidenciaron los diferentes tamaños de partícula y morfologías, que pueden estar relacionados con las condiciones de síntesis, así como se confirmó la estructura de las Nps al encontrarse los anillos concéntricos en el patrón SAED, asociados a los planos característicos de la Ag.

AFM confirmó que el nejayote presenta una superficie rugosa debido a la presencia de compuestos insolubles que se encuentran en él. Las NpsAg demostraron una actividad antibacteriana significativa contra *E.coli*, evidenciando una inhibición

TESIS TESIS TESIS TESIS TESIS

bacteriana total a bajas concentraciones de NPsAg, así como una biocompatibilidad a las concentraciones evaluadas, al presentar un porcentaje de hemólisis <1 %.

De la misma manera, se evidenció la obtención de NPs ZnO mediante las diferentes técnicas de caracterización, donde se demostró que presenta estructura hexagonal tipo wurtzita con morfologías diversas influenciadas por la temperatura de calcinación de acuerdo con el análisis de SEM y TEM. HRTEM Y SAED confirmaron la naturaleza cristalina con estructura hexagonal., mientras que el análisis EDS permitió identificar los elementos prominentes (zinc y oxígeno) y sus porcentajes atómicos, así como la presencia de carbono que se asocia a la materia orgánica.

En el caso particular de las NPs ZnO el efecto antibacteriano se intensificó bajo irradiación UV, debido a la actividad fotocatalítica. Sin embargo, los ensayos de hemólisis revelaron que las NPs ZnO son eficaces como agentes antibacterianos, a las condiciones efectivas también podrían inducir daño a los eritrocitos, particularmente en presencia de luz UV. Este efecto hemolítico se relaciona con las interacciones fisicoquímicas de las NPs con la membrana celular, mediada por la generación de estrés oxidativo. El efecto más pronunciado en las NPs sintetizadas a partir de nejayote, se le asocia a la acción sinérgica entre la liberación de ROS y la presencia de grupos funcionales en la superficie evidenciados por FTIR, los cuales favorecen la desestabilización de la membrana bacteriana, por lo que las NPsAg presentaron mayor eficiencia antibacteriana en comparación con las sintetizadas químicamente.

Por lo que, este estudio demostró que el uso del nejayote como fuente biogénica para la síntesis de NPsAg y NPs ZnO no solo impulsa el aprovechamiento de residuos agroindustriales facilitando la obtención de productos de valor agregado y aplicaciones tecnológicas relevantes., sino que también permite obtener NMs con aplicaciones antibacterianas relevantes, considerando cuidadosamente las concentraciones empleadas, especialmente en aplicaciones biomédicas.

9. Glosario

Agente reductor: Sustancia química que cede electrones a otra durante una reacción de reducción, que convierte iones metálicos en átomos metálicos sólidos.

Arabinosilanos: Polisacáridos complejos que forman parte de la hemicelulosa en la pared celular de las plantas, especialmente en cereales como el trigo y el maíz.

Bottom-up: Enfoque para producir nanomateriales a partir de átomos o moléculas, promoviendo su crecimiento controlado.

Coloide: Sistema en el que una sustancia se dispersa de manera uniforme en otra sin llegar a disolverse completamente, formando una mezcla heterogénea.

Estabilizante: Sustancia que se añade a una mezcla o sistema para mantener su estabilidad física o química, evitando que sus componentes se degraden o aglomeren con el tiempo.

Fenoles: Compuestos orgánicos que contienen uno o más grupos hidroxilo (-OH) unidos a un anillo aromático. Éstos tienen propiedades antioxidantes.

Hemólisis: Proceso por el cual se rompen los glóbulos rojos y liberan hemoglobina que contienen en su interior hacia el plasma sanguíneo.

Nanomateriales: Material que tiene una dimensión externa entre 1-100 nm.

Nanopartícula: Material con tamaño dentro del rango de 1-100 nm, con propiedades físicas, químicas y biológicas.

Nejayote: Sustancia residual alcalina que se genera durante el proceso tradicional de nixtamalización del maíz.

Nucleación: Proceso por el cual se forman pequeñas agrupaciones iniciales de átomos, iones o moléculas que dan origen a una nueva fase o estructura.

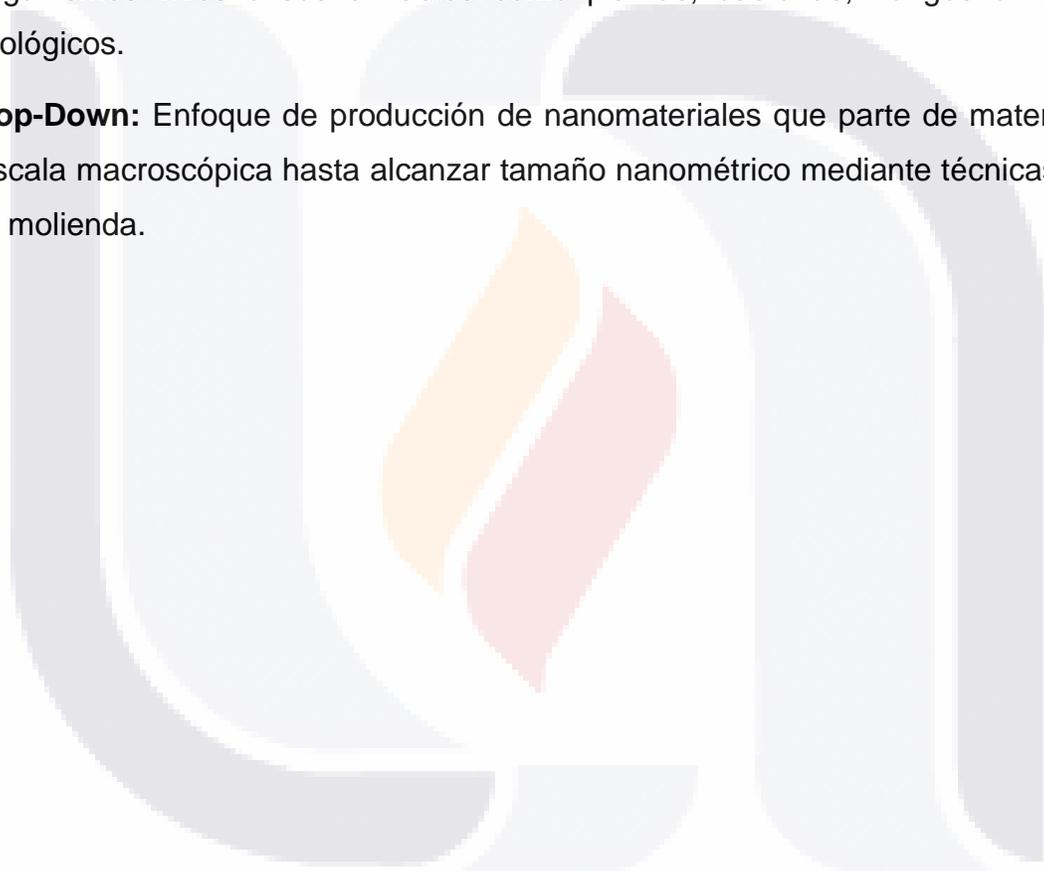
Precursor: Se refiere a una sustancia inicial o compuesta que participa en una reacción química para formar otro compuesto.

Residuo Agroindustrial: Material o desecho generado durante actividades de producción, procesamiento o transformación de productos agrícolas e industriales relacionados con la agricultura.

Semiconductor: Material con capacidad de conducir electricidad, la cual depende de la temperatura, luz, campos eléctricos o dopaje.

Síntesis Biogénica: Proceso de producción de nanopartículas utilizando organismos vivos o sus extractos como plantas, bacterias, hongos o residuos biológicos.

Top-Down: Enfoque de producción de nanomateriales que parte de materiales a escala macroscópica hasta alcanzar tamaño nanométrico mediante técnicas como la molienda.



10. Bibliografía

- Aarabi, A., Mizani, M., Honarvar, M., Faghihian, H., & Gerami, A. (2016). Extraction of ferulic acid from sugar beet pulp by alkaline hydrolysis and organic solvent methods. *Journal of Food Measurement and Characterization*, 10(1), 42-47. <https://doi.org/10.1007/s11694-015-9274-z>
- Abbasi, Z., Feizi, S., Taghipour, E., & Ghadam, P. (2017a). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of dried *Juglans regia* green husk and examination of its biological properties. *Green Processing and Synthesis*, 6(5), 477-485. <https://doi.org/10.1515/gps-2016-0108>
- Abbasi, Z., Feizi, S., Taghipour, E., & Ghadam, P. (2017b). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of dried *Juglans regia* green husk and examination of its biological properties. *Green Processing and Synthesis*, 6(5). <https://doi.org/10.1515/gps-2016-0108>
- Acosta-Estrada, B. A., Villela-Castrejón, J., Perez-Carrillo, E., Gómez-Sánchez, C. E., & Gutiérrez-Urbe, J. A. (2019). Effects of solid-state fungi fermentation on phenolic content, antioxidant properties and fiber composition of lime cooked maize by-product (nejayote). *Journal of Cereal Science*, 90, 102837. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2019.102837>
- Al Aboody, M. S. (2019). Silver/silver chloride (Ag/AgCl) nanoparticles synthesized from *Azadirachta indica* latex and its antibiofilm activity against fluconazole resistant *Candida tropicalis*. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 47(1), 2107-2113. <https://doi.org/10.1080/21691401.2019.1620257>
- Alam, M. (2021). Photocatalytic activity of biogenic zinc oxide nanoparticles: *In vitro* antimicrobial, biocompatibility, and molecular docking studies. *Nanotechnology Reviews*, 10(1), 1079-1091. <https://doi.org/10.1515/ntrev-2021-0069>
- Alharbi, N. S., Alsubhi, N. S., & Felimban, A. I. (2022a). Green synthesis of silver nanoparticles using medicinal plants: Characterization and application. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 15(3), 109-124. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2022.06.012>
- Alharbi, N. S., Alsubhi, N. S., & Felimban, A. I. (2022b). Green synthesis of silver nanoparticles using medicinal plants: Characterization and application. *Journal of Radiation Research and Applied Sciences*, 15(3), 109-124. <https://doi.org/10.1016/j.jrras.2022.06.012>
- Ali, B. (2020). *Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles from crust of Cucurbita Maxima L.*

- Ali, B. M. H. (2020). Eco-friendly synthesis of silver nanoparticles from crust of Cucurbita Maxima L. (red pumpkin). *EurAsian Journal of BioSciences*, 6.
- Al-Nazhan, S., & Al-Nasser, A. (2006). Viability of human periodontal ligament fibroblasts in tissue culture after exposure to different contact lens solutions. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 7(4), 37-44.
- Ameen, F., Alsamhary, K., Alabdullatif, J. A., & ALNadhari, S. (2021). A review on metal-based nanoparticles and their toxicity to beneficial soil bacteria and fungi. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 213, 112027. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112027>
- Antunes Ricardo, M., Romero Robles, L. E., & Carrizales Rabadán, F. (2021). Aislamiento De Ácido Ferúlico A Partir De Nejayote Usando Cromatografía De Partición Centrífuga (CPC). *Proceedings of the 19th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology: "Prospective and trends in technology and skills for sustainable social development" "Leveraging emerging technologies to construct the future"*. The 19th LACCEI International Multi-Conference for Engineering, Education, and Technology: "Prospective and trends in technology and skills for sustainable social development" "Leveraging emerging technologies to construct the future". <https://doi.org/10.18687/LACCEI2021.1.1.141>
- Ardeshiri, F., Salehi, S., Peyravi, M., Jahanshahi, M., Amiri, A., & Rad, A. S. (2018). PVDF membrane assisted by modified hydrophobic ZnO nanoparticle for membrane distillation. *Asia-Pacific Journal of Chemical Engineering*, 13(3), e2196. <https://doi.org/10.1002/apj.2196>
- Arias, A., Torres, E., García-Zamora, J. L., Pacheco-Aguirre, F. M., Feijoo, G., & Moreira, M. T. (2024). Environmental prospective of valorizing corn processing effluent to produce ferulic acid grafted chitosan polymer. *Journal of Environmental Management*, 360, 121210. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2024.121210>
- Ashokraja, C., Sakar, M., & Balakumar, S. (2017). A perspective on the hemolytic activity of chemical and green-synthesized silver and silver oxide nanoparticles. *Materials Research Express*, 4(10), 105406. <https://doi.org/10.1088/2053-1591/aa90f2>
- Asmat-Campos, D., Rojas-Jaimes, J., Simbrón De La Cruz, M., & Montes De Oca-Vásquez, G. (2024). Enhanced antimicrobial efficacy of biogenic ZnO nanoparticles through UV-B activation: A novel approach for textile garment. *Heliyon*, 10(3), e25580. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e25580>
- Aziz, N., Fatma, T., Varma, A., & Prasad, R. (2014). Biogenic Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Scenedesmus abundans* and Evaluation of Their

- Antibacterial Activity. *Journal of Nanoparticles*, 2014, 1-6.
<https://doi.org/10.1155/2014/689419>
- Azizi, A. (2020). Green Synthesis of Fe₃O₄ Nanoparticles and Its Application in Preparation of Fe₃O₄/Cellulose Magnetic Nanocomposite: A Suitable Proposal for Drug Delivery Systems. *Journal of Inorganic and Organometallic Polymers and Materials*, 30(9), 3552-3561. <https://doi.org/10.1007/s10904-020-01500-1>
- Bala, N., Saha, S., Chakraborty, M., Maiti, M., Das, S., Basu, R., & Nandy, P. (2015). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Hibiscus subdariffa leaf extract: Effect of temperature on synthesis, anti-bacterial activity and anti-diabetic activity. *RSC Advances*, 5(7), 4993-5003. <https://doi.org/10.1039/C4RA12784F>
- Balali-Dehkordi, S., Habibian-Dehkordi, S., Amini-Khoei, H., & Mohajerian, R. (2024). Ferulic acid via attenuation of oxidative stress and neuro-immune response utilizes antinociceptive effect in mouse model of formalin test. *IBRO Neuroscience Reports*, 16, 51-56. <https://doi.org/10.1016/j.ibneur.2023.12.001>
- Balashanmugam, P., Balakumaran, M. D., Murugan, R., Dhanapal, K., & Kalaichelvan, P. T. (2016). Phytogetic synthesis of silver nanoparticles, optimization and evaluation of in vitro antifungal activity against human and plant pathogens. *Microbiological Research*, 192, 52-64. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2016.06.004>
- Bao, X., Li, W., Jia, R., Meng, D., Zhang, H., & Xia, L. (2023). Molecular mechanism of ferulic acid and its derivatives in tumor progression. *Pharmacological Reports*, 75(4), 891-906. <https://doi.org/10.1007/s43440-023-00494-0>
- Biswal, A. K., & Misra, P. K. (2020). Biosynthesis and characterization of silver nanoparticles for prospective application in food packaging and biomedical fields. *Materials Chemistry and Physics*, 250, 123014. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2020.123014>
- Borges, A., Ferreira, C., Saavedra, M. J., & Simões, M. (2013). Antibacterial Activity and Mode of Action of Ferulic and Gallic Acids Against Pathogenic Bacteria. *Microbial Drug Resistance*, 19(4), 256-265. <https://doi.org/10.1089/mdr.2012.0244>
- Bouttier-Figueroa, D. C., Cortez-Valadez, M., Flores-Acosta, M., & Robles-Zepeda, R. E. (2024). Green Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles Using Plant Extracts and Their Antimicrobial Activity. *BioNanoScience*, 14(3), 3385-3400. <https://doi.org/10.1007/s12668-024-01471-4>

- Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. (2021). Silver Nanoparticles and Their Antibacterial Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 7202. <https://doi.org/10.3390/ijms22137202>
- Buitimea-Cantúa, N. E. (2023). *Effect of Storage Time on the Hydroxycinnamic Acids Profile, Cellular Antioxidant Activity, and Anti-Inflammatory Potential of Roasted MaizeBased Beverages Supplemented with Nejayote Solids from Different Maize Genotypes.*
- Buitimea-Cantúa, N. E., Antunes-Ricardo, M., Gutiérrez-Urbe, J. A., Del Refugio Rocha-Pizaña, M., De La Rosa-Millán, J., & Torres-Chávez, P. I. (2020). Protein-phenolic aggregates with anti-inflammatory activity recovered from maize nixtamalization wastewaters (nejayote). *LWT*, 134, 109881. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2020.109881>
- Castro-Muñoz, R., & Yáñez-Fernández, J. (2015a). Valorization of Nixtamalization wastewaters (Nejayote) by integrated membrane process. *Food and Bioproducts Processing*, 95, 7-18. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.03.006>
- Castro-Muñoz, R., & Yáñez-Fernández, J. (2015b). Valorization of Nixtamalization wastewaters (Nejayote) by integrated membrane process. *Food and Bioproducts Processing*, 95, 7-18. <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2015.03.006>
- Chahardoli, A., Qalekhani, F., Hajmomeni, P., Shokoohinia, Y., & Fattahi, A. (2025). Enhanced hemocompatibility, antimicrobial and anti-inflammatory properties of biomolecules stabilized AgNPs with cytotoxic effects on cancer cells. *Scientific Reports*, 15(1), 1186. <https://doi.org/10.1038/s41598-024-82349-z>
- Chandra, H., Kumari, P., Bontempi, E., & Yadav, S. (2020). Medicinal plants: Treasure trove for green synthesis of metallic nanoparticles and their biomedical applications. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 24, 101518. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101518>
- Che Mohamed Hussein, S. N., Mohamed Fuad, F. S., & Ismail, M. (2020). Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles for Oil Upgrading and Wax Deposition Control: Effect of Calcination Temperature. *Indonesian Journal of Chemistry*, 20(4), 746. <https://doi.org/10.22146/ijc.43317>
- Chen, L. Q., Fang, L., Ling, J., Ding, C. Z., Kang, B., & Huang, C. Z. (2015). Nanotoxicity of Silver Nanoparticles to Red Blood Cells: Size Dependent Adsorption, Uptake, and Hemolytic Activity. *Chemical Research in Toxicology*, 28(3), 501-509. <https://doi.org/10.1021/tx500479m>
- Chen, Y., He, Y., Ye, W., Sui, W., & Xiao, M. (2013). Effect of shaking time, ionic strength, temperature and pH value on desorption of Cr(III) adsorbed onto GMZ bentonite. *Transactions of Nonferrous Metals Society of China*, 23(11), 3482-3489. [https://doi.org/10.1016/S1003-6326\(13\)62892-7](https://doi.org/10.1016/S1003-6326(13)62892-7)

- Choukade, R., Jaiswal, A., & Kango, N. (2020). Characterization of biogenically synthesized silver nanoparticles for therapeutic applications and enzyme nanocomplex generation. *3 Biotech*, 10(11), 462. <https://doi.org/10.1007/s13205-020-02450-8>
- Consortio UNAM-TEC. (2025). *Agroinsumos derivados del nejayote*. <https://consorciounamtec.mx/vitrina-tecnologica-agroinsumos-derivados-del-nejayote/>
- D. Lade, B., & S. Shanware, A. (2020). Phytonanofabrication: Methodology and Factors Affecting Biosynthesis of Nanoparticles. En T. Shabatina & V. Bochenkov (Eds.), *Smart Nanosystems for Biomedicine, Optoelectronics and Catalysis*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.90918>
- Díaz-Montes, E., Castro-Muñoz, R., & Yáñez-Fernández, J. (2016). An overview of nejayote, a nixtamalization by product. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 8(2), 41-60. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2016.03.002>
- Doan Thi, T. U., Nguyen, T. T., Thi, Y. D., Ta Thi, K. H., Phan, B. T., & Pham, K. N. (2020). Green synthesis of ZnO nanoparticles using orange fruit peel extract for antibacterial activities. *RSC Advances*, 10(40), 23899-23907. <https://doi.org/10.1039/D0RA04926C>
- Dwivedi, A. D., & Gopal, K. (2010). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles using *Chenopodium album* leaf extract. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 369(1-3), 27-33. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2010.07.020>
- El Faroudi, L., Saadi, L., Barakat, A., Mansori, M., Abdelouahdi, K., & Solhy, A. (2023). Facile and Sustainable Synthesis of ZnO Nanoparticles: Effect of Gelling Agents on ZnO Shapes and Their Photocatalytic Performance. *ACS Omega*, 8(28), 24952-24963. <https://doi.org/10.1021/acsomega.3c01491>
- Escobar Morales, B., Lucio Garcia, M., Barbosa, R., & Morales Acosta, D. (2018a). *Synthesis and Characterization of NiO Nanoparticles using Manihot esculenta Aqueous Extracts* [Preprint]. MATERIALS SCIENCE. <https://doi.org/10.20944/preprints201811.0242.v1>
- Escobar Morales, B., Lucio Garcia, M., Barbosa, R., & Morales Acosta, D. (2018b). *Synthesis and Characterization of NiO Nanoparticles using Manihot esculenta Aqueous Extracts*. [https://doi.org/Green-synthesised silver nanoparticles: antibacterial activity and alternative mechanisms of action to combat multidrug-resistant bacterial pathogens: a systematic literature review](https://doi.org/Green-synthesised%20silver%20nanoparticles%3A%20antibacterial%20activity%20and%20alternative%20mechanisms%20of%20action%20to%20combat%20multidrug-resistant%20bacterial%20pathogens%3A%20a%20systematic%20literature%20review)
- Estrada-Flores, S. L. (s. f.). *Nanomateriales: Conceptos, aplicación en nanoterapia y regulaciones*.
- F04 Committee. (s. f.). *Practice for Assessment of Hemolytic Properties of Materials*. ASTM International. <https://doi.org/10.1520/F0756-17>

- Fafal, T., Taştan, P., Tüzün, B. S., Ozyazici, M., & Kivcak, B. (2017). Synthesis, characterization and studies on antioxidant activity of silver nanoparticles using *Asphodelus aestivus* Brot. Aerial part extract. *South African Journal of Botany*, *112*, 346-353. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2017.06.019>
- Fahim, M., Shahzaib, A., Nishat, N., Jahan, A., Bhat, T. A., & Inam, A. (2024). Green synthesis of silver nanoparticles: A comprehensive review of methods, influencing factors, and applications. *JCIS Open*, *16*, 100125. <https://doi.org/10.1016/j.jciso.2024.100125>
- Faisal, S., Jan, H., Shah, S. A., Shah, S., Khan, A., Akbar, M. T., Rizwan, M., Jan, F., Wajidullah, Akhtar, N., Khattak, A., & Syed, S. (2021). Green Synthesis of Zinc Oxide (ZnO) Nanoparticles Using Aqueous Fruit Extracts of *Myristica fragrans*: Their Characterizations and Biological and Environmental Applications. *ACS Omega*, *6*(14), 9709-9722. <https://doi.org/10.1021/acsomega.1c00310>
- Fakhari, S., Jamzad, M., & Kabiri Fard, H. (2019). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles: A comparison. *Green Chemistry Letters and Reviews*, *12*(1), 19-24. <https://doi.org/10.1080/17518253.2018.1547925>
- Garcidueñas-Piña, C., Medina-Ramírez, I. E., Guzmán, P., Rico-Martínez, R., Morales-Domínguez, J. F., & Rubio-Franchini, I. (2016). Evaluation of the Antimicrobial Activity of Nanostructured Materials of Titanium Dioxide Doped with Silver and/or Copper and Their Effects on *Arabidopsis thaliana*. *International Journal of Photoenergy*, *2016*, 1-14. <https://doi.org/10.1155/2016/8060847>
- Ghiuta, I., Croitoru, C., Kost, J., Wenkert, R., & Munteanu, D. (2021). Bacteria-Mediated Synthesis of Silver and Silver Chloride Nanoparticles and Their Antimicrobial Activity. *Applied Sciences*, *11*(7), 3134. <https://doi.org/10.3390/app11073134>
- Girma, A., Alamnie, G., Bekele, T., Mebratie, G., Mekuye, B., Abera, B., Workineh, D., Tabor, A., & Jufar, D. (2024). Green-synthesised silver nanoparticles: Antibacterial activity and alternative mechanisms of action to combat multidrug-resistant bacterial pathogens: a systematic literature review. *Green Chemistry Letters and Reviews*, *17*(1), 2412601. <https://doi.org/10.1080/17518253.2024.2412601>
- Gleiter, H. (s. f.). Nanostructured materials: basic concepts and microstructure p. *Nanostructured materials*, 29.
- Gómez-Garzón, M. (2018). Nanomateriales, Nanopartículas y Síntesis verde. *Revista Repertorio de Medicina y Cirugía*, *27*(2). <https://doi.org/10.31260/RepertMedCir.v27.n2.2018.191>

- Guijarro-Aldaco, A., Hernández-Montoya, V., Bonilla-Petriciolet, A., Montes-Morán, M. A., & Mendoza-Castillo, D. I. (2011). Improving the Adsorption of Heavy Metals from Water Using Commercial Carbons Modified with Egg Shell Wastes. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 50(15), 9354-9362. <https://doi.org/10.1021/ie2006627>
- Hadia, N. M. A., García-Granda, S., & García, J. R. (2014). Effect of the Temperature on Structural and Optical Properties of Zinc Oxide Nanoparticles. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 14(7), 5443-5448. <https://doi.org/10.1166/jnn.2014.8861>
- Hassan Basri, H., Talib, R. A., Sukor, R., Othman, S. H., & Ariffin, H. (2020). Effect of Synthesis Temperature on the Size of ZnO Nanoparticles Derived from Pineapple Peel Extract and Antibacterial Activity of ZnO–Starch Nanocomposite Films. *Nanomaterials*, 10(6), 1061. <https://doi.org/10.3390/nano10061061>
- Holzwarth, U., & Gibson, N. (2011). The Scherrer equation versus the «Debye-Scherrer equation». *Nature Nanotechnology*, 6(9), 534-534. <https://doi.org/10.1038/nnano.2011.145>
- Huo, Y., Han, Y. X., Singh, P., Kang, J. P., Pu, J. Y., Piao, C. H., & Yang, D. C. (2021). Antimicrobial, antioxidant, and anticancer potentials of AgCl nanoparticles biosynthesized by *Flavobacterium panacis*. *Applied Physics A*, 127(4), 227. <https://doi.org/10.1007/s00339-021-04386-z>
- Instituto Politécnico Nacional, Díaz-Montes, E., Castro-Muñoz, R., & Yáñez-Fernández, J. (2016). An overview of nejayote, a nixtamalization by product. *Ingeniería Agrícola y Biosistemas*, 8(2), 41-60. <https://doi.org/10.5154/r.inagbi.2016.03.002>
- Iqbal, J., Abbasi, B. A., Yaseen, T., Zahra, S. A., Shahbaz, A., Shah, S. A., Uddin, S., Ma, X., Raouf, B., Kanwal, S., Amin, W., Mahmood, T., El-Serehy, H. A., & Ahmad, P. (2021). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Elaeagnus angustifolia* L. leaf extracts and their multiple in vitro biological applications. *Scientific Reports*, 11(1), 20988. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-99839-z>
- Jalab, J., Abdelwahed, W., Kitaz, A., & Al-Kayali, R. (2021a). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Acacia cyanophylla* and its antibacterial activity. *Heliyon*, 7(9), e08033. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08033>
- Jalab, J., Abdelwahed, W., Kitaz, A., & Al-Kayali, R. (2021b). Green synthesis of silver nanoparticles using aqueous extract of *Acacia cyanophylla* and its antibacterial activity. *Heliyon*, 7(9), e08033. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08033>

- Jameel, M. S., Aziz, A. A., & Dheyab, M. A. (2020). Green synthesis: Proposed mechanism and factors influencing the synthesis of platinum nanoparticles. *Green Processing and Synthesis*, 9(1), 386-398. <https://doi.org/10.1515/gps-2020-0041>
- Jimenez-Chavez, A., Pedroza-Herrera, G., Betancourt-Reyes, I., De Vizcaya Ruiz, A., Masuoka-Ito, D., Zapien, J. A., & Medina-Ramirez, I. E. (2024). Aluminum enhances the oxidative damage of ZnO NMs in the human neuroblastoma SH-SY5Y cell line. *Discover Nano*, 19(1), 36. <https://doi.org/10.1186/s11671-024-03973-2>
- Joris, F., Manshian, B. B., Peynshaert, K., De Smedt, S. C., Braeckmans, K., & Soenen, S. J. (2013). Assessing nanoparticle toxicity in cell-based assays: Influence of cell culture parameters and optimized models for bridging the in vitro–in vivo gap. *Chemical Society Reviews*, 42(21), 8339. <https://doi.org/10.1039/c3cs60145e>
- Joshi, L. (2018). *Green Synthesis/Biosynthesis of Silver Nanoparticles by Using Orange Peel Extract*.
- Jyoti, M., Vijay, D., & Radha, S. (2013). *To Study the Role of Temperature and Sodium Hydroxide Concentration in the Synthesis of Zinc Oxide Nanoparticles*. 3(11).
- Karam, S. T., & Abdulrahman, A. F. (2022a). Green Synthesis and Characterization of ZnO Nanoparticles by Using Thyme Plant Leaf Extract. *Photonics*, 9(8), 594. <https://doi.org/10.3390/photonics9080594>
- Karam, S. T., & Abdulrahman, A. F. (2022b). Green Synthesis and Characterization of ZnO Nanoparticles by Using Thyme Plant Leaf Extract. *Photonics*, 9(8), 594. <https://doi.org/10.3390/photonics9080594>
- Khandel, P., & Shahi, S. K. (2018). Mycogenic nanoparticles and their bio-prospective applications: Current status and future challenges. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8(4), 369-391. <https://doi.org/10.1007/s40097-018-0285-2>
- Köhler, J. M. (2021). Challenges for Nanotechnology. *Encyclopedia*, 1(3), 618-631. <https://doi.org/10.3390/encyclopedia1030051>
- Korolev, D., Shumilo, M., Shulmeyster, G., Krutikov, A., Golovkin, A., Mishanin, A., Gorshkov, A., Spiridonova, A., Domorad, A., Krasichkov, A., & Galagudza, M. (2021). Hemolytic Activity, Cytotoxicity, and Antimicrobial Effects of Human Albumin- and Polysorbate-80-Coated Silver Nanoparticles. *Nanomaterials*, 11(6), 1484. <https://doi.org/10.3390/nano11061484>
- Król, A., Pomastowski, P., Rafińska, K., Railean-Plugaru, V., & Buszewski, B. (2017). Zinc oxide nanoparticles: Synthesis, antiseptic activity and toxicity

- mechanism. *Advances in Colloid and Interface Science*, 249, 37-52.
<https://doi.org/10.1016/j.cis.2017.07.033>
- Kubasheva, Z., Sprynskyy, M., Railean-Plugaru, V., Pomastowski, P., Ospanova, A., & Buszewski, B. (2020). Synthesis and Antibacterial Activity of (AgCl, Ag)NPs/Diatomite Hybrid Composite. *Materials*, 13(15), 3409.
<https://doi.org/10.3390/ma13153409>
- Kumar, N., & Pruthi, V. (2014). Potential applications of ferulic acid from natural sources. *Biotechnology Reports*, 4, 86-93.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2014.09.002>
- Kuppusamy, P., Yusoff, M. M., Maniam, G. P., & Govindan, N. (2016). Biosynthesis of metallic nanoparticles using plant derivatives and their new avenues in pharmacological applications – An updated report. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 24(4), 473-484. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2014.11.013>
- Küünal, S., Visnapuu, M., Volubujeva, O., Soares Rosario, M., Rauwel, P., & Rauwel, E. (2019). Optimisation of plant mediated synthesis of silver nanoparticles by common weed *Plantago major* and their antimicrobial properties. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 613(1), 012003. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/613/1/012003>
- Lamuela-Raventós, R. M. (2017). Folin-Ciocalteu method for the measurement of total phenolic content and antioxidant capacity. En R. Apak, E. Capanoglu, & F. Shahidi (Eds.), *Measurement of Antioxidant Activity & Capacity* (pp. 107-115). John Wiley & Sons, Ltd. <https://doi.org/10.1002/9781119135388.ch6>
- Leal-Cortez, M. J. (2023). *Evaluación del uso del nejayote en el cultivo de maíz azul criollo (Zea mays L.) en etapa inicial de crecimiento* [Benemérita Universidad Autónoma de Puebla]. <https://repositorioinstitucional.buap.mx/items/7750489a-4181-4e32-8f45-cc050dbe0c30>
- Liaqat, N., Jahan, N., Khalil-ur-Rahman, Anwar, T., & Qureshi, H. (2022). Green synthesized silver nanoparticles: Optimization, characterization, antimicrobial activity, and cytotoxicity study by hemolysis assay. *Frontiers in Chemistry*, 10, 952006. <https://doi.org/10.3389/fchem.2022.952006>
- Lin, D., Xiao, M., Zhao, J., Li, Z., Xing, B., Li, X., Kong, M., Li, L., Zhang, Q., Liu, Y., Chen, H., Qin, W., Wu, H., & Chen, S. (2016). An Overview of Plant Phenolic Compounds and Their Importance in Human Nutrition and Management of Type 2 Diabetes. *Molecules*, 21(10), 1374.
<https://doi.org/10.3390/molecules21101374>
- Loo, Y. Y., Rukayadi, Y., Nor-Khaizura, M.-A.-R., Kuan, C. H., Chieng, B. W., Nishibuchi, M., & Radu, S. (2018). In Vitro Antimicrobial Activity of Green Synthesized Silver Nanoparticles Against Selected Gram-negative

- Foodborne Pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 9, 1555. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01555>
- López-Mercado, J., González-Domínguez, M.-I., Reynoso-Marin, F.-J., Acosta, B., Smolentseva, E., & Nambo, A. (2023). *Green synthesis of TiO₂ nanoparticles for furfural production by photohydrolysis of unexplored residual biomass: The nejayote* [Preprint]. In Review. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2739045/v1>
- Loredo Cancino, M., Arriola Gil, Y. Y., Soto Regalado, E., & Dávila Guzmán, N. E. (2021). Carbonización hidrotermal del nejayote de maíz. *Química Hoy*, 10(4), 1-5. <https://doi.org/10.29105/qh10.4-265>
- Martínez-Bustos, F., Martínez-Flores, H. E., Sanmartín-Martínez, E., Sánchez-Sinencio, F., Chang, Y. K., Barrera-Arellano, D., & Rios, E. (2001). Effect of the components of maize on the quality of masa and tortillas during the traditional nixtamalisation process: Effect of maize components on masa and tortilla quality. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81(15), 1455-1462. <https://doi.org/10.1002/jsfa.963>
- Medina-Ramírez, I. E., Díaz De León Olmos, M. A., Muñoz Ortega, M. H., Zapien, J. A., Betancourt, I., & Santoyo-Elvira, N. (2020). Development and Assessment of Nano-Technologies for Cancer Treatment: Cytotoxicity and Hyperthermia Laboratory Studies. *Cancer Investigation*, 38(1), 61-84. <https://doi.org/10.1080/07357907.2019.1698593>
- Mittal, A. K., Chisti, Y., & Banerjee, U. C. (2013). Synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts. *Biotechnology Advances*, 31(2), 346-356. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2013.01.003>
- Miu, B. A., & Dinischiotu, A. (2022a). New Green Approaches in Nanoparticles Synthesis: An Overview. *Molecules*, 27(19), 6472. <https://doi.org/10.3390/molecules27196472>
- Miu, B. A., & Dinischiotu, A. (2022b). New Green Approaches in Nanoparticles Synthesis: An Overview. *Molecules*, 27(19), 6472. <https://doi.org/10.3390/molecules27196472>
- Mohamed, A., Atta, R. R., Kotp, A. A., Abo El-Ela, F. I., Abd El-Raheem, H., Farghali, A., Alkhalifah, D. H. M., Hozzein, W. N., & Mahmoud, R. (2023). Green synthesis and characterization of iron oxide nanoparticles for the removal of heavy metals (Cd²⁺ and Ni²⁺) from aqueous solutions with Antimicrobial Investigation. *Scientific Reports*, 13(1), 7227. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-31704-7>
- Mohan, A. C., & Renjanadevi, B. (2016). Preparation of Zinc Oxide Nanoparticles and its Characterization Using Scanning Electron Microscopy (SEM) and X-

- Ray Diffraction(XRD). *Procedia Technology*, 24, 761-766. <https://doi.org/10.1016/j.protcy.2016.05.078>
- Muthusamy, G., Praburaman, L., Thangasamy, S., Jong-Hoon, K., Seralathan, K.-K., Adithan, A., Balamurugan, R., & Kandasamy, S. (2015). Sunroot mediated synthesis and characterization of silver nanoparticles and evaluation of its antibacterial and rat splenocyte cytotoxic effects. *International Journal of Nanomedicine*, 1977. <https://doi.org/10.2147/IJN.S79106>
- Mutukwa, D., Taziwa, R. T., & Khotseng, L. (2024). A Review of Plant-Mediated ZnO Nanoparticles for Photodegradation and Antibacterial Applications. *Nanomaterials*, 14(14), 1182. <https://doi.org/10.3390/nano14141182>
- Naiel, B., Fawzy, M., Halmy, M. W. A., & Mahmoud, A. E. D. (2022). Green synthesis of zinc oxide nanoparticles using Sea Lavender (*Limonium pruinatum* L. Chaz.) extract: Characterization, evaluation of anti-skin cancer, antimicrobial and antioxidant potentials. *Scientific Reports*, 12(1), 20370. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-24805-2>
- Nguyen, D. T. C., Nguyen, N. T. T., Nguyen, T. T. T., & Tran, T. V. (2024). Recent advances in the biosynthesis of ZnO nanoparticles using floral waste extract for water treatment, agriculture and biomedical engineering. *Nanoscale Advances*, 6(16), 4047-4061. <https://doi.org/10.1039/D4NA00133H>
- Nie, P., Zhao, Y., & Xu, H. (2023). Synthesis, applications, toxicity and toxicity mechanisms of silver nanoparticles: A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 253, 114636. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.114636>
- Ou, S., & Kwok, K. (2004). Ferulic acid: Pharmaceutical functions, preparation and applications in foods. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84(11), 1261-1269. <https://doi.org/10.1002/jsfa.1873>
- Padmavathy, N., & Vijayaraghavan, R. (2008). Enhanced bioactivity of ZnO nanoparticles—An antimicrobial study. *Science and Technology of Advanced Materials*, 9(3), 035004. <https://doi.org/10.1088/1468-6996/9/3/035004>
- Panja, S., Chaudhuri, I., Khanra, K., & Bhattacharyya, N. (2016). Biological application of green silver nanoparticle synthesized from leaf extract of *Rauvolfia serpentina* Benth. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 6(7), 549-556. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(16\)61085-X](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(16)61085-X)
- Patra, J. K., & Baek, K.-H. (2014). Green Nanobiotechnology: Factors Affecting Synthesis and Characterization Techniques. *Journal of Nanomaterials*, 2014, 1-12. <https://doi.org/10.1155/2014/417305>
- Pernas-Pleite, C., Conejo-Martínez, A. M., Fernández Freire, P., Hazen, M. J., Marín, I., & Abad, J. P. (2023). Microalga Broths Synthesize Antibacterial and Non-Cytotoxic Silver Nanoparticles Showing Synergy with Antibiotics and

- Bacterial ROS Induction and Can Be Reused for Successive AgNP Batches. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(22), 16183. <https://doi.org/10.3390/ijms242216183>
- Potdar, C. K., Jain, H., & Dixit, R. B. (2022). Carica papaya Leaves Extract for Biosynthesis of Nanoparticles and Their Application. *Journal of Environmental Science and Pollution Research*, 8(2), 471-474. <https://doi.org/10.30799/jespr.220.22080201>
- Pourrahimi, A. M., Liu, D., Ström, V., Hedenqvist, M. S., Olsson, R. T., & Gedde, U. W. (2015). Heat treatment of ZnO nanoparticles: New methods to achieve high-purity nanoparticles for high-voltage applications. *Journal of Materials Chemistry A*, 3(33), 17190-17200. <https://doi.org/10.1039/C5TA03120F>
- Pulit-Prociak, J., & Banach, M. (2016). Silver nanoparticles – a material of the future...? *Open Chemistry*, 14(1), 76-91. <https://doi.org/10.1515/chem-2016-0005>
- Qayyum, S., Oves, M., & Khan, A. U. (2017a). Obliteration of bacterial growth and biofilm through ROS generation by facilely synthesized green silver nanoparticles. *PLOS ONE*, 12(8), e0181363. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181363>
- Qayyum, S., Oves, M., & Khan, A. U. (2017b). Obliteration of bacterial growth and biofilm through ROS generation by facilely synthesized green silver nanoparticles. *PLOS ONE*, 12(8), e0181363. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0181363>
- Quintana San José, M. J. (2015, abril). *Seguridad y salud en el trabajo con nanomateriales*. Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo (INSHT).
- Radulescu, D.-M., Surdu, V.-A., Ficai, A., Ficai, D., Grumezescu, A.-M., & Andronescu, E. (2023). Green Synthesis of Metal and Metal Oxide Nanoparticles: A Review of the Principles and Biomedical Applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(20), 15397. <https://doi.org/10.3390/ijms242015397>
- Rahman, S., Rahman, L., Khalil, A. T., Ali, N., Zia, D., Ali, M., & Shinwari, Z. K. (2019). Endophyte-mediated synthesis of silver nanoparticles and their biological applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 103(6), 2551-2569. <https://doi.org/10.1007/s00253-019-09661-x>
- Ramanathan, S., Gopinath, S. C. B., Arshad, M. K. M., Poopalan, P., & Perumal, V. (2021). En S. C. B. Gopinath & F. Gang (Eds.), *Nanoparticles in Analytical and Medical Devices* (pp. 31-43). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-821163-2.00002-9>

- Rao, B., & Tang, R.-C. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles with antibacterial activities using aqueous *Eriobotrya japonica* leaf extract. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 8(1), 015014. <https://doi.org/10.1088/2043-6254/aa5983>
- Rodríguez Ortiz, M. de J., Hoffmann Valencia, R., Amaya Parra, G., & Luque Morales, P. A. (2021). Síntesis verde de materiales nanoestructurados de ZnO en la degradación de contaminantes orgánicos por medio de la fotocatalisis heterogénea. *Revista de Ciencias Tecnológicas*, 4(4), 299-313. <https://doi.org/10.37636/recit.v44299313>
- Rodríguez-Serrano, C., Guzmán-Moreno, J., Ángeles-Chávez, C., Rodríguez-González, V., Ortega-Sigala, J. J., Ramírez-Santoyo, R. M., & Vidales-Rodríguez, L. E. (2020). Biosynthesis of silver nanoparticles by *Fusarium scirpi* and its potential as antimicrobial agent against uropathogenic *Escherichia coli* biofilms. *PLOS ONE*, 15(3), e0230275. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0230275>
- Rojas-Candelas, L. E., Diaz-Ramirez, M., Gonzalez-Vazquez, N., Rayas-Amor, A. A., Cruz-Monterrosa, R. G., Leon-Espinosa, E. B., & Villanueva-Carvajal, A. (2023). Physicochemical characterization and antioxidant capacity of popcorn nejayote. *Food Research*, 7(5), 12-20. [https://doi.org/10.26656/fr.2017.7\(5\).174](https://doi.org/10.26656/fr.2017.7(5).174)
- Román-Escobedo, L. C., Cristiani-Urbina, E., & Morales-Barrera, L. (2024). Bioremediation with an Alkali-Tolerant Yeast of Wastewater (Nejayote) Derived from the Nixtamalization of Maize. *Fermentation*, 10(4), 219. <https://doi.org/10.3390/fermentation10040219>
- Saha, B. C. (2017). Emerging biotechnologies for production of itaconic acid and its applications as a platform chemical. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 44(2), 303-315. <https://doi.org/10.1007/s10295-016-1878-8>
- Saleh, T. A. (2020). Nanomaterials: Classification, properties, and environmental toxicities. *Environmental Technology & Innovation*, 20, 101067. <https://doi.org/10.1016/j.eti.2020.101067>
- Santos-Espinoza, A., Gutiérrez-Miceli, F., & Ruíz-Valdiviezo, V. (2020). *El papel de los compuestos polifenólicos en la síntesis verde de nanopartículas metálicas*. 24(2), 12.
- Scherzad, A., Meyer, T., Kleinsasser, N., & Hackenberg, S. (2017). Molecular Mechanisms of Zinc Oxide Nanoparticle-Induced Genotoxicity. *Materials*, 10(12), 1427. <https://doi.org/10.3390/ma10121427>
- Serrano, M. N. T., & Juan, M. L. B. *Preparación de nanopartículas y su aplicación en procesos catalíticos*. 33.

- Shaalán, M., El-Mahdy, M., Theiner, S., Dinhopf, N., El-Matbouli, M., & Saleh, M. (2018). Silver nanoparticles: Their role as antibacterial agent against *Aeromonas salmonicida* subsp. *Salmonicida* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Research in Veterinary Science*, 119. <https://doi.org/10.1016/j.rvsc.2018.06.019>
- Shaalán, M., Saleh, M., El-Mahdy, M., & El-Matbouli, M. (2016). Recent progress in applications of nanoparticles in fish medicine: A review. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 12(3), 701-710. <https://doi.org/10.1016/j.nano.2015.11.005>
- Shah, M., Fawcett, D., Sharma, S., Tripathy, S., & Poinern, G. (2015). Green Synthesis of Metallic Nanoparticles via Biological Entities. *Materials*, 8(11), 7278-7308. <https://doi.org/10.3390/ma8115377>
- Sharma, N. K., Vishwakarma, J., Rai, S., Alomar, T. S., AlMasoud, N., & Bhattarai, A. (2022a). Green Route Synthesis and Characterization Techniques of Silver Nanoparticles and Their Biological Adeptness. *ACS Omega*, 7(31), 27004-27020. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01400>
- Sharma, N. K., Vishwakarma, J., Rai, S., Alomar, T. S., AlMasoud, N., & Bhattarai, A. (2022b). Green Route Synthesis and Characterization Techniques of Silver Nanoparticles and Their Biological Adeptness. *ACS Omega*, 7(31), 27004-27020. <https://doi.org/10.1021/acsomega.2c01400>
- Shnoudeh, A. J., Hamad, I., Abdo, R. W., Qadumii, L., Jaber, A. Y., Surchi, H. S., & Alkelany, S. Z. (2019). Synthesis, Characterization, and Applications of Metal Nanoparticles. En *Biomaterials and Bionanotechnology* (pp. 527-612). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814427-5.00015-9>
- Simić, A., Manojlović, D., Šegan, D., & Todorović, M. (2007). Electrochemical Behavior and Antioxidant and Prooxidant Activity of Natural Phenolics. *Molecules*, 12(10), 2327-2340. <https://doi.org/10.3390/12102327>
- Singh, A., Gautam, P. K., Verma, A., Singh, V., Shivapriya, P. M., Shivalkar, S., Sahoo, A. K., & Samanta, S. K. (2020). Green synthesis of metallic nanoparticles as effective alternatives to treat antibiotics resistant bacterial infections: A review. *Biotechnology Reports*, 25, e00427. <https://doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00427>
- Sirelkhatim, A., Mahmud, S., Seeni, A., Kaus, N. H. M., Ann, L. C., Bakhori, S. K. M., Hasan, H., & Mohamad, D. (2015). Review on Zinc Oxide Nanoparticles: Antibacterial Activity and Toxicity Mechanism. *Nano-Micro Letters*, 7(3), 219-242. <https://doi.org/10.1007/s40820-015-0040-x>
- Slavin, Y. N., Asnis, J., Häfeli, U. O., & Bach, H. (2017). Metal nanoparticles: Understanding the mechanisms behind antibacterial activity. *Journal of Nanobiotechnology*, 15(1), 65. <https://doi.org/10.1186/s12951-017-0308-z>

- Sneha, K., Sathishkumar, M., Kim, S., & Yun, Y.-S. (2010). Counter ions and temperature incorporated tailoring of biogenic gold nanoparticles. *Process Biochemistry*, 45(9), 1450-1458. <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2010.05.019>
- Srikhao, N., Ounkaew, A., Kasemsiri, P., Theerakulpisut, S., Okhawilai, M., & Hiziroglu, S. (2022a). Green synthesis of silver nanoparticles using the extract of spent coffee used for paper-based hydrogen peroxide sensing device. *Scientific Reports*, 12(1), 20099. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-22067-6>
- Srikhao, N., Ounkaew, A., Kasemsiri, P., Theerakulpisut, S., Okhawilai, M., & Hiziroglu, S. (2022b). Green synthesis of silver nanoparticles using the extract of spent coffee used for paper-based hydrogen peroxide sensing device. *Scientific Reports*, 12(1), 20099. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-22067-6>
- Stanić, V., & Tanasković, S. B. (2020). Antibacterial activity of metal oxide nanoparticles. En *Nanotoxicity* (pp. 241-274). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-819943-5.00011-7>
- Suresh, D., Nethravathi, P. C., Udayabhanu, Rajanaika, H., Nagabhushana, H., & Sharma, S. C. (2015). Green synthesis of multifunctional zinc oxide (ZnO) nanoparticles using Cassia fistula plant extract and their photodegradative, antioxidant and antibacterial activities. *Materials Science in Semiconductor Processing*, 31, 446-454. <https://doi.org/10.1016/j.mssp.2014.12.023>
- Swarnalatha, K., Rajkumar, K., Karthiga, P., & Shankar, T. (2017). Green synthesis of silver nanoparticles using Capsicum frutescence and its intensified activity against E. coli. *Resource-Efficient Technologies*, 3, 303-308. <https://doi.org/10.18799/24056529/2017/3/131>
- Tam, K. T., Thanh, D. V., Van, H. T., Mai, N. T. P., Hai, C. T., Phuong, T. M., Xuan, N. T., & Nguyen, V.-T. (2022). Green Synthesis of Silver Nanoparticles using Extract of *Disporopsis Longifolia* for Photocatalytic Degradation of Methylene Blue. *American Journal of Environmental Sciences*, 18(5), 116-124. <https://doi.org/10.3844/ajessp.2022.116.124>
- Tamayo, L. A., Zapata, P. A., Rabagliati, F. M., Azócar, M. I., Muñoz, L. A., Zhou, X., Thompson, G. E., & Páez, M. A. (2015). Antibacterial and non-cytotoxic effect of nanocomposites based in polyethylene and copper nanoparticles. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 26(3), 129. <https://doi.org/10.1007/s10856-015-5475-6>
- Tareq, M., Khadrawy, Y. A., Rageh, M. M., & Mohammed, H. S. (2022). Dose-dependent biological toxicity of green synthesized silver nanoparticles in rat's

- brain. *Scientific Reports*, 12(1), 22642. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-27171-1>
- Téllez, V., F. López, J., Aragón, A., & Zayas, T. (2016). Application of Nejayote as a Foliar and Edaphic Fertiliser to Native Blue Maize (<i>Zea mays</i> L.) Crops. *American Journal of Plant Sciences*, 07(15), 2221-2238. <https://doi.org/10.4236/ajps.2016.715196>
- Téllez-Pérez, V., López-Olguín, J. F., Centro de Agroecología. Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma Puebla, Aragón, A., Centro de Agroecología. Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma Puebla, Zayas-Pérez, M. T., & Centro de Química y Posgrado en Ciencias Ambientales, Instituto de Ciencias, Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. (2018). Lodos residuales de nejayote como sustratos para la germinación de semillas de maíz azul criollo. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 34(3), 395-404. <https://doi.org/10.20937/RICA.2018.34.03.03>
- Ticllacuri Perales, V. J. (2019). *Caracterización de nanopartículas de plata obtenidas mediante síntesis biogénica usando extracto de Coffea arabica procedente de Satipo*.
- Travan, A., Pelillo, C., Donati, I., Marsich, E., Benincasa, M., Scarpa, T., Semeraro, S., Turco, G., Gennaro, R., & Paoletti, S. (2009). Non-cytotoxic Silver Nanoparticle-Polysaccharide Nanocomposites with Antimicrobial Activity. *Biomacromolecules*, 10(6), 1429-1435. <https://doi.org/10.1021/bm900039x>
- Urnuksaikhán, E., Bold, B.-E., Gunbileg, A., Sukhbaatar, N., & Mishig-Ochir, T. (2021). Antibacterial activity and characteristics of silver nanoparticles biosynthesized from *Carduus crispus*. *Scientific Reports*, 11(1), 21047. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00520-2>
- Vacio-Muro, K. J., Lozano-Álvarez, J. A., Sánchez-González, M. N., Chávez Vela, N. A., Torres-Ramírez, E., & Jáuregui-Rincón, J. (2020). Remoción de contaminantes del nejayote con alginato y quitosano. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*. <https://doi.org/10.20937/RICA.53185>
- Valderrama Bravo, M. D. C., Cornejo Villegas, M. D. L. Á., Zambrano Zaragoza, M. D. L. L., Domínguez Hernández, M. E., Zepeda Bautista, R., & Oaxaca Luna, J. A. (2020). Physicochemical characterization of flours and rheological and textural changes of masa and tortillas obtained from maize fertilized with nejayote and ovine manure. *International Agrophysics*, 34(2), 241-252. <https://doi.org/10.31545/intagr/118411>
- Vanaja, M., Paulkumar, K., Baburaja, M., Rajeshkumar, S., Gnanajobitha, G., Malarkodi, C., Sivakavinesan, M., & Annadurai, G. (2014). Degradation of Methylene Blue Using Biologically Synthesized Silver Nanoparticles.

- Bioinorganic Chemistry and Applications*, 2014, 1-8.
<https://doi.org/10.1155/2014/742346>
- Vázquez-López, M., Jiménez-Ocampo, U. E., & Moreno-Andrade, I. (2023). Tratamiento anaerobio y valorización energética de las aguas residuales del proceso de nixtamalización del maíz: una revisión. *Revista AIDIS de Ingeniería y Ciencias Ambientales. Investigación, desarrollo y práctica*, 309-325. <https://doi.org/10.22201/iingen.0718378xe.2023.16.1.85041>
- Vijayaraghavan, K., & Nalini, S. P. K. (2010). Biotemplates in the green synthesis of silver nanoparticles. *Biotechnology Journal*, 5(10), 1098-1110. <https://doi.org/10.1002/biot.201000167>
- Wang, Y., Hou, Z., Guo, H., Shen, L., Wang, G., Cui, F., & Zhang, Q. (2013). Preparation of ZnO nanorods via aqueous solution process and their PL properties. *Materials Letters*, 91, 107-110. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2012.09.070>
- Zduńska, K., Dana, A., Kolodziejczak, A., & Rotsztein, H. (2018a). Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application. *Skin Pharmacology and Physiology*, 31(6), 332-336. <https://doi.org/10.1159/000491755>
- Zduńska, K., Dana, A., Kolodziejczak, A., & Rotsztein, H. (2018b). Antioxidant Properties of Ferulic Acid and Its Possible Application. *Skin Pharmacology and Physiology*, 31(6), 332-336. <https://doi.org/10.1159/000491755>
- Zhai, Y., Wang, T., Fu, Y., Yu, T., Ding, Y., & Nie, H. (2023). Ferulic Acid: A Review of Pharmacology, Toxicology, and Therapeutic Effects on Pulmonary Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(9), 8011. <https://doi.org/10.3390/ijms24098011>
- Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Daskalakis, N., Jeuken, L., Povey, M., O'Neill, A. J., & York, D. W. (2010). Mechanistic investigation into antibacterial behaviour of suspensions of ZnO nanoparticles against *E. coli*. *Journal of Nanoparticle Research*, 12(5), 1625-1636. <https://doi.org/10.1007/s11051-009-9711-1>
- Zheng, M., Liu, Y., Zhang, G., Yang, Z., Xu, W., & Chen, Q. (2024). The Antioxidant Properties, Metabolism, Application and Mechanism of Ferulic Acid in Medicine, Food, Cosmetics, Livestock and Poultry. *Antioxidants*, 13(7), 853. <https://doi.org/10.3390/antiox13070853>
- Zinc Oxide Nanoparticles Synthesis Methods and its Effect on Morphology: A Review. (2021). *Biointerface Research in Applied Chemistry*, 12(3), 4261-4292. <https://doi.org/10.33263/BRIAC123.42614292>

11. Apéndice

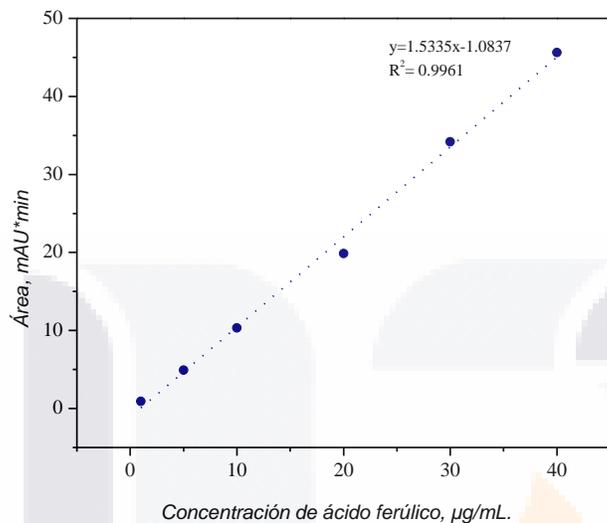


Figura S1. Curva de calibración de ácido ferúlico a partir de diferentes concentraciones.

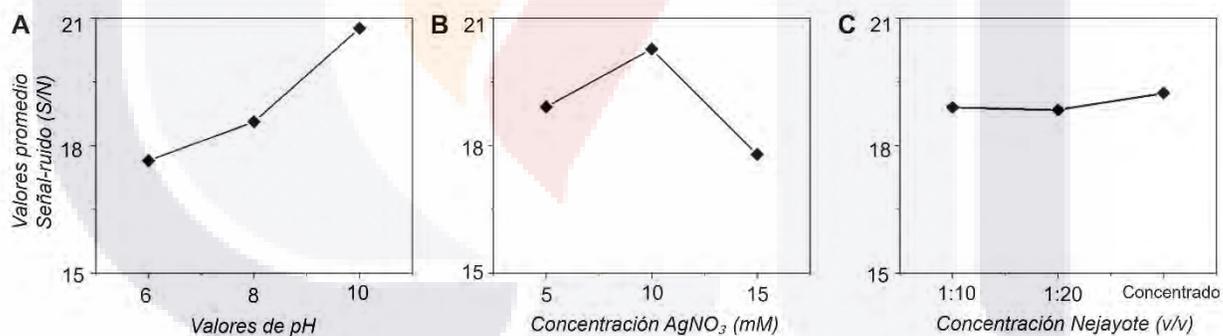


Figura S2. Análisis S/N para las variables involucradas en la síntesis de NPsAg de acuerdo con el diseño experimental de Taguchi L_9 , evaluando tres factores con tres niveles a) variación de pH, b) variación de concentración de $AgNO_3$, mM y c) variación de concentración de nejayote, v/v.

Tabla S1. Datos estadísticos para la curva de calibración del ácido ferúlico

Ecuación	Y=a*x+b		
R ²	0.9961		
		Valor	Desviación estándar
a	Pendiente	1.1535	0.81143
b	Intersección	-1.0837	0.03613

Tabla S2. Análisis de varianza del diseño experimental de Taguchi L₉ empleado para determinar la influencia de las diferentes variables sobre el proceso de síntesis de NPsAg.

Variable utilizada en el proceso de síntesis de nanopartículas	S/N para el nivel i del factor			Suma de cuadrados (SS)	Varianza
	1	2	3		
A: pH	17.64	18.56	20.76	15.38	7.69
B: Concentración AgNO ₃ , mM	18.90	20.27	17.69	9.26	4.63
C: Concentración nejayote	18.89	18.84	19.23	0.26	0.13