

**“SÍNTESIS QUÍMICA VERSUS SÍNTESIS VERDE: OBTENCIÓN DE
NANOPARTÍCULAS DE ZnO PARA EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD
PLAGUICIDA IN VITRO SOBRE EL FITÓFAGO “*Puto Barberi*” (cochinilla
harinosa) EN EL CULTIVO DE CAFÉ”**

**ANGIE DANIELA AGREDO GÓMEZ
JULIAN ANDRES MOLANO MOLANO**



**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE FÍSICA
INGENIERÍA FÍSICA
POPAYÁN
2022**

**“SÍNTESIS QUÍMICA VERSUS SÍNTESIS VERDE: OBTENCIÓN DE
NANOPARTÍCULAS DE ZnO PARA EVALUACIÓN DE ACTIVIDAD
PLAGUICIDA *IN VITRO* SOBRE EL FITÓFAGO “*Puto Barberi*” (cochinilla
harinosa) EN EL CULTIVO DE CAFÉ”**

**ANGIE DANIELA AGREDO GÓMEZ
JULIAN ANDRES MOLANO MOLANO**

Trabajo para optar al título de Ingenieros Físicos

Director

JORGE ENRIQUE RODRÍGUEZ PÁEZ

Co-directora

MELISSA CAROLINA PATIÑO PORTELA

**UNIVERSIDAD DEL CAUCA
FACULTAD DE CIENCIAS NATURALES, EXACTAS Y DE LA EDUCACIÓN
DEPARTAMENTO DE FÍSICA**

INGENIERÍA FÍSICA

POPAYÁN

2022

NOTA DE ACEPTACIÓN

Firma del director – Jorge Enrique Rodríguez Páez

Firma del Jurado – Jazmin Calvache Muñoz

Firma del Jurado – Yamid Arley Mera Velasco

Popayán, enero del 2023

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN	12
1. CAPÍTULO 1. CONTENIDO DEL TRABAJO.....	13
1.1. INTRODUCCIÓN.....	14
1.2. JUSTIFICACIÓN.....	16
1.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
1.4. OBJETIVOS.....	18
1.4.1. Objetivo general.....	18
1.4.2. Objetivos específicos.....	18
1.5. REFERENCIAS.....	18
2. CAPÍTULO 2. SÍNTESIS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC UTILIZANDO RUTAS QUÍMICA Y VERDE.....	20
2.1. LA RELEVANCIA DE LA NANOTECNOLOGÍA: USO DE LAS NANOPARTÍCULAS.....	21
2.2. ÓXIDO DE ZINC - ZnO: CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS..	22
2.3. USOS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ZnO.....	24
2.3.1. Efecto plaguicida de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO - NPs).....	26
2.4. OBTENCIÓN DEL ZnO.....	27
2.4.1. Métodos convencionales.....	28
2.4.2. Métodos químicos.....	28
2.4.3. Métodos por ruta verde.....	28
2.5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA LA SÍNTESIS DE LAS ZnO – NPs.....	29
2.5.1. Generalidades y procedimiento experimental del método de precipitación controlada.....	29
2.5.2. Procedimiento experimental.....	31
2.5.2.1. Síntesis química de ZnO.....	31
2.5.2.2. Síntesis verde de ZnO usando como solvente soluciones	

	acuosas de extracto de ají.....	33
2.6.	SEGUIMIENTO Y DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE SÍNTESIS DE LAS ZnO-NPs.....	35
2.6.1.	Análisis de las curvas de valoración potenciométrica.....	35
2.6.2.	Evaluación de las etapas de la síntesis verde usando espectroscopía IR.....	37
2.7.	CONCLUSIONES.....	40
2.8.	REFERENCIAS.....	41
3.	CAPÍTULO 3. CARACTERIZACIÓN DE LAS NPs DE ZnO SINTETIZADAS.....	47
3.1.	GENERALIDADES DE LOS MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN.....	48
3.1.1.	Análisis térmico diferencial y termogravimétrico (ATD/TG).....	48
3.1.2.	Espectroscopía infrarroja con transformada de Fourier (FTIR).....	49
3.1.3.	Espectroscopía Raman.....	50
3.1.4.	Espectroscopía ultravioleta (UV-VIS).....	50
3.1.5.	Difracción de rayos X (DRX).....	52
3.1.6.	Espectroscopía fotoelectrónica de rayos X (XPS).....	53
3.1.7.	Microscopía electrónica de transmisión (STEM-EDS).....	54
3.1.8.	Microscopía de barrido (MEB).....	55
3.1.9.	Área superficial específica (BET) y distribución de tamaño de poro (BJH).....	55
3.2.	RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LA CARACTERIZACIÓN DE LAS ZnO-NPs.....	56
3.2.1.	Análisis térmico diferencial y termogravimétrico (ATD/TG).....	56
3.2.2.	Grupos funcionales presentes en los materiales sintetizados.....	59

3.2.3.	Información química y estructural de los materiales sintetizados obtenida utilizando espectroscopía Raman.....	62
3.2.4.	Transiciones electrónicas en las NPs sintetizadas.....	67
3.2.5.	Difractogramas de rayos X de las NPs sintetizadas.....	72
3.2.6.	Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS).....	75
3.2.7.	Microscopía electrónica de transmisión (STEM-EDS).....	79
3.2.8.	Microscopía electrónica de barrido (MEB-EDS).....	83
3.2.9.	Área superficial específica (BET) y distribución de tamaño de poro (BJH).....	87
3.3.	CONCLUSIONES	89
3.4.	REFERENCIAS	91
4.	CAPÍTULO 4. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PLAGUICIDA DE LAS ZnO-NPs	97
4.1.	ASPECTOS GENERALES	98
4.1.1.	Nanopartículas usadas como agente plaguicida.....	98
4.1.2.	Características del fitófago <i>P. Barberi</i>	99
4.1.3.	Métodos convencionales para el tratamiento de la plaga <i>P. Barberi</i>	102
4.2.	EVALUACIÓN DE LAS ZnO - NPs COMO PLAGUICIDA: PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL	104
4.2.1.	Descripción del protocolo empleado.....	104
4.2.2.	Diseño experimental del bioensayo	107
4.3.	ANÁLISIS DE RESULTADOS	108
4.3.1.	Descripción cualitativa.....	108
4.3.2.	Análisis estadístico.....	115
4.4.	CONCLUSIONES	119
4.5.	REFERENCIAS	119
5.	CONCLUSIONES GENERALES	124
6.	TRABAJOS FUTUROS	125

LISTA DE FIGURAS

- Figura 2.1.** Representación de las estructuras cristalinas del ZnO.....23
- Figura 2.2.** Esquema que ilustra las diferentes etapas que ocurren durante el proceso de precipitación, entre la estructura ideal del líquido y la estructura ideal del sólido.....31
- Figura 2.3.** Esquema del método de precipitación controlada empleado como ruta química para sintetizar el ZnO.....32
- Figura 2.4.** Programa de calentamiento aplicado al sólido durante el proceso de síntesis química para obtener ZnO.....33
- Figura 2.5.** Esquema del método de síntesis por ruta verde empleado para obtener el ZnO.....35
- Figura 2.6.** Curvas de valoración potenciométrica correspondientes al sistema $\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}\cdot 2\text{H}_2\text{O} - \text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}$ registradas durante los procesos de: (a) síntesis química y (b) síntesis verde.....36
- Figura 2.7.** Espectros IR correspondientes a los sólidos obtenidos por síntesis verde de ZnO, utilizando diferentes concentraciones de extracto de ají (*capsicum chinense*) en medio acuoso: 5000, 10000, 15000, 20000 y 50000 ppm.....38
- Figura 2.8.** Seguimiento con espectroscopia IR de los grupos funcionales presentes en el sedimento obtenido del sistema sometido a procesos de lavado y redispersión, cada 24 h, usando un solvente acuoso que contenía 50000 ppm de ají.....40
- Figura 3.1.** Análisis térmico correspondiente a la muestra sintetizada por la ruta química empleada en el este trabajo: (a) análisis termogravimétrico y (b) análisis termo-diferencial.....57
- Figura 3.2.** Análisis térmico correspondiente a la muestra sintetizada por la ruta verde empleada en este trabajo: (a) análisis termogravimétrico (b) análisis termodiferencial.....58
- Figura 3.3.** Espectro IR de las ZnO-NPs sintetizadas por el método de precipitación controlada, ruta química, tratadas a 450 °C.....60
- Figura 3.4.** Espectros IR obtenido para el ZnO sintetizado por ruta verde, haciendo uso de extracto de ají, y el del ají puro.....61
- Figura 3.5.** Deconvolución de los espectros IR, en el rango entre 400 y 1000 cm^{-1} , correspondientes a sólidos sintetizados por: (a) precipitación controlada (ruta química) y (b) una ruta verde utilizando el extracto de ají a una concentración de 50000 ppm.....62

Figura 3.6. Espectro Raman correspondiente al ZnO sintetizado por el método de precipitación controlada (ruta química), tratado térmicamente a 450°C.....	64
Figura 3.7. Espectro Raman del sólido sintetizado por ruta verde, empleando extracto de ají.....	65
Figura 3.8. Espectros de absorción UV VIS de los sólidos sintetizados: (a) por una ruta química (MPC) y (b) de los nano biohíbridos con base en ZnO sintetizados por una ruta verde.....	68
Figura 3.9. Espectros de reflectancia difusa correspondientes a las muestras: (a) ZnO obtenido por ruta química y (b) nano biohíbridos con base en ZnO obtenidos por ruta verde.....	69
Figura 3.10. Curvas de $[F(R)hv]^2$ en función de hv para las muestras de: (a) ZnO obtenido por ruta química y (b) nano biohíbridos con base en ZnO obtenidos por ruta verde.....	71
Figura 3.11. Curvas utilizadas para determinar la Energía de Urbach de las muestras de: (a) ZnO obtenido por ruta química y (b) nano biohíbridos con base en ZnO obtenidos por ruta verde.....	72
Figura 3.12. Difractograma de rayos x del sólido de ZnO sintetizado por el método de precipitación controlada (ruta química).....	73
Figura 3.13. Difractograma de rayos x del sólido de los nanobiohíbridos con base en ZnO sintetizados por ruta verde.....	75
Figura 3.14. Espectros generales de XPS para los sólidos sintetizados por: (a) una ruta química (ZnO – NPs) y (b) una ruta verde (nano biohíbridos con base en ZnO).....	76
Figura 3.15. Deconvolución de señales que aparecen en el espectro general del ZnO, sintetizado por una ruta química, correspondientes al: (a) Zn 2p, (b) O 1s y (c) C 1s.....	77
Figura 3.16. Deconvolución de señales que aparecen en el espectro general de los nano biohíbridos con base en ZnO, sintetizados por una ruta verde, correspondientes al: (a) Zn 2p, (b) C 1s y (c) O 1s	78
Figura 3.17. Micrografía electrónica de transmisión (MET) de las ZnO -NPs obtenidas por una ruta química.....	80
Figura 3.18. Composición química elemental de las ZnO NPs, sintetizadas por una ruta química, utilizando un mapeo de los elementos de interés (Zn, O y C) y su espectro EDS, cuya composición se indica en la tabla.....	81

Figura 3.19. Micrografía electrónica de transmisión (MET) correspondiente a los nano biohíbridos con base en ZnO sintetizados por una ruta verde.....	82
Figura 3.20. Composición química elemental de los nano biohíbridos de ZnO, sintetizadas por una ruta verde, utilizando un mapeo de los elementos de interés (Zn, O y C) y su espectro EDS, cuya composición se indica en la tabla, considerando la presencia de otros elementos en la muestra.....	83
Figura 3.21. Micrografías obtenidas con MEB de la muestra ZnO sintetizada por ruta química, en aumentos de (a) 1600X, (b) 5000X, (c) 10000X y (d) 20000X.....	84
Figura 3.22. Obtención de tamaño promedio de partícula: (a) imagen obtenida al utilizar el procesamiento óptico digital de imágenes en ImageJ y (b) histograma de la distribución de tamaño de partículas, esféricas, presentes en la imagen.....	85
Figura 3.23. Micrografías obtenidas con MEB del sólido sintetizado por ruta verde, en aumentos de (a) 1600X, (b) 5000X, (c) 10000X y (d) 20000X.....	86
Figura 3.24. Isotermas de adsorción/desorción de nitrógeno de los sólidos: (a) ZnO-NPs y (b) nano biohíbridos con base en ZnO.....	100
Figura 4.1. Vista ventral (izquierda) y dorsal (derecha) de la hembra de cochinilla harinosa “ <i>P. barberi</i> ”.....	101
Figura 4.2. Clasificación taxonómica de <i>P. barberi</i>	105
Figura 4.3. Colonia de cochinillas <i>P. barberi</i> “in situ”.....	106
Figura 4.4. Montaje del diseño experimental.....	108
Figura 4.5. Esquema del bioensayo.....	108
Figura 4.6. Estados de afectación al día 22 de insectos <i>P. barberi</i> por controles (a) Positivo y (b) Negativo.....	109
Figura 4.7. Estados de afectación al día 22 de insectos <i>P. barberi</i> por tratamiento con ZnO – NPs [300 ppm].....	110
Figura 4.8. Estados de afectación al día 22 de insectos <i>P. barberi</i> por tratamiento con ZnO – NPs. (a) [1000 ppm] (b) [3000 ppm].....	110
Figura 4.9. Gráfica de seguimiento del efecto plaguicida de las ZnO – NPs.....	111
Figura 4.10. Gráfica de seguimiento del efecto plaguicida del agroquímico Pyrinex®.....	112
Figura 4.11. Gráfica de seguimiento del efecto plaguicida de los nanobiohíbridos	

con base de ZnO.113

Figura 4.12. Estados de afectación al día 22 de insectos *P. barberi* por tratamiento con nanobiohíbridos con base de ZnO (a) [300 ppm] (b) [1000 ppm] y (c) [3000 ppm].....114

Figura 4.13. Gráfico de barras para el número de muertes reportadas hasta la aspersión 4 y agrupadas de acuerdo a las diferentes concentraciones empleadas en los dos tipos de síntesis evaluadas.....116

Figura 4.14. Gráficos de dispersión para el número de muertes reportado durante cada aspersión y agrupados de acuerdo a las diferentes concentraciones utilizadas para cada tratamiento evaluado117

LISTA DE TABLAS

Tabla 2.1. Propiedades fisicoquímicas del óxido de zinc (ZnO).....24

Tabla 3.1. Modos vibracionales activos en Raman y sus procesos asociados correspondientes al ZnO sintetizado por una ruta química.....64

Tabla 3.2. Modos vibracionales activos en Raman y sus procesos asociados correspondientes al ZnO sintetizado por la ruta verde empleado en este trabajo....66

Tabla 3.3. Parámetros cristalográficos obtenidos para el sólido de ZnO, sintetizado por una ruta química, utilizando refinamiento Rietveld.....73

Tabla 3.4. Datos experimentales de los picos (101) y (100) utilizados para determinar el tamaño del cristalito y los valores obtenidos, correspondientes a la muestra de ZnO sintetizada en este trabajo por una ruta química.....74

Tabla 3.5. Porcentaje en peso de los elementos indicados al realizar el microanálisis químico para sólido de ZnO obtenido por ruta química.....85

Tabla 3.6. Porcentaje de peso de elementos en microanálisis químico para sólido obtenido por ruta verde.....86

Tabla 3.7. Datos experimentales de análisis de porosidad BJH para los sólidos obtenidos, mediante las diferentes rutas de síntesis (química y verde).....88

Tabla 4.1. Número total de muertes para cada aspersión agrupados de acuerdo a las concentraciones de cada tipo de tratamiento aplicado.....115

Tabla 4.2. Revisión de los supuestos de distribución normal y homogeneidad de varianzas.....116

AGRADECIMIENTOS

Inicialmente agradecer a Dios y a la vida, que iluminaron cada día nuestros pasos permitiéndonos culminar este escalafón académico. A mis padres, mi hermano y mi sobrino, por estar presente en los buenos y no tan buenos momentos, brindándome su ejemplo, amor, apoyo, y comprensión incondicional. A Julián, quien no solo ha sido mi gran compañero en este camino de la investigación sino también en la vida, un fiel amigo y confidente, a quien agradezco por sus enseñanzas y todo el amor brindado.

Angie Daniela Agredo Gómez

A Dios por permitirme conocer y terminar esta carrera; a mis padres, que con su amor, esfuerzo y palabras de aliento me mantuvieron con firmeza y tenacidad durante todos estos años. A mi hermano, por su compañía y los gratos momentos compartidos que siguen fortaleciendo nuestra hermandad. A Angie, por estar presente en mi vida acompañándome en todo momento, especialmente en los no tan buenos y por su gran dedicación durante esta investigación.

Julian Andres Molano Molano

A nuestros demás familiares y amigos, con quienes hemos compartido gratos momentos y que, con sus consejos, aprendizajes, oraciones y afecto, han contribuido en la obtención de este logro.

A nuestro director de trabajo de grado Jorge Enrique Rodríguez y co-directora Melissa Patiño Portela, quienes además de enriquecernos con su conocimiento para el desarrollo de esta investigación, han contribuido en nuestro crecimiento personal con sus experiencias y orientaciones.

Finalmente, pero no menos importante, toda nuestra gratitud a la Universidad del Cauca, en donde tuvimos el privilegio de formarnos como profesionales y como personas solidarias ante la sociedad.

RESUMEN

Según upra (Unidad de planificación rural agropecuaria), el cultivo de café representa uno de los sectores con mayor incidencia e importancia en la economía de Colombia, con 841.202 ha sembradas, que representa el 16% del área agrícola total; además, este cultivo se encuentra presente en más del 70% de los departamentos del país, brindando sustento a más de 540.000 familias colombianas (Cauca, 2022). Sin embargo, el cultivo está sujeto a ataques de insectos que pueden ocasionar daños considerables, perjudicando el desarrollo y producción de las plantas, uno de éstos, la cochinilla harinosa (*Puto barberi*). Para el control y protección ante este tipo de agentes, se hace uso de plaguicidas químicos, que aparte de su función trae consigo un amplio abanico de afectaciones, tanto al medio ambiente como a la salud del ser humano. Por lo anterior, el prevenir y contrarrestar este tipo de afectaciones se convierte en un desafío que involucra esfuerzos científicos y tecnológicos para diseñar, formular e implementar técnicas de bajo impacto ambiental.

Dicho esto, en el presente trabajo se obtuvieron dos sólidos, ZnO-NPs y nanobiohíbridos con base de ZnO, utilizando el método de precipitación controlada a través de dos rutas de síntesis: química y verde (empleando extracto de ají "*Capsicum chinense*") respectivamente, con la finalidad de evaluar su capacidad plaguicida *in vitro* sobre la plaga cochinilla harinosa incidente en el cultivo de café. Para determinar las características fisicoquímicas de los materiales, estos sólidos fueron sometidos a diferentes técnicas de caracterización como: termogravimetría, espectroscopía infrarroja, Raman, ultravioleta visible y fotoelectrónica de rayos X, difracción de Rayos X, microscopía electrónica de transmisión y de barrido, área superficial y porosidad; dando como resultado la obtención de materiales reactivos por sus valores de superficie específica, tamaño de partícula menor a 100 nm, con morfología tipo esferoidal y con notable presencia de las moléculas de interés, ZnO y biomoléculas de ají.

Por otro lado, en la evaluación de la capacidad plaguicida de los materiales sintetizados sobre la cochinilla harinosa, se consideraron tres concentraciones (300, 1000 y 3000 ppm), en donde se determinó una significativa acción plaguicida con alrededor de 50% de efectividad en la mortalidad de los individuos analizados.

Capítulo 1

CONTENIDO DEL TRABAJO

1.1. INTRODUCCIÓN

Los plaguicidas o pesticidas, son sustancias capaces de controlar la acción de enemigos biológicos, como los insectos, que están presentes en las diversas plantaciones de cultivos y que pueden llegar a generar una gran disminución en la producción del cultivo, condición que se ve reflejada en pérdidas económicas que, en algunos casos, pueden llegar a ser incalculables (CIPF, 2021). Se estima que un 40% del suministro mundial de alimentos se pierde debido a las plagas (CIPF, 2021). Los plaguicidas usados en la actualidad son obtenidos mediante procesos químicos o sintéticos que pueden afectar la salud del ser humano y el equilibrio medioambiental (Pérez, Ruiz, Schneider, Autino, & Romanelli, 2013). Por otro lado, el constante crecimiento de la población a nivel mundial, la demanda en la producción de alimentos es mayor y estos deben cumplir con las diferentes pruebas de calidad antes de llegar al consumidor final. Es por esto que se debe tener un adecuado control de las diversas causas que puedan afectar el crecimiento, desarrollo y producción de los cultivos, entre ellos el uso de los agroquímicos.

En la actualidad, en Colombia, una de las plantaciones con mayor influencia en el desarrollo económico del país es el cultivo del café, el cual puede experimentar diferentes problemáticas fitosanitarias que afecten su crecimiento, desarrollo y, por lo tanto, la producción de los cafetales (Cenicafé, 2022). Una de ellas es el ataque de la plaga denominada “cochinilla harinosa” (*Puto barberi*). La “cochinilla harinosa” es un insecto perteneciente a la familia Putoidae, que se localiza en las raíces de las plantas y es considerada como una de las especies que causa mayores daños ya que, se alimenta de la savia de los árboles ocasionando un debilitamiento general de los mismos; puede llegar hasta ocasionar la muerte de los árboles (Villegas, Benavides, Zabala, & Ramos, 2009), por esto es considerado como un factor determinante en la producción del cultivo.

El manejo íntegro recomendado, para prevenir la infesta del cultivo con esta plaga, se inicia en las etapas iniciales del mismo. Aun así, cuando en las etapas de crecimiento y producción del cultivo hay presencia de “cochinilla harinosa”, se encuentran en el mercado diversos plaguicidas sintéticos (Silex™, engeo,

verdadero, pyrinex, entre otros) que son usados con el objetivo de controlar o eliminar esta población y mantener en un buen estado el cultivo (Gil, Villegas, & Benavides, 2015). El uso de estas sustancias es cuestionado debido a los efectos nocivos y tóxicos que pueden generar. Es por ello que surge el interés de estudiar e implementar técnicas que conduzcan a la obtención de materiales que sirvan como controladores biológicos y que, además, aporten a la remediación ambiental y que no sean perjudiciales para los seres vivos (Rajmohan, Chandrasekaran, & Varjani, 2020). En la actualidad, la nanotecnología es considerada como una potencial alternativa para el sector agrícola ya que, como se ha observado, la aplicación de diversos materiales nanoparticulados, a ciertos cultivos, han mostrado que estas pueden actuar como nanopesticidas, nanofertilizantes, nanofungicidas, entre otras funcionalidades (Lira-Saldivar, Argüello, Villarreal, & Reyes, 2018). Es por esto que el presente trabajo de investigación busca evaluar las propiedades de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO – NPs) como agente plaguicida.

A continuación, se presenta, en un documento estructurado en cuatro capítulos, el desarrollo de esta investigación y los resultados más relevantes que fueron obtenidos. En este primer capítulo se indican la justificación, el planteamiento del problema y los objetivos, general y específicos, para ilustrar al lector sobre el interés de quienes realizaron este trabajo de investigación, en la temática central del proyecto, así como la estructura del mismo.

En un segundo capítulo, se hace una descripción general de las características fisicoquímicas del óxido de zinc y los usos más relevantes de las ZnO - NPs, así como de los procesos de síntesis más empleados para su obtención. Específicamente, se indican las condiciones de síntesis y las metodologías empleadas en la obtención del material de interés, ZnO – NPs, utilizando las rutas química y verde. Finalmente, se enuncian las conclusiones relevantes y más destacadas de las actividades realizadas en esta temática.

En el tercer capítulo, se indican las generalidades de los métodos de utilizados para caracterizar las ZnO – NPs sintetizadas, así como los resultados obtenidos al utilizar las técnicas: análisis térmicos (ATD/TG), espectroscopías infrarroja (FTIR) – Raman

y ultravioleta visible (UV-VIS), difracción de rayos X (DRX), microscopía electrónica STEM y MEB, junto a la espectroscopía de rayos x de energía dispersiva (EDS), espectroscopía XPS y análisis BET y BJH. Finalmente, se enuncian las principales conclusiones de la caracterización realizada a las muestras de interés.

Por último, en el cuarto capítulo, se evalúa la aplicación de las ZnO – NPs sintetizadas, por las dos rutas química y verde, como plaguicida. Para ello, se indica tanto la metodología usada para determinar la capacidad plaguicida de las nanopartículas, sobre la “cochinilla harinosa”, así como los resultados más relevantes de los ensayos realizados. Las principales conclusiones obtenidas, de la evaluación de esta funcionalidad de las ZnO – NPs, son enunciadas. Adicionalmente, se mencionan unas conclusiones generales del trabajo de investigación y se proponen futuros trabajos.

1.2. JUSTIFICACIÓN

La producción de sustancias químicas - sintéticas y la constante exposición del ser humano a estas, ha generado una afectación considerable tanto en el estado de salud del ser vivo, así como una contaminación masiva en el ambiente (OMS, 2017). Según el instituto nacional de salud, las sustancias químicas con mayor incidencia en los casos de intoxicación de personas son: los medicamentos (39,99%), las sustancias psicoactivas (20,89%) y los plaguicidas (20,19%) (Guerrero, Lizarazo, Vargas, & Majín, 2022). Por otro lado, en el sector agrícola, el uso desmedido de los plaguicidas ha originado diferentes problemáticas, entre las que se destacan: la resistencia de las plagas al uso de estas sustancias, la destrucción de la fauna benéfica y la generación de residuos químicos, los cuales han propiciado contaminación del agua, el aire y el suelo (Badii & Landeros, 2007).

Teniendo en cuenta los efectos negativos que ha generado el uso discriminado de estos plaguicidas, tanto en la salud de las personas como en el medio ambiente, la comunidad científica viene realizando investigaciones que permitan obtener materiales que posean potencial capacidad plaguicida; tal que su funcionalidad produzca poca o nula cantidad de residuos tóxicos, con una reducida incidencia en

la salud de los seres vivos y sobre el medio ambiente. Dentro de las investigaciones realizadas, la nanotecnología ha mostrado que se pueden estructurar rutas de obtención de materiales nanoparticulados con propiedades únicas y diversas aplicaciones, específicamente en el sector agrícola (Lira-Saldivar et al., 2018). Es por esto que, en el presente estudio planteado como un trabajo de grado modalidad investigación, se evaluó la capacidad antiplaguicida de las ZnO – NPs, sintetizadas por rutas química y verde, determinando su efecto sobre la plaga “cochinilla harinosa” (*Puto barberi*), presente en el cultivo de café.

1.3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la actualidad, es muy común utilizar productos que controlen la presencia de plagas que afectan a diversos cultivos, esto a pesar de que sus componentes tóxicos puedan propiciar daños tanto ambientales (impacto sobre la vida silvestre, polinizadores, peces, calidad de agua y suelo), como sociales (intoxicación de trabajadores del sector agrícola), y cuya afectación, normalmente, es irremediable (Nava Pérez, García Gutiérrez, Camacho Báez, & Vázquez Montoya, 2012). Es por esto que se hace necesario investigar otros compuestos que puedan cumplir con esta función, obtenerlos y evaluar su funcionalidad contra las plagas de interés, buscando que estos nuevos plaguicidas presenten reducidos o nulos efectos ambientales y sociales (Rajmohan et al., 2020). Una alternativa interesante es la obtención de materiales nanoparticulados, ya que estos difieren en características y propiedades, y por la tanto en su funcionalidad, de los materiales correspondientes con mayor tamaño o en “bulk” (Chen & Chiang, 2008).

Debido a lo anterior, en el presente trabajo de investigación, se estructuró, inicialmente, una metodología de síntesis verde, considerando los requerimientos que debe cumplir para que se pueda considerar de esta naturaleza, para obtener ZnO. Así mismo, se sintetizaron nanopartículas de ZnO, utilizando una metodología típica de ruta química, y se evaluaron los óxidos obtenidos para determinar su capacidad plaguicida *in vitro* y su eficiencia en el control de la plaga “cochinilla

harinosa” (*Puto barberi*), la cual afecta a una gran variedad de cultivos, incluido el café. Para ello se diseñó una metodología haciendo uso de unidades experimentales con individuos de cochinilla harinosa, que fueron asperjadas con soluciones acuosas, a diferentes concentraciones, de los óxidos obtenidos. Esto permitió determinar cuál de las dos metodologías de síntesis llevaba a la obtención de las ZnO – NPs con mayor efecto plaguicida y que diferencias, en su funcionalidad, presentaban debido a los diferentes métodos de síntesis empleados.

1.4. OBJETIVOS

1.4.1. Objetivo general

Evaluar el efecto de las condiciones de síntesis de las ZnO-NPs en su capacidad como plaguicida sobre el fitófago *Puto barberi*, presente en el cultivo de café.

1.4.2. Objetivos específicos

- Estructurar una ruta verde de síntesis para obtener nanopartículas, donde predomine el ZnO, de manera controlada y reproducible.
- Establecer las características fisicoquímicas y estructurales de las ZnO-NPs obtenidas por rutas química y verde.
- Determinar la capacidad como plaguicida de las ZnO-NPs obtenidas por síntesis química y síntesis verde sobre el fitófago *P. barberi*.

1.5. REFERENCIAS

Badii, M. H., & Landeros, J. (2007). Toxicología de Plaguicidas Plaguicidas que afectan a la salud humana y la sustentabilidad. *CULCyT//Toxicología de Plaguicidas*, (19), 21–34.

Cenicafé. (2022). Cultivemos Café. Retrieved from Manejo de enfermedades website:
https://www.cenicafe.org/es/index.php/cultivemos_cafe/manejo_de_enfermedades

- Chen, C., & Chiang, C. (2008). Preparation of cotton fibers with antibacterial silver nanoparticles. *Materials Letters*, 62(1), 3607–3609. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2008.04.008>
- CIPF, S. del. (2021). *Año Internacional de la Sanidad Vegetal 2020 - Informe Final*. <https://doi.org/https://doi.org/10.4060/cb7056es>
- Gil, Z., Villegas, C., & Benavides, P. (2015). Manejo integrado de las cochinillas de las raíces del café. *Avances Técnicos N° 459*, 8 pp.
- Guerrero, M. N. M., Lizarazo, K. M. C., Vargas, A. R., & Majín, L. J. D. (2022). Protocolo de Vigilancia de Intoxicaciones Agudas por Sustancias Químicas. *Instituto Nacional de Salud*, 5, 33.
- Lira-Saldivar, R. H., Argüello, B. M., Villarreal, G. D. los S., & Reyes, I. V. (2018). Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*, 28(2), 9–24. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1575>
- Nava Pérez, E., García Gutiérrez, C., Camacho Báez, J. R., & Vázquez Montoya, E. L. (2012). BIOPLAGUICIDAS: UNA OPCIÓN PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE PLAGAS. *Ra Ximhai*, 8(3), 17–29.
- OMS. (2017). *Herramienta De Evaluación De Riesgos Para La Salud Humana De La Oms: Peligros Químicos*. Retrieved from <https://apps.who.int/iris/handle/10665/255613>
- Pérez, M. E., Ruiz, D. M., Schneider, M., Autino, J. C., & Romanelli, G. (2013). La química verde como fuente de nuevos compuestos para el control de plagas agrícolas. *Ciencia En Desarrollo*, 4(2), 9. Retrieved from https://revistas.uptc.edu.co/index.php/ciencia_en_desarrollo/article/view/2642
- Rajmohan, K. S., Chandrasekaran, R., & Varjani, S. (2020). A Review on Occurrence of Pesticides in Environment and Current Technologies for Their Remediation and Management. *Indian Journal of Microbiology*, 60(2), 125–138. <https://doi.org/10.1007/s12088-019-00841-x>
- Villegas, C., Benavides, P., Zabala, G., & Ramos, A. A. (2009). Cochinillas harinosas asociadas a las raíces del café: descripción y biología. *Avances Técnicos N° 386. Cenicafé*, 8 pp.

Capítulo 2

SÍNTESIS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ÓXIDO DE ZINC UTILIZANDO RUTAS QUÍMICA Y VERDE

2.1. LA RELEVANCIA DE LA NANOTECNOLOGÍA: USO DE LAS NANOPARTÍCULAS

La idea central de la nanotecnología fue enunciada por primera vez en el año 1959 por el ganador del premio nobel de física Richard Phillips Feynman, quien en la conferencia de la Asociación Americana de Física del 29 de diciembre de ese año habló sobre el futuro de la investigación científica, proponiendo la manipulación de la materia a nivel atómico (Gutierrez, Meléndez, Liñan, & Lopez, 2015). Aunque esta idea no generó inicialmente motivación, por mucho tiempo, el constante desarrollo de la ciencia y la tecnología permitió que el marco conceptual de la nanotecnología se fuera consolidando como el diseño, caracterización, producción y aplicación de estructuras, dispositivos y sistemas mediante el control de la forma y tamaño, a niveles atómico, molecular y supramolecular en el rango de 1 a 100 nm (Mohan Bhagyaraj & Oluwafemi, 2018).

Gracias al aporte de ideas y propuestas procedentes de diferentes disciplinas, como la física, química, biología, ingeniería y la medicina, la nanotecnología ha experimentado una apreciable evolución a través de las últimas décadas, permitiendo la obtención de nanomateriales que poseen propiedades mejoradas o completamente nuevas, que los constituye en piezas útiles y fundamentales en la creación de nuevas tecnologías (Smith & Lyshevski, 2016). Estos nanomateriales se clasifican en función del número de las dimensiones a escala nanométrica que posean, siendo las nanopartículas (materiales 0D porque todas sus dimensiones presentan confinamiento cuántico), materiales con todas sus dimensiones en esta escala. Existen materiales que presentan dos de sus dimensiones en escala nanométrica (materiales 1D porque dos de sus dimensiones presentan confinamiento cuántico), donde se incluyen los nanohilos y nanotubos. Finalmente, se tienen los materiales con una de sus dimensiones a esta escala (materiales 2D porque los electrones se pueden mover libremente en dos de sus dimensiones), como es el caso de los nanomateriales con forma de lámina o las películas delgadas (Staff, 2015).

Aunque los desarrollos tecnológicos, utilizando estos nanomateriales, se ha dado en las últimas décadas, en especial, las nanopartículas han existido desde siglos anteriores, alcanzando moderados avances en materia de estudio (Lira & Oliver, 2017). Por sus propiedades y características, las nanopartículas han sido utilizadas y se vienen utilizando en diferentes áreas de investigación como en la industria textil, electrónica, biomedicina, cuidado de la salud, energías renovables, medio ambiente, sector industrial, sector agrícola, entre otras (Stark, Stoessel, Wohlleben, & Hafner, 2015). Dentro de algunas de las aplicaciones más relevantes de las nanopartículas, en estos campos de investigación, se encuentran la remoción del fenol presente en las aguas residuales procedentes de las industrias textiles, pinturas, productos farmacéuticos y agroquímicos, principalmente (Lu & Astruc, 2018). Para ello se han utilizado nanopartículas de óxido de zinc (ZnO – NPs), las cuales adsorbieron en su superficie las moléculas de fenol, logrando una reducción de hasta el 70% de este contaminante (Colonia & Valentin, 2020). En el sector de la biomedicina, se han reportado diversos desarrollos de la nanotecnología en la búsqueda de materiales útiles para la detección de enfermedades, el diseño e implementación de fármacos e implantes para la sustitución de partes óseas (Ramos, Cruz, Tovani, & Ciancaglini, 2017). En el campo de la agricultura, la aplicación de nanopartículas de metales como Cu, Zn, Fe y Ag, han propiciado efectos favorables en las plantas, considerando su uso como nanosensores, nanopesticidas, nanofertilizantes y en el mejoramiento genético de plantas (Lira-Saldivar, Argüello, Villarreal, & Reyes, 2018). Además, un potencial uso de estas nanopartículas contempla su incorporación en los empaques empleados como recubrimientos de alimentos en poscosecha.

2.2. ÓXIDO DE ZINC – (ZnO): CARACTERÍSTICAS FISICOQUÍMICAS.

El óxido de zinc (ZnO) es un compuesto inorgánico, insoluble en soluciones acuosas (agua) pero soluble en ácidos y bases diluidas, no es tóxico y está formado por elementos del grupo-II^b ($_{30}\text{Zn}$) y del grupo-VI ($_{8}\text{O}$). En la corteza terrestre se encuentra en forma natural como la zincita aunque la mayor parte del óxido de zinc, que se utiliza comercialmente, se produce de manera sintética (Liedekerke, 2006).

Las estructuras cristalinas que presenta el ZnO son de los tipos: wurtzita, blenda de zinc y sal de roca (figura 2.1), aunque la fase cristalina con mayor estabilidad termodinámica, a condiciones ambientales, es la tipo wurtzita; la blenda de zinc se obtiene cuando se hace crecer el ZnO en sustratos cúbicos y la estructura sal de roca se obtiene a altas presiones (Morkoç & Özgür, 2009).

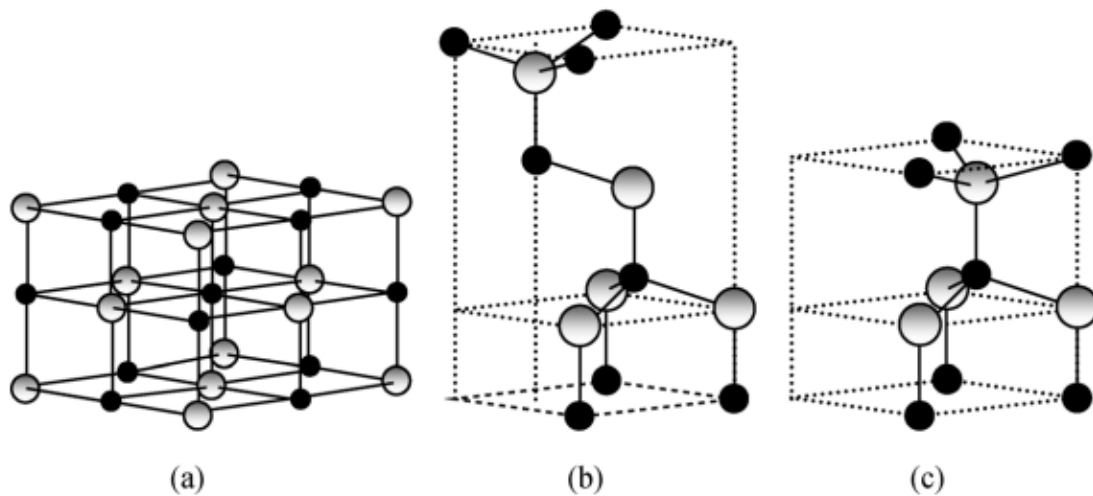


Figura 2.1. Representación de las estructuras cristalinas del ZnO (a) sal de roca, (b) blenda de zinc y (c) wurtzita. Las esferas grises representan al Zn y las negras al O. **Fuente:** (Reboredo, 2010).

El ZnO en su forma de wurtzita presenta una estructura hexagonal, con valores de los parámetros de $a = 0,3296$ y $c = 0,5206$ nm. Este óxido es un semiconductor de banda ancha con una energía de banda prohibida (“band gap”) de 3,3 eV, a temperatura ambiente. La amplia banda prohibida, la gran energía de enlace excitónica (60 meV) y diferentes propiedades y características únicas y especiales han hecho que el ZnO sea importante tanto para aplicaciones científicas como industriales (Sabir, Arshad, & Chaudhari, 2014). Es por esto que es un material de interés para la nanotecnología, ya que los materiales nanoestructurados de ZnO podrían propiciar importantes posibilidades técnicas en áreas como la nanofotónica, nanoelectrónica y nano-biotecnología, entre otras (Yuan, Wang, Cai, Wang, & Zhou, 2013). En la tabla 2.1 se indican las propiedades fisicoquímicas más relevantes del ZnO.

Tabla 2.1. Propiedades fisicoquímicas del óxido de zinc (ZnO) (AHP Materials, 2011).

Propiedades	
Fórmula molecular	ZnO
Masa molar	81,408 <i>g/mol</i>
Apariencia	Blanco sólido
Olor	Inodoro
Densidad	5,606 <i>g/cm³</i>
Punto de fusión	1975 °C
Punto de ebullición	2360 °C
Solubilidad en agua	0,16 <i>mg/100 ml</i> (30 °C)
Ancho de banda	3,3 eV
Índice de refracción (nD)	2,0041

2.3. USOS DE LAS NANOPARTÍCULAS DE ZnO

Las propiedades fisicoquímicas y biológicas del óxido de zinc, han permitido que se utilice en una gran variedad de áreas, entre ellas:

- En la industria del caucho, donde no solo se utiliza como el elemento que activa los aceleradores orgánicos en el proceso de vulcanización, sino también, como el que favorece la resistencia a la flexión y al agrietamiento por el sol. Además, brinda refuerzo contra la abrasión y proporciona una disminución en la absorción de agua, permitiendo la producción de un material más duradero (Verdeja, García Coque, & Huerta Nosti, 2017).
- En la industria tecnológica, se emplea en la fabricación de transductores acústicos, sensores de gases, varistores, electrodos transparentes, entre otros componentes electrónicos (Hernandez, Mendoza Villeda, & Martínez Ayala, 2020).
- En los productos cosméticos, concretamente en la fabricación de cremas solares, es utilizado por sus propiedades ópticas, entre ellas amplia gama de

índices de refracción y alta transparencia, lo que lo hacen muy útil para la fabricación de filtros UV (Osmond & Mccall, 2010).

- En la industria de la pintura se utiliza gran cantidad de este compuesto como aditivo antimicrobiano para evitar tanto el bio-deterioro de la pintura como los problemas de salud en las personas y en los animales domésticos. Estas pinturas se aplican, principalmente, en cocinas, baños y hospitales (Aquino, 2016).
- Además de las aplicaciones indicadas anteriormente, el ZnO se usa como material: abrasivo, adhesivo, en el asfalto, en agentes blanqueadores, cementos, cerámica, en resina, revestimientos, en textiles, en el tratamiento de aguas residuales, entre otros (Sharma, Shukla, Sharma, & Kumar, 2020; Verdeja et al., 2017).

Las propiedades que posee este material en “bulk”, se intensifican y surgen unas nuevas, cuando las partículas del ZnO tienen un tamaño nanométrico (Chen & Chiang, 2008). Estas nanopartículas presentan una alta relación área superficial – volumen, condición que les propicia propiedades físicas y químicas únicas (Chen & Chiang, 2008). Esto las hace útiles en diferentes campos de la industria como por ejemplo, en la fabricación de películas para envasado de alimentos, con el objetivo de mejorar las propiedades termomecánicas, de barrera UV y antibacteriales del empaque (Ejaz, Arfat, Mulla, & Ahmed, 2017).

Reportes recientes indican el potencial uso de las ZnO-NPs en el sector agrícola como promotoras del crecimiento de las plantas, así como nanofertilizantes y antimicrobiales de las mismas (Sebestea et al., 2021). Específicamente, el efecto promotor que tiene el zinc podría estar relacionado con su actividad, como precursor, en la síntesis de las auxinas que promueven la división celular; también, se debería considerar su influencia en la reactividad del ácido indolacético, que es el fotoestimulante hormonal (Méndez Argüello et al., 2016).

Otros estudios concluyeron que las ZnO-NPs podrían contribuir a la remediación medio ambiental (Vazquez duhalt, 2015), específicamente a la remoción del herbicida glifosato de las fuentes de agua (Rodríguez Páez, Ochoa Muñoz, &

Rodríguez Páez, 2018). De acuerdo a la literatura, se evidencia que la manipulación del glifosato, así como de otros herbicidas por parte de la población campesina, es insegura (Cortina et al., 2017). Esto puede ocasionar que al absorberlos gastrointestinal, mucocutánea e inhalatoriamente, generen diversos problemas de salubridad en la sociedad (Cortina et al., 2017).

En el campo de la biomedicina, estas ZnO-NPs han sido utilizadas para realizar tratamientos anticancerígenos, empleando la metodología de hipertermia magnética. Ésta consiste en elevar la temperatura de las células cancerosas utilizando nanopartículas magnéticas que se ubican en las cercanías del tejido canceroso para realizar el tratamiento de manera localizado (Jasso, Cortés, Sánchez, Reyes, & de León, 2016).

2.3.1. Efecto plaguicida de las nanopartículas de óxido de zinc (ZnO - NPs)

Como se ha venido indicando, la nanotecnología es una nueva herramienta para la agricultura moderna, esto debido a la posibilidad de generar productos como nanofertilizantes y nanoplaguicidas, entre otros. Estudios realizados sugieren el uso de las ZnO-NPs para el control de plagas, esto debido a que se consideran más seguras en comparación a los insecticidas sintéticos. Una de las plagas que ha sido posible controlar con ZnO-NPs es el escarabajo rojo de la harina (*Tribolium castaneum*), responsable de disminuir la cantidad y calidad de los cultivos de cereales y sus derivados. Según (Salem & Hamzah, 2015), la mortalidad acumulada de *T. Castaneum* aumentó gradualmente al incrementar el periodo de exposición, tal que la tasa de mortalidad más alta alcanzada fue de $34,66 \pm 0,33$ y $69,66 \pm 0,33$ individuos, después de 6 y 15 días respectivamente, para los tratados con ZnO-NPs, a una concentración de 2 g/kg. De manera similar, (Wazid et al., 2018) realizó un estudio para determinar la capacidad plaguicida de las ZnO-NPs, sintetizadas usando extracto de hoja de espinaca, sobre la plaga *Callosobruchus analis* (Coleoptera: Chrysomelidae) - escarabajo de pulso. Esta plaga afecta gravemente los cultivos de legumbres tanto en el campo como cuando se almacena. En el bioensayo, realizado a diferentes concentraciones, los investigadores observaron

que al aumentar la concentración de las NPs y los días después del tratamiento, la mortalidad aumentó siendo 1500 ppm la concentración que ocasiono la mayor mortalidad: 40, 76,66, 83,33, y 93,33 % a los días 1, 3, 5 y 7, respectivamente. Otra investigación realizada por (Guti et al., 2021) de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, en Coahuila México; reportó porcentajes de mortalidad considerables al aplicar diferentes concentraciones de ZnO-NPs a la plaga (*Bactericera cockerelli*) presente, principalmente, en los cultivos de tomate y papa; esta plaga es responsable de las enfermedades conocidas como “punta morada o mancha permanente de la papa” y “permanente del tomate”.

Adicionalmente, otros estudios reiteran la eficiencia de estas NPs en el tratamiento de otros tipos de plagas. Por ejemplo, (Ishwarya et al., 2018) sintetizaron ZnO-NPs utilizando extracto de alga (*Ulva lactuca*), las cuales se utilizaron para evaluar su actividad insecticida sobre *Aedes aegypti*, comúnmente conocido como el mosquito del dengue. En otro trabajo, se evaluó la capacidad plaguicida de las ZnO - NPs sobre la mosca blanca (*Trialeurodes vaporariorum*) que ataca plantas hortícolas y ornamentales (Khooshe-Bast, Sahebzadeh, Ghaffari-Moghaddam, & Mirshekar, 2016). Específicamente, cuando se habla de mejoras de los plaguicidas, el trabajo de (Jameel et al., 2020) registra el caso del “Tiametoxam”, insecticida sistémico que se fusionó con ZnO-NPs para determinar su efecto plaguicida en el gusano de algodón (*Spodoptera litura*)

2.4. OBTENCIÓN DEL ZnO.

La producción del óxido de zinc se realiza a partir de diferentes procesos, industrialmente a alta temperatura (pirometalúrgicos), los cuales permiten obtener productos con ciertas propiedades y que hacen que el ZnO sea un material útil en diversas aplicaciones.

2.4.1. Métodos convencionales

De manera convencional es posible producir el óxido de zinc por métodos como: el proceso directo, o también llamado “proceso americano”, en el que se usa como materia prima, minerales de zinc. Estos minerales son reducidos mediante calor,

adicionando carbón, para generar vapor de zinc el cual se acumula en una cámara de combustión para ser oxidado al contacto con aire frío; el óxido obtenido presenta baja pureza debido a la baja pureza de la materia prima (Moezzi, McDonagh, & Cortie, 2012). Por otro lado está el proceso indirecto, o también llamado “proceso francés”, que fue desarrollado alrededor del año 1844 debido a la demanda del ZnO para diferentes áreas industriales. Este proceso consiste en el calentamiento del zinc metálico, en un crisol sellado, hasta llegar al punto de fundición de 420°C y posteriormente hervir a 907 °C. El vapor de zinc es transportado a través de un ducto hasta una cámara que contiene una atmósfera en donde ocurre una reacción de oxidación y se produce un polvo blanco. El producto es un óxido de zinc aglomerado, con un tamaño de ~ 0,1 um, que posteriormente es recolectado. (Moezzi et al., 2012).

2.4.2. Métodos químicos

Dada la importancia tecnológica del ZnO, se ha generado un interés particular en utilizar diferentes métodos de síntesis con el fin de obtener un material con características fisicoquímicas específicas, de manera controlada y reproducible. Dentro de los procesos de obtención del óxido, se pueden destacar los métodos: Sol-gel, complejo polimérico (Pechini), solvotermal e hidrotermal, precipitación controlada y química verde, entre otros (Jamkhande, Ghule, Bamer, & Kalaskar, 2019). En general, estos se realizan, principalmente, en fase líquida haciendo uso de una solución precursora y un agente precipitante. En este trabajo se utilizó el método de precipitación controlada (Rodriguez Páez, Moure, Durán, & Fernandez, 1998) el cual se describirá más adelante.

2.4.3. Métodos por ruta verde

Considerando la magnitud de los efectos medio ambientales negativos que se generan por la liberación de residuos, provenientes de procesos químicos, al agua, aire, suelo y al entorno en general, dada su toxicidad y gran capacidad de persistir en los organismos alcanzándose niveles elevados de contaminación y elevada acumulación, se ha venido implementando una metodología de trabajo denominada **Química verde**. Según la Agencia de Protección Ambiental de Estados Unidos

(EPA), la química verde involucra el “uso de la química para la prevención de la contaminación, y el diseño de productos químicos y procesos benéficos para el ambiente”, evitando el uso desproporcionado de materiales tóxicos y replanteando procesos químicos que puedan llegar a atentar contra la salud del ser humano y el medio ambiente; estas acciones son reguladas mediante un protocolo que establece 12 principios propuestos por Paul J. Anastas y John Warner en 1998, los cuales garantizan el cumplimiento de los objetivos de dicha metodología (Reyes-Sánchez, 2012).

Es por ello que se busca obtener ZnO - NPs empleando procesos con bajo impacto ambiental, teniendo en cuenta las condiciones básicas para que un proceso sea considerado dentro de la “química verde”. Dentro de estas condiciones se destacan, por ejemplo, la reducción o eliminación de sustancias tóxicas para el ser humano y el medio ambiente; minimizar el gasto energético durante el proceso a realizar y hacer un uso adecuado de las materias primas, prevaleciendo aquellas que sean renovables (Li, 2016).

De acuerdo a lo anterior, en este trabajo se evaluaron procesos que involucraban reducción del gasto energético, tratamientos térmicos a baja temperatura, así como la disminución del uso de sustancias tóxicas, empleando el agua como solvente y el ají habanero - *Capsicum chinense* para propiciar un ambiente reductor que favorezca la transformación del precursor de zinc a óxido de zinc. Además, es necesario considerar que a este componente biológico se le atribuyen propiedades antibacterianas, antifúngicas y anti plaguicida, entre otras; siendo esta última de interés para el presente proyecto (Claros Cuadrado, Pinillos, Tito, Mirones, & Gamarra Mendoza, 2019).

2.5. PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL PARA OBTENER LAS ZnO - NPs

2.5.1. Generalidades y procedimiento experimental del método de precipitación controlada.

Tal como lo indica su nombre, el método de precipitación controlada (MPC) permite obtener partículas con una morfología, tamaño, aglomeración y pureza predeterminada. El proceso de síntesis se controla a través de la naturaleza y concentración del precursor, el registro de la variación del pH de la solución al adicionar el precipitante (valoración potenciométrica) y tiempo de envejecimiento del sistema, entre otros parámetros de síntesis (Rodríguez-Paez, 2001).

El método de precipitación controlada (MPC) consta de diferentes etapas, iniciando con la disolución – disociación del precursor del catión de interés y la producción de compuestos mononucleares por la acción del agua (Rodríguez-Paez, 2001). Para favorecer la disociación del precursor y propiciar la presencia de sus componentes fundamentales (átomos, iones o moléculas) en el solvente, antes de agregar el precursor se le adiciona un ácido. Luego, se forman especies polinucleares debido a la adición del agente precipitante, una base, que suministra los grupos hidroxilo – OH correspondientes para propiciar reacciones de hidrólisis y condensación. Estas especies polinucleares, al unirse, conforman los “embriones” de la fase sólida que, al alcanzar un tamaño crítico e irreversible, dan origen a los núcleos, los cuales ya presentarían en su interior una cierta estructura de los átomos, amorfa o cristalina interna; y las características de una unidad coloidal (potencial zeta y doble capa eléctrica) a su alrededor. El crecimiento de estos núcleos llevaría a la conformación de las partículas primarias y la aglomeración o agregación de estas últimas a la formación de las partículas secundarias. Durante el proceso de envejecimiento del sistema, se favorece la formación de estructuras secundarias a través, principalmente, del proceso de “Ostwald Ripening”, lo que ocasiona la conformación de grupos de partículas de diferentes tamaños en el sistema. Todas estas etapas se encuentran ilustradas en el esquema de la figura 2.2, donde se idealizan las estructuras del líquido, al inicio del proceso, y del sólido al final del mismo.

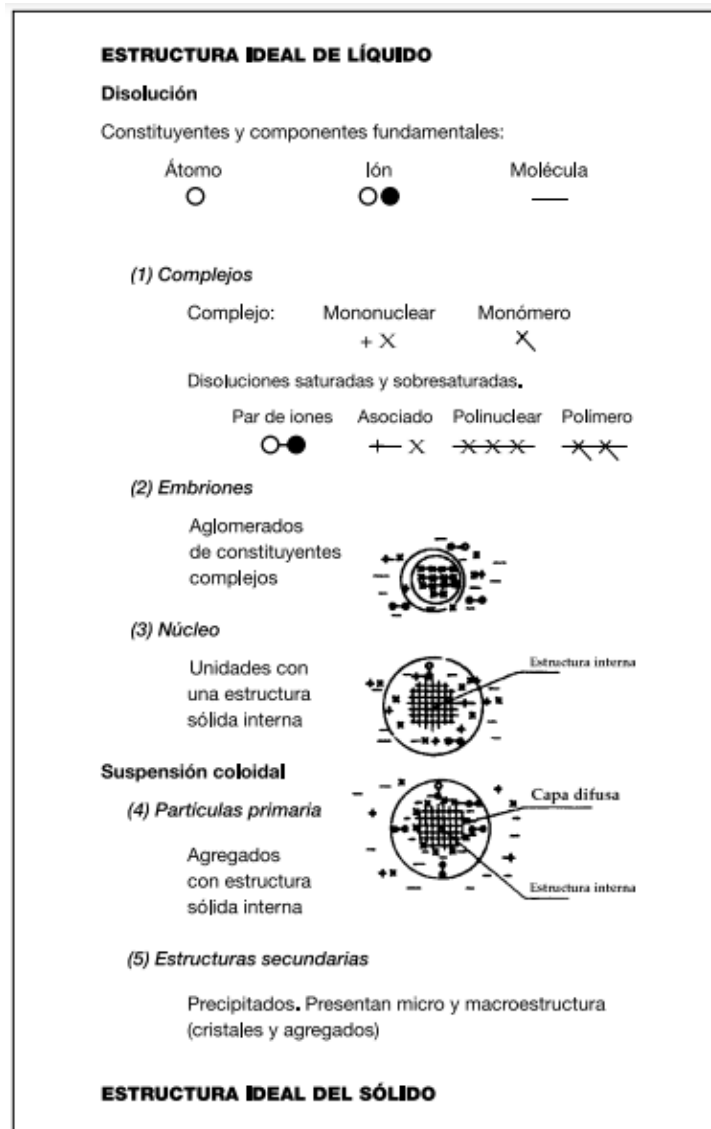


Figura 2.2. Esquema que ilustra las diferentes etapas que ocurren durante el proceso de precipitación, entre la estructura ideal del líquido y la estructura ideal del sólido. **Fuente:** (Rodríguez-Paez, 2001).

2.5.2. Procedimiento experimental.

2.5.2.1. Síntesis química de ZnO

La síntesis de ZnO-NPs se realizó por el método de precipitación controlada. Inicialmente, en un beaker con capacidad de 1000 ml se agregaron 600 ml del solvente (agua desionizada), agua que fue posteriormente acidulada con ácido

nítrico (HNO₃ Merck al 65%), empleando una pipeta pasteur, hasta alcanzar un pH aproximado de 1; la variación de este parámetro se midió con el pH Stirrer 728. Esta condición ácida del solvente debe favorecer la disolución y disociación del precursor de zinc. El compuesto que se utilizó como precursor del catión zinc fue el acetato de zinc dihidrato ((CH₃COO)₂Zn*2H₂O - Merck) y la cantidad requerida para obtener 10 g de ZnO como producto se determinó mediante la siguiente relación:

$$10 \text{ g ZnO} * \frac{1 \text{ mol ZnO}}{81,38 \text{ g ZnO}} * \frac{1 \text{ mol precursor}}{1 \text{ mol ZnO}} * \frac{219,53 \text{ g precursor}}{1 \text{ mol precursor}} = 26,976 \text{ g precursor}$$

Esta cantidad de precursor se midió en una balanza analítica Ohaus AR2140 y se adicionó lentamente al agua acidulada. Se esperó un tiempo de aproximadamente 10 minutos para que se estabilizara el sistema (adquiriera un pH de ~ 4,24), manteniendolo en constante agitación. Lograda esta condición, de manera continua y regulada se agregaron a la suspensión dos gotas, cada ~15 segundos (0,140 ± 0,010 ml), de hidróxido de amonio (NH₄OH - Merck), el cual se utilizo como agente precipitante. Despues de adicionar un total de ~46 ml de la base, se alcanzo el pH de saturación del sistema, aproximadamente de 9. Luego se seco la suspensión, volatilizandoo el solvente, colocándola en una plancha de calentamiento Fisher Scientific, a una temperatura de 90°C en agitación constante (340 rpm). El producto sólido resultante, se maceró en un mortero de ágata hasta obtener un polvo fino, el cual se sometió a un tratamiento térmico a 450°C, durante 90 minutos, en un horno mufla (Terrígeno D8). En las figuras 2.3 y 2.4 se ilustra el proceso realizado y el programa del tratamiento térmico utilizado:

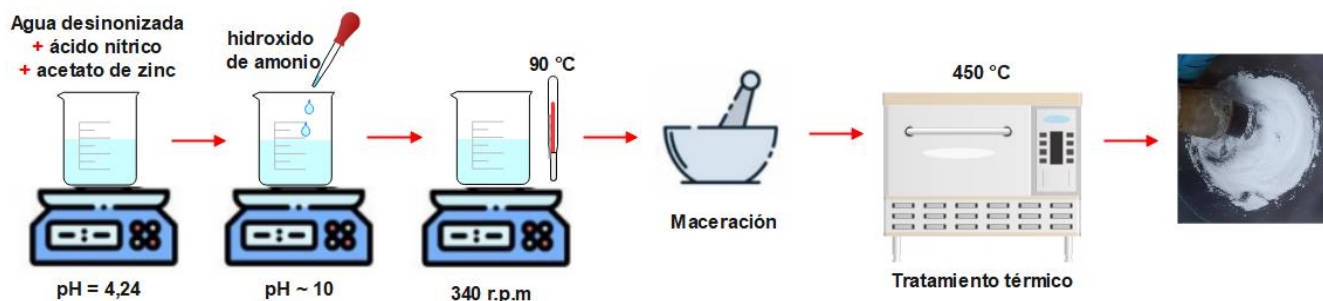


Figura 2.3. Esquema del método de precipitación controlada empleado como ruta química para sintetizar el ZnO. **Fuente:** Propia.

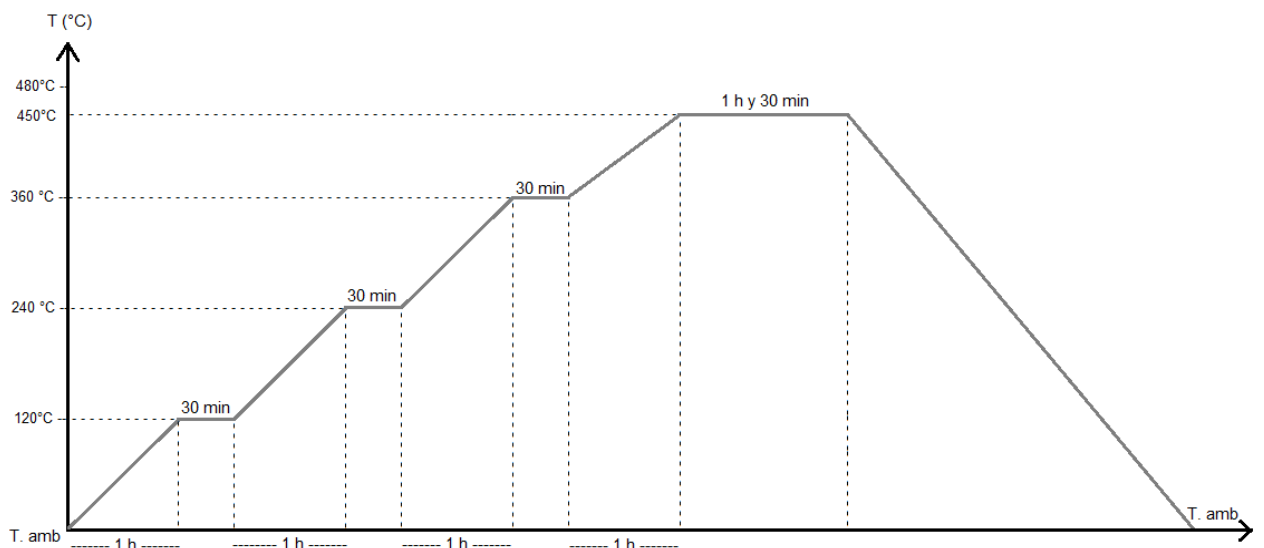


Figura 2.4. Programa de calentamiento aplicado al sólido durante el proceso de síntesis química para obtener ZnO. **Fuente:** Propia.

2.5.2.2. Síntesis verde de ZnO usando como solvente soluciones acuosas de extracto de ají.

Para llevar a cabo esta síntesis, el componente biológico utilizado fue el extracto de ají - *Capsicum chinense* el cual se obtuvo usando el siguiente proceso:

- Desinfección del fruto haciendo uso de jabón extra alcalino.
- Deshidratación o secado de forma natural (al sol) del fruto fresco.
- Reducción del tamaño del componente biológico en seco mediante un proceso mecánico para favorecer la solubilidad en el solvente al utilizar el material pulverulento, previamente tamizado. Esto, empleando un motor modelo PU5443127-6115-AL a velocidades 1 y 2, durante 3 y 1,5 minutos, respectivamente.

La síntesis de las ZnO-NPs empleando una ruta verde se realizó tomando como base el método de precipitación controlada descrito anteriormente. Inicialmente, en un beaker de 600 ml se agregaron ~333 ml de agua desionizada y ~16,60 g de polvo

fino de ají, obteniéndose una concentración de 50.000 ppm de ají. La mezcla de agua y ají se hizo pasar por un filtro de tela para obtener una suspensión más homogénea. Para obtener 5g de ZnO, la cantidad del precursor (acetato de zinc) se determinó mediante la siguiente relación:

$$5 \text{ g ZnO} * \frac{1 \text{ mol ZnO}}{81,38 \text{ g ZnO}} * \frac{1 \text{ mol precursor}}{1 \text{ mol ZnO}} * \frac{219,53 \text{ g precursor}}{1 \text{ mol precursor}} = 13,488 \text{ g precursor}$$

Al agregar ~13,485 g del precursor al “solvente (agua + ají)”, se esperaron ~10 minutos, en agitación continua, para que el sistema se estabilice, alcanzando un pH de ~5,83 (el registro del pH del sistema se realizó con el pH Stirrer 728). Posteriormente, de manera continua y regulada, se agregaron a la suspensión dos gotas ($0,146 \pm 0,010$ ml) de hidróxido de amonio (NH_4OH), cada ~15 segundos, hasta alcanzar un pH del sistema de ~9 (con un total de ~18,58 ml de la base). Luego, se dejó reposar la suspensión durante 24 horas, cubriéndola, previamente, con papel aluminio para evitar su contaminación o incorporación de impurezas provenientes del ambiente.

Con el fin de favorecer la transformación química de complejos zinc – acetato presente en el sistema y la interacción de estos con las moléculas activas del ají, se realizaron diferentes etapas de lavado y re dispersión, empleando una mezcla de agua más extracto de ají. Para ello, se dejó en envejecimiento la mezcla, durante 24 horas, tal que al finalizar este período de tiempo la suspensión se redispersa utilizando el equipo de alta cizalla ultra-turrax T-50. Este procedimiento se realizó en 7 ocasiones, durante 7 días, tomando periódicamente muestra del sólido suspendido para analizarlo utilizando espectroscopia IR. Este análisis permitió conocer la evolución de los diferentes grupos funcionales presentes en el sistema. Finalmente, se procedió a eliminar el solvente de la muestra calentando el sistema a una temperatura de ~100 °C, en una plancha de calentamiento. El proceso realizado se ilustra en la figura 2.5.

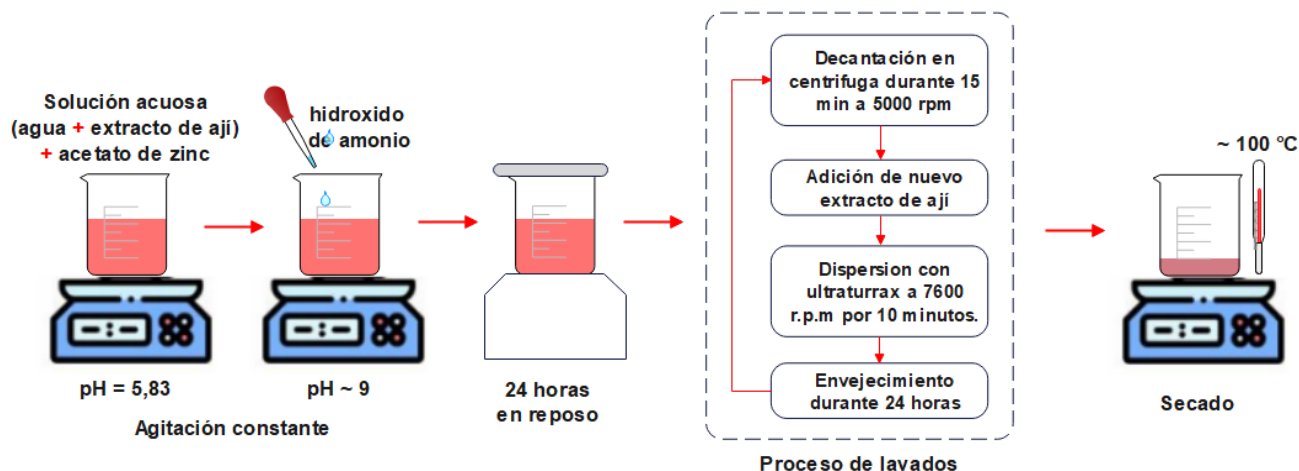


Figura 2.5. Esquema del método de síntesis por ruta verde empleado para obtener el ZnO.
Fuente: Propia.

2.6. SEGUIMIENTO Y DETERMINACIÓN DE LAS CONDICIONES DE SÍNTESIS DE LAS ZnO-NPs.

2.6.1. Análisis de las curvas de valoración potenciométrica

Para realizar el seguimiento y control del proceso de síntesis se obtuvieron las curvas de valoración potenciométrica que se muestran en la figura 2.6. En ellas se observa que se presentan diferentes etapas durante el proceso de adición del NH_4OH (hidróxido de amonio), siendo evidentes 4 zonas que se diferencian al considerar el valor de sus respectivas pendientes. De estas curvas, en la figura 2.6 (a) se pueden identificar dos puntos de equivalencia para el sistema de síntesis química: el primero alrededor de pH 5,81 y el segundo a un pH de 7,51 ; y de la figura 2.6 (b), para el sistema de síntesis verde, los dos puntos de equivalencia identificados se ubican en un pH de 6,95 y un pH de 7,8. Estos valores fueron determinados, aplicando la primera y segunda derivada de las curvas de valoración potenciométrica, para cada sistema. Estas curvas se obtuvieron registrando el comportamiento del pH del sistema al ir agregando el agente precipitante (NH_4OH), cambios en los valores del pH que deben indicar el desarrollo de las principales reacciones que se producen dentro del sistema. Además, estas curvas se pueden utilizar como una herramienta de control, del proceso de síntesis, permitiendo tener un control sobre el mismo y la reproducibilidad de sus diferentes etapas y, por lo tanto, de las características de las partículas obtenidas como producto final.

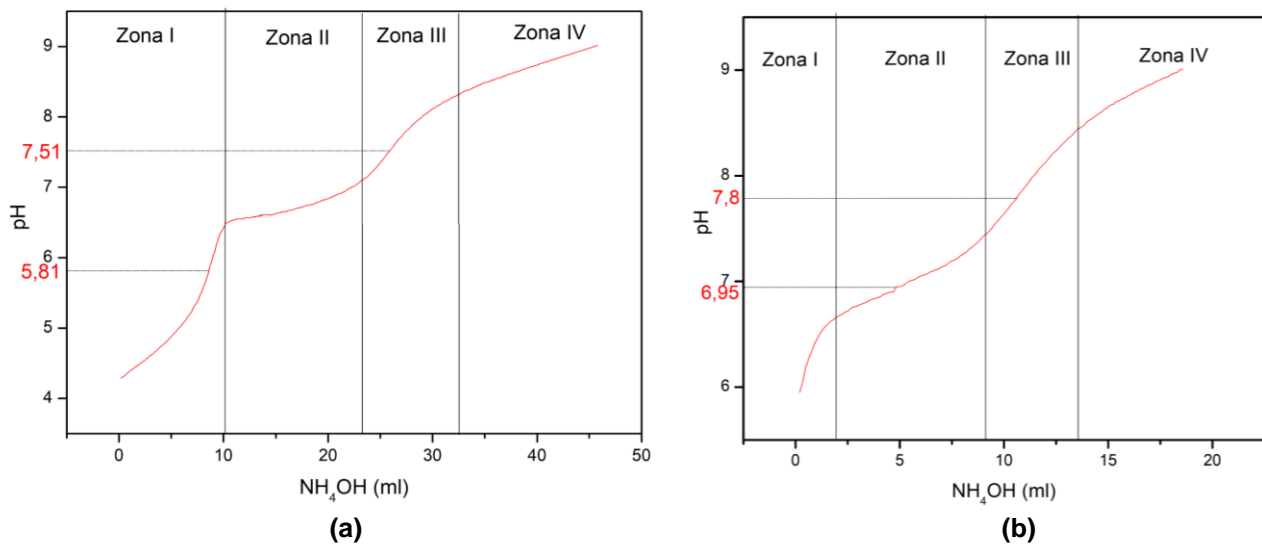


Figura 2.6. Curvas de valoración potenciométrica correspondientes al sistema $\text{CH}_3\text{COO})_2\text{Zn}\cdot 2\text{H}_2\text{O} - \text{HNO}_3 - \text{H}_2\text{O}$ registradas durante los procesos de: **(a)** síntesis química y **(b)** síntesis verde. **Fuente:** Propia

Las curvas de valoración potenciométrica que se muestran en la figura 2.6 presentan un comportamiento similar, en general, pero presentan algunas pequeñas diferencias debido a la naturaleza y características particulares de los sistemas, como por ejemplo la naturaleza del solvente utilizado, esto debido, por ejemplo, al ají adicionado a uno de ellos (síntesis verde – figura 2.6 (b)).

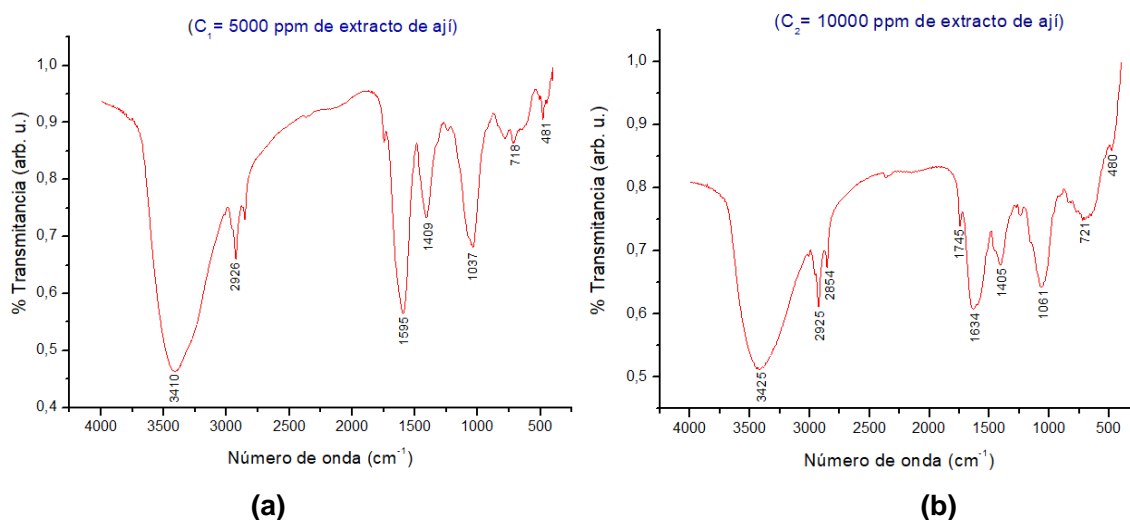
Para la síntesis química, figura 2.6 (a), el sistema presentó un valor de pH inicial de 4,29 con una apariencia visualmente incolora. Al ir adicionando el agente precipitante, el valor del pH del sistema se incrementó de manera abrupta debido principalmente, a la neutralización de las especies ácidas predominantes, favoreciendo la presencia de especies acuó del catión Zn^{2+} , así como el inicio de las reacciones de hidrólisis y, por lo tanto, la formación de especies acuó -hidroxo de zinc. A medida que se avanzaba con el suministro de la base, el sistema adquiere una apariencia levemente turbia, hasta alcanzar un pH de 6,5 (zona I). En la siguiente etapa, entre un pH de 6,5 y 7,1 (zona II), se observó una suave variación del pH lo que indicaba un alto consumo de iones hidroxilo OH^- por parte del sistema y con ello el desarrollo de las reacciones de hidrólisis y condensación, propiciando la formación de especies polinucleares. En esta zona, el sistema cambió de textura y color, pasando de estar levemente turbio a adquirir un color totalmente blanco. En

las zonas III y IV, por encima de un pH de 7,1, el crecimiento de las especies polinucleares debió de incrementarse ya que el sistema se tornó más viscoso y el pH experimentó una variación apreciable, hasta un pH de 8, para alcanzar, posteriormente, su condición de saturación (una pequeña variación del pH con la adición de amoníaco – ver figura 2.6 (a)).

En el caso de la síntesis verde, figura 2.6(b), la curva de valoración potenciométrica presentó un comportamiento similar al descrito anteriormente. El valor del pH inicial, del sistema, fue de \square 6 y el cambio en la zona II no fue tan apreciable como para el sistema sin ají (figura 2.6 (a)). En el proceso donde se utilizó como solvente agua + ají, no fue tan evidente el cambio de color en el sistema, esto debido a la intensa coloración roja producida por el ají (*Capsicum chinense*) que contenía.

2.6.2. Evaluación de las etapas de la síntesis verde usando espectroscopia IR.

Para determinar el efecto de la concentración del componente biológico (ají) sobre la síntesis del óxido de zinc, se realizaron ensayos tomando diferentes concentraciones de ají, desde 5000 hasta 50000 ppm. Para ello se empleó el procedimiento indicado en la figura 2.5 y se analizó, utilizando espectroscopia IR, del producto sólido obtenido al finalizar el mismo. Los espectros obtenidos se muestran en la figura 2.7.



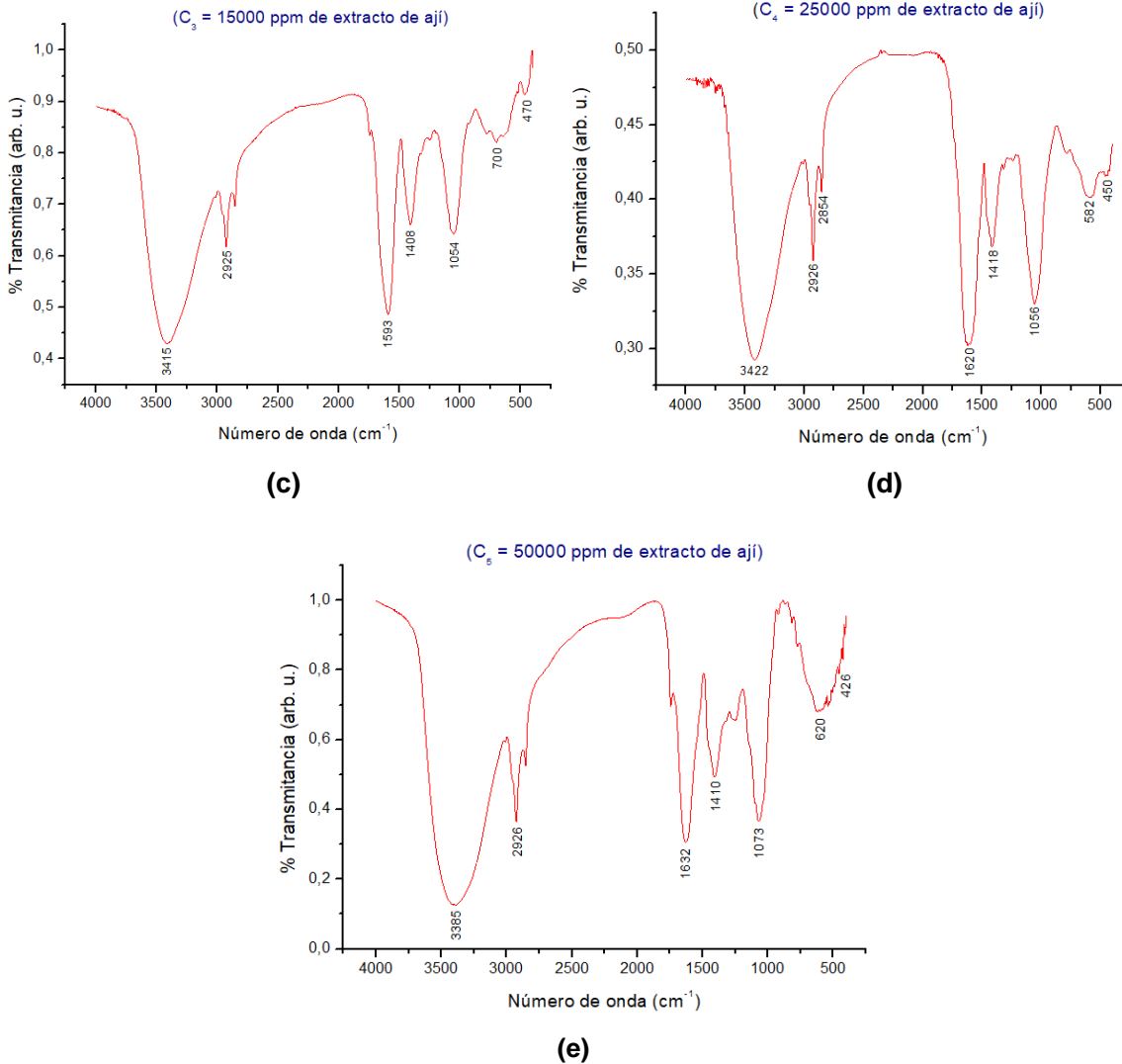


Figura 2.7. Espectros IR correspondientes a los sólidos obtenidos por síntesis verde de ZnO, utilizando diferentes concentraciones de extracto de ají (*Capscicum chinense*) en medio acuoso: **(a)** 5000 ppm **(b)** 10000 ppm **(c)** 15000 ppm **(d)** 20000 ppm y **(e)** 50000 ppm. **Fuente:** Propia.

En todos los espectros IR de la figura 2.7, son evidentes bandas asociadas a grupos hidroxilo, a grupos funcionales C - H, a grupos orgánicos y a bandas que contendrían información sobre la existencia de grupos funcionales Zn - O y Zn - OH (Farmer, 1974), ubicadas alrededor de los $\sim 550 \text{ cm}^{-1}$, las cuales son de interés para este proyecto, pues se evidencia de que el sólido contenía óxido de zinc.

Después de analizar los espectros IR de la figura 2.7, se determinó la concentración de 50000 ppm de ají para realizar la síntesis verde, esto debido a la presencia de la banda ancha e intensa en el rango entre 400 y 600 cm^{-1} (figura 2.7), región donde se encuentran las bandas características del ZnO.

Para ilustrar cómo se fueron modificando los grupos funcionales más representativos de la fase sólida durante el proceso de lavado y redispersión en un medio acuoso que contenía 50000 ppm de ají, se tomaron muestras sólidas, después de redispersar el sedimento en este solvente y dejarlo envejecer 24 horas, y se registró su espectro IR. Los espectros IR obtenidos se muestran en la figura 2.8. En ellos se observa la evolución del doblete de bandas alrededor de 1500cm^{-1} , variación de su intensidad y ubicación, así como la formación de la banda que contiene las bandas características del ZnO (alrededor de 550cm^{-1} – figura 2.8), a medida que se avanzaba en el proceso de lavado y redispersión del sedimento. Además, las bandas entre 1000 y 1500cm^{-1} (figura 2.8) se pueden asociar a las biomoléculas que contiene el ají y que se van haciendo más evidentes a medida que se avanza en el proceso. En conclusión, este proceso permitió la transformación del precursor de zinc, favoreciéndose la formación del ZnO, y la deposición o adherencia de biomoléculas, provenientes del ají, a la superficie de las partículas de óxido.

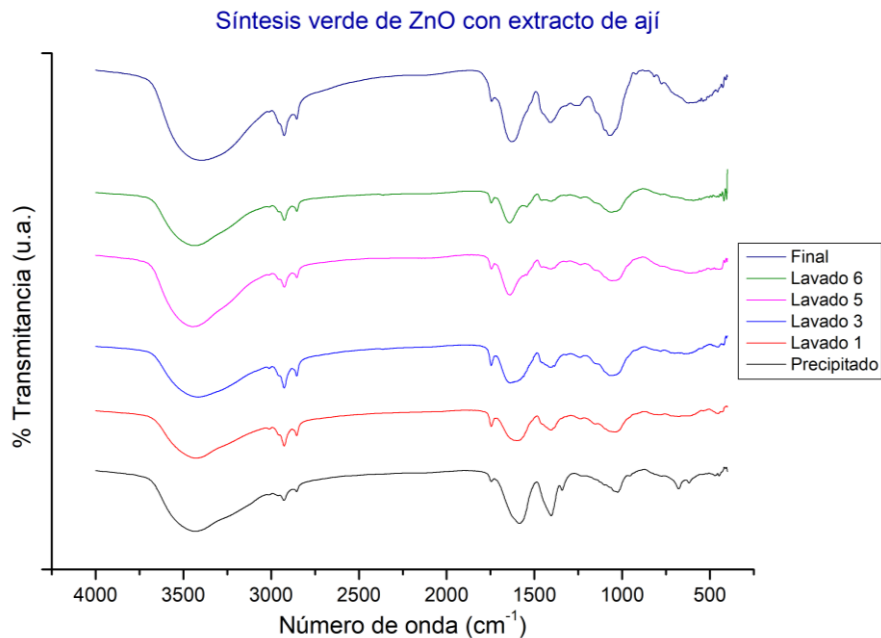


Figura 2.8. Seguimiento con espectroscopia IR de los grupos funcionales presentes en el sedimento obtenido del sistema sometido a procesos de lavado y redispersión, cada 24 h, usando un solvente acuoso que contenía 50000 ppm de ají. **Fuente:** Propia.

2.7. CONCLUSIONES

- Se estructuraron métodos de síntesis, rutas química y verde, controlados y reproducibles que permitieron obtener óxido de zinc. De acuerdo a lo evaluado, para el proceso de síntesis química, las condiciones más adecuadas para realizarlo serían: un pH de trabajo ~9, uso de agua como solvente y un tratamiento térmico final a 450°C, durante 1 hora y 30 minutos.
- Específicamente, para realizar la síntesis del ZnO a través de una ruta verde, los parámetros de síntesis recomendados son: una concentración de 50000 ppm del componente biológico, en este caso ají; uso como solvente agua + ají; un pH de trabajo de ~9 y secado del producto final a ~100°C.
- Aunque en esencia se empleó el mismo procedimiento para obtener el ZnO, tanto por una ruta química como verde (solvente agua + ají), ésta última permitió obtener el óxido con un gasto energético bajo, solo secando el

sedimento del último lavado (en este caso el séptimo lavado) a ~100°C, protegiendo así, la fase orgánica de la oxidación.

2.8. REFERENCIAS

AHP Materials. (2011). Zinc Oxide – Propertie , Application and the Future for ZnO. Retrieved from AZO Materials website:

<https://www.azom.com/article.aspx?ArticleID=5818>

Aquino, P. A. (2016). *Síntesis y caracterización de nanopartículas de óxido de zinc obtenidas por el método de precipitación para su aplicación en pintura esmalte comercial*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

Chen, C., & Chiang, C. (2008). Preparation of cotton fi bers with antibacterial silver nanoparticles. *Materials Letters*, 62(1), 3607–3609.

<https://doi.org/10.1016/j.matlet.2008.04.008>

Claros Cuadrado, J. L., Pinillos, E. O., Tito, R., Mirones, C. S., & Gamarra Mendoza, N. N. (2019). Insecticidal properties of capsaicinoids and glucosinolates extracted from capsicum chinense and tropaeolum tuberosum. *Insects*, 10(5). <https://doi.org/10.3390/insects10050132>

Colonia, Y., & Valentin, S. (2020). Nanopartículas de óxido de zinc para la reducción del fenol en aguas residuales sintéticas. Retrieved from https://repositorio.ucv.edu.pe/bitstream/handle/20.500.12692/50737/Cusma_GM-SD.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Cortina, C. C., Feijoó, L. M., Manzur, K., Muñoz, M. P., Rendón, J., & Zapata, J. P. (2017). Efectos de la intoxicación por glifosato en la población agrícola: revisión de tema. *Revista CES Salud Pública*, 8(1), 121–133.

Ejaz, M., Arfat, Y. A., Mulla, M., & Ahmed, J. (2017). Zinc oxide nanorods / clove essential oil incorporated Type B gelatin composite films and its applicability for shrimp packaging. *Food Packaging and Shelf Life*.

<https://doi.org/10.1016/j.fpsl.2017.12.004>

- Farmer, V. C. (1974). The infrared spectra of minerals. In *Mineralogical Society monograph 4* (pp. 183–204). <https://doi.org/https://doi.org/10.1180/mono-4>
- Gutierrez, A., Betancourt-galindo, R., Aguirre-uribe, L. A., Cerna-ch, E., Sandoval-rangel, A., Á, E. C., ... Garc, I. (2021). Insecticidal Effect of Zinc Oxide and Titanium Dioxide Nanoparticles against *Bactericera cockerelli* Sulc . (Hemiptera : Triozidae) on Tomato *Solanum lycopersicum*. *Agronomy*, 11–1460. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/agronomy11081460>
- Gutierrez, B. J. A., Meléndez, A. L., Liñan, C. Y. R., & Lopez, D. A. L. (2015). La nanotecnología a 40 años de su aparición : Logros y tendencias. *Ingenierías, XVIII*(66), 13–23. Retrieved from http://eprints.uanl.mx/10563/1/66_la_nanotecnologia.pdf
- Hernandez, A., Mendoza Villeda, A., & Martínez Ayala, L. (2020). Caracterización morfológica de nanotubos de ZnO. *TEPEXI Boletín Científico de La Escuela Superior Tepeji Del Río*, 8(13), 1–4. <https://doi.org/10.29057/estr.v7i13.5107>
- Ishwarya, R., Vaseeharan, B., Kalyani, S., Banumathi, B., Govindarajan, M., Alharbi, N. S., ... Benelli, G. (2018). Facile green synthesis of zinc oxide nanoparticles using *Ulva lactuca* seaweed extract and evaluation of their photocatalytic, antibiofilm and insecticidal activity. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 178(October 2017), 249–258. <https://doi.org/10.1016/j.jphotobiol.2017.11.006>
- Jameel, M., Shoeb, M., Khan, M. T., Ullah, R., Mobin, M., Farooqi, M. K., & Adnan, S. M. (2020). Enhanced Insecticidal Activity of Thiamethoxam by Zinc Oxide Nanoparticles: A Novel Nanotechnology Approach for Pest Control. *ACS Omega*, 5(3), 1607–1615. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b03680>
- Jamkhande, P. G., Ghule, N. W., Bamer, A. H., & Kalaskar, M. G. (2019). Metal nanoparticles synthesis: An overview on methods of preparation, advantages and disadvantages, and applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2019.101174>
- Jasso, R., Cortés, D. A., Sánchez, H. J., Reyes, P. Y., & de León, L. E. (2016).

Nanopartículas magnéticas de zinc y calcio para aplicaciones en hipertermia magnética. *Revista Facultad de Ingeniería*, 25(42), 89–98.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.19053/01211129.4632>

Khooshe-Bast, Z., Sahebzadeh, N., Ghaffari-Moghaddam, M., & Mirshekar, A. (2016). Insecticidal effects of zinc oxide nanoparticles and *Beauveria bassiana* TS11 on *Trialeurodes vaporariorum* (Westwood, 1856) (Hemiptera: Aleyrodidae). *Acta Agriculturae Slovenica*, 107(2), 299–309.
<https://doi.org/10.14720/aas.2016.107.2.04>

Li, C. J. (2016). Reflection and perspective on green chemistry development for chemical synthesis - Daoist insights. *Green Chemistry*, 18(7), 1836–1838.
<https://doi.org/10.1039/c6gc90029a>

Liedekerke, M. de. (2006). 2.3 Zinc Oxide (zinc White). In *Pigments, Inorganic* (pp. 56–60). https://doi.org/10.1002/14356007.a20_243.pub2

Lira-Saldivar, R. H., Argüello, B. M., Villarreal, G. D. los S., & Reyes, I. V. (2018). Potencial de la nanotecnología en la agricultura. *Acta Universitaria*, 28(2), 9–24. <https://doi.org/10.15174/au.2018.1575>

Lira, A., & Oliver, A. (2017). La nanotecnología , la arquitectura y el arte. *Mundo Nano*, 10(19), 117–128.
<https://doi.org/http://dx.doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2017.19.57719>

Lu, F., & Astruc, D. (2018). Nanomaterials for removal of toxic elements from water. *Coordination Chemistry Reviews*, 356, 147–164.
<https://doi.org/10.1016/j.ccr.2017.11.003>

Méndez Argüello, B., Vera Reyes, I., Mendoza Mendoza, E., García Cerda, L. A., Puente Urbina, B. A., & Lira Saldívar, R. H. (2016). Promoción del crecimiento en plantas de *Capsicum annum* por nanopartículas de óxido de zinc. *Revista Electrónica Nova Scientia*, 8, 140–156.

Moezzi, A., McDonagh, A. M., & Cortie, M. B. (2012). Zinc oxide particles : Synthesis , properties and applications. *Chemical Engineering Journal*, 185–

186, 1–22. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2012.01.076>

Mohan Bhagyaraj, S., & Oluwafemi, O. S. (2018). Nanotechnology: The Science of the Invisible. In *Synthesis of Inorganic Nanomaterials* (pp. 1–18).

<https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101975-7.00001-4>

Morkoç, H., & Özgür, Ü. (2009). General Properties of ZnO. In *Zinc Oxide: Fundamentals, Materials and Device Technology*. (pp. 1–76).

<https://doi.org/10.1002/9783527623945.ch1>

Osmond, M. J., & McCall, M. J. (2010). Zinc oxide nanoparticles in modern sunscreens : An analysis of potential exposure and hazard. *Nanotoxicology*, 4(1), 15–41. <https://doi.org/10.3109/17435390903502028>

Ramos, A. P., Cruz, M. A. E., Tovani, C. B., & Ciancaglini, P. (2017). Biomedical applications of nanotechnology. *Biophysical Reviews*, 9(2), 79–89.

<https://doi.org/10.1007/s12551-016-0246-2>

Reboredo, M. M. (2010). *Estudio de la Influencia de la Morfología de Nanopartículas de ZnO en las Propiedades Finales de Materiales Compuestos*.

Reyes-Sánchez, L. B. (2012). Green chemistry's contribution in the construction of socially responsible science. *Educacion Quimica*, 23(2), 222–229.

[https://doi.org/10.1016/s0187-893x\(17\)30113-1](https://doi.org/10.1016/s0187-893x(17)30113-1)

Rodríguez-Páez, J. E. (2001). Síntesis de polvos cerámicos por el método de precipitación. *Cerámica y Vidrio*.

Rodriguez Páez, J. E., Moure, C., Durán, P., & Fernandez, J. F. (1998). Método de precipitación controlada de ZnO: Estudio de las diferentes etapas mediante conductividad específica. *Boletín de La Sociedad Española de Cerámica y Vidrio*, 37(2–3), 187–192. Retrieved from

<http://hdl.handle.net/10261/15901%0D>

Rodríguez Páez, M., Ochoa Muñoz, Y., & Rodríguez Páez, J. E. (2018). *Uso de Nanopartículas de ZnO (ZnO-NPs) en la Remoción del herbicida Glifosato*

(Universidad Jorge Tadeo Lozano). Retrieved from
<http://hdl.handle.net/20.500.12010/8239>

- Sabir, S., Arshad, M., & Chaudhari, S. K. (2014). Zinc Oxide Nanoparticles for Revolutionizing Agriculture : Synthesis and Applications. *Hindawi Publishing Corporation, 2014*, 8. <https://doi.org/http://dx.doi.org/10.1155/2014/925494>
- Salem, A. A., & Hamzah, M. (2015). ALUMINUM AND ZINC OXIDES NANOPARTICLES AS A NEW METHODS FOR CONTROLLING THE RED FLOUR BEETLES , *Tribolium castaneum* (HERBEST) COMPARED TO MALATHION INSECTICIDE . *Maounsurá Universidad*, 6(1), 129–137.
- Sebestea, M., Kolencik, M., Sunil, B. R., Illa, R., Mosnacek, J., Ingle, A. P., & Urík, M. (2021). Field Application of ZnO and TiO₂ Nanoparticles on Agricultural Plants. *Agronomy*, 11(2281), 1–13.
<https://doi.org/https://doi.org/10.3390/agronomy11112281>
- Sharma, D. K., Shukla, S., Sharma, K. K., & Kumar, V. (2020). A review on ZnO: Fundamental properties and applications. *Materials Today: Proceedings*.
<https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.10.238>
- Smith, T. C., & Lyshevski, S. E. (2016). Nanotechnology for portable energy systems: Modular photovoltaics, energy storage and electronics. *2016 IEEE 36th International Conference on Electronics and Nanotechnology, ELNANO 2016 - Conference Proceedings*, 323–326.
<https://doi.org/10.1109/ELNANO.2016.7493077>
- Staff, R. (2015). Nanotecnología, nanopartículas y toxicidad. *Revista Enfermería Del Trabajo*, 5(1), 21–27.
- Stark, W. J., Stoessel, P. R., Wohlleben, W., & Hafner, A. (2015). Industrial applications of nanoparticles. *Chemical Society Reviews*, 13.
<https://doi.org/10.1039/C4CS00362D>
- Vazquez-duhalt, R. (2015). Nanotecnología en procesos ambientales y remediación de la contaminación. *Mundo Nano*, 8(14), 70–80.

- Verdeja, L. F., García Coque, P., & Huerta Nosti, M. A. (2017). El óxido de zinc : propiedades y aplicaciones. *RDM Revista de Minas*, 87–96.
- Wazid, Nadagouda, S., Prabhuraj, A., Naik, R. H., Shakuntala, N. M., & Sharanagouda, H. (2018). Effect of Biosynthesized Zinc Oxide Green Nanoparticles on Pulse Beetle, *Callosobruchus analis* (Coleoptera: Chrysomelidae). *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(09), 503–512. <https://doi.org/10.20546/ijcmas.2018.709.060>
- Yuan, L., Wang, C., Cai, R., Wang, Y., & Zhou, G. (2013). Spontaneous ZnO nanowire formation during oxidation of Cu-Zn alloy. *Journal of Applied Physics*, 114(2). <https://doi.org/10.1063/1.4812569>

Capítulo 3

CARACTERIZACIÓN DE LAS NANOPARTÍCULAS SINTETIZADAS.

En el presente capítulo, se indicarán los resultados de la caracterización de los sólidos sintetizados y se resaltarán las diferencias entre ellos. Estas serían generadas por la naturaleza y el desarrollo de los procesos que se realizaron en cada tipo de ruta de síntesis; esto se vio reflejado, por ejemplo, en las curvas de valoración potenciométrica registradas (figura 2.6), indicadas en el anterior capítulo.

3.1. GENERALIDADES DE LOS MÉTODOS DE CARACTERIZACIÓN

Debido a las diversas aplicaciones que pueden tener los materiales nanométricos, específicamente las ZnO - NPs sintetizadas, es importante realizarles una adecuada caracterización para así determinar sus propiedades físicas, químicas y biológicas (Kumar & Dixit, 2017), utilizando diferentes técnicas.

3.1.1. Análisis térmico diferencial y termogravimétrico (ATD/TG)

Se le conoce como análisis térmico al conjunto de técnicas en las que se evalúa una propiedad física, de una muestra, en función de la variación de la temperatura. La caracterización de los materiales, realizada con esta técnica, suministra información básica sobre sus propiedades físicas, tales como: cristalinidad, calor específico y dilatación térmica, cuando al material se le aplica un programa de temperatura específico.

En el análisis termogravimétrico (TG) se monitorea el cambio de peso que experimenta una muestra respecto a la variación de temperatura aplicada, a velocidad constante, suministrando información sobre fenómenos fisicoquímicos como: transiciones de fase, fenómenos de absorción y desorción, descomposición térmica y reacciones de oxidación o reducción que ocurren en el material. Esto, de manera indirecta, facilita el análisis cuantitativo de la composición del material, la identificación de materiales orgánicos, y la determinación del contenido de agua o solventes presentes. Normalmente, esta técnica se realiza en una atmósfera de aire o en una atmósfera inerte, como helio o argón (Tanzi, Farè, & Candiani, 2019).

De igual manera, la técnica denominada análisis térmico diferencial (ATD) mide la diferencia de temperatura entre el material a analizar y una muestra de referencia, a las mismas condiciones, las cuales son sometidas a un programa de temperatura específico. Esta diferencia de temperatura se interpreta como un flujo de calor entre las muestras, lo que proporciona información sobre reacciones endotérmicas y exotérmicas, al interior del sólido, las cuales pueden ser originadas por diferentes procesos fisicoquímicos que se presentan (Mackenzie & Mitchell, 1962).

3.1.2. Espectroscopia infrarroja con transformada de fourier (FTIR)

La espectroscopía infrarroja (IR) es una técnica micro analítica de gran importancia, pues es útil para identificar los grupos funcionales presentes en la estructura molecular de un compuesto. Esta técnica estudia la absorción o emisión de energía originada por la interacción de la radiación electromagnética, en un rango de longitud de onda de 0,78 a 1000 μm , con el material a analizar.

Estas interacciones propician fenómenos en el material, a nivel molecular, pues la radiación electromagnética puede ser absorbida por las moléculas de la muestra, provocando una excitación de naturaleza: electrónica, rotacional, vibracional o con orientación, sin que se produzcan transiciones electrónicas ya que la energía del haz incidente es insuficiente (Mourdikoudis, Pallares, & Thanh, 2018). Considerando los modos normales de vibración, cada molécula tiene una cierta energía de vibración que, solamente, puede variar al absorber fotones de la región del infrarrojo y cuando esto sucede, la molécula pasa a un estado excitado de vibración superior en el que los modos de vibración no varían sus frecuencias, pero sí su amplitud de la vibración ocasionando el fenómeno de resonancia que favorece un intercambio de energía entre el haz y las moléculas.

Los espectros infrarrojos pueden presentar bandas asociadas a prácticamente todos los compuestos moleculares, donde cada banda corresponde al movimiento de vibración de cada uno de los enlaces dentro de la molécula y el conjunto de bandas constituyen la “huella dactilar” del compuesto (Balan et al., 2019). Finalmente, es posible identificar los enlaces o grupos funcionales por medio de comparación con espectros IR patrón, recopilados en bases de datos (Kristo, 2012).

3.1.3. Espectroscopia Raman

La espectroscopía Raman es una técnica no destructiva que proporciona información química y estructural del material en estudio, y que de manera versátil puede ser empleada en la realización de análisis cuantitativos de materiales en estados líquido, sólido y gaseoso, ya sean orgánicos o inorgánicos, con la ventaja de que no se requiere de una preparación previa de la muestra (Gutierrez & Otero, 2014). Esta técnica se fundamenta, básicamente, en la interacción entre la luz y la materia, específicamente analizando la radiación que se dispersa (Olsen, 2016). La mayor parte de la luz dispersada, cuando un haz monocromático incide sobre las moléculas del material, es de tipo elástica, en donde la frecuencia de la luz dispersada es la misma de la radiación incidente; en otras palabras, presentan el mismo valor de energía (Olsen, 2016). Por otro lado, y en menor cantidad, se presenta dispersión inelástica de la radiación, la cual presenta un cambio en la frecuencia, con relación a la radiación incidente, debido al intercambio de energía al interaccionar con la materia. Esta diferencia de frecuencia es característica de la naturaleza química y del estado físico de la muestra, y por esto, los cambios en frecuencia permiten identificar distintos compuestos y determinar características moleculares (Olsen, 2016).

Este efecto puede describirse considerando una excitación de la molécula debido a la interacción con el fotón incidente, provocando que la molécula pase a un estado excitado para luego, al relajarse y regresar al estado fundamental, emitir un fotón. Sin embargo, al ser una dispersión inelástica, se ha perdido o ganado energía, por lo que la molécula no regresaría al mismo estado, sino que se ubicará en un estado rotacional o vibracional diferente al inicial; esta diferencia de energía está relacionada con la modificación de la frecuencia del fotón dispersado (Bernhard Schrader, 2008).

3.1.4. Espectroscopia ultravioleta visible (UV-VIS)

La espectroscopía de absorción ultravioleta visible (UV-VIS) es una técnica analítica que permite medir cuantitativamente la luz absorbida o transmitida por un material suspendido en un medio líquido, utilizando para ello la radiación electromagnética

de las regiones visible y ultravioleta cercano, es decir, una longitud de onda entre los 400 a 700 nm. Esta radiación incidente propicia, en el material de estudio, una transición de electrones desde los orbitales en el estado fundamental a orbitales de mayor energía, estados excitados (Faraldos & Goberna, 2011). En el caso de los átomos aislados, sólo pueden ocurrir transiciones electrónicas mientras que, en el caso de las moléculas, además, se pueden propiciar movimientos de rotación y vibración (Akash & Rehman, 2020).

El instrumento utilizado para realizar este ensayo permite comparar la cantidad de radiación absorbida o transmitida entre el material de estudio y una muestra de referencia o blanco (comúnmente el solvente empleado para conformar la solución o suspensión). Este comportamiento, frente a la radiación incidente, está influenciada por la composición de la muestra y por lo tanto, esta técnica proporciona información sobre el entorno y la contribución de las especies metálicas y orgánicas presentes en el material (Yurdakal, Garlisi, Özcan, Bellardita, & Palmisano, 2019).

Por otro lado, la espectroscopía de reflectancia difusa, que emplea también radiación en el rango del ultravioleta visible, es una técnica de análisis cuantitativa que utiliza la radiación que es absorbida de manera temporal por la muestra, la cual experimenta refracciones y dispersiones, y que posteriormente es re-emitida, por lo que contendrá información tanto de la estructura como de la composición de la muestra (Zhang et al., 2020). Para el caso particular de los semiconductores es posible estimar el valor de energía de la banda prohibida (“gap” de energía o “band gap”) a partir de las medidas de reflectancia difusa del material; en otras palabras, se puede calcular la mínima energía que se le debe suministrar a un electrón para excitarlo y promoverlo de la banda de valencia a la banda de conducción (Jr. et al., 2022).

Las transiciones electrónicas que experimenta un material, propiciadas por el suministro de energía, pueden ser de dos tipos: directas e indirectas. La transición directa ocurre cuando se presenta la interacción entre dos partículas, un fotón y un electrón, tal que los fotones excitan a los electrones. En el caso de la transición

indirecta, la interacción que propicia la transición involucra tres partículas, un fotón, un electrón y un fonón, o sea que se requiere de las vibraciones de la red para propiciar transiciones electrónicas en la red cristalina (Yurdakal et al., 2019).

3.1.5. Difracción de rayos X (DRX)

Los rayos X se definen como un tipo de radiación electromagnética entre 10^{-8} – 10^{-12} m, correspondiendo a frecuencias en el rango 10^6 - 10^{20} Hz o sea con una longitud de onda corta, capaz de atravesar cuerpos opacos (Faraldos & Goberna, 2011). Es una radiación muy energética y penetrante (10^2 - 10^4 eV en RX “blandos” y 10^4 - 10^6 eV en RX “duros”) que, además, no se desvían mediante la acción de campos magnéticos o eléctricos y se propagan en línea recta. Aunque el espectro de radiación de rayos x de cualquier material presenta un continuo, debido a la denominada “radiación de frenado” (generada por la desviación de electrones muy energéticos que inciden sobre el material, ocasionada por sus núcleos), la radiación X que se utiliza en esta técnica es la “discreta” (Faraldos & Goberna, 2011). Esta radiación es producida cuando un electrón con alta energía ocasiona la salida de otro electrón cercano al núcleo de un átomo, del material anódico, generando así una vacante o hueco que será llenada por un electrón que se “relaja” desde una capa superior. La diferencia de energía propiciada por esta transición (característica del átomo) se transforma en radiación X, con una longitud de onda determinada, es decir, se genera una radiación característica (Faraldos & Goberna, 2011).

La difracción de rayos X es una técnica no destructiva, útil en el análisis cualitativo y cuantitativo de materiales como: fluidos, metales, minerales, polímeros, catalizadores, plásticos, cerámicas y semiconductores. Esta técnica se basa en la interferencia constructiva producida por la interacción de los rayos X con los átomos de la muestra en estudio, dispuestos de manera regular sobre planos cristalinos lo que genera una dispersión de rayos X, garantizando que se cumple la ley de Bragg (He, 2018). Esta ley relaciona la longitud de onda de la radiación electromagnética con el ángulo de difracción y la distancia entre los planos cristalinos correspondientes a la red de una muestra, a través de la siguiente ecuación:

$$n \lambda = 2d \sin \theta$$

Siendo d , la distancia entre los planos cristalinos con índices de Miller (hkl); n , el orden de la difracción; λ , la longitud de onda de los rayos X y θ , el ángulo de difracción. Por lo tanto, al detectar y procesar la información suministrada por los rayos X difractados se puede identificar la fase y estructura cristalina del material que se está analizando, así como determinar su composición atómica, comparando los espacios “ d ” con patrones de referencia recopilados en bases de datos, esto debido a que la distancia interplanar es característica de cada red cristalina (Bunaciu, Udriștioiu, & Aboul-Enein, 2015).

3.1.6. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS).

La espectroscopia fotoelectrónica de rayos X es un método de caracterización de superficies de gran importancia, ya que suministra información cualitativa y cuantitativa de los elementos que conforman la superficie del material en estudio. Por ejemplo, permite estimar la estequiometría, el estado químico y la estructura electrónica de dichos elementos (exceptuando H y He). Esta técnica fue desarrollada por Kai. M. Siegbahn en 1967, a partir del efecto fotoeléctrico descubierto por Einstein y se fundamenta en la detección de los fotoelectrones emitidos luego de la interacción de un haz de rayos X con la muestra en estudio (Andrade, 1985).

En XPS, al hacer incidir un haz de rayos X sobre el material, los fotones interactúan con electrones de los orbitales atómicos, principalmente los “s” y “p” más internos, de manera que hay una transferencia total de la energía de los fotones hacia los electrones, provocando así la emisión de electrones de diferentes átomos (Wood & Teeter, 2018). Cada electrón es expulsado con una energía cinética, que está dada por la siguiente ecuación:

$$E_k = h\nu - E_e$$

donde E_e es la energía de enlace de los electrones, característica de cada elemento; $h\nu$, la energía de los fotones incidentes y E_k , la energía cinética de los electrones

expulsados, medida por el espectrómetro. Por lo tanto, al conocer la energía de enlace se pueden identificar los átomos presentes en el material (Andrade, 1985) y su entorno coordinativo.

3.1.7. Microscopía electrónica de transmisión (STEM - EDS)

La microscopía electrónica de transmisión (TEM) es una técnica de análisis que aprovecha los diferentes fenómenos que se producen cuando un haz de electrones interactúa con una muestra delgada (\square 2000 Å, por lo que, con las nanopartículas < 100 nm, no habría problema), pues dependiendo de su grosor y el tipo de átomos que la conforman, parte de estos electrones son dispersados. Éstos, son conducidos y modulados por unas lentes para formar finalmente una imagen que puede tener diferentes aumentos, con una alta resolución. La información que se obtiene es una imagen con distintas intensidades de gris que corresponden al grado de dispersión de los electrones incidentes (Egerton, 2016).

La microscopía electrónica de transmisión por barrido (STEM) es una técnica de alta resolución espacial usada para la obtención de imágenes que son formadas gracias a la interacción de los electrones del haz incidente con la muestra, lo que resulta útil para determinar la estructura a escala atómica del material, así como su composición química (Lugg, Kothleitner, Shibata, & Ikuhara, 2015). Esta técnica relaciona las microscopías electrónicas de barrido (SEM) y transmisión (TEM), a través del principio de reciprocidad, en donde el flujo de electrones transmitidos, a través de la muestra, se detecta dependiendo de su ángulo de desviación para formar la imagen; en el TEM, la iluminación paralela produce un punto de interferencia en la imagen (contraste de fase) y en el STEM, la iluminación se enfoca en la muestra y se produce un punto directamente en el detector (Calderón, 2020).

Una de las principales ventajas de STEM es la posibilidad de obtener imágenes de contraste que se relacionan directamente con la estructura de la muestra. Dicha imagen se forma al recolectar los electrones dispersados en ángulos altos de un detector de campo oscuro, anular de campo alto (HADDF) (Varela, Benthem, Borisevich, Ridge, & Shibata, 2005). Una herramienta que complementa la técnica STEM es la espectroscopía de análisis de energía dispersiva de rayos x (EDS, EDX

o EDAX), la cual, al realizar un mapeo químico de la muestra, permite identificar los elementos presentes y su ubicación en la región analizada (Wu et al., 2013).

3.1.8. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

La microscopía electrónica de barrido (MEB) es una técnica de caracterización de sólidos orgánicos e inorgánicos, que permite obtener imágenes de alta resolución de la superficie de la muestra, las cuales pueden suministrar información sobre la aglomeración, morfología, tamaño y composición química del material. Esta técnica se basa en la interacción de un haz de electrones con la muestra de interés. Los electrones que inciden sobre la superficie de la muestra en lugar de reflejarse la penetran, debido a su alta energía, produciendo lo que se conoce como región de excitación primaria, en donde se generan una variedad de señales, como: rayos X característicos, electrones Auger y catodoluminiscencia, entre otras. La señal más utilizada para la formación de imágenes, propiciada por la interacción del haz de electrones primarios con la muestra, es la emisión de electrones secundarios que, al tener baja energía alrededor de 3 a 5 eV, sólo se pueden desplazar unos pocos nanómetros de la superficie del material. Estos electrones marcan con precisión la posición del haz, brindando así información topográfica de alta resolución de esta porción de la superficie (Zhou, Apkarian, Wang, & Joy, 2006).

3.1.9. Área superficial específica (BET) y distribución de tamaño de poro (BJH)

La teoría BET establecida por Brunauer, Emmett y Teller en el año 1938, denominada así por el acrónimo derivado por los autores, logra la estimación del valor del área superficial específica de un sólido, mediante la adsorción física de las moléculas de un gas que no reacciona químicamente con la superficie del material en estudio; normalmente, para la realización de esta importante técnica de caracterización se utiliza el nitrógeno como gas inerte. Este método se basa en el cálculo de la cantidad de gas adsorbido necesario para formar una monocapa y el área que ocupa una de estas moléculas adsorbidas; para así, estimar el área del sólido (Dollimore, Spooner, & Turner, 1976).

Barret - Joyner - Halenda (BJH) introdujeron la ecuación de Kelvin modificada para estimar la distribución del tamaño de los poros. Este método es ideal para determinar la distribución del tamaño y volumen de poro, principalmente en materiales mesoporosos, reemplazando el radio capilar que aparece en la ecuación de Kelvin por el radio de poro menos el espesor de la película adsorbida de nitrógeno (Ravikovitch, Haller, & Neimark, 1998). El anterior análisis es posible llevar a cabo, tomando como hipótesis que la porosidad tiene geometría cilíndrica.

3.2. RESULTADOS Y ANÁLISIS DE LA CARACTERIZACIÓN DE LAS ZnO-NPs

3.2.1. Análisis térmico diferencial y termogravimétrico (ATD/TG)

En este trabajo de investigación se utilizó la técnica de ATD/TG para determinar el comportamiento de las muestras sintetizadas. Para ello, se empleó un equipo de análisis térmico diferencial simultáneo, SDT Q600 V20,9 Build 20 de TA Instruments. Las condiciones de trabajo, para realizar el ensayo, fueron: una velocidad de calentamiento de 5 °C/min, con un flujo de 100 mL/min y en crisol de alúmina, se pesó 13 (\pm 1mg) y se llevó hasta 1000 °C en atmósfera de aire.

Las muestras a las que se les realizó el análisis térmico se obtuvieron secando los precipitados a \sim 100 °C. Esto permitió realizarle un seguimiento a la pérdida de peso y demás eventos fisicoquímicos que experimentaron las muestras analizadas en función del cambio de temperatura, en el rango de 25 a 1000°C.

En la figura 3.1 se muestran las curvas de ATD/TG correspondientes al sólido de ZnO obtenido por la ruta química descrita en el numeral 2.5.2.1. En la curva TG (Figura 3.1(a)) se puede observar que a partir de \sim 25°C y hasta alcanzar una temperatura de \sim 81°C, se presentó una pérdida de peso de \sim 8,5%, que se podría asociar a la volatilización del agua adsorbida en la superficie del material. A continuación, se evidenció una pérdida de peso apreciable de \sim 10,2 %, desde \sim 81°C hasta \sim 141°C, que se podría asociar tanto a la volatilización del agua quimisorbida como a la descomposición del hidróxido de amonio. Como se observa, la mayor pérdida de peso se presentó entre \sim 141°C y \sim 308°C, del \sim 46%, que podría

atribuirse a la oxidación de la fase orgánica presente en el sólido; inicialmente se formarían los oxi-carbonatos de zinc y su posterior descomposición permitiría obtener el ZnO de interés. Finalmente, la muestra adquirió un peso aproximadamente constante de 4,89 mg, desde 309°C a 1000°C.

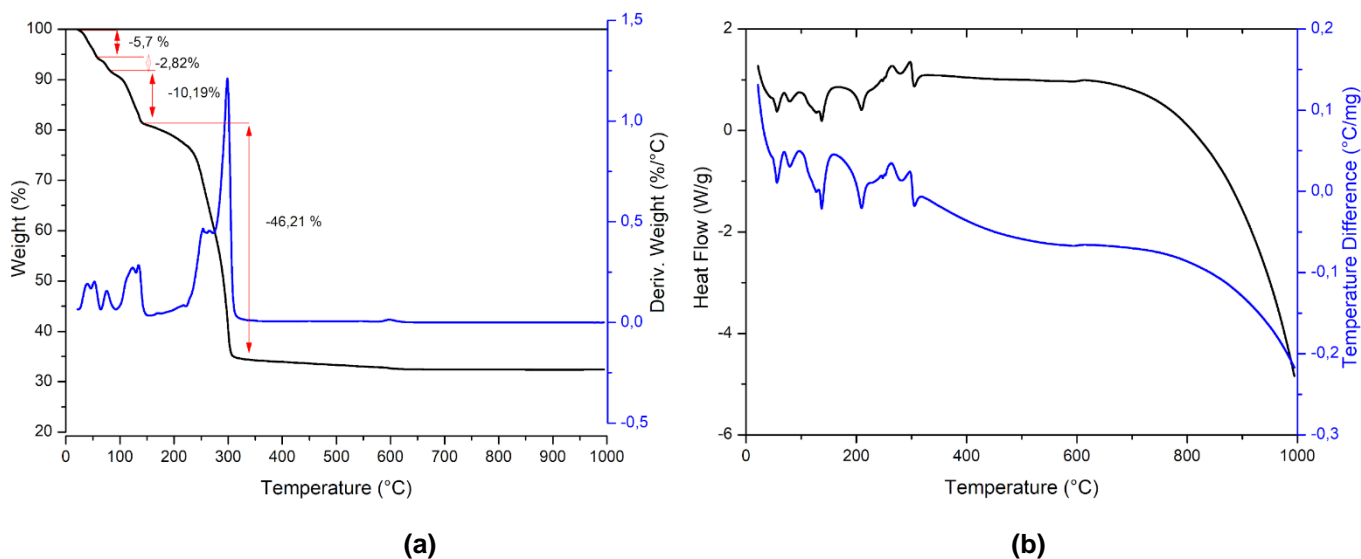


Figura 3.1. Análisis térmico correspondiente a la muestra sintetizada por la ruta química empleada en el este trabajo: (a) análisis termogravimétrico y (b) análisis termo-diferencial.

Fuente: Propia.

En la curva de ATD, Figura 3.1(b), se evidenciaron diferentes procesos fisicoquímicos que experimentó el sólido al ser sometido al tratamiento térmico correspondiente. Inicialmente, se observa un pico endotérmico a ~56 °C que se podría asociar a la volatilización del agua fisisorbida en la superficie de la muestra. A continuación, se aprecian dos picos de la misma naturaleza endotérmica, a ~137 y ~208 °C, que podrían corresponder a la descomposición del amoníaco y a la volatilización del agua quimisorbida, respectivamente. Adicionalmente, se presentan dos picos de naturaleza exotérmica ubicados a ~262°C, que se podría asociar a la descomposición de los compuestos orgánicos propiciando la formación de oxi-carbonatos de zinc, y otro a ~296 °C que correspondería a la descomposición de estos compuestos para producir el óxido de zinc.

Por otro lado, en la Figura 3.2(a) se muestra la curva TG correspondiente al sólido sintetizado por la ruta verde, empleando extracto de ají, descrita en el numeral 2.5.2.2. En esta curva se observa que a partir de $\sim 23^{\circ}\text{C}$ y hasta $\sim 144^{\circ}\text{C}$ la muestra presentó una pérdida de peso de $\sim 8,6\%$ que se podría asociar a la eliminación del agua fisisorbida en la superficie del material. Posteriormente, se observó una abrupta pérdida de peso de $\sim 75\%$, entre ~ 144 y $\sim 485^{\circ}\text{C}$, que podría atribuirse a la descomposición térmica de compuestos orgánicos, principalmente de las biomoléculas de ají que rodearían al sólido y que generarían productos volátiles, propiciando la consolidación del ZnO. Por último, a partir de $\sim 500^{\circ}\text{C}$, la muestra no sufrió degradación ni pérdida de peso.

En la curva ATD del sólido sintetizado y secado a $\square 100^{\circ}\text{C}$ por una ruta verde, Figura 3.2(b), se evidencia la oxidación de la fase orgánica, específicamente de las biomoléculas del ají contenidas en la muestra, relacionada con los picos exotérmicos a ~ 330 y $\sim 450^{\circ}\text{C}$. A partir de los $\square 500^{\circ}\text{C}$ se presentó en la curva ATD una variación apreciable de su línea de base lo que indicaría variación de las propiedades térmicas del sólido obtenido (por ejemplo, conductividad y capacidad térmica), con relación al material de referencia.

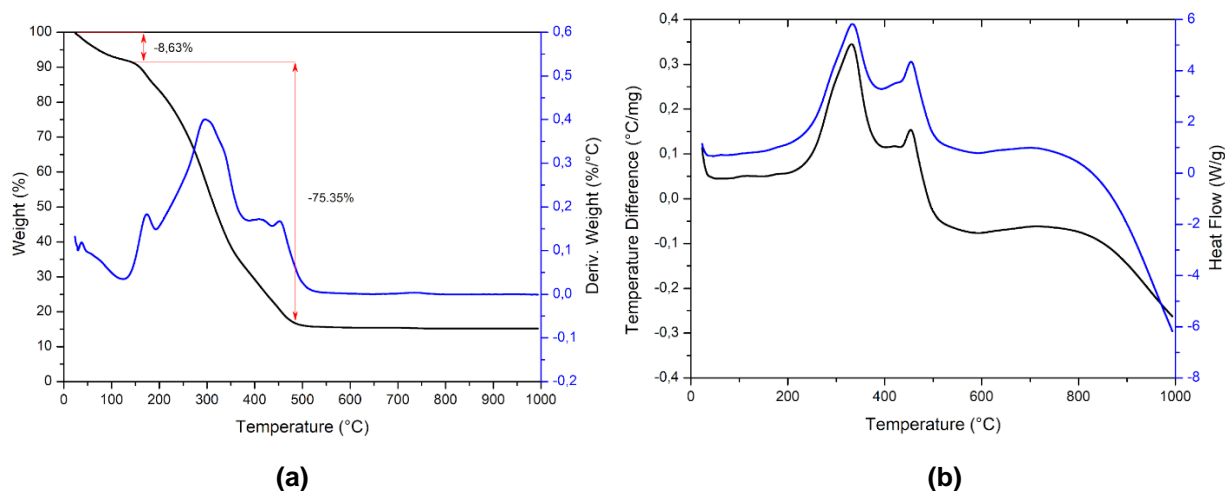


Figura 3.2. Análisis térmico correspondiente a la muestra sintetizada por la ruta verde empleada en este trabajo: (a) análisis termogravimétrico (b) análisis termodiferencial. **Fuente:** Propia.

3.2.2. Grupos funcionales presentes en los materiales sintetizados

En el presente trabajo de investigación, para obtener los espectros IR de los sólidos de interés, inicialmente se mezcló el sólido sintetizado con bromuro de potasio (KBr), en una proporción aproximada de 1:9 respectivamente, hasta obtener una mezcla homogénea. Luego, esta muestra fue sometida a presión, usando un troquel de acero inoxidable, hasta conformar una pastilla traslúcida que se colocó en el portamuestras del espectrofotómetro infrarrojo Thermo Scientific Nicolet iS10, realizando un barrido entre 400 y 4000 cm^{-1} .

En la Figura 3.3 se muestra el espectro IR obtenido para el sólido sintetizado usando la ruta química (descrita en el numeral 2.5.2.1), tratado a 450°C. En este espectro se observa una banda intensa alrededor de $\sim 460 \text{ cm}^{-1}$, en la región característica de los enlaces M - O y M - OH que, para este caso, el elemento metálico M sería el Zn (Mazabuel-Collazos, Gómez, & Rodríguez-Páez, 2018), indicando la predominancia del ZnO en el sólido. La banda ubicada a $\sim 1240 \text{ cm}^{-1}$ podría corresponder al enlace simple C—O, mientras que la ubicada en $\sim 1733 \text{ cm}^{-1}$ se podría asociar a las vibraciones de los grupos funcionales C=O; la banda amplia e intensa alrededor de $\sim 3400 \text{ cm}^{-1}$, está relacionada con enlaces de estiramiento de los grupos hidroxilo (OH \cdot) (Maensiri, Laokul, & Promarak, 2006). Adicionalmente, aparecen otras bandas a $\sim 2340 \text{ cm}^{-1}$, relacionada con el CO $_2$ absorbido del ambiente, y $\sim 2900 \text{ cm}^{-1}$, que se podría asociar a enlaces C - H de contaminantes tipo hidrocarburos.

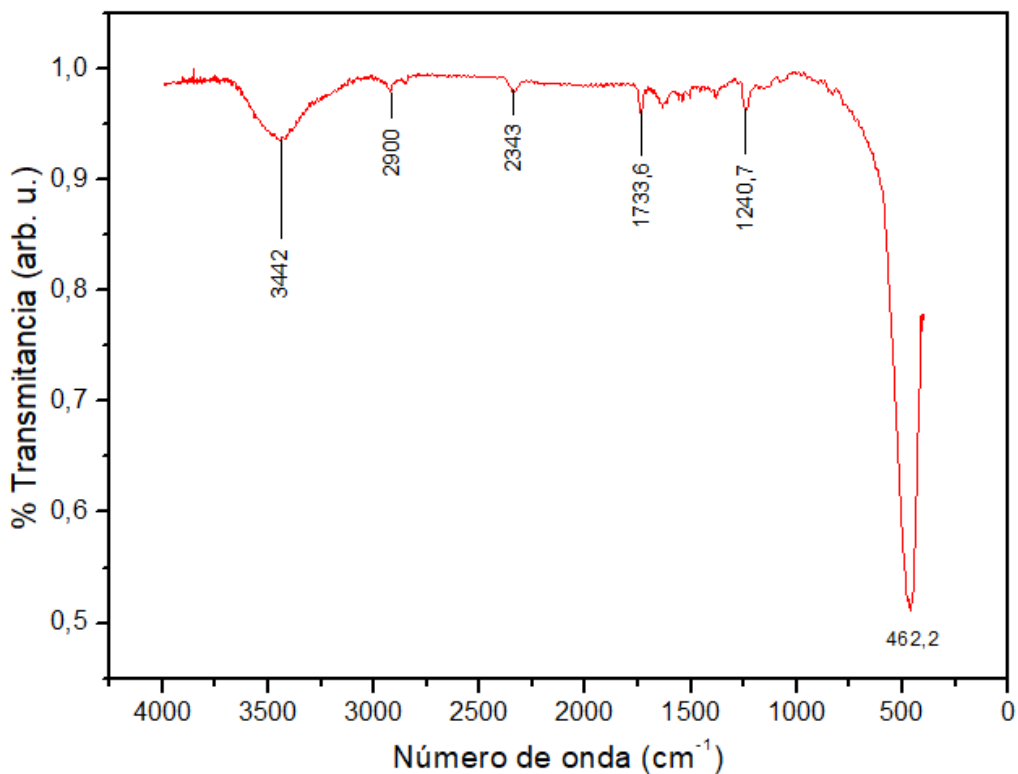


Figura 3.3. Espectro IR de las ZnO-NPs sintetizadas por el método de precipitación controlada, ruta química, tratadas a 450 °C. **Fuente:** Propia.

En la figura 3.4 se muestran los espectros IR correspondientes al sólido sintetizado por la ruta verde empleada en este trabajo (descrita en el numeral 2.5.2.2) y para el ají puro. Al comparar las bandas presentes en los respectivos espectros IR, es evidente la presencia de algunas de las bandas características del ají en el espectro del material sintetizado por la ruta verde, siendo estas las ubicadas a: ~1742, ~1635, ~1385, ~1239 y ~1072 cm⁻¹. Este resultado indica que el sólido sintetizado contendría biomoléculas constituyentes al ají. Además, en los espectros IR de la figura 3.4, se observa la banda asociada a los grupos hidroxilo – OH, alrededor de ~3400 cm⁻¹; así como bandas correspondientes a los grupos funcionales C - H, en ~2920 cm⁻¹, al agua, a ~1630 cm⁻¹, una banda a ~1400 cm⁻¹ que podría corresponder grupos COO⁻ y una amplia, de intensidad apreciable ubicada alrededor de ~500 cm⁻¹, que contendría información de los grupos funcionales Zn - O y Zn - OH.

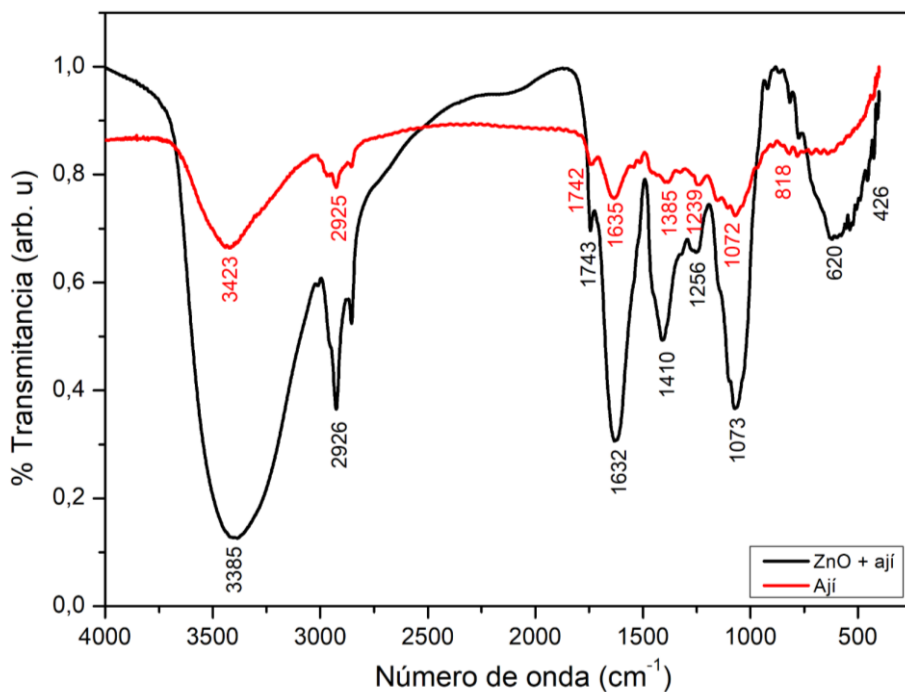


Figura 3.4. Espectros IR obtenido para el ZnO sintetizado por ruta verde, haciendo uso de extracto de ají, y el del ají puro. **Fuente:** Propia.

Para obtener más información de los espectros IR de los sólidos sintetizados (figuras 3.3 y 3.4) y considerando que en la región comprendida entre 400 y 1000 cm^{-1} de los mismos se encuentra la información de los enlaces del Zn, se realiza la deconvolución de esta zona empleando el programa Origin pro 8.5. El resultado de este proceso se indica en la figura 3.5, donde se hacen más evidentes las bandas características de los enlaces Zn-O y Zn-OH, a ~ 446 , ~ 469 y ~ 520 , para la síntesis química; y a ~ 437 , ~ 504 y ~ 614 cm^{-1} , para la síntesis verde (Farmer, 1974). La diferencia más relevante es el desplazamiento de las bandas que se podría justificar por la presencia de carbono en el material sinterizado por ruta verde. Por lo tanto, considerando la rotulación de las bandas de la figura 3.5, es posible correlacionar la banda ν_2 (ruta química) con la banda ν_3 (ruta verde) y ν_3 (ruta química) con ν_2 (ruta verde), que corresponderían a modos vibracionales característicos del ZnO.

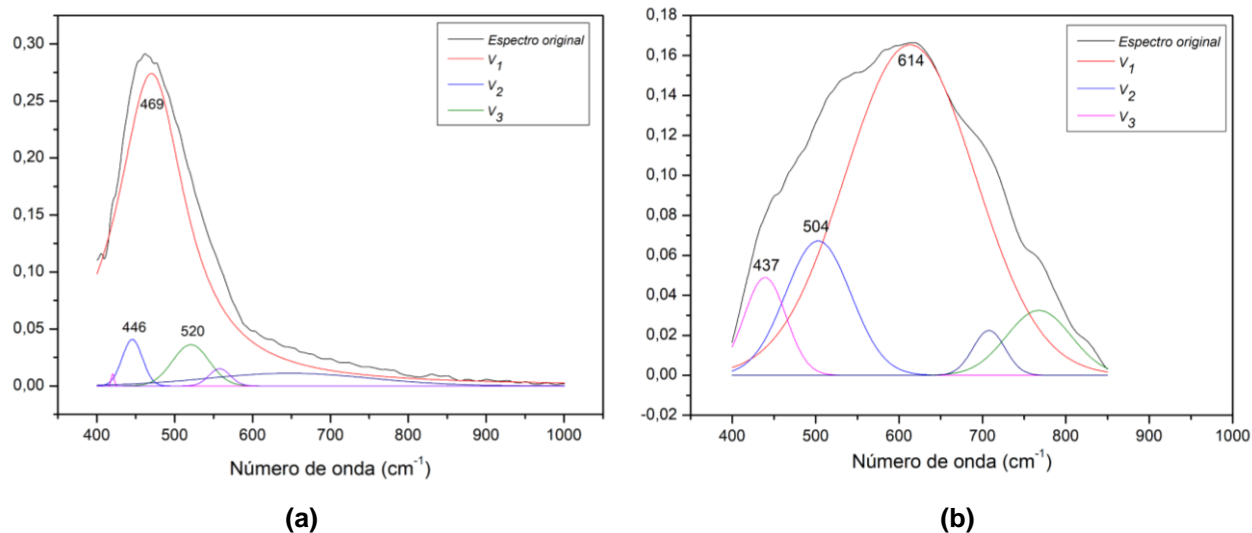


Figura 3.5. Deconvolución de los espectros IR, en el rango entre 400 y 1000 cm^{-1} , correspondientes a sólidos sintetizados por: **(a)** precipitación controlada (ruta química) y **(b)** una ruta verde utilizando el extracto de ají a una concentración de 50000 ppm. **Fuente:** Propia.

3.2.3. Información química y estructural de los materiales sintetizados obtenida utilizando espectroscopia Raman.

Para la realización de este análisis, las muestras del material sintetizado fueron dispuestas en un porta-muestras, sin una preparación previa, para luego ser analizadas empleando un espectrómetro QE Pro-Raman+ de 785 nm de alta sensibilidad que proporciona bajos límites de detección, enfriamiento termoeléctrico y con una mejora de sensibilidad 3x.

Con el fin de adquirir más información sobre los modos vibracionales de los sólidos obtenidos, usando las dos rutas de síntesis empleadas en este trabajo, se empleó espectroscopía Raman. El espectro Raman obtenido del sólido sintetizado por ruta química (precipitación controlada - MPC) se indica en la figura 3.6 Para un cristal perfecto de ZnO, sólo los fonones ópticos del grupo puntual Γ de la zona de Brillouin están involucrados en la dispersión Raman de primer orden. Los fonones ópticos del centro de la zona predicen la existencia de los siguientes modos polares $\Gamma_{\text{opt}} = A_1 + 2B_1 + E_1 + 2E_2$, donde los modos con simetría E degenerados de segundo orden y los modos polares A_1 y E_1 son activos tanto en Raman como en IR y se

dividen en modos ópticos transversales (TO) y modos ópticos longitudinales (LO). Por otro lado, los modos B_1 son silenciosos y E_2 es un modo no polar que consta de modos de fonones high y low de frecuencia, activos solo en Raman.

Como se observa en el espectro Raman de la figura 3.6, este presentó una alta relación señal – ruido, así como una alta fluorescencia. A pesar de estas peculiaridades del espectro, se pudieron identificar y asignar las bandas características del ZnO, utilizando para ello las reportadas en la literatura. Así, en el espectro de la figura 3.6, se identificaron los picos a: 295 cm^{-1} , que se podría asignar a un modo de diferencia $B_1^{\text{high}} - B_1^{\text{low}}$; 371 cm^{-1} , al modo óptico transversal $A_1(\text{TO})$; 536 cm^{-1} , que se puede atribuir a los sobretonos 2B y LA; 413 cm^{-1} , al modo óptico transversal $E_1(\text{TO})$, 422 cm^{-1} , al E_2^{high} asociado a la vibración del oxígeno, y el modo óptico longitudinal $A_1(\text{LO})$ a 572 cm^{-1} , que indicaría la existencia de defectos en la estructura (Calleja & Cardona, 1977). Por encima de 600 cm^{-1} se encuentran bandas que corresponden a combinaciones de modos ópticos y acústicos, denominados modos multifonónicos. La banda a 614 cm^{-1} se podría asignar a la combinación de los modos acústico y óptico transversal (AT + TO).

En la Tabla 3.1 se indican las frecuencias Raman y procesos asociados (modos fonónicos) correspondiente al ZnO sintetizado a través del método de precipitación controlada, tomando como referencia el trabajo de (Cuscó et al., 2007).

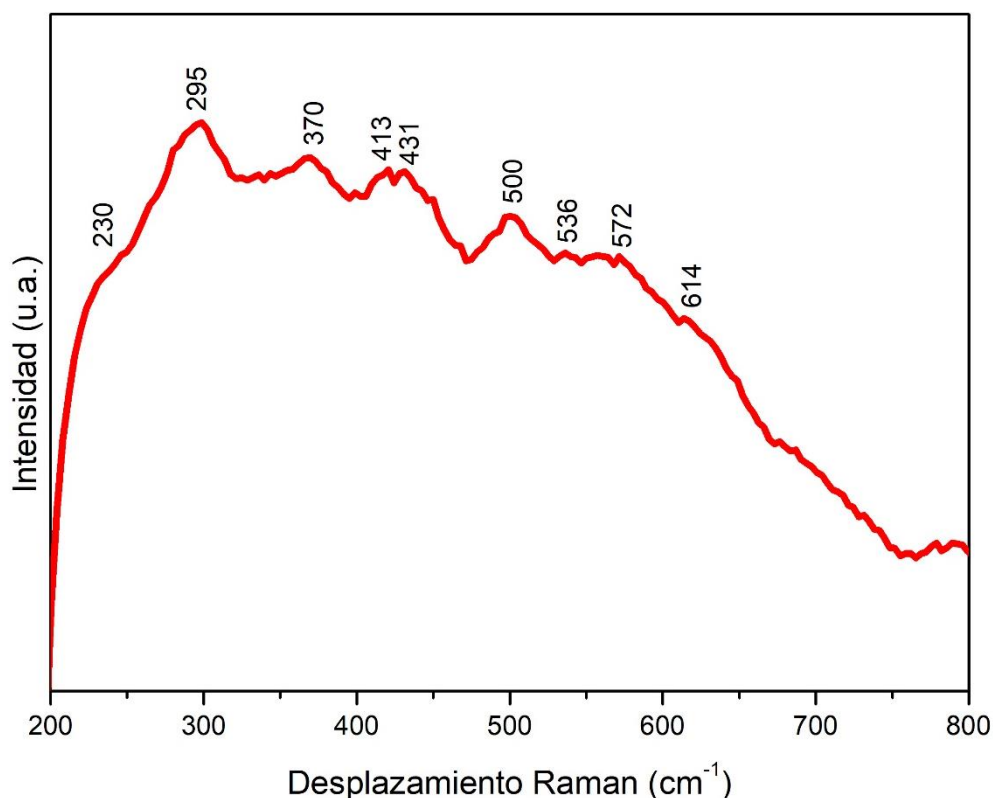


Figura 3.6. Espectro Raman correspondiente al ZnO sintetizado por el método de precipitación controlada (ruta química), tratado térmicamente a 450°C. **Fuente:** Propia.

Tabla 3.1. Modos vibracionales activos en Raman y sus procesos asociados correspondientes al ZnO sintetizado por una ruta química (**Fuente:** (Cuscó et al., 2007))

Desplazamiento Raman del ZnO de Referencia (cm ⁻¹)	Desplazamiento Raman del ZnO sintetizado – ruta química (cm ⁻¹)	Modo fonónico
203	230	2E ₂ ^{low}
284	295	B ₁ ^{high} – B ₁ ^{low}
378	370	A ₁ (TO)
410	413	E ₁ (TO)
438	431	E ₂ ^{high}
536	536	2B ₁ ^{low} - 2LA
574	572	A ₁ (LO)
618	614	TA + TO

En la figura 3.7 se muestra el espectro Raman obtenido para el sólido sintetizado por la ruta verde empleada en este trabajo, usando extracto de ají, y, en la tabla 3.2, se indican las bandas más importantes y los procesos asociados a estas.

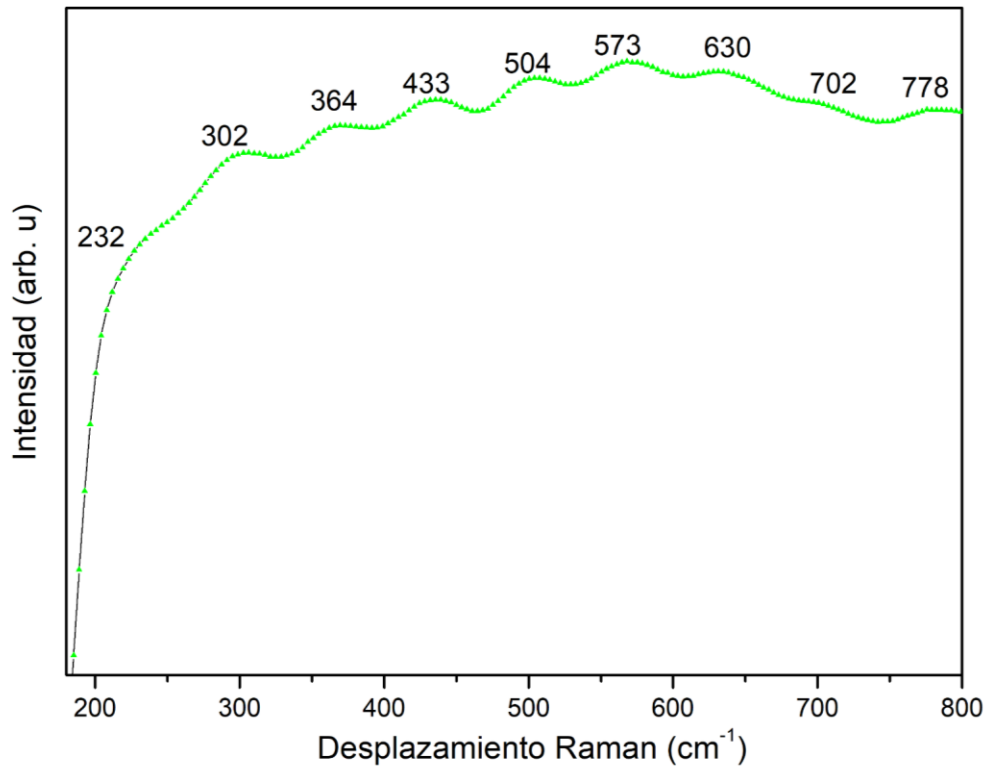


Figura 3.7. Espectro Raman del sólido sintetizado por ruta verde, empleando extracto de ají. Fuente: Propia.

En el espectro Raman del sólido obtenido por la ruta verde (figura 3.7) son evidentes los modos vibracionales óptico transversal $A_1(\text{TO})$, a 364 cm^{-1} , y el óptico longitudinal $A_1(\text{LO})$, a 573 cm^{-1} , así como los modos multifonónicos que corresponden a la combinación $\text{LA}+\text{TO}$, a 702 y 778 cm^{-1} , característicos del ZnO . Además, se identificó la banda correspondiente al modo no resonante E_2^{high} , a 433 cm^{-1} , asociado, principalmente, a la vibración del oxígeno y cuya pronunciada asimetría se puede atribuir al desorden reticular que presenta el sólido, es decir, a la presencia de defectos de oxígeno. Así mismo, hay bandas representativas del material analizado que se podrían atribuir a la presencia de compuestos orgánicos

aportados, principalmente, por el extracto de ají, las cuales se ubican a 302 y 630 cm^{-1} (figura 3.7).

Tabla 3.2. Modos vibracionales activos en Raman y sus procesos asociados correspondientes al ZnO sintetizado por la ruta verde empelado en este trabajo (Fuente:(Cuscó et al., 2007)).

Desplazamiento Raman del ZnO Referencia (cm^{-1})	Desplazamiento Raman del ZnO sintetizado – ruta química (cm^{-1})	Modo fonónico
203	232	$2E_2^{\text{low}}$
378	364	$A_1(\text{TO})$
438	433	E_2^{high}
574	573	$A_1(\text{LO})$
700	702	LA + TO
773	778	LA + LO

Comparando los espectros Raman y los datos indicados en sus respectivas tablas, de los sólidos sintetizados por una ruta química (Figura 3.6 – Tabla 3.1) y por una ruta verde (Figura 3.7 – Tabla 3.2), se encuentra que son similares, con un ligero desplazamiento de las bandas características del ZnO. Estos resultados indican que, en los sólidos sintetizados en este trabajo utilizando diferentes rutas, predomina el ZnO. Específicamente, para el sólido sintetizado por la ruta verde (descrita en el numeral 2.5.2.2), según los resultados de las espectroscopias Raman (Figura 3.7 – Tabla 3.2) e infrarroja (Figura 3.4), estarían conformados tanto por ZnO como por biomoléculas de ají. Esto lleva a considerar que el material obtenido, mediante este proceso de síntesis, puede presentar una estructura especial, tipo “core – Shell”, donde existiría un sustrato o “core”, constituido principalmente por el ZnO, y un recubrimiento, “Shell” o “capping” conformado por las biomoléculas del ají, generando un nanobiohíbrido con base en ZnO.

Por otro lado, los resultados obtenidos con espectroscopía Raman ponen en evidencia que los sólidos sintetizados, utilizando las dos rutas (química y verde), poseen defectos superficiales y desórdenes reticulares en su estructura.

3.2.4. Transiciones electrónicas en las NPs sintetizadas

Para la caracterización del material obtenido en el presente trabajo, utilizando la espectroscopia de absorción UV-Vis, se prepararon suspensiones de etilenglicol con los polvos sintetizados, las cuales fueron sometidas a sonicación durante 15 minutos, con el fin de romper los aglomerados que se pudieron formar. Luego, la suspensión se transfirió a una celda de cuarzo, de 1 cm de ancho, la cual se colocó en el porta-muestra del equipo spectrophotometer CT - 8600. Para obtener el espectro de absorción UV-Vis de la muestra, se realizó un barrido entre 200 nm y 900 nm de longitud de onda. Por otro lado, para realizar el análisis de reflectancia difusa, las muestras sólidas se dispusieron en el porta-muestras del equipo UV Jasco V-700 spectrophotometer, sin realizarles ningún tratamiento especial.

En la figura 3.8 se muestra el espectro de absorción en el UV-Vis de los sólidos sintetizados. Específicamente, en la figura 3.8(a), se indican los espectros de absorción UV-Vis para diferentes concentraciones del ZnO sintetizado por ruta química. En estos se evidencia una banda con un máximo de absorción en torno a la longitud de onda ~ 376 nm. El espectro de absorción decae progresivamente, no abruptamente como era de esperar, extendiéndose en el rango del espectro visible (mayor a 400 nm). Esto indicaría que ocurren transiciones electrónicas en esta zona propiciadas, principalmente, por los defectos existentes en la muestra; ya que los estados energéticos que ellos generarían al interior de la banda prohibida, denominados orbitales localizados (Kaygili et al., 2018), propiciarían y facilitarían estas transiciones. Por último, las bandas situadas entre aproximadamente 200 y 350 nm, podrían corresponder a transiciones electrónicas ocurridas en los niveles profundos de la banda de valencia, transferencia de carga entre los orbitales propios de los iones, así como indicar efectos de confinamiento cuántico debido al pequeño tamaño de las partículas sintetizadas (Talam, Karumuri, & Gunnam, 2012).

Por otro lado, en la figura 3.8 (b), se muestran los espectros de absorción UV-Vis para diferentes concentraciones de los nanobiohíbridos de ZnO. En ellos se puede observar un pico de absorción, alrededor de ~ 275 nm, para las concentraciones de 300 y 1000 ppm. Este comportamiento fue diferente para la muestra con 3000 ppm

de nanobiohíbridos donde se observó la saturación del espectro, impidiendo la identificación del pico de absorción. Así mismo, se observó una caída abrupta, no tan progresiva, del espectro a partir de ~300 nm, que se podría justificar considerando el “apantallamiento” generado por los hidroxilos y las biomoléculas presentes en la superficie del material, que impediría que el efecto de los defectos en las transiciones electrónicas se hiciera evidente.

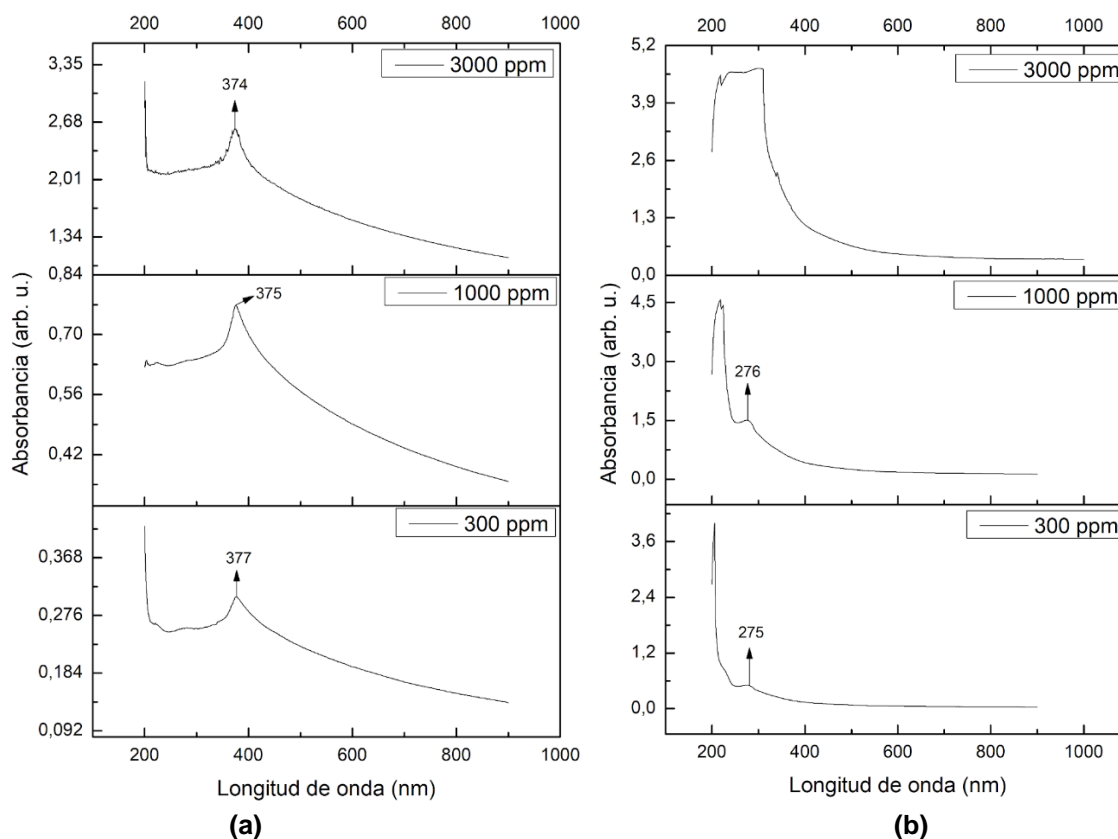


Figura 3.8. Espectros de absorción UV VIS de los sólidos sintetizados: **(a)** por una ruta química (MPC) y **(b)** de los nanobiohíbridos con base en ZnO sintetizados por una ruta verde. **Fuente:** Propia.

Con el fin de complementar los resultados obtenidos en UV-Vis, se utilizó la técnica de espectroscopía UV-Vis de reflectancia difusa. Esta técnica evita las dificultades que se presentan en la espectroscopía de absorción UV-Vis, donde se utiliza un medio líquido para suspender la muestra; las mediciones de reflectancia difusa se realizan empleando una muestra en polvo (Morales & Mora, 2006). En la figura 3.9

se muestran los espectros de reflectancia difusa correspondientes al ZnO obtenido por ruta química y para los nanobiohíbridos con base en ZnO, obtenidos por ruta verde. Estas curvas resaltan la gran diferencia, como también lo indican los espectros de absorción UV-Vis (figura 3.8).

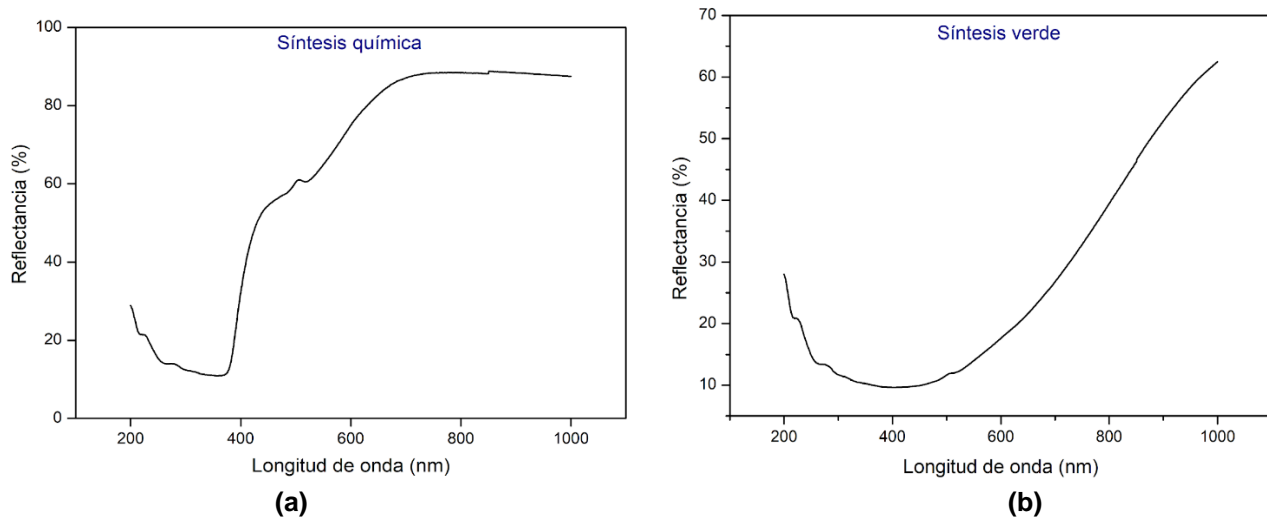


Figura 3.9. Espectros de reflectancia difusa correspondientes a las muestras: **(a)** ZnO obtenido por ruta química y **(b)** nanobiohíbridos con base en ZnO obtenidos por ruta verde. **Fuente:** Propia.

A partir de los datos de reflectancia difusa, obtenidos para las muestras de interés (figura 3.9), es posible determinar la banda prohibida de energía de cada sistema, haciendo uso del modelo de Kubelka - Munk, que establece la siguiente ecuación (Abdullahi et al., 2016):

$$F(R) = \frac{(1 - R)^2}{2 - R}$$

donde R es la reflectancia y $F(R)$ es conocida como la función de Kubelka - Munk, la cual es equivalente al coeficiente de absorción α , que, para sólidos semiconductores, se establece mediante la ecuación (Morales & Mora, 2006):

$$\alpha = \frac{B (h\nu - E_g)^n}{h\nu}$$

dando como resultado una modificación a este modelo, de tal manera que:

$$[F(R)hv]^2 = B(hv - E_g)^2$$

Siendo h la constante de Planck, ν la frecuencia de radiación incidente, B una constante de proporcionalidad, E_g la energía del gap y n denota la naturaleza de la transición electrónica que presenta el material, de acuerdo a su estructura de bandas, y puede tomar valores de $\frac{1}{2}$, $\frac{3}{2}$, 2 y 3, para transiciones directas permitidas, prohibidas directas, permitidas indirectas y prohibidas indirectas, respectivamente. En este caso, el ZnO presenta una transición directa por lo que se toma $n = \frac{1}{2}$.

En la figura 3.10 se muestran las funciones de Kubelka - Munk las cuales se obtuvieron graficando $(F(R)hv)^2$ en función de hv . El valor de E_g se determinó extrapolando la región lineal de la gráfica hasta cortar el eje de la energía, tal como se muestra en la figura 3.10. Observando las funciones de Kubelka - Munk para las muestras obtenidas (figura 3.10), es evidente la diferencia entre ellas y los valores de energía del gap obtenidos para las muestras, siendo de $E_g = 3,15$ eV, para el ZnO sintetizado por la ruta química (figura 3.10(a)), y de $E_g = 1,97$ eV para los nanobiohíbridos con base en ZnO (figura 3.10(b)), frente a un valor reportado en la literatura de 3.3 eV (Chitra, Mangamma, Uthayarani, Neelakandeswari, & Girija, 2020).

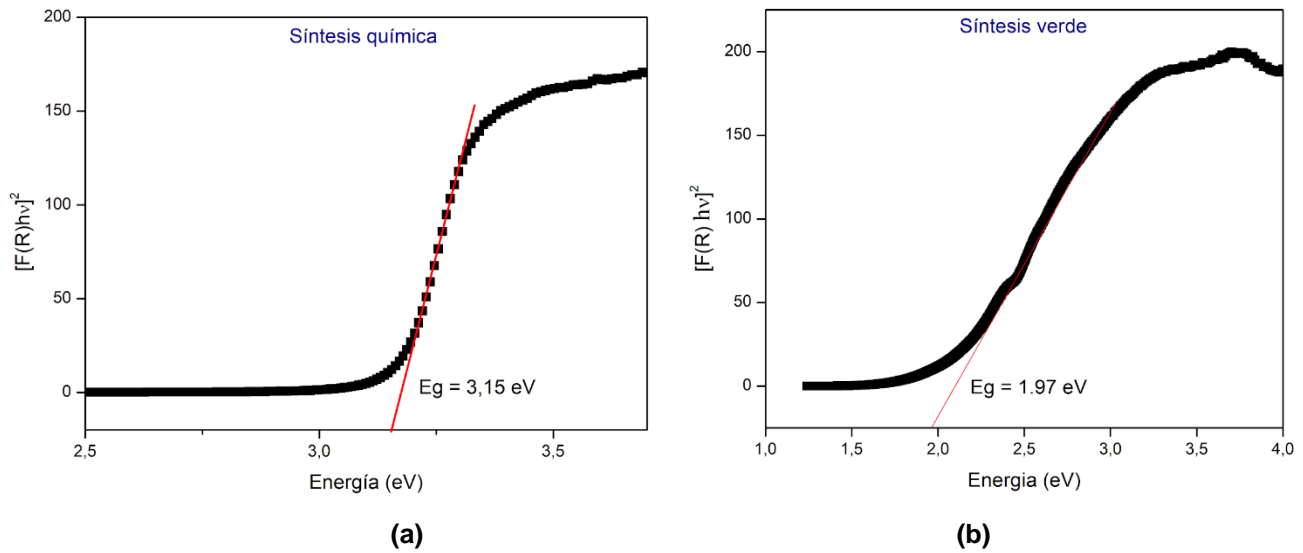


Figura 3.10. Curvas de $[F(R)hv]^2$ en función de $h\nu$ para las muestras de: **(a)** ZnO obtenido por ruta química y **(b)** nanobiohíbridos con base en ZnO obtenidos por ruta verde. **Fuente:** Propia.

Por otro lado, para determinar la energía de Urbach, que da información sobre el desorden estructural de cada muestra, se graficó el $\ln F(R)$ en función de $h\nu$ tomando los datos de espectroscopia de reflectancia difusa obtenidos, para cada una de las muestras analizadas (figura 3.11), y se utilizaron los valores del inverso de la pendiente de la zona lineal, por debajo del valor de E_g , para realizar el cálculo de esta energía. En este caso, se obtuvieron los valores de 190 meV para el ZnO sintetizado por ruta química (figura 3.11(a)) y de 270 meV para los nanobiohíbridos con base de ZnO (figura 3.11(b)), valores que indican que estos sólidos presentan estructuras desordenadas.

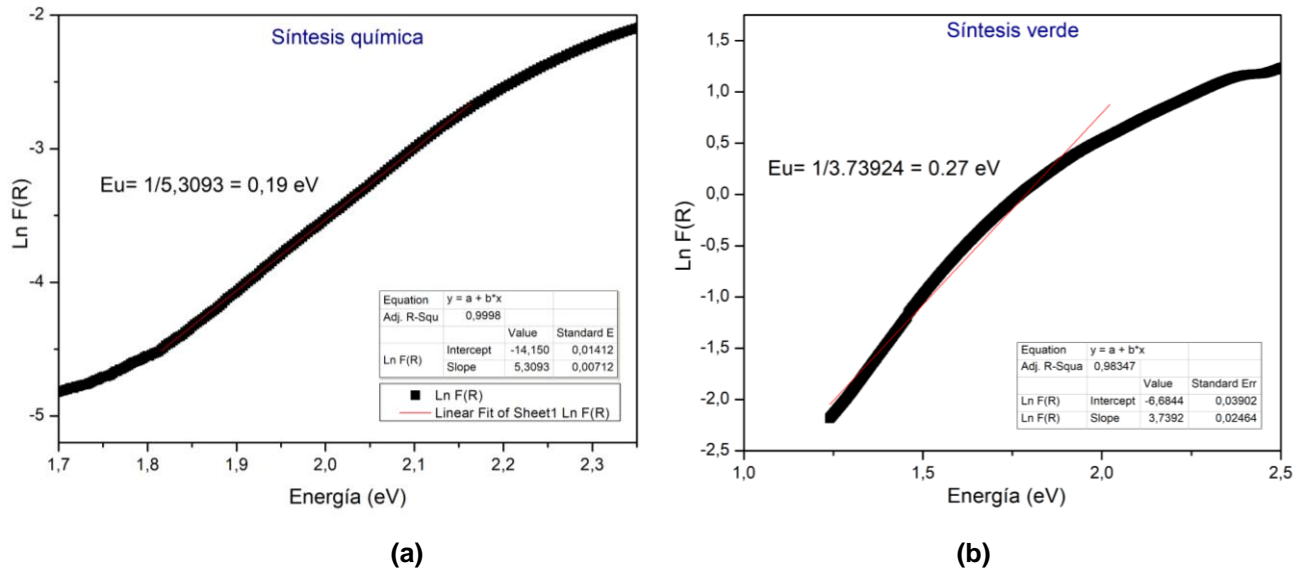


Figura 3.11. Curvas utilizadas para determinar la Energía de Urbach de las muestras de: **(a)** ZnO obtenido por ruta química y **(b)** nanobiohíbridos con base en ZnO obtenidos por ruta verde. **Fuente:** Propia.

3.2.5. Difractogramas de rayos X de las NPs sintetizadas.

Los materiales sintetizados en este trabajo se caracterizaron utilizando DRX. Para ello, la muestra fue molturada y homogeneizada en un mortero de ágata y, posteriormente, se colocó en un porta-muestras de polimetilmetacrilato (PMMA), mediante la técnica de llenado frontal. El registro de datos se realizó en un difractómetro de polvo marca BRUKER modelo D8 ADVANCE con Geometría DaVinci bajo las siguientes condiciones de trabajo: rango de registro de 2° a 70° (2θ), tiempo por paso de 0,6 s y tamaño de paso $0,02035^\circ$ (2θ).

En la figura 3.12 se muestra el difractograma de rayos X del polvo cerámico de ZnO sintetizado por la ruta química empleada en este trabajo. Analizando el difractograma obtenido este correspondió a ZnO tipo zincita (PDF [2300112](#)).

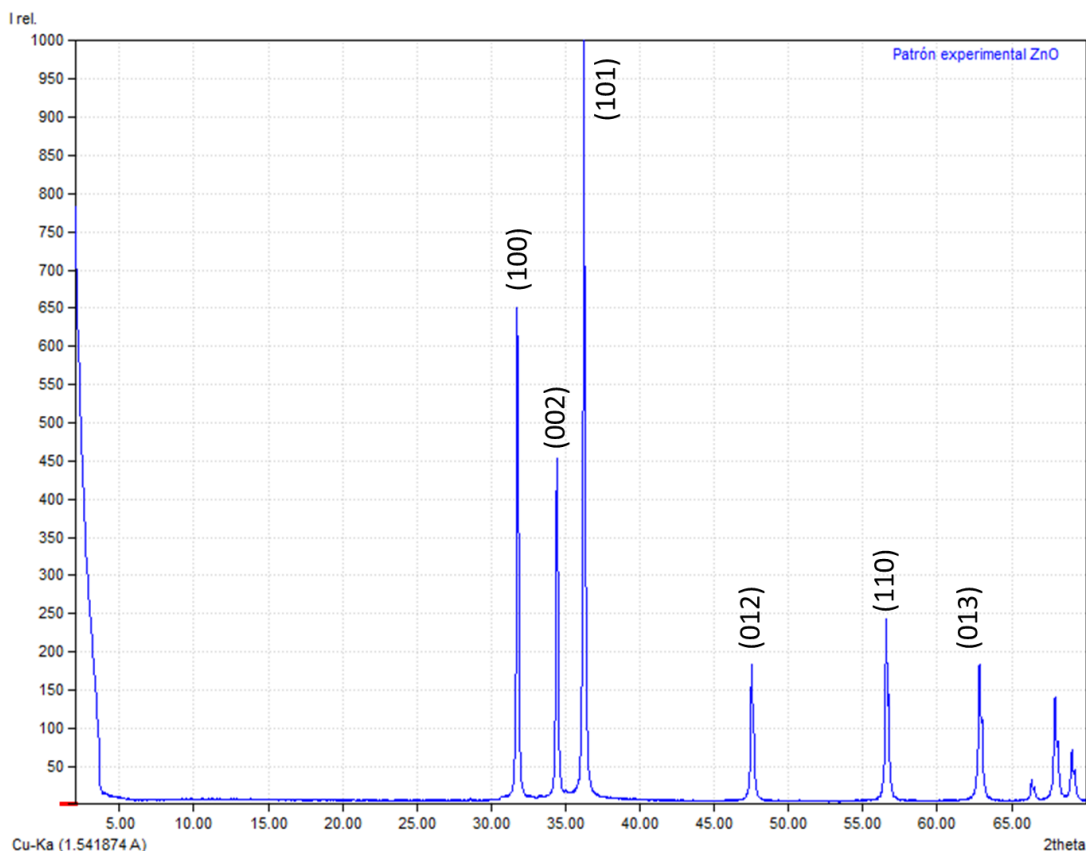


Figura 3.12. Difractograma de rayos x del sólido de ZnO sintetizado por el método de precipitación controlada (ruta química). **Fuente:** Propia.

Con el objetivo de obtener más información estructural de la muestra sintetizada por la ruta química (figura 3.12), se utilizó el método de refinamiento de Rietveld que se basa en un modelo de mínimos cuadrados para ajustar la línea base y el difractograma de referencia con el obtenido experimentalmente (Cano, 2006). Para ello se empleó el software libre FullProf obteniéndose los parámetros cristalográficos indicados en la Tabla 3.3.

Tabla 3.3. Parámetros cristalográficos obtenidos para el sólido de ZnO, sintetizado por una ruta química, utilizando refinamiento Rietveld.

Muestra	Sistema cristalino	Parámetros de red			Grupo espacial
		a	b	c	
Óxido de zinc (ZnO)	Hexagonal	3,2503 Å	3,2503 Å	5,2064 Å	P 63 mc

Los datos experimentales de difracción de rayos X obtenidos se utilizaron para determinar el tamaño de cristalito. Para ello se utilizó la ecuación de Debye Scherrer:

$$t_c = \frac{k \lambda}{B \cos\theta}$$

Dónde: λ es la longitud de onda de la radiación de rayos X, k es la constante de Scherrer dependiente de la simetría del cristalito, θ es el ángulo de Bragg relacionado con la ubicación del pico en el difractograma y B es el ancho a la altura media del pico de difracción (FWHM) (Cullity, 1978). Los picos que se utilizaron, para realizar este cálculo fueron los más intensos, el (101) y (100) (Figura 3.12), y los resultados obtenidos se indican en la tabla 3.4.

Tabla 3.4. Datos experimentales de los picos (101) y (100) utilizados para determinar el tamaño del cristalito y los valores obtenidos, correspondientes a la muestra de ZnO sintetizada en este trabajo por una ruta química.

Picos	k	λ (nm)	FWHM		2 θ		Tamaño de cristalito (nm)
			°	rad	°	rad	
(101)	0,89	0,15406	0,1628	$2,84 \times 10^{-3}$	36,27	0,63	50,77
(100)			0,1628	$2,84 \times 10^{-3}$	31,77	0,55	50,16

En la Tabla 3.4 se observa que no hay una diferencia apreciable en los tamaños de cristalitos calculados, utilizando los picos indicados, por lo que el cristalito tendría el mismo tamaño en estas dos direcciones cristalográficas.

En la figura 3.13 se muestra el difractograma de rayos x correspondiente a los nanobiohíbridos con base en ZnO sintetizados por una ruta verde, utilizando extracto de ají. Se evidencia que el sólido presentaba una estructura amorfa.

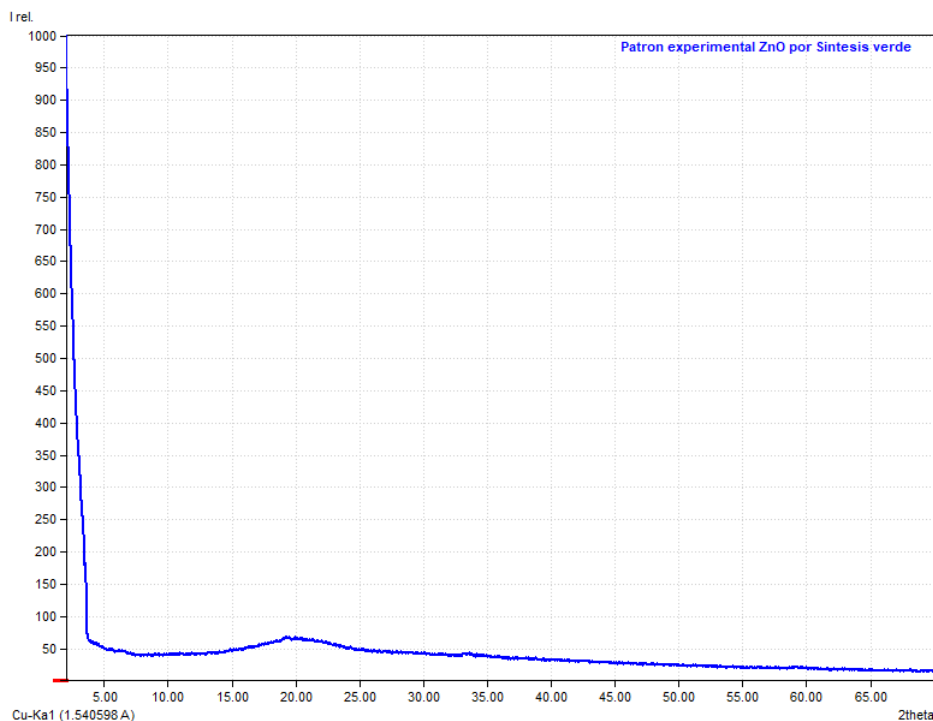


Figura 3.13. Difractograma de rayos x del sólido de los nanobiohíbridos con base en ZnO sintetizados por ruta verde. **Fuente:** Propia.

3.2.6. Espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS)

El equipo utilizado para realizar esta caracterización fue un espectrómetro fotoelectrónico de rayos-X (NAP-XPS) marca Specs con un analizador PHOIBOS 150 1D-DLD, usando una fuente monocromática de Al-K α (1486.7 eV, 13 kV, 100 W), con energía de paso de 86,36 eV, para los espectros generales, y 20 eV para los espectros de alta resolución; el paso fue de 1 eV para los espectros generales y de 0,1 eV para los espectros de alta resolución. Para cada espectro de alta resolución se realizaron 20 ciclos y para los espectros generales 5 ciclos. Se usó compensación de carga de 3eV y 20 μ A.

En la figura 3.14(a) se muestra el espectro general de espectroscopia fotoelectrónica de rayos X (XPS) obtenido para el polvo de ZnO sintetizado por ruta química, en él se identifican las señales del zinc (Zn 2p – 3s – 3p – 3d), oxígeno (O 1s) y carbono (C 1s), principalmente. Debido a que esta técnica analiza las primeras monocapas atómicas de la superficie del material, es de esperar que la señal del

carbono que aparece en el espectro (figura 3.14(a)) corresponda a un grupo funcional carbonoso adsorbido sobre la superficie. Por otro lado, en la figura 3.14(b) se observa el espectro general de XPS para la muestra obtenida por ruta verde. En este caso, el espectro contiene las señales del carbono (C 1s), zinc (Zn 2p – 3s – 3p – 3d) y oxígeno (O 1s). Este resultado indica que, en la superficie del sólido obtenido, utilizando la ruta verde propuesta, se presentan grupos funcionales orgánicos, que podrían estar relacionados con las biomoléculas del ají habanero, *Capsicum chinense*, utilizado en la síntesis de este sólido. Este resultado reiteraría la información obtenida con espectroscopia IR (figura 3.4) y Raman (figura 3.7) que indican que en estos sólidos el “core”, ZnO, estaría rodeado por biomoléculas de ají.

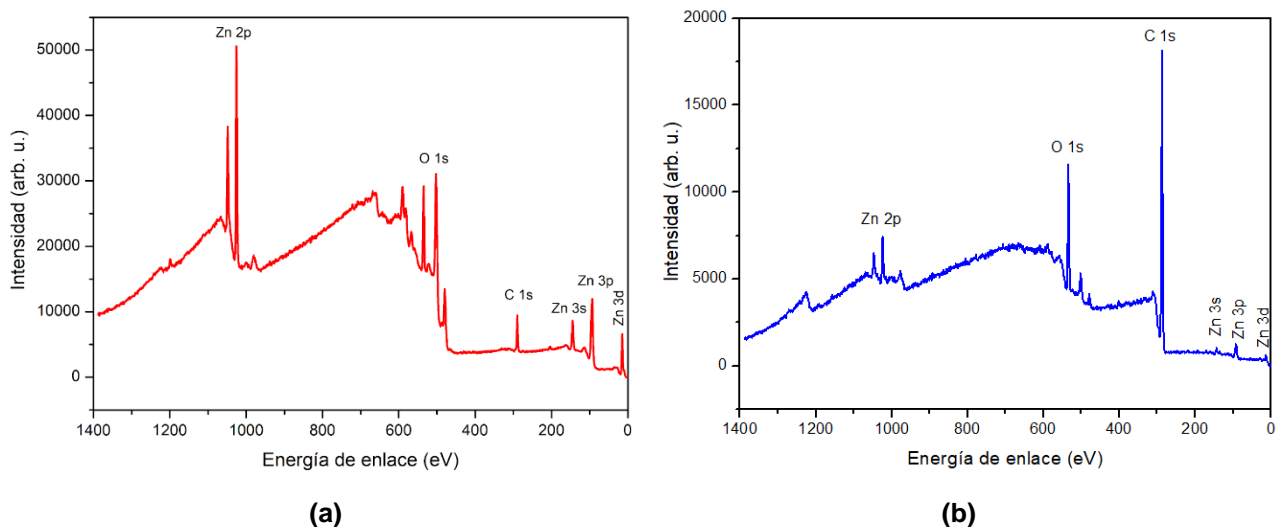
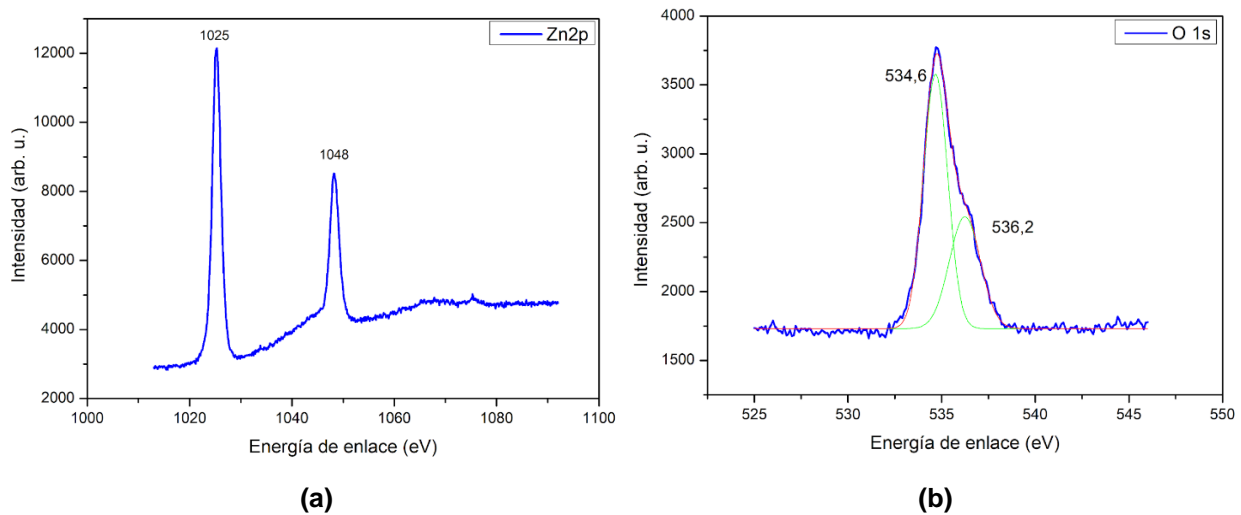


Figura 3.14. Espectros generales de XPS para los sólidos sintetizados por: (a) una ruta química (ZnO – NPs) y (b) una ruta verde (nanobiohíbridos con base en ZnO). **Fuente:** Propia.

Para obtener más información sobre la composición química superficial del ZnO sintetizado por la ruta química empleada en este trabajo, se analizaron específicamente algunas de las señales que aparecen en la figura 3.14(a). En la figura 3.15(a) se muestra espectro deconvolucionado, correspondiente al Zn 2p y se observa un doblete atribuido a la especie Zn^{2+} , con picos en 1025,2 eV, atribuido al Zn 2p_{1/2}, y a 1048,2 eV, al Zn 2p_{3/2}. Los picos obtenidos para la señal O 1s, en el presente trabajo (figura 15(b)), están desplazados con respecto a los de la

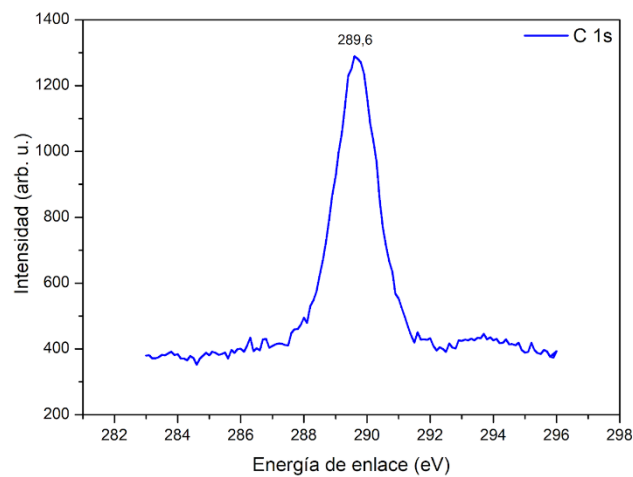
referencia (Sahai & Goswami, 2014), como también se presentó en el trabajo de (Kwoka, Kulis Kapuscinska, Zappa, Comini, & Szuber, 2020), y se podrían atribuir a especies de oxígeno quimisorbido O_i u oxígenos débilmente ligados a la superficie (por ejemplo O_2 , H_2O o grupos hidroxilos adsorbidos), asociadas al pico 534,6 eV, y al enlace del dióxido de carbono adventicio $O-C=O$ en la superficie de ZnO, correspondiente al pico ubicado a 536,2 eV.

Finalmente, en la figura 3.15 (c) se observa el espectro deconvolucionado de la señal del C (1s) donde se presentó un solo pico ubicado a 289,6 eV que se podría asociar al enlace $C=O$ tanto del CO_2 adsorbido como a especies carbonatas estructurales (Alshammari et al., 2015).



(a)

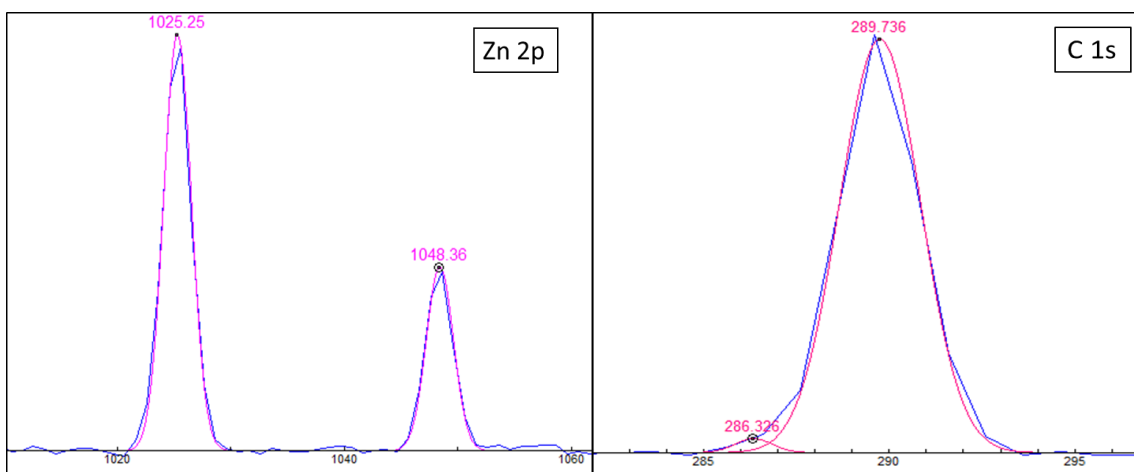
(b)



(c)

Figura 3.15. Deconvolución de señales que aparecen en el espectro general del ZnO, sintetizado por una ruta química, correspondientes al: **(a)** Zn 2p, **(b)** O 1s y **(c)** C 1s. **Fuente:** Propia.

Un procedimiento similar se realizó considerando el espectro general de XPS obtenido para los nanobiohíbridos con base en ZnO (figura 3.14(b)). Observando los espectros de la figura 3.14, es evidente la diferencia que se presenta considerando que se utilizaron diferentes rutas de síntesis, química (figura 3.14(a)) y verde (figura 3.14(b)), para obtener las muestras analizadas. En la figura 3.16(a), al deconvolucionar el nivel 2p del zinc, se observa que esta señal estaría conformada por dos picos ubicados a: 1025,2 eV, que se puede asignar al Zn 2p_{3/2}, y 1048,3 eV, al Zn 2p_{1/2}. Al deconvolucionar la señal C 1s, figura 3.16(b), se obtiene un pico ubicado en 286,3 eV, que puede corresponder a especies carbonatadas ligadas débilmente a la superficie del ZnO (por ejemplo los enlaces -CO₃, C-O y C=O) (Pan et al., 2016), y otro en 289,5 eV que se podría asociar al enlace C=O tanto del CO₂ adsorbido como a especies carbonatas estructurales (Alshammari et al., 2015). Por otro lado, al deconvolucionar la señal O 1s, figura 3.16(c), se obtuvieron tres picos: uno a ~531,7 eV, que podría corresponder a iones O²⁻ en la región deficiente de oxígeno o a las VO⁻ otro a ~534,9 eV que se podría atribuir a especies de oxígeno quimisorbido O_i u oxígenos débilmente ligados a la superficie (por ejemplo, O₂, H₂O o grupos hidroxilos adsorbidos), y el ubicado a ~536,7 eV que se podría asociar al enlace del dióxido de carbono adventicio O-C=O en la superficie de ZnO.



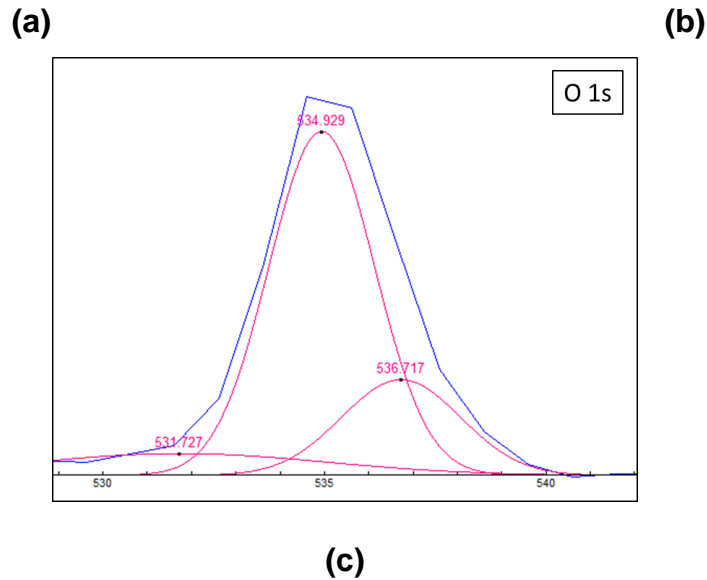


Figura 3.16. Deconvolución de señales que aparecen en el espectro general de los nanobiohíbridos con base en ZnO, sintetizados por una ruta verde, correspondientes al: **(a)** Zn 2p, **(b)** C 1s y **(c)** O 1s. **Fuente:** Propia.

3.2.7. Microscopía electrónica de transmisión (STEM - EDS)

Para esta técnica de caracterización, se utilizó un Microscopio electrónico de Transmisión (TEM) Tecnai F20 Super Twin TMP, con resolución 0,1 nm en 200kV, magnificación máxima en TEM 1,0 Mx, cámara GATAN US 1000XP-P. Para obtener información sobre la composición química de la muestra se realizó, adicionalmente, el microanálisis químico sobre varias áreas de inspección utilizando el detector EDX Oxford Instruments XMAX. Análisis STEM - FISCHIONE Instruments Modelo M3000 FP5360/22 HAADF Detector 120/200 kV.

En la figura 3.17 se muestra la micrografía obtenida por STEM del ZnO sintetizado por ruta química, mediante el método de precipitación controlada. Esta fotografía evidencia la conformación de aglomerados y agregados, por parte de las partículas primarias y partículas secundarias que presentan un tamaño sub-micrónico. La formación de estos aglomerados se puede justificar considerando que el sistema debe presentar una conformación energéticamente estable.

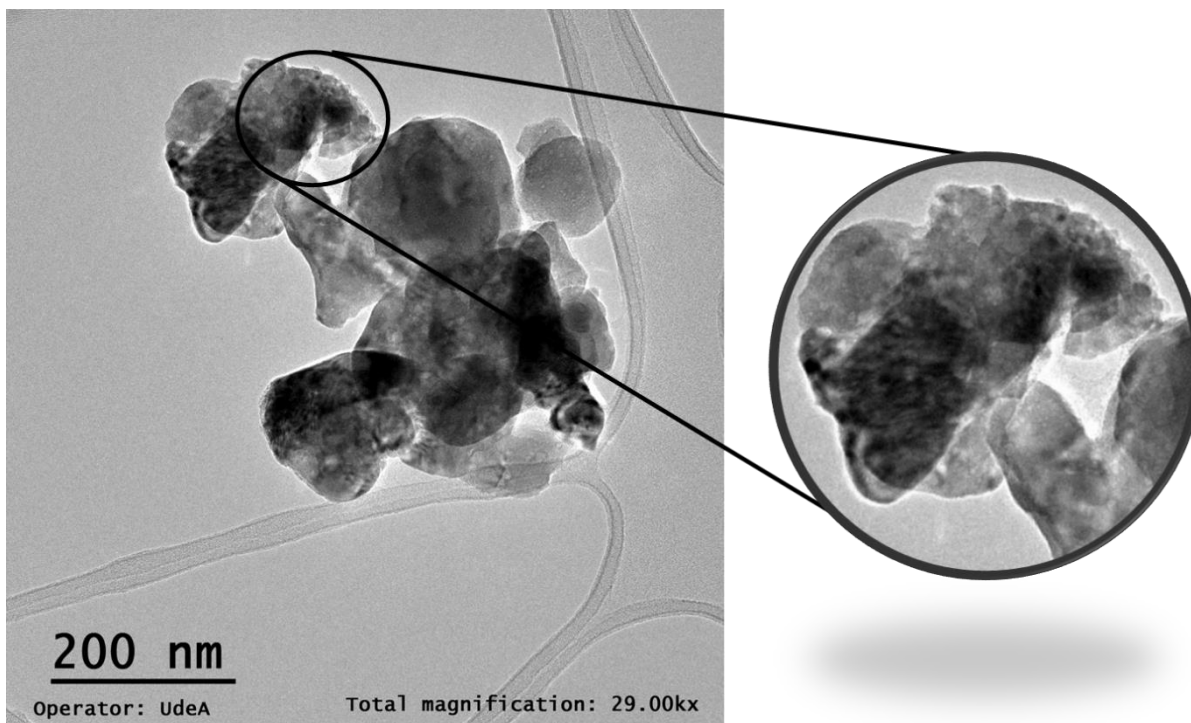


Figura 3.17. Micrografía electrónica de transmisión (MET) de las ZnO -NPs obtenidas por una ruta química. **Fuente:** Propia.

La figura 3.18 contiene información sobre la composición química elemental de las ZnO-NPs, sintetizadas por una ruta química, utilizando la espectroscopia de energía dispersa (EDS) y un mapeo de los elementos de interés. En este caso, como se indica en la tabla y en el espectro EDS (figura 3.18), el sólido contendría, como elementos importantes: zinc, oxígeno y carbono. Considerando las masas atómicas del Zn (68,36 u), O (16 u) y C (12,01 u), se realizaron los cálculos pertinentes que permitieron determinar la no estequiometría del material (relación 1:1 del Zn y el O, de acuerdo a la fórmula química del ZnO); además, al analizar otras zonas del material se obtuvo un comportamiento similar, llevando a la conclusión de que en este sólido se podría presentar un exceso de oxígeno, a pesar de que parte de este exceso de oxígeno pudiera estar ligado al C, formando el CO₂ que se observa en el espectro IR de la figura 3.3. Por lo tanto, es posible que en este sólido predomine, como defecto, el oxígeno intersticial (O_i).

Observando el mapeo químico elemental realizado, en el cual se identificaron las zonas donde se ubicaba cada elemento (color azul - zinc, rojo - oxígeno y verde –

carbono), la rejilla usada para el soporte de las partículas (rejillas Lacey carbón o Holey carbón) podría contribuir a la concentración de carbono en el sistema.

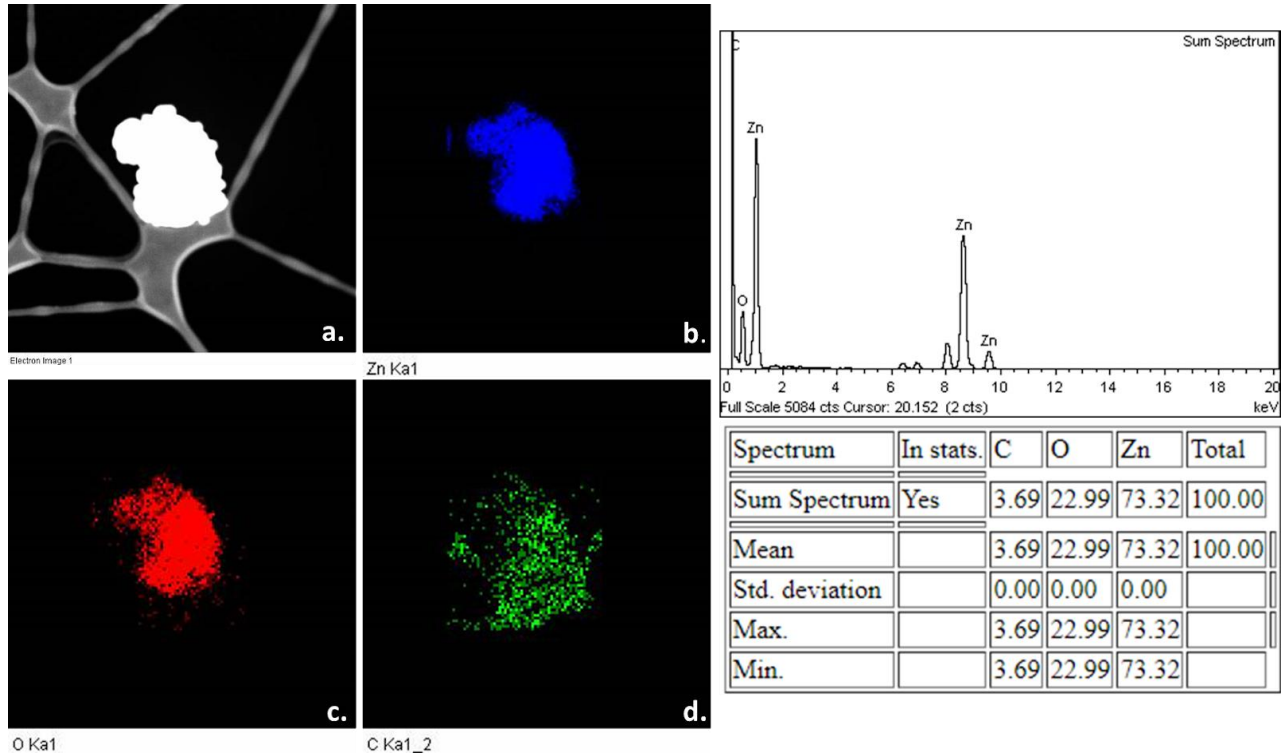


Figura 3.18. Composición química elemental de las ZnO NPs, sintetizadas por una ruta química, utilizando un mapeo de los elementos de interés (Zn, O y C) y su espectro EDS, cuya composición se indica en la tabla. **Fuente:** Propia.

Por otro lado, en la figura 3.19. se muestra la micrografía obtenida para los nanobiohíbridos con base en ZnO sintetizados por una ruta verde donde, también, se observa la aglomeración de las partículas primarias. En la imagen se evidencia que estas partículas primarias poseerían un tamaño de partícula <100 nm, con morfología esférica.

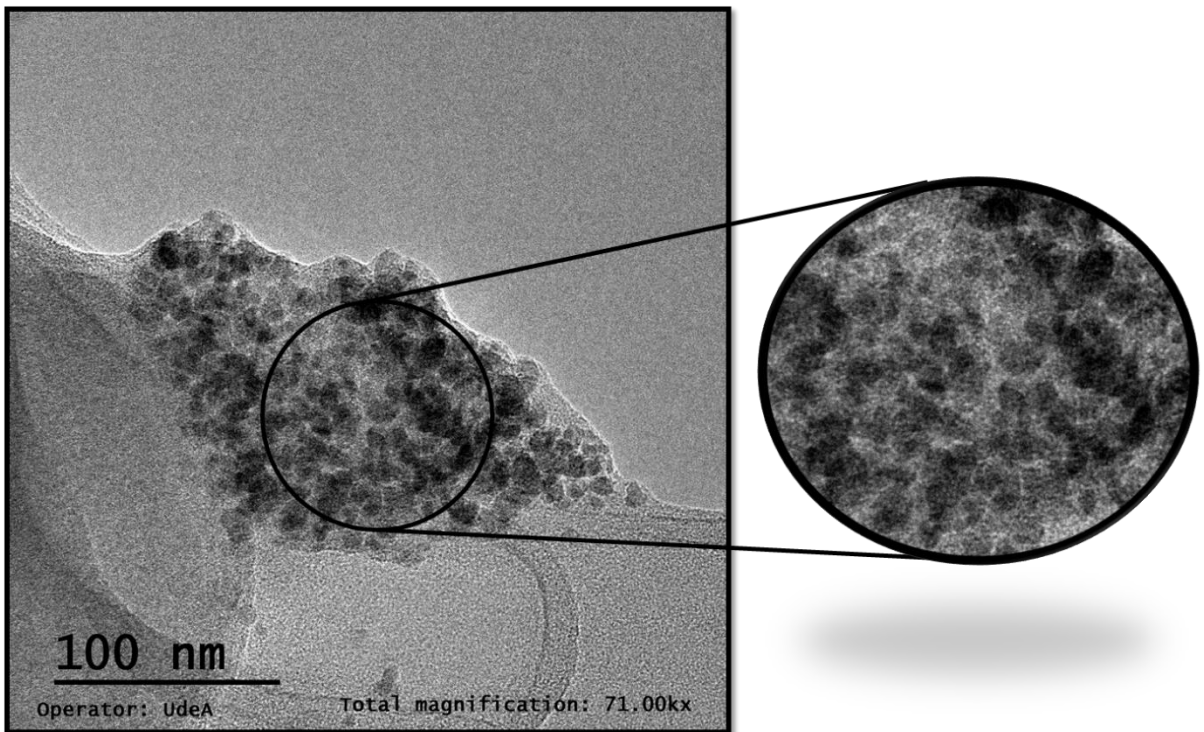


Figura 3.19. Micrografía electrónica de transmisión (MET) correspondiente a los nanobiohíbridos con base en ZnO sintetizados por una ruta verde. **Fuente:** Propia.

En la figura 3.20 se muestran los resultados del análisis de composición elemental realizado a los nanobiohíbridos de ZnO utilizando espectroscopía EDS y el mapeo de los elementos más importantes presentes en la muestra. Con el análisis EDS se identificó la presencia de elementos como el zinc, oxígeno, carbono, silicio, azufre, potasio y cloro (figura 3.20). Como este análisis da información sobre la composición química superficial, principalmente, se observa que en el material sintetizado por la ruta verde la cantidad del Zn y O (figura 3.20) se reduce superficialmente, en comparación a las ZnO-NPs sintetizadas por una ruta química (figura 3.18). Por el contrario, como se observa en la figura 3.20, se presenta una alta concentración superficial de carbono que se podría atribuir a la presencia de las biomoléculas del ají. Esta condición estaría validada por la presencia de otros elementos (K, Si, Cl y S) en la superficie de estos nanobiohíbridos, tal como lo indican los resultados que se muestran en la figura 3.20. Por lo tanto, las contribuciones al análisis químico elemental de los nanobiohíbridos (figura 3.20), de elementos como potasio, silicio, cloro y azufre, serían aportes del componente biológico – biomoléculas del ají

(Bosland & Votava, 2012), gracias a la absorción de minerales del suelo que realiza la planta durante su ciclo de vida y que influyen en el desarrollo, rendimiento y calidad de los frutos (Escudero & Mediavilla, 2003).

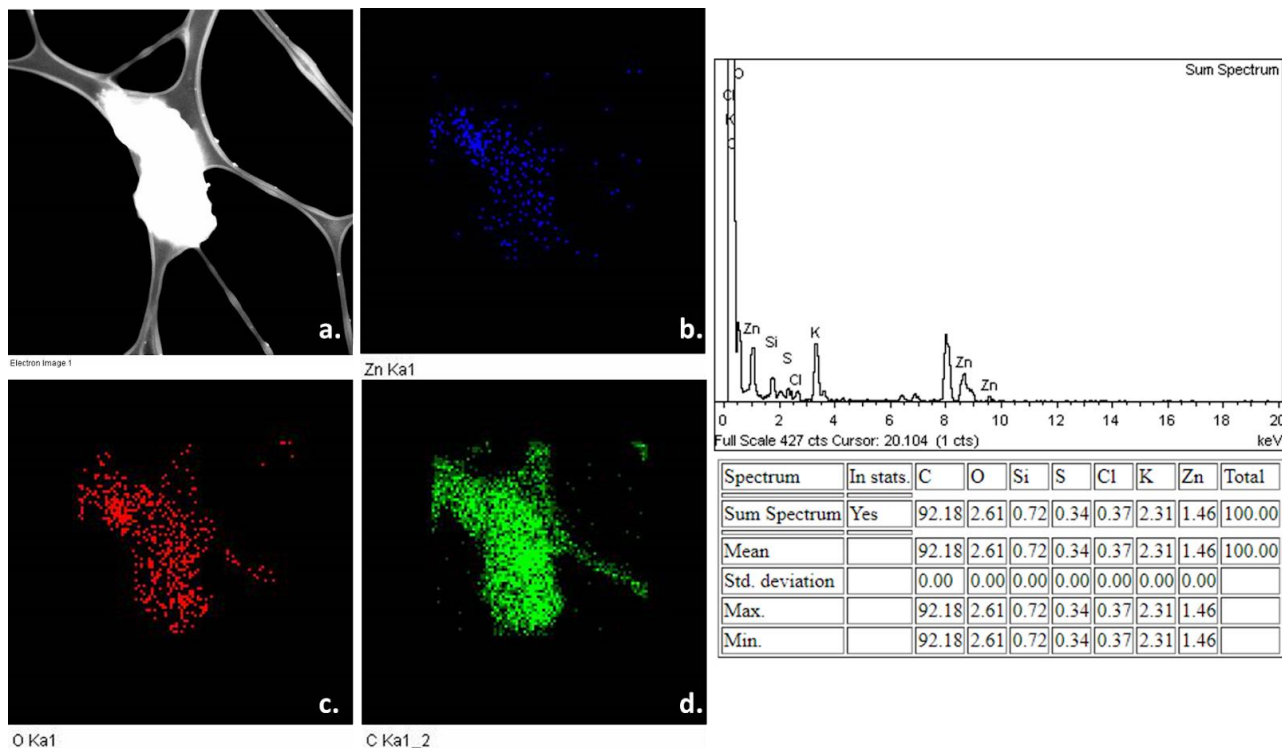


Figura 3.20. Composición química elemental de los nanobiohíbridos de ZnO, sintetizadas por una ruta verde, utilizando un mapeo de los elementos de interés (Zn, O y C) y su espectro EDS, cuya composición se indica en la tabla, considerando la presencia de otros elementos en la muestra. **Fuente:** Propia.

3.2.8. Microscopía electrónica de barrido (MEB)

Para caracterizar los materiales sintetizados en este trabajo de grado utilizando estas técnicas, las muestras se ubicaron sobre porta-muestras o “stubs” metálicos con cinta adhesiva de carbón y se recubrieron con oro. El equipo utilizado fue un Microscopio Electrónico de Barrido FEG (Field Emission Gun) QUANTA FEG 650 con un voltaje de aceleración de 15 kV y en condiciones de alto vacío. Para el análisis químico se utilizó un Detector EDAX APOLO X resolución de 126.1 eV (en Mn K α), implementado con un Software EDX Génesis, para obtener la información semicuantitativa de los elementos químicos.

En la figura 3.21, se muestran las micrografías de barrido, en magnificaciones de 1600, 5000, 10000 y 20000 X, obtenidas para el sólido de ZnO sintetizado utilizando MPC. En ellas se observa que las partículas primarias formaron aglomerados del orden de las micras, entre ~15 y ~40 μm .

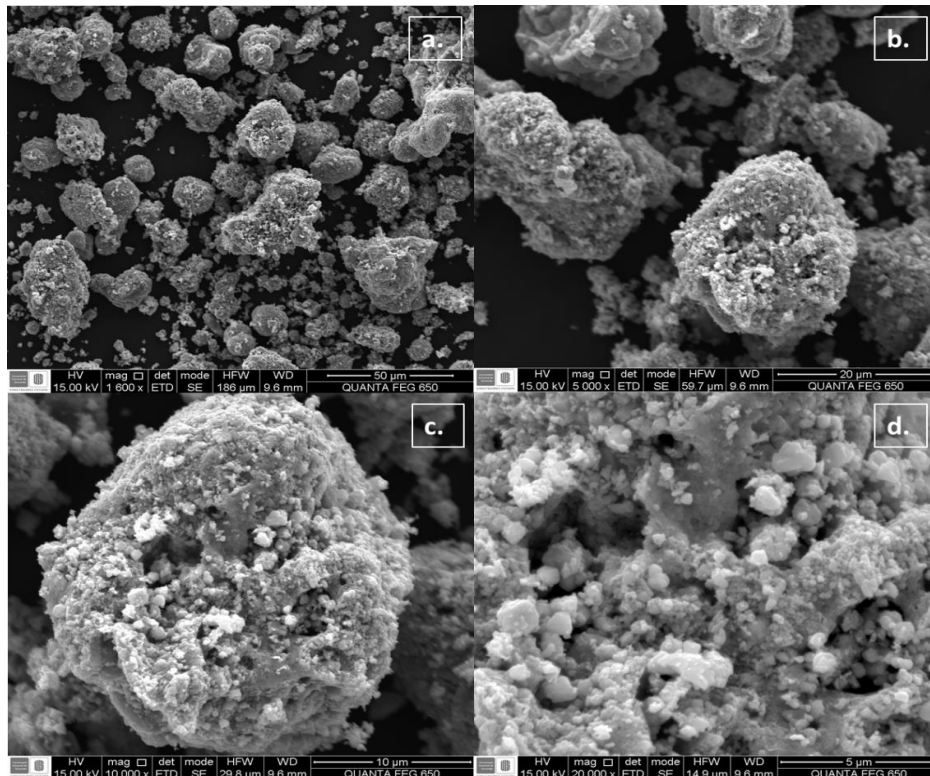


Figura 3.21. Micrografías obtenidas con MEB de la muestra ZnO sintetizada por ruta química, en aumentos de (a) 1600X, (b) 5000X, (c) 10000X y (d) 20000X. **Fuente:** Propia.

Para tener más información de este sólido, sintetizado por una ruta química, se le realizó un análisis químico elemental en dos regiones de interés, obteniéndose los datos que se presentan en la tabla 3.5. En contraste a los resultados obtenidos con STEM (figura 3.18), los datos experimentales indicados en la Tabla 3.5 mostrarían que hay zonas deficientes de oxígeno en la muestra.

Tabla 3.5. Porcentaje en peso de los elementos indicados al realizar el microanálisis químico para sólido de ZnO obtenido por ruta química.

Región	Zn (%)	O (%)	C (%)	Total (%)
1	81,39	18,07	0,54	100
2	98,45	0,47	0,79	100

Para determinar el tamaño promedio de las partículas primarias que conformaba el material obtenido mediante una ruta química, se empleó el software ImageJ en una región determinada de la muestra analizada (figura 3.22). Utilizando este procesamiento óptico digital de imágenes fue posible obtener medidas de su diámetro, para luego, con ayuda del programa Origin Pro 8.0 graficar esa distribución de tamaños, obteniendo como resultado un tamaño promedio de partícula de ~78,23 nm. En la Figura 3.22(a) se reitera la forma esferoidal de las ZnO NPs sintetizadas por la ruta química.

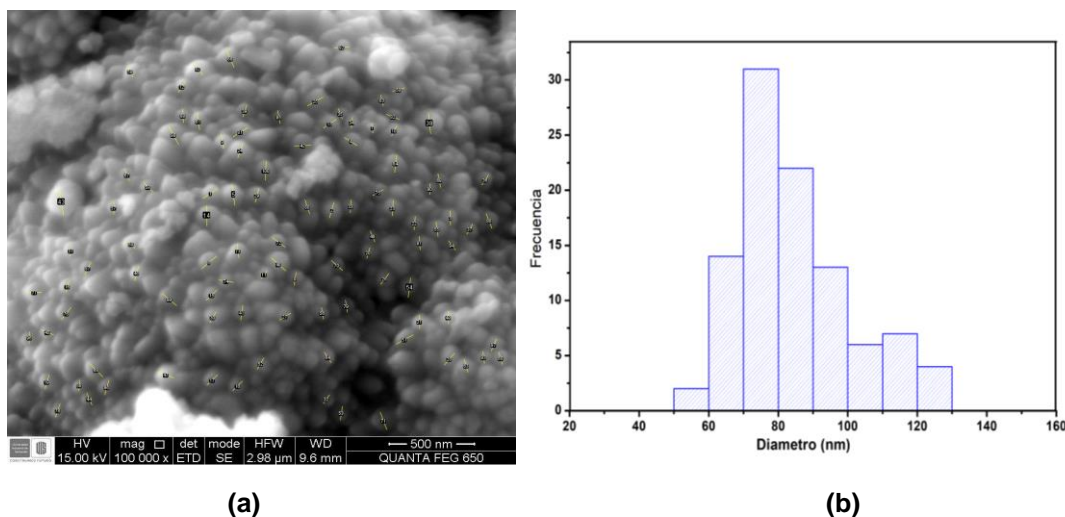


Figura 3.22. Obtención de tamaño promedio de partícula: **(a)** imagen obtenida al utilizar el procesamiento óptico digital de imágenes en ImageJ y **(b)** histograma de la distribución de tamaño de partículas, esferoidales, presentes en la imagen. **Fuente:** Propia.

En la figura 3.23 se muestran las micrográficas de barrido, con magnificaciones de 1600, 5000, 10000 y 20000 X, de los nanobiohíbridos de ZnO obtenidos a través de la ruta verde. En este caso, se observan aglomerados del orden de las micras, entre

~40 y ~90 μm , más grandes a las obtenidas por la ruta química. Para esta muestra no fue posible efectuar un cálculo detallado para la determinación del tamaño de partícula, debido a la aglomeración que presenta.

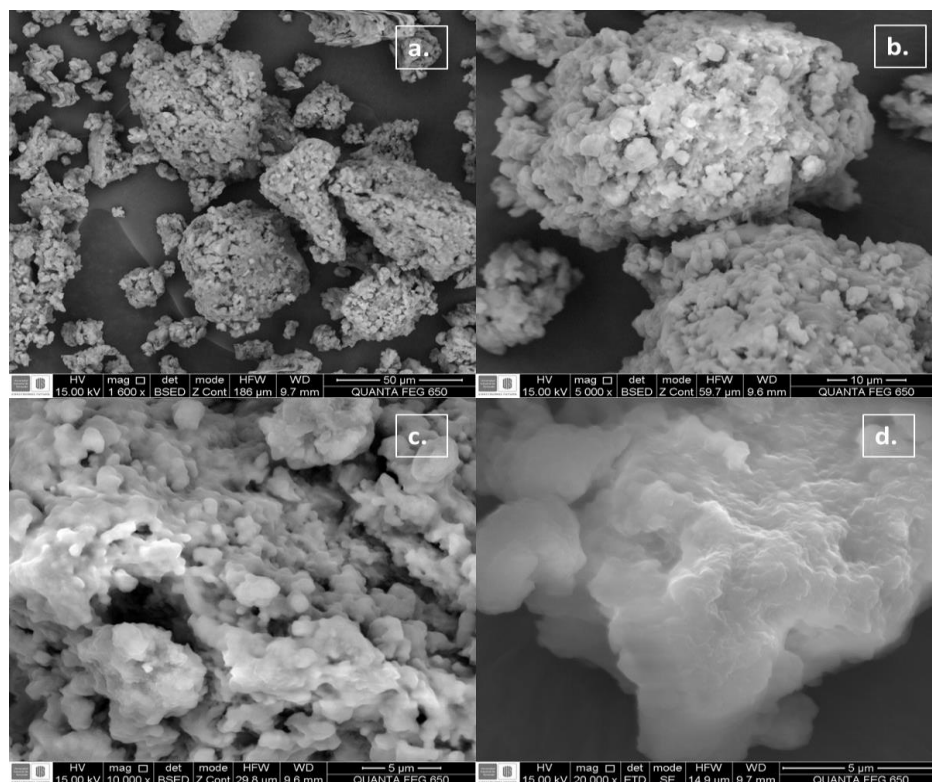


Figura 3.23. Micrografías obtenidas con MEB del sólido sintetizado por ruta verde, en aumentos de (a) 1600X, (b) 5000X, (c) 10000X y (d) 20000X. **Fuente:** Propia.

El microanálisis químico de esta muestra se efectuó en una sola región, ya que se observó una homogeneidad en la superficie de la muestra (Tabla 3.6). En los elementos identificados, además de confirmar la presencia de los elementos de interés, el Zn y el O, se ratifica la presencia de otros elementos que se pueden atribuir a la contribución del componente orgánico empleado en esta ruta de síntesis (biomoléculas constituyentes del ají). Este resultado reitera lo enunciado en el análisis de los nanobiohíbridos con STEM (figura 3.20)

Tabla 3.6. Porcentaje de peso de elementos en microanálisis químico para sólido obtenido por ruta verde.

Elemento	Tamaño en peso (%)
----------	--------------------

Carbono (C)	58,15
Nitrógeno (N)	3,29
Oxígeno (O)	26,99
Sodio (Na)	1,57
Fósforo (P)	2,97
Azufre (S)	0,36
Potasio (K)	2,74
Calcio (Ca)	0,03
Zinc (Zn)	3,90
Total	100

Cabe resaltar que las diferencias que presentan los análisis de composición química para las técnicas de STEM (figura 3.20) y MEB (tabla 3.6), se pueden atribuir a que no se tiene una homogeneidad en la composición química de las muestras, lo que conlleva a la obtención de valores porcentuales diferentes dependiendo de la zona analizada, como también, a la presencia de nuevos elementos.

3.2.9. Área superficial específica (BET) y distribución de tamaño de poro (BJH)

Para la realización de este ensayo se utilizó un analizador de Área Superficial y tamaño de poro, marca Quantachrome Instruments modelo NOVA 1000e, equipado con técnica patentada que elimina el uso de helio. Software NOVAWim TM versión 11.03 verificado con alúmina Al_2O_3 , material de referencia (SARM) con resultados dentro de las especificaciones del fabricante. Se realiza la desgasificación del material al vacío y se empleó como adsorbato gas Nitrógeno grado 5.0, se programa la corrida BET en un rango de trabajo desde 0.05 hasta 0.3 P/Po 14 puntos mínimos de adsorción y para las curvas de porosidad el rango va desde 0.005 mmHg hasta

0.995 mm Hg con 45 puntos de adsorción y 40 de desorción, todos los puntos con tolerancia en la presión 0.100 mmHg, tiempo de equilibrio 60 segundos, tiempo de tolerancia 240 segundos.

Con el fin de identificar propiedades de la superficie y porosidad de los sólidos obtenidos mediante las dos rutas de síntesis empleadas, se realizaron técnicas de caracterización como el análisis BET, el cual a través de un método de multipuntos permite obtener el valor de área superficial, dando como resultado un valor de 6,145 m²/g para las ZnO-NPs obtenidas por ruta química y de 4,569 m²/g para los nanobiohíbridos con base en ZnO, obtenidos por ruta verde. Como se evidencia, la reducción en el área superficial o expuesta del material obtenido por síntesis verde era de esperarse ya que este sólido a su vez, posee un tamaño de partícula mayor al obtenido por síntesis química, lo que fue constatado por los resultados adquiridos mediante la técnica de microscopía electrónica de barrido (3.2.8).

Por otro lado, considerando el análisis BJH, que se centra en estudiar la porosidad de los sólidos sintetizados, se obtuvieron datos como el área superficial, volumen de poro y radio de poro, valores que se encuentran comprendidos en la tabla 3.7.

Tabla 3.7. Datos experimentales de análisis de porosidad BJH para los sólidos obtenidos, mediante las diferentes rutas de síntesis (química y verde)

Muestra	Área superficial (m²/g)	Volumen de poro (cc/g)	Radio de poro (nm)
ZnO - NPs	10,333	0,025	1,9614
Nanobiohíbridos con base en ZnO	7,891	0,009	1,1679

De acuerdo a los valores obtenidos, las muestras se pueden clasificar según la IUPAC, como materiales mesoporosos, pues poseen poros con un tamaño de diámetro entre 2 y 50 nm (Thommes et al., 2015). En la figura 3.24 (a), se observan la isoterma de adsorción/desorción para las ZnO-NPs, la cual se puede clasificar de acuerdo a la IUPAC, como una isoterma tipo II, con un ciclo de histéresis tipo H3 (observado en el rango P/P₀ de 0,65-0,95), característico de los mesoporos, y el cual indica el proceso de llenado en las estructuras de los poros. Por otro lado, en

la isoterma para los nanobiohíbridos con base en ZnO (figura 3.24 (b)) clasificada de acuerdo a la IUPAC, como isoterma tipo II, no presenta histéresis indicando así que no se presentaría taponamiento de los poros, lo que se podría asociar a que dicho material presenta porosidad con una baja capacidad volumétrica, tal como lo evidencia los datos comprendidos en la tabla 3.7.

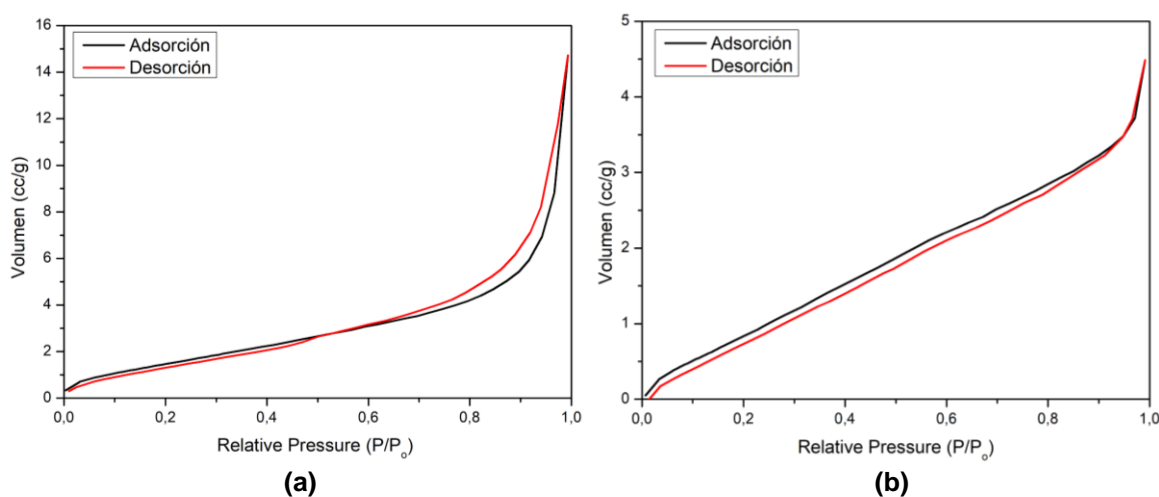


Figura 3.24. Isothermas de adsorción/desorción de nitrógeno de los sólidos: (a) ZnO-NPs y (b) nano biohíbridos con base en ZnO. **Fuente:** Propia.

3.3. CONCLUSIONES

- Empleando las metodologías propuestas en el capítulo anterior, fue posible obtener de manera controlada y reproducible, el ZnO y los nanobiohíbridos con base en ZnO, que difieren en sus propiedades fisicoquímicas de acuerdo a lo obtenido en las diferentes técnicas de caracterización.
- En las espectroscopías de infrarrojo y Raman, junto a DRX, se obtuvieron resultados que indican que el material sintetizado mediante el método MPC, presenta una alta pureza química del óxido de interés (ZnO) y una estructura cristalina tipo wurtzita. Para el caso de los nanobiohíbridos obtenidos, se evidencia la presencia de material orgánico, adquirido por las biomoléculas del ají, además del ZnO, y la adquisición de un sólido amorfo.

- De acuerdo a los resultados obtenidos en microscopías de transmisión y de barrido (STEM y MEB), se obtuvieron ZnO-NPs con un tamaño promedio de partícula <100 nm, específicamente, 78,23 nm para las ZnO-NPs obtenidas por la ruta química; además de una morfología tipo esferoidal y gran capacidad de aglomeración en el orden de las micras. Y, en el caso de los nanobiohíbridos obtenidos, estos presentaron una morfología irregular y una alta capacidad de aglomeración, lo cual impide estimar el tamaño promedio de las partículas.
- Mediante la técnica de espectroscopía XPS se corrobora la presencia de los elementos de interés Zn y O en el material obtenido por la ruta química. Por otro lado, mediante esta técnica no es posible identificar la presencia y estados de aquellos elementos encontrados en el análisis químico de STEM y MEB para los nanobiohíbridos con base en ZnO, ya que como se evidenció en estos resultados, dichos elementos están presentes en una baja concentración lo cual limita su identificación. Aun así, se destaca la evidente presencia de grupos carbonosos atribuidos al componente orgánico – biomoléculas de ají.
- Al momento de realizar la síntesis de los materiales, no se contaba con una atmósfera controlada, lo que propició en el material la formación de defectos como: oxígeno intersticial, que se evidenciaron en el análisis de microscopía electrónica de transmisión de las ZnO - NPs.
- Al analizar espectros de las técnicas de UV-Vis y reflectancia difusa, de los dos sistemas sintetizados, se determina que el valor del gap que mejor representa los sistemas es de 3,15 eV, para las ZnO NPs y de 1,97 eV para los nanobiohíbridos con base en ZnO.

3.4. REFERENCIAS

- Abdullahi, S. S., Güner, S., Koseoglu, Y., Musa, I. M., Adamu, B. I., & Abdulhamid, and M. I. (2016). Simple Method For The Determination of Band Gap of a Nanopowdered Sample Using Kubelka Munk Theory. *Journal of the Nigerian Association of Mathematical Physics*, 35(August), 241–246. Retrieved from <https://www.researchgate.net/publication/305810656>
- Akash, M. S. H., & Rehman, K. (2020). Ultraviolet-Visible (UV-VIS) Spectroscopy. In *Essentials of Pharmaceutical Analysis* (pp. 29–55). https://doi.org/https://doi.org/10.1007/978-981-15-1547-7_3
- Alshammari, A. S., Chi, L., Chen, X., Bagabas, A., Rashidi-Alavijeh, N., Kramer, D., ... Jiang, Z. (2015). Visible-light photocatalysis on C-doped ZnO derived from polymerassisted pyrolysis. *RSC Advances*, 5, 27690–27698. <https://doi.org/DOI:10.1039/C4RA17227B>
- Andrade, J. D. (1985). X-ray Photoelectron Spectroscopy (XPS). In *Surface and Interfacial Aspects of Biomedical Polymers* (pp. 105–195).
- Balan, V., Mihai, C. teodor, Cojocaru, F. daniela, Uritu, C. mariana, Dodi, G., Botezat, D., & Gardikiotis, I. (2019). Vibrational Spectroscopy Fingerprinting in Medicine : from Molecular to Clinical Practice. *Materials*, 12(18), 1–40. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/ma12182884>
- Bernhard Schrader. (2008). *Infrared and Raman Spectroscopy: Methods and applications*. Retrieved from https://books.google.com.co/books?id=9LOcQs2MSesC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- Bosland, P. W., & Votava, E. J. (2012). *Peppers: Vegetable and Spice Capsicums*. Retrieved from https://books.google.com.co/books?id=5AWTPZeFL8QC&hl=es&source=gbs_navlinks_s

- Bunaciu, A. A., Udriștioiu, E. gabriela, & Aboul-Enein, H. Y. (2015). X-Ray Diffraction: Instrumentation and Applications. *Critical Reviews in Analytical Chemistry*, 45(4), 289–299. <https://doi.org/10.1080/10408347.2014.949616>
- Calderón, H. A. (2020). Microscopía electrónica de transmisión para observar átomos: principios y desarrollo. *Mundo Nano. Revista Interdisciplinaria En Nanociencias y Nanotecnología*, 13(25), 133–156. <https://doi.org/10.22201/ceiich.24485691e.2020.25.69649>
- Cano, V. J. E. (2006). *El método de Rietveld* (Publicacions de la Universitat Jaume I, ed.). Retrieved from https://books.google.com.co/books?id=InnJYNWu2EQC&dq=refinamiento+rietveld&lr=&hl=es&source=gbs_navlinks_s
- Chitra, M., Mangamma, G., Uthayarani, K., Neelakandeswari, N., & Girija, E. K. (2020). Band gap engineering in ZnO based nanocomposites. *Physica E: Low-Dimensional Systems and Nanostructures*, 119. <https://doi.org/10.1016/j.physe.2020.113969>
- Cullity, B. . (1978). *Elements of X-RAY DIFFRACTION* (2nd Editio). Phillippines: Addison-Wesley Publishing Company Inc.
- Cuscó, R., Alarcón-Lladó, E., Ibáñez, J., Artús, L., Jiménez, J., Wang, B., & Callahan, M. J. (2007). Temperature dependence of Raman scattering in ZnO. *Physical Review B - Condensed Matter and Materials Physics*, 75(16), 1–11. <https://doi.org/10.1103/PhysRevB.75.165202>
- Dollimore, D., Spooner, P., & Turner, A. (1976). The BET method of analysis of gas adsorption data and its relevance to the calculation of surface areas. *Surface Technology*, 4, 121–160. [https://doi.org/10.1016/0376-4583\(76\)90024-8](https://doi.org/10.1016/0376-4583(76)90024-8)
- Egerton, R. . (2016). Physical Principles of Electron Microscopy. In *BIOS Instant Notes in Analytical Chemistry* (second). <https://doi.org/10.4324/9780203645444-14>

- Escudero, A., & Mediavilla, S. (2003). Dinámica interna de los nutrientes. *Revista Científica y Técnica de Ecología Medio Ambiente*, 1. Retrieved from www.aeet.org/ecosistemas/031/investigacion7.htm
- Faraldos, M., & Goberna, C. (2011). Técnicas de análisis y caracterización de materiales. In 39. Retrieved from http://libros.csic.es/product_info.php?products_id=498
- Farmer, V. C. (1974). The infrared spectra of minerals. In *Mineralogical Society monograph 4* (pp. 183–204). <https://doi.org/https://doi.org/10.1180/mono-4>
- Gutierrez, V. C., & Otero, J. M. (2014). *Espectroscopía Raman: Fundamento y aplicaciones*. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.5015.5362>
- He, B. B. (2018). *Two-Dimensional X-Ray Diffraction* (2nd ed.; J. W. & Sons, ed.). Retrieved from <https://books.google.com.co/books?id=G0JbDwAAQBAJ&printsec=frontcover&hl=es#v=onepage&q&f=false>
- Jr., S. L., Segundo, I. R., Freitas, E., Vasilevskiy, M., Carneiro, J., & Tavares, C. J. (2022). Use and misuse of the Kubelka-Munk function to obtain the band gap energy from diffuse reflectance measurements. *Solid State Communications*, 341. <https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.ssc.2021.114573>
- Kaygili, O., Ercan, I., Ates, T., Keser, S., Orek, C., Gunduz, B., ... Bañares, L. (2018). An experimental and theoretical investigation of the structure of synthesized ZnO powder. *Chemical Physics*, 513, 273–279. <https://doi.org/10.1016/j.chemphys.2018.08.021>
- Kristo, M. J. (2012). Nuclear Forensics. In *Handbook of Radioactivity Analysis* (Third Edit, pp. 1281–1304). <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384873-4.00021-9>
- Kumar, A., & Dixit, C. K. (2017). Methods for characterization of nanoparticles. In *Advances in Nanomedicine for the Delivery of Therapeutic Nucleic Acids* (pp. 44–58). <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-100557-6.00003-1>

- Kwoka, M., Kulis Kapuscinska, A., Zappa, D., Comini, E., & Szuber, J. (2020). Novel insight on the local surface properties of ZnO nanowires. *Nanotechnology*, 31. <https://doi.org/DOI:10.1088/1361-6528/ab8dec>
- Lugg, N. R., Kothleitner, G., Shibata, N., & Ikuhara, Y. (2015). On the quantitiveness of EDS STEM. *Ultramicroscopy*, 151, 150–159. <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2014.11.029>
- Mackenzie, R. ., & Mitchell, B. . (1962). Differential Thermal Analysis. *A Review*, 87(1035), 420.
- Maensiri, S., Laokul, P., & Promarak, V. (2006). Synthesis and optical properties of nanocrystalline ZnO powders by a simple method using zinc acetate dihydrate and poly(vinyl pyrrolidone). *Journal of Crystal Growth*, 289(1), 102–106. <https://doi.org/10.1016/j.jcrysgr.2005.10.145>
- Mazabuel-Collazos, A., Gómez, C. D., & Rodríguez-Páez, J. E. (2018). ZnO-TiO₂ nanocomposites synthesized by wet-chemical route: Study of their structural and optical properties. *Materials Chemistry and Physics*. <https://doi.org/10.1016/j.matchemphys.2018.10.007>
- Morales, E., & Mora, S. (2006). Use of diffuse reflectance spectroscopy for optical characterization of un-supported nanostructures. *Revista Mexicana de Física*, 53(5), 18–22. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/570/57028299004.pdf>
- Mourdikoudis, S., Pallares, R. M., & Thanh, N. T. K. (2018). Characterization Techniques for Nanoparticles: Comparison and Complementarity upon Studying Nanoparticle Properties. *Nanoscale*, 10(27). <https://doi.org/10.1039/C8NR02278J>
- Olsen, E. D. (2016). *Métodos ópticos de análisis* (Reverte, ed.). Retrieved from https://books.google.com.co/books?id=0JHmDwAAQBAJ&dq=editions:5zabGVGT2DMC&hl=es&source=gbs_navlinks_s
- Pan, L., Muhammad, T., Ma, L., Huang, Z. F., Wang, S., Wang, L., ... Zhang, X.

- (2016). MOF-derived C-doped ZnO prepared via a two-step calcination for efficient photocatalysis. *Applied Catalysis B. Environmental*, 189, 181–191. <https://doi.org/10.1016/j.apcatb.2016.02.066>
- Ravikovitch, P. I., Haller, G. L., & Neimark, A. V. (1998). Density functional theory model for calculating pore size distributions : pore structure of nanoporous catalysts. *Advances in Colloid and Interface Science*, 76–77, 203–226. [https://doi.org/10.1016/S0001-8686\(98\)00047-5](https://doi.org/10.1016/S0001-8686(98)00047-5)
- Sahai, A., & Goswami, N. (2014). Probing the dominance of interstitial oxygen defects in ZnO nanoparticles through structural and optical characterizations. *Ceramics International*, 40(9), 14569–14578. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2014.06.041>
- Talam, S., Karumuri, S. R., & Gunnam, N. (2012). Synthesis, Characterization, and Spectroscopic Properties of ZnO Nanoparticles. *ISRN Nanotechnology*, 2012, 1–6. <https://doi.org/10.5402/2012/372505>
- Tanzi, M. C., Farè, S., & Candiani, G. (2019). Techniques of Analysis. In *Foundations of Biomaterials Engineering* (pp. 393–469). <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-101034-1.00007-4>
- Varela, M., Benthem, K. Van, Borisevich, A. Y., Ridge, O., & Shibata, N. (2005). MATERIALS CHARACTERIZATION IN THE ABERRATION - CORRECTED SCANNING TRANSMISSION ELECTRON MICROSCOPE. *Annual Review of Materials Research*, 35, 539. <https://doi.org/10.1146/annurev.matsci.35.102103.090513>
- Wood, K. N., & Teeter, G. (2018). XPS on Li-Battery-Related Compounds: Analysis of Inorganic SEI Phases and a Methodology for Charge Correction. *ACS Applied Energy Materials*, 1(9), 4493–4504. <https://doi.org/10.1021/acsaem.8b00406>
- Wu, J. S., Kim, A. M., Bleher, R., Myers, B. D., Marvin, R. G., Inada, H., ... Dravid, V. P. (2013). Imaging and elemental mapping of biological specimens with a dual-EDS dedicated scanning transmission electron microscope.

Ultramicroscopy, 128, 24–31. <https://doi.org/10.1016/j.ultramic.2013.01.004>

Yurdakal, S., Garlisi, C., Özcan, L., Bellardita, M., & Palmisano, G. (2019). (Photo)catalyst characterization techniques: Adsorption isotherms and BET, SEM, FTIR, UV-Vis, photoluminescence, and electrochemical characterizations. In *Heterogeneous Photocatalysis* (Vol. 4, pp. 87–152). <https://doi.org/10.1016/B978-0-444-64015-4.00004-3>

Zhang, H., Wang, X., Wang, J., Chen, Q., Huang, H., Huang, L., ... Ma, X. (2020). UV–visible diffuse reflectance spectroscopy used in analysis of lignocellulosic biomass material. *Wood Science and Technology*, 54(4), 837–846. <https://doi.org/10.1007/s00226-020-01199-w>

Zhou, W., Apkarian, R., Wang, Z. L., & Joy, D. (2006). Fundamentals of scanning electron microscopy (SEM). In *Scanning Microscopy for Nanotechnology: Techniques and Applications* (pp. 1–40). https://doi.org/10.1007/978-0-387-39620-0_1

Capítulo 4

EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD PLAGUICIDA DE LAS ZnO-NPs

4.1. ASPECTOS GENERALES

4.1.1. Nanopartículas usadas como agente plaguicida.

Diferentes estudios han confirmado que las Nanopartículas (NPs) metálicas actúan eficazmente contra patógenos de plantas, insectos y plagas (Gao et al., 2020; Lira Saldivar, Méndez Argüello, Reyes, & Villarreal, 2018). Por eso, dichas NPs se pueden utilizar para la preparación de formulaciones como pesticidas, insecticidas y repelentes de insectos (Barik, Sahu, & Swain, 2008; Goswami, Roy, Sengupta, & Debnath, 2010). La mayoría de reportes indican que estas nanopartículas son de óxidos metálicos, como el óxido de zinc, dióxido de titanio, óxido de silicio, óxido de aluminio y metales como la plata, el oro, cobre, entre otros (Barik et al., 2008; Goswami et al., 2010).

Los resultados de estos reportes dan a conocer la eficacia que posee el dióxido de titanio (TiO₂) como un controlador del gusano de la hoja de algodón (*Spodoptera littoralis*), éste ataca cultivos como: el repollo, la calabaza y el algodón, en cualquiera de sus etapas de crecimiento; además, resalta la importancia de este resultado ya que esta especie ha demostrado alta resistencia a muchos insecticidas (Shaker, Zaki, Abdel-rahim, & Khedr, 2017). Así mismo, otra planta hospedante de la plaga *S. littoralis* es el tomate, en el cual se identificaron cambios en el desarrollo de dicho insecto tras el efecto de nanosílice, pues se detectaron porcentajes de mortalidad en el rango de 64 a 98% para diferentes concentraciones (El-bendary & El-Helaly, 2013).

En esa misma línea, diversos estudios sobre NPs de plata revelan su efecto tóxico al ocasionar muerte celular sobre plagas como: los mosquitos transmisores de dengue, zika y chikungunya, moscas, gusano del tabaco y la oruga crotón (Benelli, 2018); de manera similar, el uso de NPs de alúmina causa la deshidratación en escarabajos al absorber su capa de cera por fenómenos de superficie (Benelli, 2018); también, las NPs de óxido de silicio ocasionan la intoxicación sobre abejorros

al generar lesiones intestinales (Benelli, 2018); y, la aplicación de NPs de oro sobre la cucaracha rubia, escarabajos, mosquitos y cochinillas, desencadenó la interrupción del desarrollo y reproducción de los mismos (Benelli, 2018).

4.1.2. Características del fitófago *Puto barberi* (Cockerell, 1895).

En el cultivo de café se ha reportado el sufrimiento de daños irreparables debido al ataque de algunos insectos perjudiciales, comúnmente llamados “plagas”; entre ellos, se encuentran las cochinillas de las raíces como uno de los principales problemas fitosanitarios que enfrenta este sector agrícola (Gil, Villegas, & Benavides, 2015). Siendo la especie *Puto barberi* (cochinilla harinosa de la raíz) aquella que prevalece y causa la mayoría de daños en este cultivo (Gil et al., 2015); esta especie de cochinillas fue encontrada por primera vez en Antigua - Guatemala, presenta una distribución neotropical (varios países, entre ellos Guatemala, Barbados, Bahamas, Colombia y República Dominicana) (Ramos & Serna, 2004). Frecuentemente se registra en suelos con buena retención de humedad y en cafetales establecidos dentro de lotes zoqueados (Benavides Machado, Ángel, & Rivillas, 2021). En Colombia, ha sido registrada en los departamentos de: Cauca, Caldas, Quindío, Risaralda, Antioquia, Valle del Cauca, Norte de Santander y Tolima, en estudios realizados por (Gil-Palacio, Caballero, Ramos, Arcila-Moreno, & Benavides Machado, 2021).

La cochinilla harinosa se caracteriza por presentar un diformismo sexual, es decir, una variación en la forma, coloración o tamaño. Para el macho de la especie, los estudios son muy reducidos puesto que su periodo de vida es muy corto al no alimentarse; además, poseen alas que les permite una alta movilidad y su única función es la fecundación de la hembra (Palma Jiménez, Blanco Meneses, & Guillén Sánchez, 2019). Por otro lado, la hembra posee un cuerpo ovalado y una capa cerosa blanca (constituida por ácidos grasos) que la recubre, 18 filamentos laterales o cerarios, 1 par de antenas, 3 pares de patas, ojos, su aparato bucal característico y a diferencia del macho, no posee alas (figura 4.1) (Palma Jiménez et al., 2019). Al

llegar a la adultez, la cochinilla harinosa hembra podría llegar a medir entre 8 y 10 mm de largo, y 3 mm de amplitud (Villegas, Peña, Muñoz, Martínez, & Benavides, 2013).

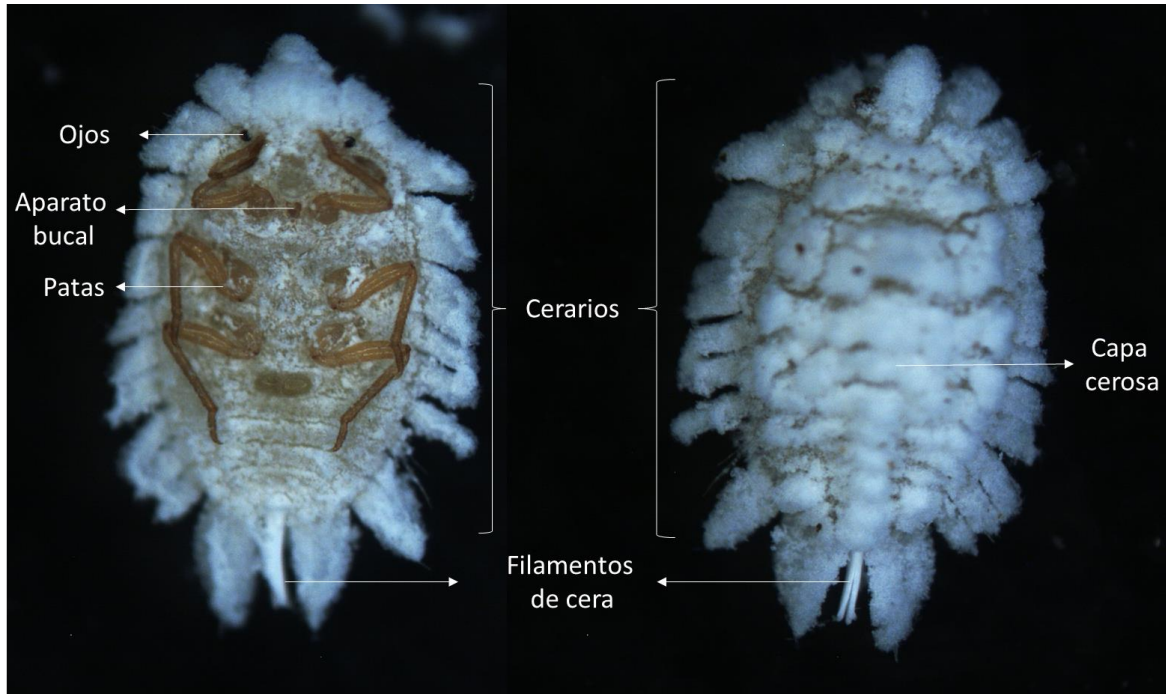


Figura 4.1. Vista ventral (izquierda) y dorsal (derecha) de la hembra de cochinilla harinosa “*P. barberi*”. **Fuente:** propia.

El ciclo de vida se presenta en 3 estadios de desarrollo: ninfa I, ninfa II, y adulto. Al ser un insecto ovovivíparo, el tiempo de duración en estado de huevo no es posible cuantificar, por tanto el desarrollo del ciclo de vida inicia una vez se da la eclosión del mismo; es decir, en el estado ninfal I, donde presenta una coloración amarillenta que posteriormente empieza a desaparecer debido a la secreción de cera que en aproximadamente 2 o 3 días cubrirá su cuerpo; la duración de desarrollo de este estado ninfal es de aproximadamente 18 días y finaliza una vez empieza el primer proceso de muda (Villegas et al., 2013). Luego, al iniciar su estado ninfal II, el insecto adquiere nuevamente su aspecto harinoso gracias a la secreción de cera que conforma la capa cerosa, que en este estado aumenta en densidad, así mismo, el tamaño del insecto incrementa en comparación con el anterior estado; el desarrollo de este estado ninfal, tiene una duración de aproximadamente 24 días (Villegas et

al., 2013). Al finalizar una segunda muda, inicia su estado de adultez, donde la capa cerosa y el tamaño aumentan considerablemente respecto a los dos estados anteriores, puesto que aquí pasa por tres etapas de desarrollo: pre-deposición, deposición y post-deposición, en las cuales los órganos reproductivos se desarrollan y se llenan de huevos; la adultez finaliza en el momento de su deceso con una duración de aproximadamente 99 días (Villegas et al., 2013).

La cochinilla al ser un insecto perteneciente al orden Hemiptera como se indica en la figura 4.2, se caracteriza por presentar un aparato bucal alargado en forma de estilete, adaptado en la parte anterior de su cabeza, para pinchar o chupar. Específicamente esta especie, representa una amenaza en los cultivos de café, ya que al succionar la savia de las raíces de los árboles causa la marchitez, clorosis foliar, defoliación y en algunos casos, puede llegar a ocasionar la muerte del árbol (Murillo & Flórez, 2001). Debido a los anteriores efectos producidos por estos insectos - plaga, la caficultura padece un alto impacto económico, debido a la disminución en la producción del cultivo o por la pérdida de plantas como se expresó anteriormente.

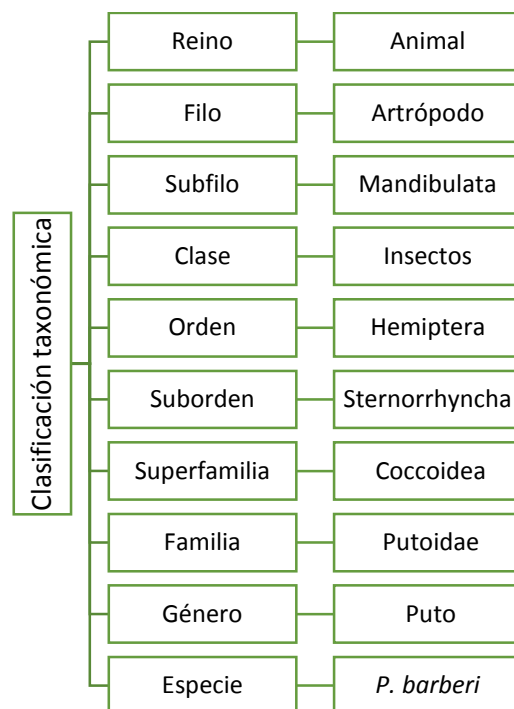


Figura 4.2. Clasificación taxonómica de *P. barberi*. **Fuente:** (Palma Jiménez et al., 2019; Villegas et al., 2013).

4.1.3. Métodos convencionales para el tratamiento de la plaga *P. Barberi*

La afectación que enfrenta el productor cafetero ante la presencia de esta plaga en el cultivo, conlleva al uso intensivo e indiscriminado de diferentes agroquímicos, generando diversos problemas ambientales, asociados al aumento de resistencia de plagas, contaminación de fuentes hídricas, efectos secundarios en especies no objetivo y, además, de impactos negativos en la salud de quienes los manipulan (Góngora & Gil-Palacio, 2020).

El control de este insecto en los cultivos se dificulta al ser una especie con hábitos subterráneos, es por esto que el manejo de las cochinillas en los cultivos inicia con la prevención de la infesta desde la primera etapa del cultivo cuando se siembra la chapola en el almácigo, pues aquí se toma el riesgo de infestar las plántulas con tierra que proviene de otras regiones, ya que puede traer consigo ésta o demás plagas; para evitar lo anterior, se han establecido ciertas recomendaciones donde la revisión periódica es clave para la temprana identificación de plagas y así lograr un control de ésta a partir de la rápida aplicación de los agentes químicos usados para su eliminación (Gil et al., 2015).

Ahora, una vez se siembran las plántulas en el lote destinado para su crecimiento, la infestación puede darse a través de la presencia de la cochinilla en el lote sembrado, por residuos de cosechas pasadas o por su presencia en cultivos aledaños. En estos casos, una vez se identifica el ataque del insecto, específicamente de la especie *P. barberi* en al menos una planta, se recomienda la aplicación inmediata del insecticida en la totalidad del cultivo con las concentraciones estipuladas por el fabricante (Gil et al., 2015).

La capa cerosa que posee la cochinilla es un obstáculo al momento de combatirla, pues su propiedad hidrófoba la convierte en un elemento de protección para el insecto ante condiciones ambientales adversas, por lo cual ha resultado útil el uso de insecticidas de poca solubilidad en agua, como, por ejemplo, productos a base

de bifentrina, deltametrina, piretrinas y clorpirifos (Plantix, n.d.). Algunos de los productos de origen químico utilizados para este fin y que actualmente se encuentran activos en el mercado son: Sílex, Verdadero® y Pyrinex® (Gil et al., 2015). En el marco del presente trabajo de investigación, se empleó el insecticida químico con nombre comercial Pyrinex® cuyo componente activo es el clorpirifos.

El clorpirifos es un insecticida de amplio espectro que actúa por contacto, inhalación e ingestión sobre una gran variedad de insectos, causándoles por su mecanismo de acción, impulsos eléctricos permanentes que producen convulsiones al sistema muscular llevando al insecto a un estado de postración hasta alcanzar la muerte (Departamento técnico ADAMA, 2015). Además, diferentes reportes concluyen que el mecanismo de acción de este compuesto químico genera considerables efectos negativos sobre la salud humana causando enfermedades como el cáncer de mama, colon, pulmón, desarrollo de gliomas, efectos neurológicos en el feto y niños, entre otros (Cocca, Ventura, Nuñez, Randi, & Venturino, 2015; Rauh et al., 2006). Por otro lado, (González et al., 2007) reporta que, en pozos de agua subterráneos, el principal pesticida encontrado fue el clorpirifos, debido a la infiltración que se favorece por la composición del suelo (arenoso) y también por la introducción directa a los afluentes por las malas prácticas en el proceso de extracción del líquido para preparar el plaguicida. Estos acuíferos al ser la única fuente de agua potable, es consumida por las comunidades, trayendo consigo afectaciones a la salud de los seres vivos que se suplen de estas fuentes de agua. Además, diferentes estudios han evidenciado la presencia de residuos de clorpirifos en alimentos como la miel (Zhu, Schmehl, Mullin, & Frazier, 2014), la leche bovina (Morales, Rodríguez, & Ms, 2004), entre otros; así mismo, la generación de toxicidad en animales terrestres como los caninos y felinos (Daza & Ayuso, 2004), y animales acuáticos como en larvas de tilapia y cachama (Holguín Céspedes, Millán Ocampo, Mahecha Méndez, Céspedes Rubio, & Rondon Barragán, 2019; Taborda, Rodríguez, Durán, & Betancur, 2012), entre otros.

En esa misma línea, diferentes investigaciones sostienen que en la naturaleza se

encuentran hongos entomopatógenos como *Metarhizium robertsii* con la capacidad de controlar plagas, entre ellas, las plagas de las raíces. (Góngora & Gil-Palacio, 2020) reporta una reducción de la población de cochinillas cercana al 80% al hacer estudios *in vitro* con *M. robertsii*, resultados similares a los obtenidos con la aplicación del insecticida químico Clorpirifos al 75% WG (3 g/L), lo que indica el amplio espectro de acción del hongo.

Debido a las afectaciones causadas al medio ambiente y a los seres vivos, las cuales son provocadas por los diferentes productos agroquímicos utilizados en la cotidianidad, se busca llevar a cabo alternativas novedosas y de bajo impacto ambiental para el control de plagas, por lo tanto, el presente trabajo de investigación pretende determinar la capacidad plaguicida de las ZnO - NPs sobre la cochinilla *P. barberi*, teniendo en cuenta además, los beneficios que aporta el zinc al ser un micronutriente esencial para el crecimiento de las plantas y su producción agrícola.

4.2. EVALUACIÓN DE LAS ZnO - NPs COMO PLAGUICIDA: PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL

4.2.1. Descripción del protocolo empleado.

4.2.1.1. Trabajo de campo

Las muestras de *P. barberi* fueron recolectadas manualmente, en predios ubicados en el municipio de Cajibío, específicamente en el parque tecnológico de innovación del Café (TECNICAFE) durante dos fechas de colecta, realizadas los días 21 y 22 de mayo del 2022, en los lotes infestados, indicados por los funcionarios del parque.

La recolección se centró en obtener una cantidad mayor a 440 cochinillas, cantidad requerida de individuos para el montaje del diseño experimental, las cuales fueron ubicadas en las raíces de las plantas de café (figura 4.3), evitando estropear partes de su cuerpo con las herramientas utilizadas y sin tener en cuenta la variedad de la planta de café, puesto que no es un factor determinante para la presencia o no de

este insecto. Es por eso, que el palín se introdujo en la zona lateral de la planta de forma diagonal, en reiteradas ocasiones, para disminuir la presión que ejerce la tierra sobre las raíces, permitiendo obtener una exposición de la colonia de cochinillas sin afectaciones mecánicas. Una vez que se ubicó la colonia, se hizo un barrido con ayuda de un pincel para transferir los individuos a un recipiente plástico destinado para el traslado y conservación hasta el laboratorio de Ciencia y Tecnología de Materiales Cerámicos (CYTEMAC), donde fueron expuestos a diferentes tratamientos.

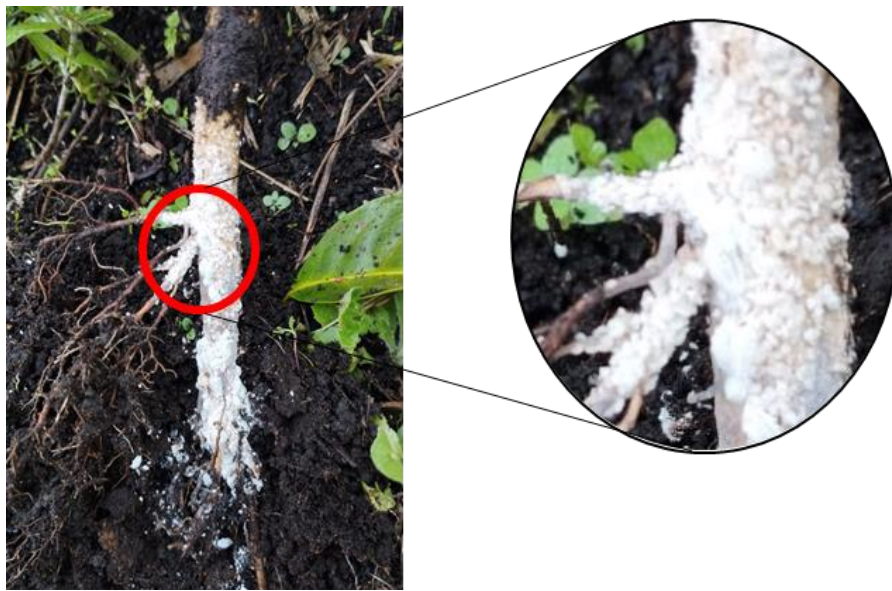


Figura 4.3. Colonia de cochinillas *P. barberi* “*in situ*”. **Fuente:** Propia.

4.2.1.2. Trabajo en laboratorio

Para realizar el montaje experimental, se dispuso de un lugar de trabajo con parámetros adecuados como: ventilación, poca luminosidad, temperatura y humedad para simular el entorno natural de la plaga en estudio dentro del laboratorio de investigación CYTEMAC de la Universidad del Cauca. Este lugar se trató previo al montaje, por medio de una minuciosa limpieza con un desinfectante glutaraldehído al 2% y alcohol etílico al 70%, para prevenir la presencia de hongos y bacterias que pudieran afectar.

Los individuos colectados previamente, fueron dispuestos en recipientes plásticos tipo “cupcake” (9,2 cm de diámetro por 7,9 cm de alto) (figura 4.4 (c)). Éstos, se adecuaron para simular las condiciones óptimas de supervivencia de las cochinillas, como lo es su alimento, y para ello se empleó el tubérculo *Solanum phureja* (papa criolla) con brotes de crecimiento, seleccionada previamente cumpliendo parámetros de calidad y asepsia (figura 4.4 (a)); así mismo, el flujo de aire en su interior se garantiza realizando pequeños agujeros en la parte superior del recipiente.

Por cada adecuación de un recipiente junto a una papa criolla fija, se introdujeron 5 individuos para conformar así las unidades experimentales (figura 4.4 (b)), éstas se ubicaron en bandejas plásticas, agrupadas de acuerdo a su respectivo tratamiento. Finalmente, las bandejas se dispusieron (figura 4.4 (c)) sobre un estante situado en una zona del laboratorio, simulando las condiciones nombradas anteriormente.

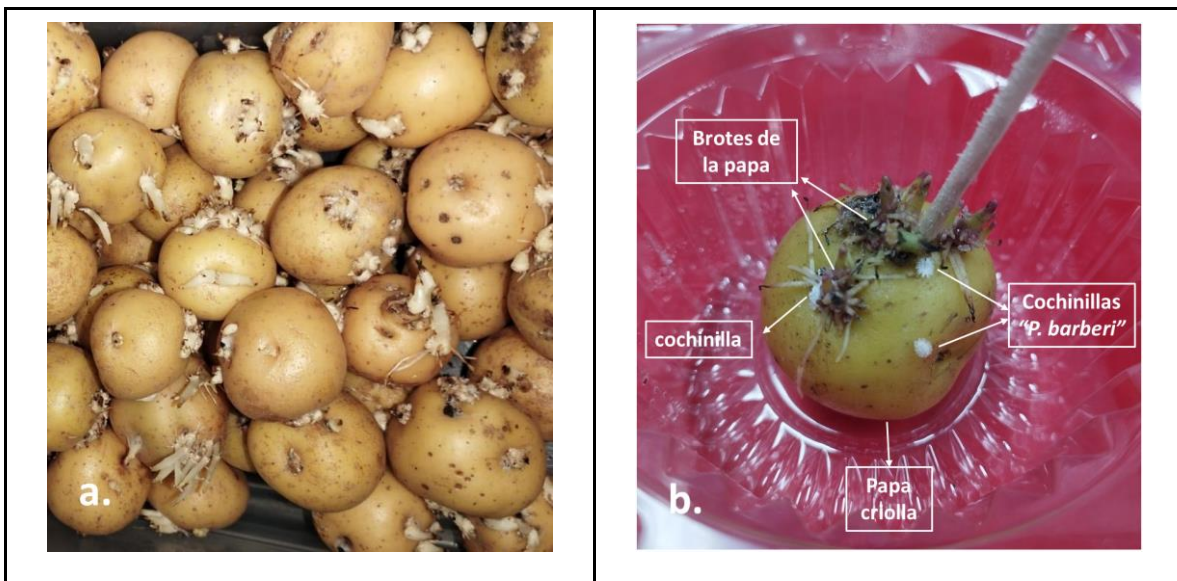




Figura 4.4. Montaje del diseño experimental. **Fuente:** Propia.

4.2.2. Diseño experimental del bioensayo.

Para determinar las diferentes concentraciones de ZnO-NPs a usar en los tratamientos planteados en el bioensayo, se tuvieron en cuenta diferentes artículos reportados en la literatura; particularmente en el reporte realizado para la evaluación del efecto insecticida de las ZnO - NPs en *Bactericera cockerelli* (Sulc), una especie de psílido que afecta los cultivos de tomate y papa (Guti et al., 2021), en el cual se obtuvieron porcentajes de mortalidad de la plaga del 79%, 88% y 88,58%, para las concentraciones de 300 ppm, 1000 ppm y 3000 ppm, respectivamente. Este reporte fue tomado como referencia gracias a los importantes resultados obtenidos, como también, por la semejanza en la naturaleza de los biomodelos, *Bactericera cockerelli* con la cochinilla harinosa "*Puto Barberi*", pues estos insectos - plaga, comparten en su taxonomía: reino, filo, clase, orden y suborden.

Por lo anterior, para evaluar el efecto plaguicida de los sólidos sintetizados por las rutas química y verde, se consideraron diferentes tratamientos teniendo en cuenta las concentraciones de 300, 1000 y 3000 ppm; donde cada uno de estos contaba con 8 réplicas. Estos tratamientos se aplicaron mediante aspersion empleando un atomizador de acción manual de 5 mL de capacidad y una dosificación aproximada de 0.1 mL por cada "puff" realizado. Para evitar exceso de humedad en el ambiente,

las aspersiones se realizaron cada 48 horas durante 21 días, este último dato considerando el ciclo de vida de la cochinilla mencionado anteriormente.

En la figura 4.5 se muestra el esquema del bioensayo realizado para la evaluación de los sólidos obtenidos por dos rutas de síntesis, empleando en el control positivo el pesticida comercial Pyrinex®.

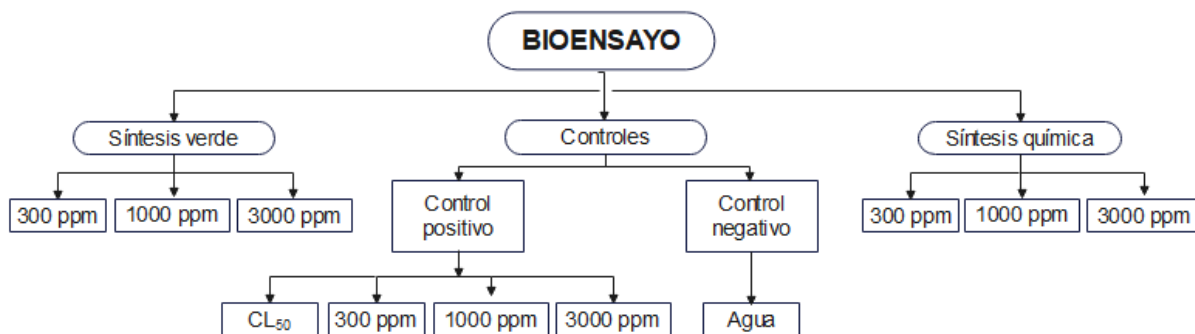


Figura 4.5. Esquema del bioensayo. **Fuente:** Propia.

4.3. ANÁLISIS DE RESULTADOS

4.3.1 Descripción cualitativa.

Para analizar los resultados de manera cualitativa, tal como se muestra en las siguientes figuras, se realizó un registro fotográfico tipo panorámico al finalizar la observación (día 22) a los 5 individuos que se encontraban en cada unidad experimental en posición ventral, el cual se realizó en la unidad de microscopía electrónica de la Universidad del Cauca, haciendo uso de un estereoscopio marca Nikon SMZ equipado con una cámara fotográfica digital marca Nikon Ds-2Mv de 2 Mpx a un aumento de 1X.

- **Síntesis química**

En la figura 4.7, observamos el resultado del tratamiento de *P. barberi* con las nanopartículas de ZnO a una concentración de 300 ppm, en donde los individuos

vivos (figura 4.7 d y e) aún conservan su capa cerosa, aunque se acentúa de manera discreta una coloración grisácea en la superficie y/o exocutícula. De igual forma, su movilidad se redujo considerablemente con respecto a los individuos observados en el control negativo (figura 4.6 (b)). En relación con los individuos que presentaron susceptibilidad al tratamiento utilizado (figura 4.7 (a, b y c)), se encontró que se desprendían del medio de alimentación y su forma corporal ovoide característica, se vio alterada debido a la pérdida de líquidos corporales y procesos de rigor mortis, características similares a las encontradas en el control positivo (figura 4.6 (a)).

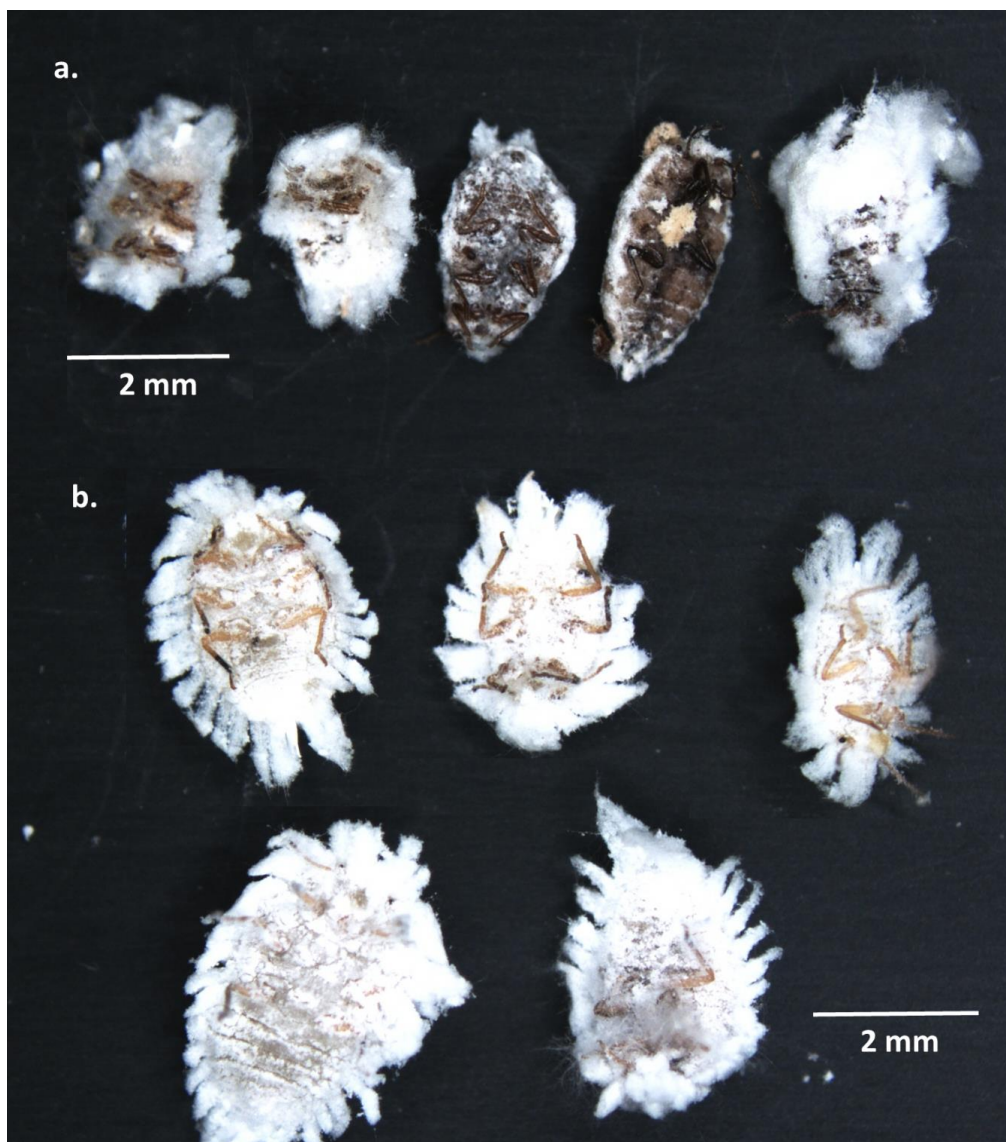


Figura 4.6. Estados de afectación al día 22 de insectos *P. barberi* por controles (a) Positivo y (b) Negativo. **Fuente:** Propia.

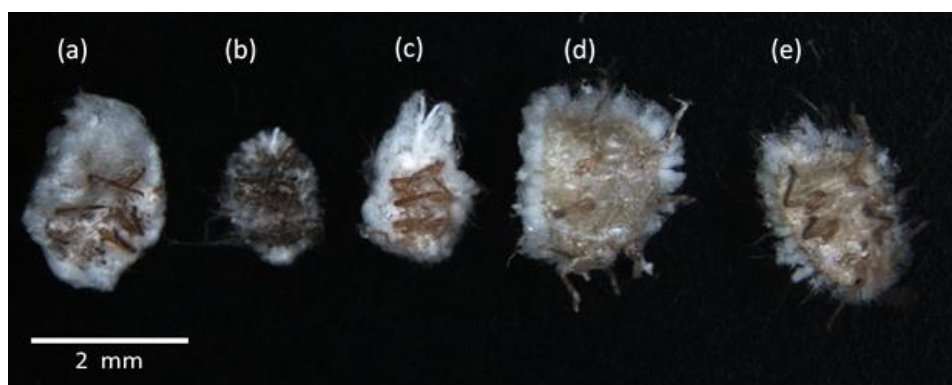


Figura 4.7. Estados de afectación al día 22 de insectos *P. barberi* por tratamiento con ZnO – NPs obtenidas por ruta química [300 ppm]. **Fuente:** Propia.

Al realizar las observaciones cualitativas de los individuos asperjados con una concentración mayor de nanopartículas, 1000 y 3000 ppm (figura 4.8), se obtuvieron resultados semejantes en la morfología de los individuos vivos y de los que presentaron susceptibilidad al tratamiento de ZnO-NPs a una concentración de 300 ppm.

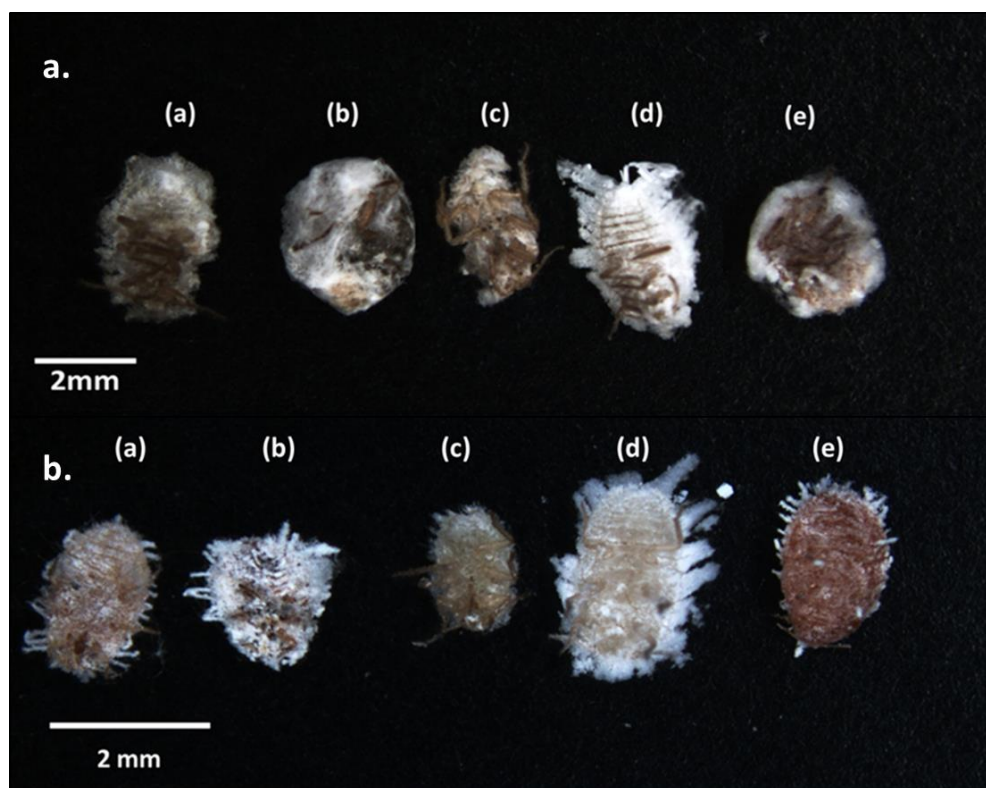


Figura 4.8. Estados de afectación al día 22 de insectos *P. barberi* por tratamiento con ZnO-NPs obtenidas por ruta química **(a)** [1000 ppm] **(b)** [3000 ppm]. **Fuente:** Propia.

Al analizar los datos estadísticamente, se evidenció que para las ZnO–NPs sintetizadas por una ruta química, la concentración con mayor capacidad plaguicida fue la de 300 ppm, con un total de 22 muertes, correspondiente al 55% del total de los individuos, frente a 16 muertes (40%) obtenidas con la concentración mayor, 3000 ppm (figura 4.9).

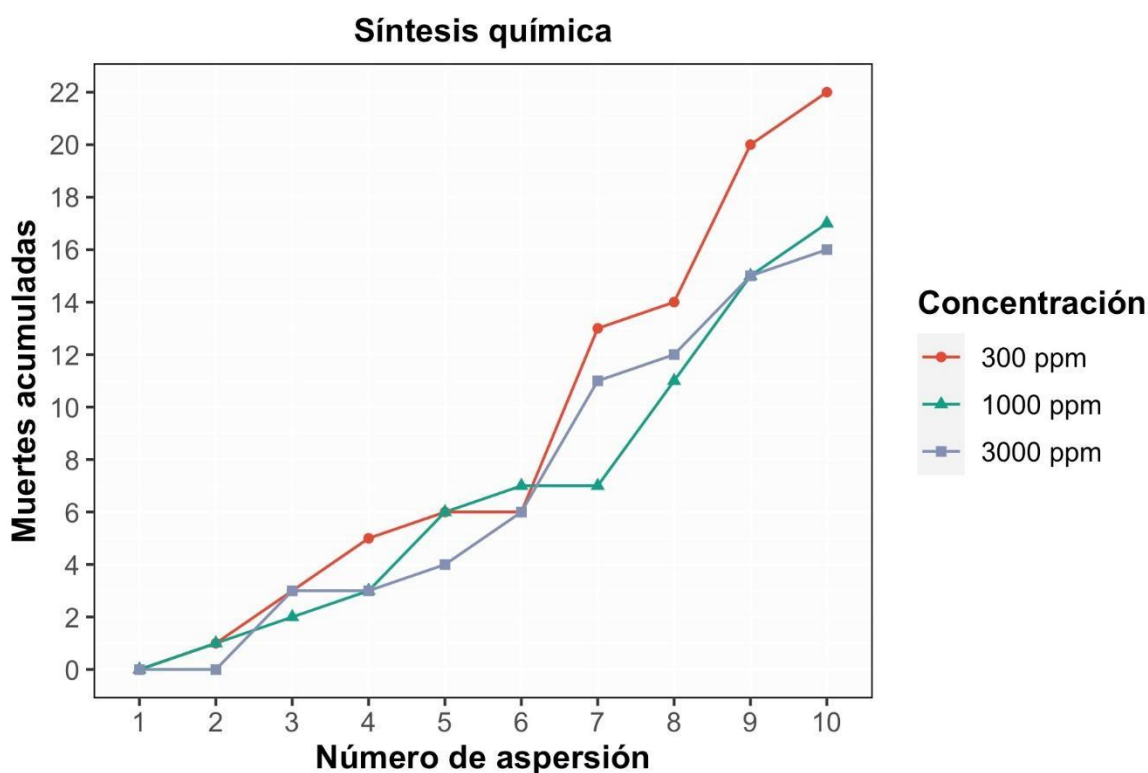


Figura 4.9. Gráfica de seguimiento del efecto plaguicida de las ZnO – NPs. **Fuente:** Propia.

Cabe destacar que este resultado es benéfico debido a que se logró evidenciar una efectividad en la capacidad plaguicida de las ZnO - NPs sobre dicha plaga, recalcando, además, grandes bondades como su bajo impacto ambiental, el aporte de micronutrientes al medio asperjado por parte del zinc, el cual es esencial para el óptimo desarrollo de las plantas, entre otros. Esto, a pesar de que su efectividad no es comparable con lo obtenido en el tratamiento empleando el agroquímico Pyrinex® (figura 4.10), el cual genera gran contaminación a factores ambientales como el suelo, las fuentes de agua, especies no objetivo e incluso causando afectaciones a la salud humana.

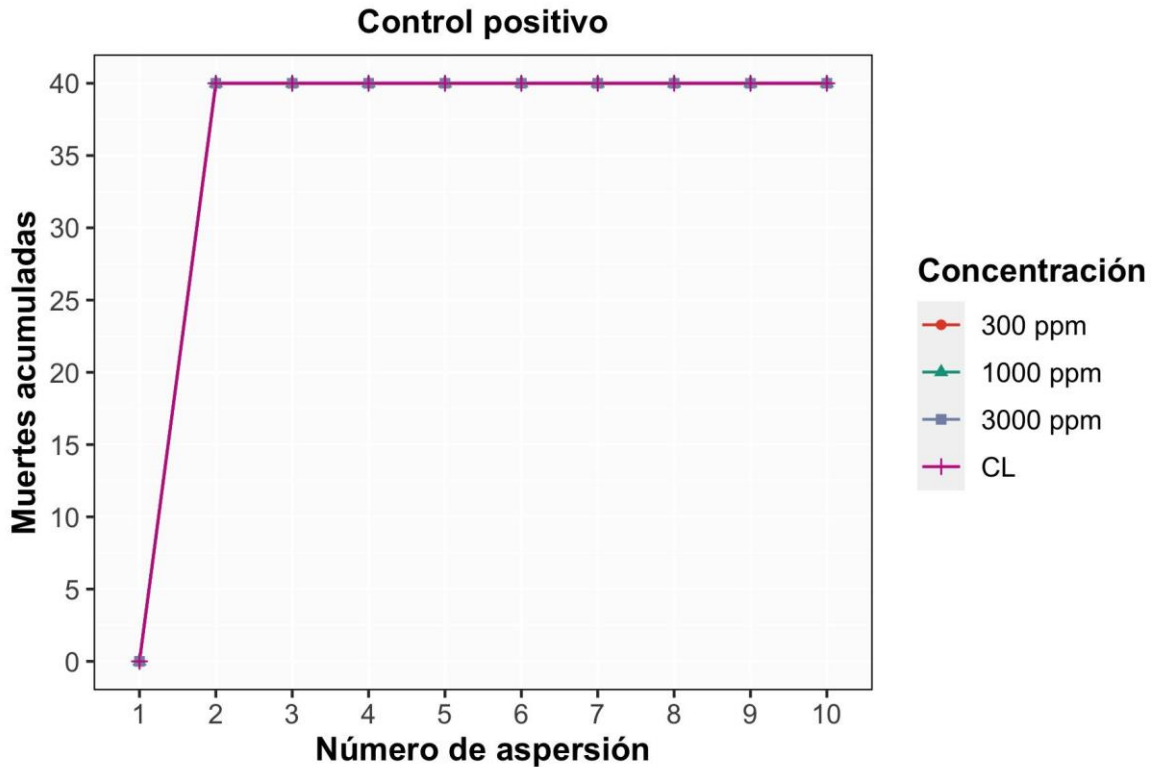


Figura 4.10. Gráfica de seguimiento del efecto plaguicida del agroquímico Pyrinex ®.
Fuente: Propia.

- **Síntesis verde**

Al realizar el tratamiento con los nanobiohíbridos con base de ZnO, se encontró que, a bajas concentraciones, 300 y 1000 ppm, su efecto plaguicida no tuvo un efecto representativo con 16 y 20 muertes, representadas en el 40% y 50% de mortalidad, respectivamente, frente al efecto observado de la concentración mayor, 3000 ppm, que representa un 57,5% de mortalidad con 23 muertes (figura 4.11).

Para este caso, el material obtenido cuenta con un recubrimiento de biomoléculas de ají sobre las partículas de ZnO, y según los resultados obtenidos, éste componente biológico no aportaría significativamente a la capacidad plaguicida del sólido sintetizado. Lo anterior, indica la necesidad de utilizar mayores concentraciones para lograr un efecto similar al obtenido con las ZnO - NPs, motivo por el cual la mayor mortalidad se dio a la concentración de 3000 ppm.

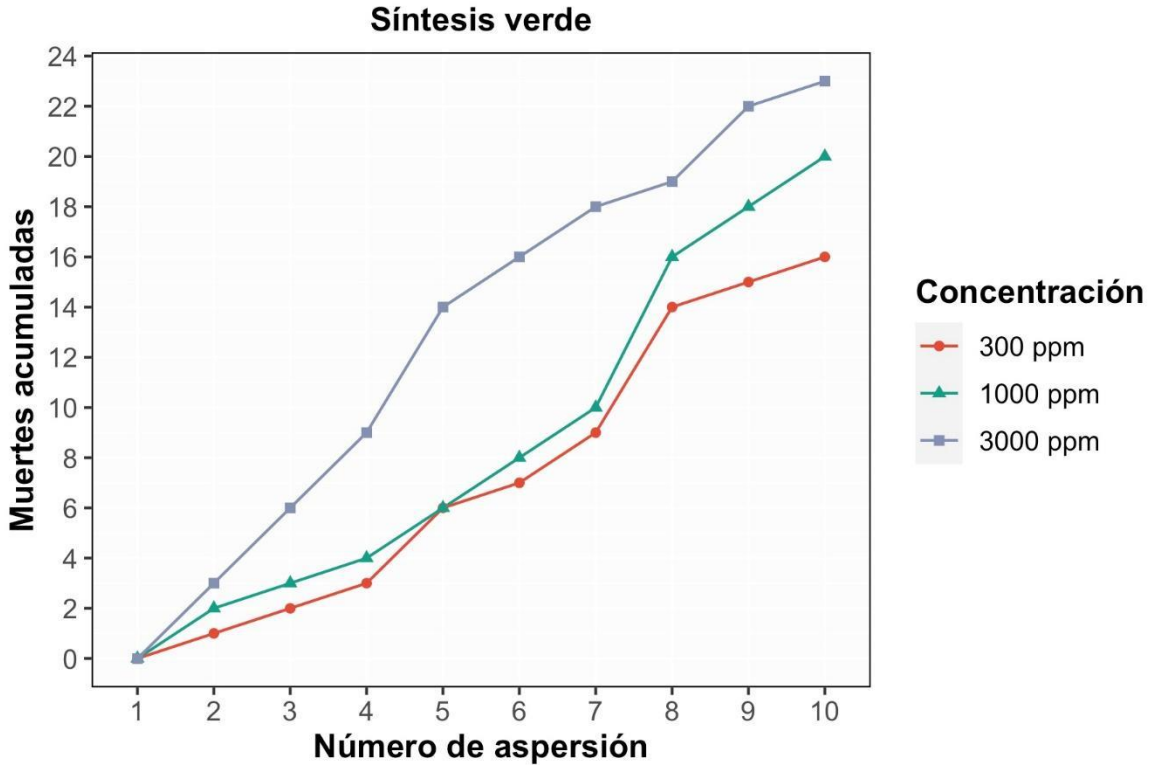


Figura 4.11. Gráfica de seguimiento del efecto plaguicida de los nanobiohíbridos con base de ZnO. **Fuente:** Propia.

Al observar las características morfológicas se evidenció que para los diferentes tratamientos (300, 1000 y 3000 ppm) (figura 4.12) llevados a cabo con los nanobiohíbridos basados en ZnO, se encontraron similitudes en la densidad de la capa cerosa dorsal y en la poca definición de los cerarios para los individuos que al finalizar el estudio se encontraban vivos, en comparación con los individuos del control negativo (figura 4.6 (b)), los cuales están recubiertos en su totalidad por una capa cerosa. Un aspecto interesante observado en los individuos susceptibles al tratamiento, fue la presencia de una coloración negra que podría asociarse a una necrosis cutánea del cuerpo de la cochinilla, exceptuando las patas.

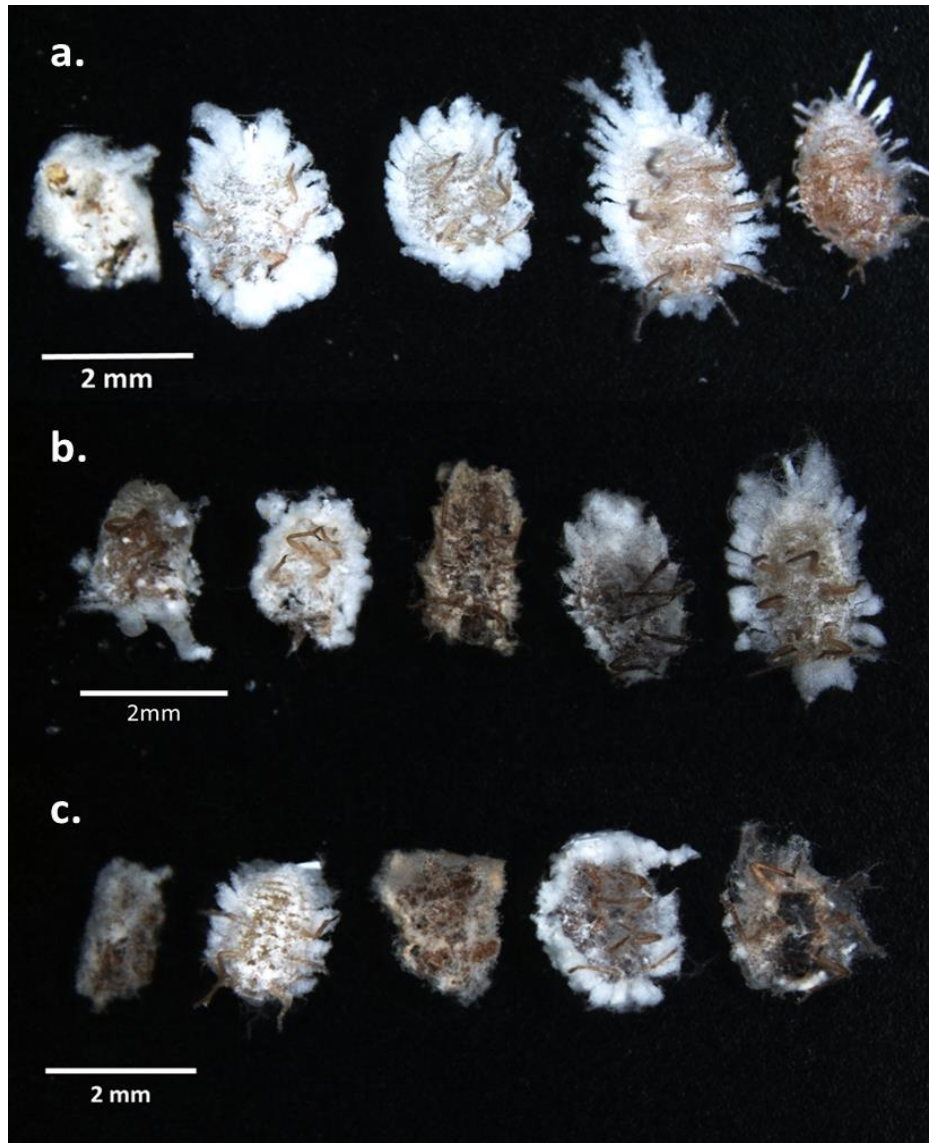


Figura 4.12. Estados de afectación al día 22 de insectos *P. barberi* por tratamiento con nanobiohíbridos con base de ZnO (a) [300 ppm] (b) [1000 ppm] y (c) [3000 ppm]. **Fuente:** Propia.

Hasta el momento no se ha estructurado un mecanismo que explique y justifique completamente la acción de los sólidos sintetizados en el presente estudio sobre los insectos de interés, aunque se han publicado estudios donde se describen algunas hipótesis al respecto (Hernández Tenorio & Orozco Sánchez, 2020), y se visualizan globalmente cuáles serían los posibles fenómenos fisiológicos que ocurren entre la superficie de las nanopartículas y los exoesqueletos. Así mismo, uno de los aspectos a considerar, es la posible generación de ROS (especies

reactivas de oxígeno), las cuales reaccionan fácilmente con moléculas de las células debido a su contenido de oxígeno con diferente reactividad química, donde la posibilidad de provocar daños en el ADN, ARN, proteínas, hasta llegar a causar la muerte de una célula, aumenta al haber acumulación de dichas especies (Doorley & Payne, 2012; Hirota et al., 2010; Verma, Jha, Panda, Das, & Thirumurugan, 2017). Por lo anterior, se requiere una profundización a futuro con investigaciones más rigurosas, usando técnicas experimentales más elaboradas como electroquímica y potenciometría, las cuales nos darían a conocer la cantidad de especies cargadas o ricas en electrones, como lo son los ROS; Técnicas de microscopía, como la electrónica de transmisión (MET), para poder observar la ultra estructura del biomodelo y saber cómo estas NPs, están actuando; microscopía electrónica de barrido (SEM), con la cual se puede observar cómo se está depositando el material asperjado sobre su estructura externa.

4.3.2. Análisis estadístico

Para describir los patrones de los datos obtenidos, al igual que identificar posibles datos atípicos, los conteos del número de muertes fueron agrupados de acuerdo a las concentraciones de cada tipo de tratamiento aplicado, para posteriormente realizar un análisis exploratorio por medio de gráficos de dispersión y diagramas de barras (figura 4.13, figura 4.14), de acuerdo a los estadísticos descriptivos de los parámetros evaluados (tabla 4.1). Para la variable “número de muertes” se revisó el ajuste a la distribución normal por medio de la prueba de Shapiro-Wilks, mientras que el supuesto de homogeneidad de varianzas fue revisado con el estadístico de Levene (tabla 4.2).

Tabla 4.1. Número total de muertes para cada aspersion agrupados de acuerdo a las concentraciones de cada tipo de tratamiento aplicado.

Tratamiento	Concentración	n	Aspersion									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Síntesis química	300 ppm	8	0	1	2	2	1	0	7	1	6	2
Síntesis química	1000 ppm	8	0	1	1	1	3	1	0	4	4	2
Síntesis química	3000 ppm	8	0	0	3	0	1	2	5	1	3	1
Síntesis verde	300 ppm	8	0	1	1	1	3	1	2	5	1	1

Tratamiento	Concentración	n	Aspersión									
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Síntesis verde	1000 ppm	8	0	2	1	2	1	2	2	6	2	2
Síntesis verde	3000 ppm	8	0	3	4	4	6	2	2	1	3	1
Control positivo	300 ppm	8	0	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Control positivo	1000 ppm	8	0	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Control positivo	3000 ppm	8	0	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Control positivo	CL	8	0	40	40	40	40	40	40	40	40	40
Control negativo	----	8	0	0	0	0	1	0	2	2	0	2

Tabla 4.2. Revisión de los supuestos de distribución normal y homogeneidad de varianzas.

Shapiro-Wilk normality test			
Data:		Data Aspe_n_sum	
W = 0.84756		p-value = 0.001971	
Levene's Test for Homogeneity of Variance (center = median)			
Group	Df	F	Value Pr (>F)
	5	0.6182	0.6877
	18	---	---

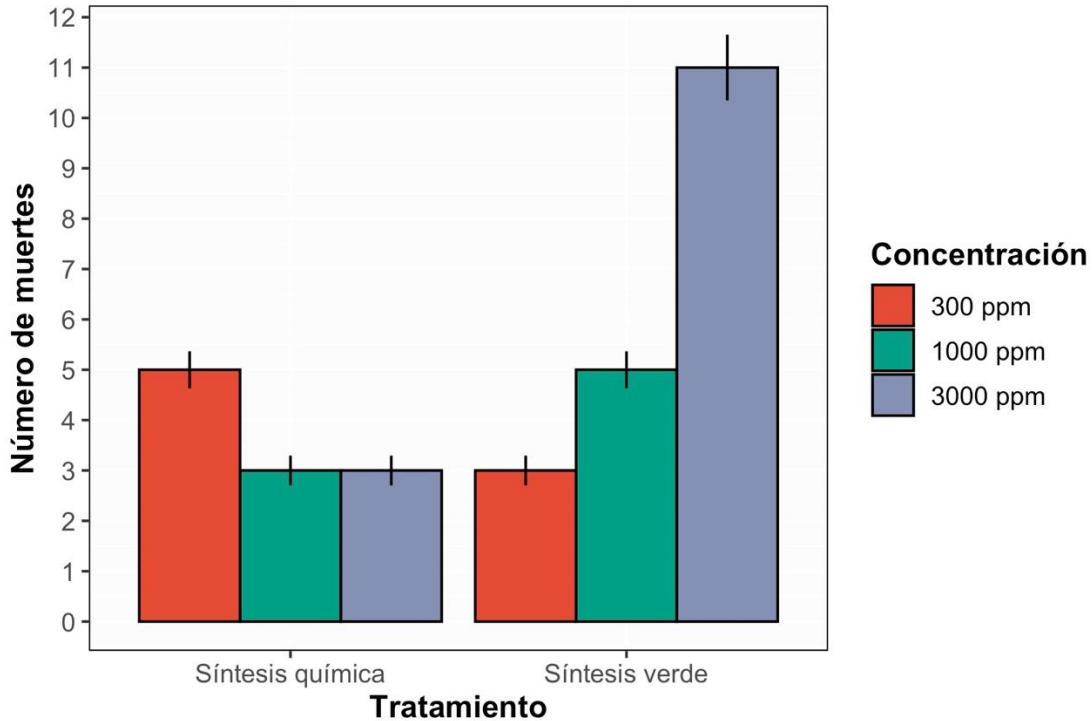


Figura 4.13. Gráfico de barras para el número de muertes reportadas hasta la aspersión 4 y agrupadas de acuerdo a las diferentes concentraciones empleadas en los dos tipos de síntesis evaluadas.

Posteriormente se procedió a evaluar la relación del número de muertes respecto a las diferentes concentraciones (300, 1000 y 3000 ppm) de los dos tratamientos aplicados (Síntesis química, Síntesis verde). Para ello, teniendo en cuenta la estructura jerárquica y balanceada del diseño experimental utilizado, se aplicó un modelo de ANOVA de una vía por medio del estadístico no paramétrico de Kruskal-Wallis. A pesar de que el diseño experimental empleado representa un modelo de ANOVA anidado, se optó por aplicar un modelo de ANOVA de una vía utilizando como variable ordinal las concentraciones de cada tratamiento, ya su estructura balanceada lo permite y se obtienen los mismos resultados del ANOVA anidado y su interpretación es más sencilla (McDonald, 2014).

Para todos los análisis estadísticos se utilizó el lenguaje de computación estadística R (Team, 2021), mediante el software de libre acceso RStudio (RStudio, 2022), empleando los paquetes ‘dplyr’, ‘stats’ y ‘ggplot2’ (Team, 2021; Wickham, 2016; Wickham, François, Henry, & Müller, 2021).

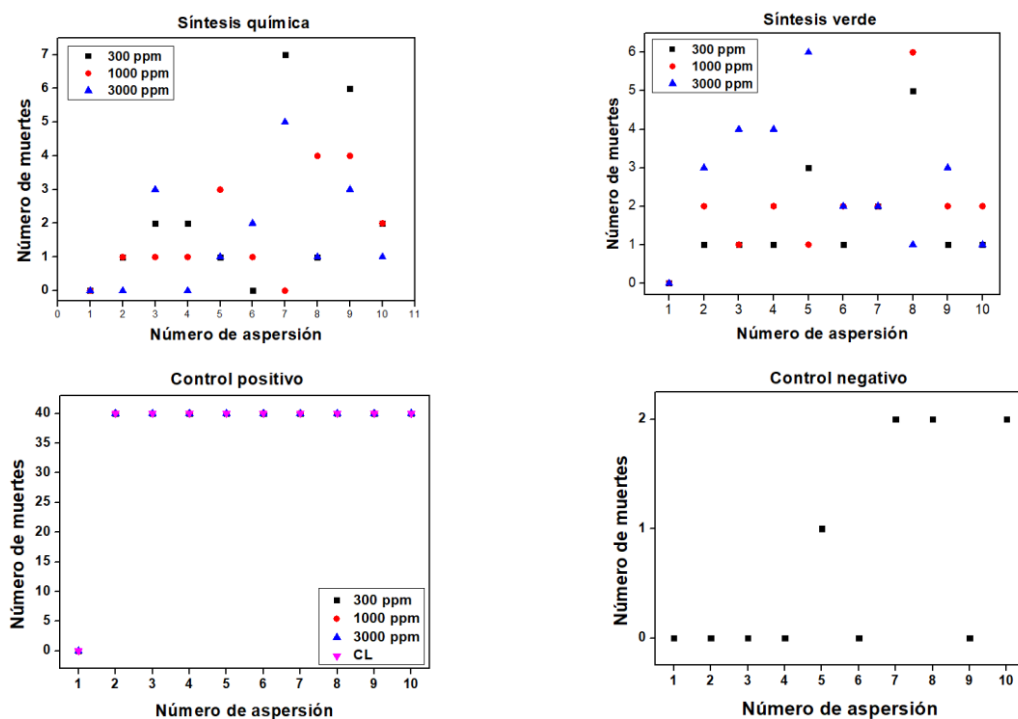


Figura 4.14. Gráficos de dispersión para el número de muertes reportado durante cada aspersión y agrupados de acuerdo a las diferentes concentraciones utilizadas para cada tratamiento evaluado.

Al evaluar los conteos obtenidos para el número de muertes en el transcurso de las 10 aspersiones realizadas para los diferentes tratamientos y controles, se encontró que para el control negativo el número de muertes aumenta a partir de la aspersión 5, indicando que a partir de este punto las muertes registradas pueden estar causadas por factores externos a las variables evaluadas y controladas durante el desarrollo del experimento (figura 4.14; tabla 4.1). Por lo tanto, los patrones observados para cada tratamiento, a partir de la aspersión 5 se encuentran sesgados y no deben ser tenidos en cuenta para posteriores análisis.

Teniendo en cuenta lo anterior, se procedió a evaluar los supuestos de normalidad y homogeneidad de varianzas para la variable “número de muertes” hasta la aspersión 4, y así posteriormente ajustar el modelo de ANOVA que permite evaluar los patrones asociados de esta variable respecto a los tratamientos aplicados (síntesis química y síntesis verde). Se encontró que la variable “número de muertes” presenta una distribución que no se ajusta a la curva de distribución normal ($W = 0.84756$, $p = 0.001971$) y por lo tanto se optó por aplicar un modelo de ANOVA no paramétrico como Kruskal-Wallis. Esta técnica mostró que no existen diferencias significativas en los patrones del número de muertes respecto las diferentes concentraciones empleadas entre los dos tratamientos evaluados ($H_5 = 4.958$, $p = 0.421$).

A pesar de que no se encontraron diferencias estadísticas entre los dos tipos de síntesis evaluados, es posible evidenciar un patrón de mayor número de muertes para la concentración de 3000 ppm de la síntesis verde respecto a las concentraciones restantes de los dos tipos de síntesis, lo cual podría indicar una efectividad alta. Sin embargo, este patrón debe ser corroborado por medio de nuevos experimentos que eviten el sesgo en el número de muertes a partir de la aspersión 5 evidenciado por el control negativo.

4.4. CONCLUSIONES

- Se evaluó una acción plaguicida de los sólidos sintetizados sobre la cochinilla harinosa *Puto barberi*, evidenciando un 55% de mortalidad en los individuos para una concentración de 300 ppm de las ZnO - NPs, y un 57,5% de mortalidad con los nanobiohíbridos con base de ZnO a una concentración de 3000 ppm.
- Se encontró que la acción plaguicida de los sólidos sintetizados, representa aproximadamente el 50% de efectividad con respecto a las concentraciones del control positivo evaluadas sobre la plaga en mención. Por tanto, se puede considerar que éstos sólidos podrían actuar como controladores de la plaga.
- De acuerdo a los resultados obtenidos con el efecto de los nanobiohíbridos sobre los individuos asperjados, se puede considerar que la mayor contribución se debe a la presencia de las nanopartículas de ZnO, ya que el aporte de las biomoléculas de ají no representa un efecto considerable en la mortalidad de los individuos tratados, a diferencia de las ZnO-NPs.
- Aunque se evidencia un efecto plaguicida de los sólidos nanoparticulados, no se perciben cambios significativos en las características morfológicas de los individuos vivos y de los susceptibles a los tratamientos, teniendo en cuenta las diferentes concentraciones evaluadas (300, 1000 y 3000 ppm) para cada uno de los sistemas (síntesis química y síntesis verde).

4.5. REFERENCIAS

Barik, T. K., Sahu, B., & Swain, V. (2008). *Nanosilica — from medicine to pest control*. 103(2), 253–258. <https://doi.org/10.1007/s00436-008-0975-7>

Benavides Machado, P., Ángel, C. A., & Rivillas, C. A. (2021). *Sanidad Vegetal*.

Centro Nacional de Investigaciones de Café, *Guía Más Agronomía, Más Productividad, Más Calidad.*, 133–178.

https://doi.org/https://doi.org/10.38141/10791/0014_9

Benelli, G. (2018). Mode of action of nanoparticles against insects. *Environmental Science and Pollution Research*.

<https://doi.org/https://doi.org/10.1007/s11356-018-1850-4>

Cocca, C., Ventura, C., Nuñez, M., Randi, A., & Venturino, A. (2015). El organofosforado clorpirifos como disruptor estrogénico y factor de riesgo para el cáncer de mama. *Acta Toxicológica Argentina*, 23(3), 142–152.

Daza, A., & Ayuso, E. (2004). Intoxicaciones más frecuentes en pequeños animales. *Revista AVEPA*, 24(4), 231–239. Retrieved from <https://ddd.uab.cat/pub/clivetpeqani/11307064v24n4/11307064v24n4p231.pdf>

Departamento técnico ADAMA. (2015). *Ficha técnica Pyrinex 4 EC* (Vol. 1).

Doorley, G. W., & Payne, C. K. (2012). Nanoparticles act as protein carriers during cellular internalization. *Chemical Communications*, 48(24), 2961–2963.

<https://doi.org/10.1039/c2cc16937a>

El-bendary, H. M., & El-Helaly, A. A. (2013). First record nanotechnology in agricultural : Silica nano- particles a potential new insecticide for pest control. *Applied Scientific Reports*, 4(3), 241–246.

Gao, Y., Xiao, Y., Mao, K., Qin, X., Zhang, Y., Li, D., ... He, S. (2020). Thermoresponsive polymer-encapsulated hollow mesoporous silica nanoparticles and their application in insecticide delivery. *Chemical Engineering Journal*, 383. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2019.123169>

Gil-Palacio, Z., Caballero, A., Ramos, A. A., Arcila-Moreno, A., & Benavides Machado, P. (2021). Diagnóstico de las cochinillas de las raíces del café en ocho departamentos cafeteros de Colombia. *Avances Técnicos Cenicafé*, 524, 1–8. <https://doi.org/10.38141/10779/0524>

Gil, Z., Villegas, C., & Benavides, P. (2015). Manejo integrado de las cochinillas de

las raíces del café. *Avances Técnicos N° 459*, 8 pp.

Góngora, C. E., & Gil-Palacio, Z. (2020). Control biológico de cochinillas de las raíces del café con hongos entomopatógenos. *Revista Cenicafé*, 71(2), 53–65. <https://doi.org/10.38141/10778/71204>

González, O., Aguirre, J., Saugar, G., Orozco, L., Álvarez, G., Palacios, K., & Guevara, O. (2007). Diagnóstico de la calidad del agua de consumo en las comunidades del sector rural noreste del municipio de León, Nicaragua. *Universitas (León): Revista Científica de La UNAN León*, 1(1), 7–13. <https://doi.org/10.5377/universitas.v1i1.1625>

Goswami, A., Roy, I., Sengupta, S., & Debnath, N. (2010). Novel applications of solid and liquid formulations of nanoparticles against insect pests and pathogens. *Thin Solid Films*, 519(3), 1252–1257. <https://doi.org/10.1016/j.tsf.2010.08.079>

Guti, A., Betancourt-galindo, R., Aguirre-uribe, L. A., Cerna-ch, E., Sandoval-rangel, A., Á, E. C., ... Garc, I. (2021). Insecticidal Effect of Zinc Oxide and Titanium Dioxide Nanoparticles against *Bactericera cockerelli* Sulc . (Hemiptera : Triozidae) on Tomato *Solanum lycopersicum*. *Agronomy*, 11–1460. <https://doi.org/https://doi.org/10.3390/agronomy11081460>

Hernández Tenorio, F., & Orozco Sánchez, F. (2020). Nanoformulaciones De Bioinsecticidas Botánicos Para El Control De Plagas Agrícolas. *Revista de La Facultad de Ciencias*, 9(1), 72–91. <https://doi.org/10.15446/rev.fac.cienc.v9n1.81401>

Hirota, K., Sugimoto, M., Kato, M., Tsukagoshi, K., Tanigawa, T., & Sugimoto, H. (2010). Preparation of zinc oxide ceramics with a sustainable antibacterial activity under dark conditions. *Ceramics International*, 36, 497–506. <https://doi.org/10.1016/j.ceramint.2009.09.026>

Holguín Céspedes, G. K., Millán Ocampo, L. M., Mahecha Méndez, J. E., Céspedes Rubio, Á. E., & Rondon Barragán, I. S. (2019). EVALUACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL CLORPIRIFÓS EN ALEVINOS DE CACHAMA BLANCA.

Revista Internacional de Contaminación Ambiental, 35(4), 815–829.

<https://doi.org/10.20937/RICA.2019.35.04.04>

Lira Saldivar, R. H., Méndez Argüello, B., Reyes, I. V., & Villarreal, G. de los S.

(2018). Agronotecnología: una nueva herramienta para la agricultura moderna. *Revista de La Facultad de Ciencias Agrarias*, 50(2), 395–411.

McDonald, J. H. (2014). *Handbook of biological statistics* (3rd ed). Baltimore, Maryland, U.S.A: Sparky House Publising.

Morales, C. A., Rodríguez, N., & Ms, M. V. (2004). El Clorpirifos : posible disruptor endocrino en bovinos de leche. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 17(3).

Murillo, R. C., & Flórez, F. J. P. (2001). Los insectos y otros habitantes de cafetales y platanales. In *Comité Departamental de Cafeteros del Quindío - Cenicafé* (Primera ed).

Palma Jiménez, M., Blanco Meneses, M., & Guillén Sánchez, C. (2019).

Mealybugs (Hemiptera: Pseudococcidae) and their impact on the Musaceae crop. *Agronomy Mesoamerican*, 30(1), 281–298.

<https://doi.org/10.15517/am.v30i1.32600>

Plantix. (n.d.). Cochinilla harinosa. Retrieved from

<https://plantix.net/es/library/plant-diseases/600019/mealybug>

Ramos, A. A., & Serna, F. J. (2004). COCCOIDEA DE COLOMBIA, CON

ÉNFASIS EN LAS COCHINILLAS HARINOSAS (HEMIPTERA: PSEUDOCOCCIDAE). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 57(2), 2383–2411.

Rauh, V. A., Garfinkel, R., Perera, F. P., Howard F., A., Lori, H., Barr, D. B., ...

Whyatt, R. W. (2006). Impact of Prenatal Chlorpyrifos Exposure on Neurodevelopment in the First 3 Years of Life Among Inner-City Children. *Pediatrics*, 118(6). <https://doi.org/doi:10.1542/peds.2006-0338>.

RStudio, T. (2022). RStudio: Integrated Development Environment for R. Retrieved

- from RStudio, PBC, Boston, MA website: <http://www.rstudio.com/>.
- Shaker, A. M., Zaki, A. H., Abdel-rahim, E. F. M., & Khedr, M. H. (2017). TiO₂ nanoparticles as an effective nanopesticide for cotton leaf worm. *Agricultural Engineering International: CIGR Journal*, (61–68).
- Taborda, D. A. A., Rodríguez, B. de J., Durán, B. V., & Betancur, L. F. R. (2012). Effect of Chlorpyrifos 0,0-dietil 0-(3, 5, 6-tricloro-2-piridil fosforotioato) in juvenile of tilapia (*Oreochromis spp*) males. *Revista Colombiana de Ciencias Pecuarias*, 25(2), 276–291.
- Team, R. C. (2021). R: A language and environment for statisticl computing. Retrieved from R Foundation dor Statistical Computing website: <https://www.r-project.org/>.
- Verma, S. K., Jha, E., Panda, P. K., Das, J. K., & Thirumurugan, A. (2017). Molecular aspects of core-shell intrinsic defect induced enhanced antibacterial activity of ZnO nanocrystals. *Nanomedicine*, 26. <https://doi.org/10.2217/nnm-2017-0237>
- Villegas, G., Peña, M., Muñoz, H., Martínez, C., & Benavides, M. (2013). ASPECTOS DEL CICLO DE VIDA DE Puto barberi Cockerell. *Revista Cenicafé*, 64(1), 31–41.
- Wickham, H. (2016). *ggplot2: Elegant Graphics for Data Analysis* (Springer, Ed.). Verlag, New York.
- Wickham, H., François, R., Henry, L., & Müller, K. (2021). *dplyr: A Grammar of Data Manipulation*. Retrieved from <https://cran.r-project.org/package=dplyr>
- Zhu, W., Schmehl, D. R., Mullin, C. A., & Frazier, J. L. (2014). Four common pesticides, their mixtures and a formulation solvent in the hive environment have high oral toxicity to honey bee larvae. *PLoS ONE*, 9(1). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0077547>

5. CONCLUSIONES GENERALES

- Se estructuró y desarrolló una metodología controlada y reproducible para sintetizar óxido de zinc mediante rutas química y verde. De acuerdo a lo evaluado, para el proceso de biosíntesis, los parámetros recomendados son: una concentración de 50000 ppm del componente biológico, en este caso ají; uso como solvente agua más ají; un pH de trabajo de ~9 y secado del producto final a ~100°C. Específicamente, para realizar la síntesis química del ZnO, las condiciones más adecuadas para realizarlo serían: un pH de trabajo ~9, uso de agua como solvente y un tratamiento térmico final a 450°C, durante 1 hora y 30 minutos.
- Empleando diferentes técnicas de análisis, fue posible determinar características fisicoquímicas y estructurales que poseen los sólidos obtenidos; entre ellas: alta pureza química, tipo de morfología esferooidal con un tamaño de partícula <100 nm, una estructura cristalina y una alta capacidad de aglomeración para las ZnO-NPs, y para los nanobiohíbridos con base en ZnO, una estructura amorfa, alta presencia de material orgánico en su composición química y gran capacidad de aglomeración.
- Mediante el bioensayo propuesto, fue posible determinar la acción plaguicida de los sólidos obtenidos sobre la cochinilla harinosa *Puto barberi*, donde con el sólido obtenido por ruta química a una concentración de 300 ppm se obtuvo una mortalidad del 55% de los individuos, frente a un 57.5% de mortalidad obtenida con los nanobiohíbridos con base en ZnO a una concentración de 3000 ppm. El análisis estadístico, arrojó que no existen diferencias significativas en los patrones del número de muertes respecto a las diferentes concentraciones empleadas en los dos tratamientos evaluados.

6. RECOMENDACIONES

Es importante resaltar que este trabajo de investigación es pionero en el análisis de la capacidad plaguicida de nanopartículas de óxido de zinc, sobre la plaga cochinilla harinosa *P. barberi*, por ende, se debe ahondar en el conocimiento de los procesos que se deberían seguir, para obtener resultados más detallados planteando las siguientes recomendaciones para trabajos futuros.

- Se sugiere hacer uso de otros óxidos metálicos y además, de diversos componentes biológicos, de los cuales se tenga un conocimiento previo sobre su acción plaguicida.
- Se recomienda realizar inicialmente un pie de cría en el laboratorio con el material biológico obtenido en campo, para así garantizar su adaptabilidad a condiciones distintas de su entorno natural, disminuyendo las posibilidades de utilizar biomodelos que presenten algún daño en sus estructuras corporales ocasionadas por una mal maniobra al extraerlas.
- Profundizar en los procesos fisiológicos que suceden entre el insecto modelo y el material nanoparticulado para que haya un efecto plaguicida es trascendental, se sugiere hacer uso de técnicas de laboratorio más elaboradas que puedan dar respuesta a cuáles son las posibles causas de este efecto estudiado en el presente trabajo de investigación con ello contribuir al campo de la agro nanotecnología.
- Verificar cual es la factibilidad económica y ecológica del empleo del material nanoparticulado como plaguicida frente al uso de los agroquímicos convencionales tomando como referencia los resultados de este estudio de investigación.