



CENTRO DE INVESTIGACION Y DESARROLLO TECNOLÓGICO EN
ELECTROQUÍMICA, S.C.

“DESARROLLO DE MEMBRANAS POLIMÉRICAS ANTIMICROBIANAS
POR ELECTROHILADO Y ACTIVACIÓN SUPERFICIAL CON PLASMA
PARA TRATAMIENTO DE AGUAS CONTAMINADAS”

Tesis

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

Maestro en Ciencia y Tecnología

en la Especialidad en Ingeniería Ambiental

PRESENTA

Nuri Aranzazú Hernández Santos



Santiago de Querétaro, Qro., México, diciembre del 2021.



Este trabajo fue realizado en el Centro de Investigación y Desarrollo Tecnológico en Electroquímica S.C. (CIDETEQ) bajo la dirección de la Dra. Beatriz Liliana España Sánchez y en la Pontificia Universidad Católica de Chile (PUC) bajo la dirección de la Dra. Loreto Valenzuela Roediger.



Contenido

ÍNDICE DE FIGURAS	IV
ÍNDICE DE TABLAS	IX
ABREVIATURAS	X
AGRADECIMIENTOS Y DEDICATORIAS	XII
AGRADECIMIENTOS TÉCNICOS	XIV
RESUMEN	XV
ABSTRACT	XVII
1 INTRODUCCIÓN	1
2 MARCO TEÓRICO	3
2.1 Contaminación de agua por Microorganismos.	3
2.2 Nanopartículas de Óxido de Cerio (CeO₂NPs)	5
2.2.1 Síntesis	5
2.2.2 Aplicaciones	8
2.3 Policaprolactona (PCL)	10
2.3.1 Propiedades	10
2.3.2 Aplicaciones del PCL	12
2.4 Electrohilado	13
2.4.1 Generalidades de la técnica	13
2.4.2 Parámetros de la técnica	14
2.4.3 Aplicaciones de las fibras	17
2.5 Modificación Superficial con plasma	18

2.5.1	Fundamentos _____	18
2.5.2	Reacciones con las superficies _____	21
3	HIPÓTESIS _____	24
4	OBJETIVOS _____	25
4.1	Objetivo General	25
4.2	Objetivos específicos	25
5	METODOLOGÍA EXPERIMENTAL _____	26
5.1	Materiales	26
5.2	Esquema experimental.....	27
	Métodos	28
5.2.1	Obtención de extractos para la síntesis verde de CeO ₂ NPs _____	28
5.2.2	Síntesis de CeO ₂ NPs _____	29
5.2.3	Fabricación de suspensiones PCL + CeO ₂ NPs _____	31
5.2.4	Tratamiento superficial con plasma _____	33
5.2.5	Preparación de la suspensión bacteriana _____	35
5.2.6	Actividad antibacterial de CeO ₂ NPs en suspensión _____	35
5.2.7	Actividad antibacteriana de membranas de PCL + CeO ₂ NPs. _____	38
5.2.8	Resistencia bacteriana _____	41
5.3	Técnicas de caracterización	43
5.3.1	Extracto _____	43
5.3.2	CeO ₂ NPs _____	44
5.3.3	Membranas de PCL + CeO ₂ NPs _____	50
6	RESULTADOS Y DISCUSIÓN _____	55
6.1	Cuantificación de polifenoles en extractos de Aloe arborescens y Olea europea mediante el método de Folin-Ciocalteu	55

6.2	Síntesis verde de CeO₂NPs con extracto de Aloe arborescens y Olea europaea.....	58
6.2.1	SPR de CeO ₂ NPs mediante UV-Vis.....	58
6.2.2	Composición química de CeO ₂ NPs mediante FTIR	61
6.2.3	Tamaño de partícula de CeO ₂ NPs mediante DLS y potencial Z	63
6.2.4	Estructura cristalina de CeO ₂ NPs mediante XRD	64
6.2.5	Morfología de CeO ₂ NPs mediante TEM	66
6.2.6	Actividad antibacterial de CeO ₂ NPs	69
6.3	Fabricación de filamentos de PCL+CeO₂NPs obtenidas a partir de extracto de Aloe arborescens ..	72
6.3.1	Exposición de CeO ₂ NPs	82
6.3.2	Actividad antibacterial	85
6.3.3	Resistencia bacteriana	89
7	DISCUSIÓN	91
8	CONCLUSIONES	93
9	TRABAJO A FUTURO	94
10	ENTREGABLES	94
11	REFERENCIAS	95

Índice de figuras

- Figura 1. Estructura cristalina del óxido de cerio A) muestra una celda unitaria y su distribución de átomos y B) muestra el empaquetamiento de átomos y la unión de 8 celdas unitarias [16], [19]. _____ 8
- Figura 2. Estructura molecular de la Policaprolactona en a) monómero en esqueleto b) monómero en esquema de esferas y c) representación de la estructura del polímero mediante la unión de tres monómeros en esquema de esferas. Imagen de Molekuul.be 10
- Figura 3. Esquema de síntesis de la Policaprolactona a partir de la ruptura de anillo de la ϵ -Caprolactona. _____ 11
- Figura 4. Montaje experimental con colector rotatorio de alta velocidad para la técnica de electrohilado. _____ 13
- Figura 5. Fotografía premiada por la revista Nature en 2017, muestra el cono de Taylor formado en la técnica de electrohilado para la creación de nanofibras. Tomada por Robert Lamberts /Plant & Food Research. _____ 14
- Figura 6. Gráfica de ejemplos de plasma y su relación de Temperatura (K) con Densidad de partículas cargadas por metro cúbico. Imagen replicada de Contemporary Physics Education Project. _____ 20
- Figura 7. Representación del proceso de modificación superficial con la consideración de los grupos funcionales que se promueven en la superficie posterior al tratamiento superficial con plasma. Obtenido de Mexpolímeros. _____ 21
- Figura 8. Lado izquierdo, micrografías obtenidas de a) Nanocompuestos de polipropileno + AgNPs 5% sin plasma (SP), b) polipropileno + AgNPs 5% con tratamiento superficial con plasma (TSP), c) Nanocompuestos de polipropileno + CuNPs 5% SP y d) polipropileno + CuNPs 5% TSP. Lado derecho. Imágenes tridimensionales obtenidas de la topografía superficial por medio de AFM de a) polipropileno SP, c) polipropileno + AgNPs 5% SP, e)

polipropileno + CuNPs 5% SP y b) Polipropileno TSP, d) polipropileno + AgNPs 5% TSP y f) polipropileno + CuNPs 5% TSP [9] _____	23
Figura 9. Arbusto de Aloe arborescens CIDETE Q S.C. _____	28
Figura 10. Limpiador de plasma modelo PDC-001-LD con Potencia de RF ajustable (Baja, Media, Alta potencia): Máximo 30 W. _____	33
Figura 11. Representación del cultivo en medio líquido (inóculo), el cultivo en medio sólido (siembra) y la presencia de la bacteria P. aeruginosa. _____	34
Figura 12. A) Equipo de punta de ultrasonido y B) arreglo del ultrasonido para la dispersión de partículas. Marca. QSonica Sonicators modelo Q700. _____	35
Figura 13. Esquemmatización del proceso para la obtención de diluciones seriadas de nanopartículas. _____	36
Figura 14. Metodología utilizada para la evaluación de la interacción del material con la bacteria analizando la actividad antimicrobiana. _____	37
Figura 15. Esquemmatización del paso 5 para el plaqueo de las muestras posterior a la interacción del material con los microorganismos patógenos. _____	38
Figura 16. Fotografías del arreglo de las cámaras húmedas A) Cámara húmeda diseñada para la evaluación por superficie de la membrana y B) Cámara húmeda lista para ser ingresada a incubación, con el papel filtro humedecido, la suspensión de bacterias en contacto con la membrana y el cubreobjetos favoreciendo la distribución de la suspensión de bacterias en la superficie a analizar. _____	39
Figura 17. Esquemmatización del procedimiento de evaluación de membranas por la técnica de superficie. _____	40
Figura 18. Esquemmatización del proceso de lavado y plaqueo para la técnica de evaluación de actividad antibacteriana en superficie. _____	40
Figura 19. Esquemmatización de la metodología general para la generación de bacterias resistentes. _____	42
Figura 20. Esquema de un espectrofotómetro UV-Vis. Fuente QuímicaOrgánica.net _____	45

Figura 21. Esquema de un espectrofotómetro FTIR con accesorio ATR. Fuente: Wikimedia Commons.	47
Figura 22. Esquema general de un equipo de dispersión de luz dinámica avanzado para el análisis del tamaño de nanopartículas en suspensión. Fuente: SpringerLink – LS instruments.	49
Figura 23. Esquema de un Microscopio Electrónico de Barrido (MEB)	50
Figura 24. Esquema general de los componentes de un Microscopio de Fuerza Atómica (AFM) y la detección óptica del sensor de fuerza.	52
Figura 25. Esquema representando el ángulo formado entre la interfaz sólido/líquido y la interfaz líquido/vapor y el vértice en el que las tres interfaces se encuentran constituye el ángulo de contacto [80].	53
Figura 26. Esquema representando los ángulos de contacto de una superficie hidrofóbica e hidrofílica y las distintas propiedades de estos [80].	54
Figura 27. Curvas de calibración obtenidos por el método Folin-Ciocalteu para la cuantificación de polifenoles en los extractos de <i>Olea europaea</i> y <i>Aloe arborescens</i> a) ácido gálico y b) ácido tánico con sus respectivas ecuaciones de red y datos de R ² .	56
Figura 28. Curvas de calibración obtenidos por el método Folin-Ciocalteu para la cuantificación de polifenoles en los extractos de <i>Olea europaea</i> y <i>Aloe arborescens</i> a) ácido gálico y b) ácido tánico con sus respectivas ecuaciones de red y datos de R ² .	56
Figura 29. Espectro de absorción en el rango UV-Vis correspondiente al resultado de la síntesis verde con extracto de <i>Aloe arborescens</i> y de <i>Olea europaea</i> .	58
Figura 30. Espectros de IR de las nanopartículas obtenidas por síntesis verde con (A) extracto de <i>Aloe arborescens</i> y (B) <i>Olea europaea</i> .	62
Figura 31. Gráficas de DLS a CeO ₂ NPs sintetizadas con A) extracto de <i>Aloe arborescens</i> y B) <i>Olea europaea</i>	64
Figura 32. Difractograma obtenido del análisis del producto obtenido a partir de la síntesis verde de CeO ₂ NPs con extracto de <i>Aloe arborescens</i> .	65

- Figura 33. Micrografías SEM de las CeO₂NPs obtenidas por síntesis verde con extracto de Aloe arborescens. _____ 66
- Figura 34. Micrografía TEM de las CeO₂NPs obtenidas con el extracto de Olea europaea. 67
- Figura 35. Micrografías TEM obtenidas previas a una modificación en los parámetros del tratamiento de la muestra de las CeO₂NPs sintetizadas con extracto de Olea europaea. 68
- Figura 36. Gráfica de resultados de actividad antibacterial de las CeO₂NPs en contacto con la bacteria Gram positiva S. aureus. _____ 70
- Figura 37. Representación de la interacción de la bacteria S. aureus y las CeO₂NPs, resaltando la generación de iones y especies reactivas de oxígeno. Creación propia. ____ 71
- Figura 38. Imagen de las fibras obtenidas por la técnica de electrohilado de PCL con CeO₂NPs _____ 73
- Figura 39. Micrografías de las membranas fabricadas por electrohilado, siendo A) PCL B) PCL con tratamiento superficial con plasma de aire y con la presencia de CeO₂NPs embebidas en su estructura C) la membrana de PCL + 0.5 %CeO₂NPs sin tratamiento y D) PCL + 0.5 %CeO₂NPs con tratamiento superficial con plasma de aire. _____ 74
- Figura 40. Imagen compuesta con A) Micrografía SEM de la membrana de PCL + 0.5 % CeO₂NPs con tratamiento superficial con plasma de aire y B) histograma de la distribución de tamaños para las fibras fabricadas por electrohilado. _____ 75
- Figura 41. Gráfico de las diferencias entre la distribución de diámetros obtenidos para las membranas de PCL y PCL + CeO₂NPs sin tratamiento y con tratamiento superficial con plasma de aire. _____ 76
- Figura 42. Esquema comparativo de imágenes e información obtenidas de procesamiento de datos del análisis topográfico por AFM de las membranas de PCL A) sin tratamiento y B) con tratamiento superficial con plasma de aire. _____ 77
- Figura 43. Esquema comparativo de imágenes e información obtenidas de procesamiento de datos del análisis topográfico por AFM de las membranas de PCL + 0.5% CeO₂NPs A) sin tratamiento y B) con tratamiento superficial con plasma de aire. _____ 78

- Figura 44. Gráfica de resultados de ángulo de contacto a las membranas fabricadas por la técnica de electrohilado. _____ 81
- Figura 45. Esquema de los cambios en la hidrofiliidad de las membranas de PCL + CeO₂NPs _____ 81
- Figura 46. Esquema de los cambios en la hidrofiliidad de las membranas de PCL + CeO₂NPs _____ 82
- Figura 47. Imagen comparativa para con micrografías de la membrana de PCL + 0.5% CeO₂NPs A) sin tratamiento y B) con tratamiento superficial con plasma de aire. C) Imágenes topográficas a 5 x 5 µm por AFM para la identificación de la erosión superficial que permite la exposición de las CeO₂NPs embebidas en la matriz polimérica de PCL. _____ 83
- Figura 48. Micrografía y Espectro EDS de las fibras de PCL + CeO₂NPs con identificación de elementos puntual en clúster. _____ 84
- Figura 49. A) Micrografía de la membrana de PCL + 0.5% CeO₂NPs con tratamiento superficial con plasma de aire y B) Histograma de la distribución de tamaños de las CeO₂NPs embebidas en la matriz y expuestas por el tratamiento superficial con plasma de aire. _ 85
- Figura 50. Gráfica de resultados conjuntos del porcentaje de Actividad antibacterial de las membranas de PCL con CeO₂NPs a diferentes concentraciones y su comparativo sin tratamiento (A) y con tratamiento superficial con plasma (B) a 4 tiempos (10 min, 1.5, 3 y 24 horas). _____ 86
- Figura 51. Representación de la interacción entre la bacteria Gram positiva *S. aureus* y las fibras con CeO₂NPs embebidas en su matriz. Se resalta la liberación de iones y de ROS. 88
- Figura 52. Gráfica de resultados de 10 experimentos de resistencia bacteriana para membranas de PCL + 0.5 % CeO₂NPs Sin plasma y con tratamiento superficial con plasma. _____ 90

Índice de tablas

Tabla 1. Características generales de las técnicas de filtración [13–15].	4
Tabla 2. Propiedades del óxido de cerio [16], [19]	7
Tabla 3. Propiedades de la Policaprolactona	11
Tabla 4. Tabla de la influencia de las propiedades de la solución polimérica con la obtención de fibras por el método de electrohilado [47–54].	15
Tabla 5. Influencia de los factores y condiciones de procesamiento en la obtención de fibras por la técnica de electrohilado [47–54].	16
Tabla 6. Influencia de los parámetros y condiciones ambientales en la obtención de fibras por la técnica de electrohilado [47–54].	17
Tabla 7. Ventajas y desventajas de la modificación superficial por plasma [43].	22
Tabla 8. Parámetros de operación del equipo de electrohilado	32
Tabla 9. Cuantificación de polifenoles en extractos de Aloe arborescens y Olea europaea por el método de Folin	56
Tabla 10. Tabla de clasificación de Número de onda cm^{-1} , grupos funcionales y muestra.	62
Tabla 11. Resultados de las mediciones de potencial Z de las CeO ₂ NPs obtenidas por el extracto de Aloe vera y de Olea europaea.	63
Tabla 12. Parámetros de operación del equipo de electrohilado	72
Tabla 13. Resultados obtenidos de la técnica de AFM para el promedio (Ra) y la media cuadrática de la rugosidad de las membranas analizadas. Antes y después del tratamiento superficial con plasma de aire.	79

Abreviaturas

UV	<i>Ultravioleta</i>
°C	<i>Grado centígrado</i>
bact/mL	<i>bacterias por mililitro</i>
CeO₂NPs	<i>Nanopartículas de óxido de cerio</i>
CMB	<i>Concentración Mínima Bactericida</i>
CMI	<i>Concentración Mínima Inhibitoria</i>
h	<i>hora</i>
min	<i>minutos</i>
mL	<i>mililitro</i>
PBS	<i>Tampón de fosfato salino (por sus siglas en inglés Phosphate Buffered Saline)</i>
TSP	<i>Tratamiento Superficial con Plasma</i>
UV-Vis	<i>Ultravioleta visible</i>
μL	<i>microlitro</i>



Este proyecto se realizó con recursos del Fondo
SEP-CONACYT-Ciencia Básica.

Fondo Sectorial de Investigación para la Educación.

Proyecto No. A1-S-17842

"Análisis de mecanismos de resistencia bacteriana al
contacto con nanomateriales".

Convocatoria CB-2017-2018

Agradecimientos y Dedicatorias

Deseo hacer uso de este espacio para que trasciendan mis agradecimientos personales, pensamientos y dedicatorias. Siendo honesta me alegra la persona en la que me convertí puesto que estoy segura de que las personas que mencionaré a continuación al leer estos agradecimientos no se sentirán sorprendidos, puesto que, cuando me es posible comparto con ellos de manera directa lo que pienso y siento con congruencia.

Me siento eternamente agradecida con mi madre *Nur Georgina Santos Molina* por enseñarme a perseverar, por siempre recordarme lo fuerte que soy y de lo mucho que soy capaz cuando me lo propongo, por jamás dejar de creer en mí y no permitir que yo dejará de hacerlo aún en los momentos más oscuros. Siempre tus palabras de aliento y motivación me acompañan en cada paso antes de realizar algo que me resulte demasiado retador. Soy muy afortunada de que seas tú mi mami. Te amo.

De igual manera, me siento perpetuamente agradecida con mi padre el *Ing. Rúrico Hernández Ramírez*, por creer en que invertir en mí tenía sentido, por apoyarme en mis locuras y brindarme las oportunidades necesarias para crecer y formarme como ser humano y profesionalista. Sin ti y todas las pruebas a las que me enfrenté no sería lo que soy hoy, papá. Estoy orgullosa de ser tu hija. Gracias por tu ejemplo, por tu confianza. Por esas miradas llenas de orgullo que me regalas y por seguir haciéndome sentir respaldada en este mundo caótico y desafiante. Te amo.

La suma de todo el tiempo, perseverancia y esfuerzos de este trabajo deseo dedicarlo también a mi hermano menor *Carlos Arturo Hernández Santos*, gracias por confiar en mí, por acompañarme desde los inicios y a tu manera en este largo y sinuoso camino de la vida. Espero siempre acompañarte en cada paso. Estoy orgullosa de ti. Te amo.

De manera particular deseo agradecer enormemente a mi asesora la *Dra. Liliana España*, las palabras me faltan para agradecer todas y cada una de las cosas que usted ha hecho por



mí. Más que mi asesora es mi mentora, mi mamá científica (honrando lo que estas palabras significan), mi amiga, confidente y uno de mis mayores ejemplos a seguir. Analizarme y poder percibir mi crecimiento académico, profesional y personal llena mi corazón de gratitud pues sé que la persona que soy hoy en día esta gratamente influenciada por usted. No me arrepiento de haberla elegido y permitirle marcar tan positivamente mi vida. Eternamente GRACIAS. Cuente conmigo **SIEMPRE**.

A mi inigualable grupo de trabajo, las y los compañeros de este viaje académico, hermanas y hermanos científicos. Gracias grupo polímeros por su apoyo. *Raúl Castellanos, Mónica Hernández, Yunnan Zepeda, Alejandro Amador, Zaira, Evelyn, Omar, David, Hellen, Ari*. Que siga creciendo esta gran familia.

A mi mejor amiga la *Ing. Maythé Jaqueline González Bedolla*, gracias por ser ese enorme soporte emocional, por tu tiempo, risas y apoyo incondicional. Te amo. A mis mejores amigos, maravillosos hombres que le han regalado cientos de buenos momentos a mi vida, risas, reflexiones, apoyo incondicional, confianza y perpetua reciprocidad. *Anthony Pérez, Emmanuel Becerra, Johan Aguilar, Marcos Espinosa, Armando, Oswaldo*.

A la memoria de las personas que estuvieron y ya no están. Las que con sus acciones me dieron la oportunidad de formar al ser humano que soy hoy. Las que me han tendido la mano en los momentos más desafiantes. A quienes regalaron paz y plenitud en momentos de caos. A todas y todos aquellos que creen en mis capacidades y valía. Esto es para ustedes también.

Y con el más grande amor que haya sentido nunca le dedico **todo** a la pequeña y traviesa *pirinolina*, la Nuri de 4 años. Ten confianza en que te honro y estamos trabajando constantemente para que mamá y papá tengan una mejor hija, Carlos tenga una hermana con la que se sienta siempre en confianza, nuestras amigas y amigos una amable y comprensiva confidente. Y el mundo un ser humano con determinación y confianza.

Agradecimientos técnicos

- *Dra. Lorena Álvarez Contreras.* Departamento de Ingeniería y Química de Materiales. (CIMAV S.C. Unidad Chihuahua).
- *M. en C. Fátima Berenice Ramírez Montiel.* Departamento de biología, división de ciencias naturales y exactas. (Universidad de Guanajuato)
- *Ing. Lourdes Palma Tirado.* Técnico Académico encargada del Microscopio Electrónico de Transmisión. Laboratorio A-05, Instituto de Neurobiología. (UNAM Juriquilla).
- *M. en C. Reina Araceli Mauricio Sánchez.* Auxiliar de investigación. (CINVESTAV – Querétaro)
- *Ing. Daniel Humberto Lojero Roel* representante de ventas de la zona Bajío de la Empresa Intercovamex®.
- *Dr. Walter Noé Velázquez Arjona* Investigador. Coordinación de Posgrado en Electroquímica. (CIDETEQ S.C).
- *Dr. José Luis Herrera Celis.* Investigador Cátedras CONACYT. Laboratorio Nacional de Micro y Nanofluídica. (CIDETEQ S.C.).
- *Dr. Víctor Manuel Arellano Arreola.* Laboratorio de Terahertz Optoelectrónica. (CINVESTAV – Querétaro).

RESUMEN

El presente trabajo describe la fabricación de filamentos nanoestructurados de policaprolactona/nanopartículas de óxido de Cerio (PCL + CeO₂NPs) mediante electrohilado y su tratamiento superficial con plasma, con el objetivo de incrementar la actividad antimicrobiana de las membranas, con potencial aplicación en el tratamiento de aguas contaminadas por microorganismos. En primera instancia, se realizó la síntesis verde de las CeO₂NPs empleando como precursor el nitrato de cerio y como agente reductor/estabilizador extractos de Aloe (*Aloe arborescens*) y hojas de Olivo (*Olea europaea*); en donde se obtuvieron NPs semiesféricas con un diámetro promedio de 7 – 35 nm y se apreció la formación de aglomerados. Se realizó la validación antimicrobiana de las CeO₂NPs por el método de micro dilución seriada al contacto con *S. aureus* y se demostró su capacidad antibacteriana a diferentes tiempos (10 min, 1.5, 3 y 24 horas).

Se realizó la incorporación de las CeO₂NPs en una matriz de policaprolactona (PCL) a diferentes concentraciones (0.5, 1, 2 y 4%) y se realizó la fabricación de filamentos por electrohilado, en donde se observó que el PCL presenta un diámetro promedio de fibras de 1000 nm, y que al incorporar las diferentes concentraciones de CeO₂, el diámetro de filamento disminuyó a 850 nm. Se realizó el tratamiento superficial con plasma de aire a los filamentos, en donde se incrementó la exposición superficial de las NPs debido a fenómenos de erosión superficial. La presencia de las CeO₂NPs y el tratamiento de plasma modificaron la rugosidad de los filamentos en 1.44 µm, además de que a partir de ángulo de contacto se determinó el cambio en la polaridad superficial por efecto del plasma. El análisis de actividad antibacteriana demostró que los filamentos de PLC con CeO₂NPs al 2 y 4% presentaron actividad antibacteriana del 90% contra *S. aureus* después de 1.5 horas de interacción, por lo que el material presentó buena eficacia antibacteriana.

Finalmente, se determinó que bajo condiciones de exposición seriada de *S. aureus* a los filamentos de PCL + CeO₂NPs, no se observan cambios significativos en la actividad



antibacteriana, lo que indica que, bajo las condiciones evaluadas, la bacteria no desarrolló tolerancia al material antibacteriano, lo que sugiere que podría ser un antimicrobiano efectivo. La fabricación de filamentos antimicrobianos por electrohilado representa una estrategia efectiva para la preparación de membranas con aplicación potencial en el tratamiento de aguas contaminadas con microorganismos.

ABSTRACT

Recently, nanomaterials have been applied as antibacterial agents by virtue of their unique functioning mechanisms. The present work describes the fabrication of electrospun membranes based on polycaprolactone (PCL) and cerium oxide nanoparticles (CeO_2NPS) and their surface modification by air plasma. This material has potential application in the treatment of water contaminated with bacteria. The membranes were fabricated with different concentrations of nanoparticles (0.5, 1, 2 and 4 %) w/w and were used an ultrasound-assisted method to improve the nanoparticles dispersion. We evaluated the physico-chemical properties of the nanoparticles by x-ray diffraction (XRD), Uv-Vis spectroscopy, Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). As well, we evaluated the changes produced in nanofibers using spectroscopic and microscopic techniques such as Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), energy-dispersive X-ray spectroscopy (EDS), scanning electron microscopy (SEM), atomic force microscopy (AFM), and in addition a wet contact angle analysis. The antibacterial activity (AA) of the membranes was determined against *Staphylococcus aureus*, according to the ASTM norm E-2149 at 1.5, 3 and 24 h of contact. SEM and AFM images demonstrated that the electrospun PCL + CeO_2NPs membranes did not suffer important morphological or topographical changes after the treatment. Because of the contribution of the nanometric charges of CeO_2NPs in the material, there is obtained a high percent of inhibition in concentrations 2 and 4% of CeO_2NPs at 1.5 h of contact. Compared the results confirmed the modification of wettability of the membranes and show significant differences in the behavior of the AA in 24 h contact with bacteria for all the samples, and complete inhibition of bacteria in the 4% PCL + CeO_2NPs membrane. The results indicate that the material can be applied as an antimicrobial membrane for water treatment.

1 Introducción

Durante los últimos años, la contaminación de mantos acuíferos y el uso indiscriminado de recursos hídricos, ha propiciado el desarrollo de tratamientos eficientes que mejoren la calidad del agua y se promuevan sistemas de reutilización [1]. En este sentido, una de las tecnologías emergentes en sistemas de tratamiento de aguas contaminadas por microorganismos se encuentra enfocada al uso de nanomateriales, en donde el uso de sistemas nanoestructurados y su incorporación en matrices poliméricas ha demostrado que las propiedades intrínsecas del material pueden ser exponencialmente mejoradas [2–3]. En particular, la fabricación de membranas poliméricas nanoestructuradas han demostrado poseer diferentes características, tales como capacidad antimicrobiana, retención/adsorción de moléculas, entre otros.; en donde la presencia de la carga nanométrica y su dispersión en la matriz polimérica son puntos clave para el desarrollo de sistemas multifuncionales [4].

Dentro de los procesos de fabricación de membranas se encuentran inversión de fase, sol-gel, extrusión, micro fabricación, electrohilado entre otros [4]. En particular, el método de electrohilado ha demostrado que es posible fabricar monofilamentos uniformes que van desde los 50 nm hasta 500 micrómetros, los cuales pueden ser orientados y/o depositados en un sustrato, con la ventaja de que se incrementa el área superficial y propicia el contacto con microorganismos suspendidos en un medio acuoso. En este sentido, se ha reportado que es posible fabricar filamentos de diferentes polímeros con nanopartículas antimicrobianas tales como Ag, Cu, TiO₂, ZnO, entre otros [5–7]. Dichas propiedades antimicrobianas en los filamentos pueden ser mejoradas si se realiza un tratamiento de exposición superficial, en donde se ha reportado que, bajo condiciones de erosión controlada por plasma, es posible incrementar la exposición de las NPs que se encuentran embebidas en el polímero, sin afectar sus propiedades intrínsecas [8–9].

Recientemente, se ha demostrado que las nanopartículas de CeO_2 obtenidas a partir de procesos amigables con el medio ambiente [10], tienen la capacidad de inhibir el crecimiento de bacterias [11] además de no representar un riesgo de toxicidad para la salud [12], y que, por lo tanto, pueden ser incorporadas como aditivo en matrices poliméricas.

En este sentido, uno de los polímeros de interés como sistema biocompatible /biodegradable para la preparación de membranas es la policaprolactona (PCL), debido a que posee diferentes propiedades tales como hidrofobicidad, biocompatibilidad y biodegradabilidad, las cuales pueden favorecer la fabricación de membranas antimicrobianas efectivas, que a largo plazo, tengan la capacidad de seguir ejerciendo su efecto bactericida sin presentar procesos de adaptación bacteriana, asociados a posibles mecanismos de resistencia.

En este sentido, el presente trabajo describe la fabricación de filamentos de PCL + CeO_2 NPs por electrohilado y su tratamiento superficial con plasma, con el objetivo de evaluar su desempeño antibacteriano y determinar si bajo condiciones de exposición consecutiva de microorganismos, es posible generar cambios en el comportamiento antibacteriano asociados a posibles fenómenos de tolerancia bacteriana.

2 Marco teórico

2.1 Contaminación de agua por Microorganismos.

Es posible encontrar a los microorganismos en múltiples escenarios puesto que convivimos con ellos en una dinámica directa e indirecta. En nuestro entorno por objetos tangibles, alimentos, en nuestro interior e inclusive en el aire y en el agua que consumimos. Algunas bacterias necesarias para un buen proceso digestivo en mamíferos, como las que son parte del microbiota intestinal. Y otras, por el contrario, causan enfermedades que pueden llegar a resultar mortales para los seres humanos, a este tipo de microorganismos se les denomina “patógenos”.

De manera general, los tratamientos convencionales para el agua pueden dividirse en 5. La floculación o coagulación que permite facilitar la separación de agregados mediante la creación de enlaces entre partículas. La sedimentación que permite el asentamiento de partículas o flóculos para su eliminación. La filtración, que permite la eliminación de sedimentos, partículas orgánicas, inorgánicas, algas, microorganismos y reducir la turbidez. La desinfección, que permite eliminar e inactivar microorganismos, por ejemplo, usando cloro. Y finalmente la adsorción, que permite remover contaminantes orgánicos, inorgánicos, color, sabor e incluso el olor [4].

El proceso de filtración consiste en hacer pasar un líquido por una barrera física semipermeable (medio poroso o membrana) que permite la separación de partículas sólidas suspendidas de acuerdo con su tamaño. Este proceso es posible dividirlo en diferentes etapas con el objetivo de hacerlo eficiente y que el agua resultante cuente con las propiedades adecuadas para ser consumida por el ser humano. De manera general, los tipos de membranas que se clasifican en función del efluente a tratar son; ósmosis inversa, nanofiltración, ultrafiltración y microfiltración. A continuación, se muestra una tabla con las propiedades generales de las membranas y su clasificación, tabla 1.

Tabla 1. Características generales de las técnicas de filtración [13–15].

Técnica de filtración	Tamaño de poro	Materiales	Técnicas de obtención	Aplicación
<i>Microfiltración</i>	10 – 0.1 μm	Orgánicas (Polímeros) Inorgánicas (cerámicos, metales y vidrio)	Sinterizado, inversión de fase, sol-gel, oxidación anódica y electrohilado	Separación de partículas microscópicas o de especies biológicas como bacterias.
<i>Ultrafiltración</i>	1 – 100 nm	Orgánicas (Polímeros) Inorgánicas (Cerámicos)	Inversión de fase.	Separación de fragmentos de coloides, macromoléculas o virus.
<i>Nanofiltración</i>	0.1 – 1 nm	Orgánicas (Polímeros) Inorgánicas	Sol-gel, inversión de fase	Separación de iones multivalentes y monovalentes
<i>Ósmosis inversa</i>	< 1 nm	Orgánicas (polímeros)	Inversión de fase.	Retiene casi la totalidad de especies.

Las investigaciones para el desarrollo de membranas de filtración con capacidad de retener microorganismos denotan una amplia gama de materiales cerámicos, metálicos y poliméricos con una mayor incidencia en los últimos años. Estas membranas de microfiltración son fabricadas por diferentes técnicas que permiten un correcto control de parámetros que aseguran su obtención y la reproducibilidad.

La nanotecnología en el tratamiento de aguas como un área de investigación emergente sugiere la implementación y desarrollo de materiales nanocompuestos que aporten una matriz polimérica como fase continua que contribuya con propiedades mecánicas específicas y de estabilidad para la agregación de nanopartículas que, como fase dispersa añada cargas nanométricas con las ventajas de una rápida cinética, capacidad de adsorción y la flexibilidad de sus propiedades. A continuación, en el siguiente capítulo se detalla

información sobre un tipo de partículas en escala nanométrica con propiedades antibacterianas.

2.2 *Nanopartículas de Óxido de Cerio (CeO₂NPs)*

El Cerio se describe como un metal que pertenece al grupo de las tierras raras de la tabla periódica, siendo el primer elemento del grupo de los lantánidos. En su estado oxidado (CeO₂ o Ce₂O₃), se ha demostrado poseer propiedades catalíticas, debido a que es posible tener estados de oxidación 3⁺ y 4⁺ [16–18]. A escala nanométrica, el CeO₂ o también conocido como nanocería, se caracteriza por poseer una estructura cristalina cúbica centrada en las caras de tipo fluorita, la cual se debe a la presencia de vacancias generadas por los átomos de oxígeno a nivel superficial [16–18]. Algunas de las propiedades más relevantes de las CeO₂NPs destacan algunas eléctricas y ópticas, baja toxicidad, alta capacidad de reducción, y su capacidad para asociarse de forma no estequiométrica con el oxígeno lo que le confiere capacidad antimicrobiana, asociada a la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS) [10], [16–19]. Dichos sistemas han ganado importancia a lo largo de los últimos años debido a sus aplicaciones en diversas áreas de interés científico. En comparación con otros sistemas antimicrobianos, tales como Ag, Cu, TiO₂, ZnO, entre otros; se ha encontrado que las CeO₂NPs presentan un comportamiento antibacteriano similar a las NPs de Ag y Cu [20], con la ventaja de que su costo de producción es menor, además de que se ha reportado que su síntesis se puede efectuar bajo condiciones amigables con el medio ambiente, a partir de uso de extractos naturales [10–11], [20–21].

2.2.1 Síntesis

Existen numerosos métodos de síntesis de CeO₂NPs, como métodos de precipitación [22], sol-gel [23], hidrotermal [24], por molienda [25], descomposición térmica [26], sonoquímica [27], entre otras [10], sin embargo, dentro de las desventajas de la aplicación de este tipo de técnicas se encuentran el uso de solventes tóxicos, la exigencia energética y condiciones de presión, así como el uso de estabilizadores, que pueden representar un impacto ambiental nocivo. Gracias a ello, las recientes investigaciones se concentran en

metodologías de síntesis de nanopartículas por vías verdes con el uso de extractos de plantas u hongos, nutrientes o biopolímeros [28–29], en donde los extractos actúan como pieza clave en la síntesis de NPs debido a que contienen una serie de antioxidantes tales como polifenoles, saponinas, flavonoides y taninos que favorecen los procesos de reducción/estabilización para la formación de nanopartículas [20], [30–32]

De manera general en la síntesis verde mediada por plantas se utilizan los extractos vegetales aprovechando la abundancia de fitoquímicos. Los mecanismos de síntesis parten del poder reductor de los componentes que comienzan con una reducción de iones metálicos y que inducen la formación de centros de nucleación, estos a su vez, secuestran iones metálicos adicionales lo que conduce a la formación de nanopartículas [31]. Arumugam *et al.* en 2015 [33] sintetizó CeO₂NPs con extracto de *Gloriosa superba* con tamaño promedio de partícula de 5 nm, morfología esférica y capacidad antibacterial comprobada para bacterias Gram negativas. Sharmila *et al.* en 2019 obtuvieron CeO₂NPs usando extracto de *Pisonia alba* de 10 nm con morfologías semiesféricas [34].

Propiedades

El óxido de cerio en estado *bulk* es un óxido inorgánico de color blanco o amarillo pálido. La fórmula química del óxido de cerio es CeO₂ y es el óxido más estable del cerio [19].

El óxido de cerio (CeO₂NPs) muestra muchas propiedades interesantes en la escala nanométrica debido a la combinación de iones trivalentes y tetravalentes le brinda la característica de cambiar su estado de oxidación rápidamente y de forma reversible [35].

Otras de las propiedades recientemente descubiertas son la capacidad que poseen de actividad mimética con importantes enzimas celulares que permiten regular las concentraciones de radicales libres y especies reactivas de oxígeno (ROS) [35]. Así mismo, se ha analizado la actividad antimicrobiana en bacterias Gram negativas (*P. aeruginosa* y *Escherichia coli*) y Gram positivas (*S. aureus*) [36–38].

A continuación, se muestra una tabla (tabla 2) con las propiedades generales fisicoquímicas del óxido de cerio, contemplando peso molecular, dureza, puntos de fusión y ebullición, densidad, solubilidad, índice de refracción, efectos tóxicos en el organismo humano, estabilidad térmica y reactividad.

Tabla 2. Propiedades del óxido de cerio [16], [19]

Propiedades del óxido de cerio	
<i>Dureza</i>	6-6.1 Mohs
<i>Peso molecular</i>	172.12 g/mol
<i>Punto de fusión</i>	2600 °C
<i>Punto de ebullición</i>	3500 °C
<i>Densidad</i>	7.132 g/cm ³
<i>Índice de refracción</i>	2.2
<i>Efectos tóxicos</i>	No presenta
<i>Solubilidad</i>	Insoluble en agua fría y caliente. Soluble en ácido sulfúrico concentrado y ácido nítrico concentrado. Insoluble en ácidos diluidos
<i>Estabilidad térmica</i>	Alta. No sufre cambios cristalográficos durante intervalos usuales de calentamiento.
<i>Reactividad</i>	Substancia inerte. No es atacado por ácidos fuerte ni álcalis. Puede ser disuelto por ácidos en presencia de agentes reductores como, por ejemplo: agua oxigenada (H ₂ O ₂) o estaño (II).

El óxido de cerio cuando se trabaja en escala nanométrica mantiene una estructura en red cúbica tipo fluorita, con vacantes de oxígeno y combinación de iones trivalentes y tetravalentes en su superficie (Ce⁺³ y Ce⁺⁴). Más concretamente puede describirse como una red FCC (red cúbica centrada en las caras) con una constante de red de $a=5.46 \text{ \AA}$. En la figura 1 se muestra la disposición de iones como celda unitaria, es posible apreciar que cada

átomo de oxígeno está rodeado de 4 átomos de cerio, y cada átomo de cerio está rodeado de 8 de oxígeno [35].

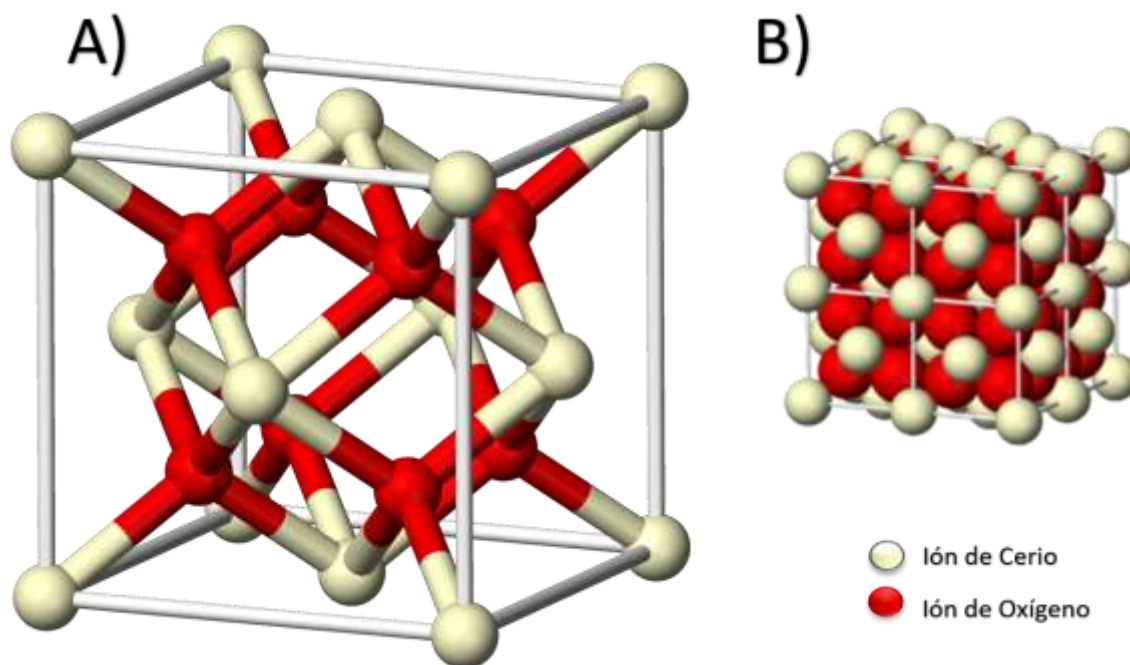


Figura 1. Estructura cristalina del óxido de cerio A) muestra una celda unitaria y su distribución de átomos y B) muestra el empaquetamiento de átomos y la unión de 8 celdas unitarias [16], [19].

2.2.2 Aplicaciones

El óxido de cerio es comúnmente utilizado como catalizador en reacciones químicas, en la industria del vidrio, en esmaltes, para la fabricación de conductores iónicos, capacitores, semiconductores y cátodos [16], [17], [19].

Recientemente, se han explorado posibles aplicaciones para las CeO₂NPs, dirigidas al uso en las ciencias de la salud, dentro de los sectores beneficiados encontramos el área biomédica, debido a propiedades citotóxicas, antimicrobianas, esto gracias a la facultad de mimetizar enzimas celulares y de producir ROS creando estrés oxidativo dentro de una



célula en procesos aerobios [10], [21], [23], [37–39]. En el área farmacéutica las CeO_2NPs son utilizadas como liberadores de fármacos, catalizadores e inclusive como andamios biológicos, esto por la particularidad en el comportamiento termodinámico que le ofrecen los iones Ce^{+3} y Ce^{+4} superficiales y su habilidad de absorber y liberar átomos de oxígeno debido a vacancias superficiales [10], [28], [29], [35].

2.3 Policaprolactona (PCL)

La Policaprolactona (PCL) es polímero semicristalino aprobado por la Administración de Alimentos y Medicamentos de EE. UU. (FDA) en aplicaciones de tipo biomédico utilizadas directamente en el cuerpo humano y modelado de piezas, esto debido a sus interesantes propiedades. La PCL es un poliéster alifático con la particularidad de ser biodegradable y con buenas propiedades mecánicas que lo vuelven fácil de procesar [28-29]. En la figura 2 se muestra la estructura molecular de la Policaprolactona.

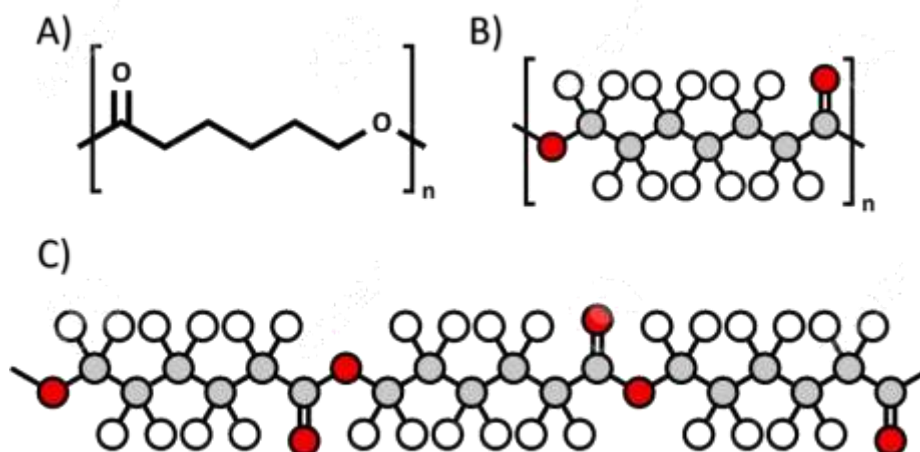


Figura 2. Estructura molecular de la Policaprolactona en a) monómero en esqueleto b) monómero en esquema de esferas y c) representación de la estructura del polímero mediante la unión de tres monómeros en esquema de esferas. Imagen de Molekuul.be

2.3.1 Propiedades

Se compone de una secuencia de metilenos entre los que se forman grupos éster. Se elabora a partir de derivados del petróleo y sintetizándose desde de la polimerización de la ϵ -Caprolactona como se muestra en la figura 3.

La combinación de las características mecánicas y biocompatibles principales del PCL le permiten ser considerado para diversas aplicaciones biomédicas, desde marcadores de biopsia, material para suturar bioabsorbible y preparación de membranas por una extensa variedad de métodos, uno de los más utilizados debido a su bajo costo y fácil experimentación es el electrohilado [40].

2.3.2 Aplicaciones del PCL

La Policaprolactona a nivel industrial tiene uso en el área de los adhesivos, también es utilizado como agente compatibilizante, como producto para fabricación de prototipos, moldeado, en la elaboración de artesanías y como aditivo en otros polímeros.

Por sus propiedades biocompatibles, biodegradables la investigación en el área biomédica ha encontrado su auge, desarrollando biomarcadores, andamios para crecimiento celular, implantes y por sus características físicas y mecánicas se ha empleado ampliamente para la elaboración de membranas poliméricas nanoestructuradas por la técnica de electrohilado [28], [29], [40–44].

2.4 Electrohilado

La elaboración de fibras de diversos materiales ha tomado relevancia en el área de la nanotecnología debido a la facilidad de su obtención por distintos métodos como la separación de fases, el autoensamblaje, la evaporación de solvente y el electrohilado. Este último es considerado como una de las técnicas más económicas y versátiles para las síntesis de fibras de grosores nanométricos con materiales como cerámicos, metales y también polímeros.

La técnica de electrohilado tiene su primer acercamiento años atrás al observar el comportamiento del agua cuando se le somete a un campo eléctrico [46], utilizando este comportamiento como fundamento, los científicos Cooley y Morton desarrollaron prototipos y sus consiguientes patentes que registraron ante la Oficina de patentes de EE. UU. al describir maquinaria para la elaboración de fibras delgadas [45-46].

2.4.1 Generalidades de la técnica

En escala de laboratorio, un equipo convencional de electrohilado tiene los siguientes componentes: fuente de poder de alto voltaje, colector metálico y una jeringa con aguja metálica, como se muestra en la figura 4.

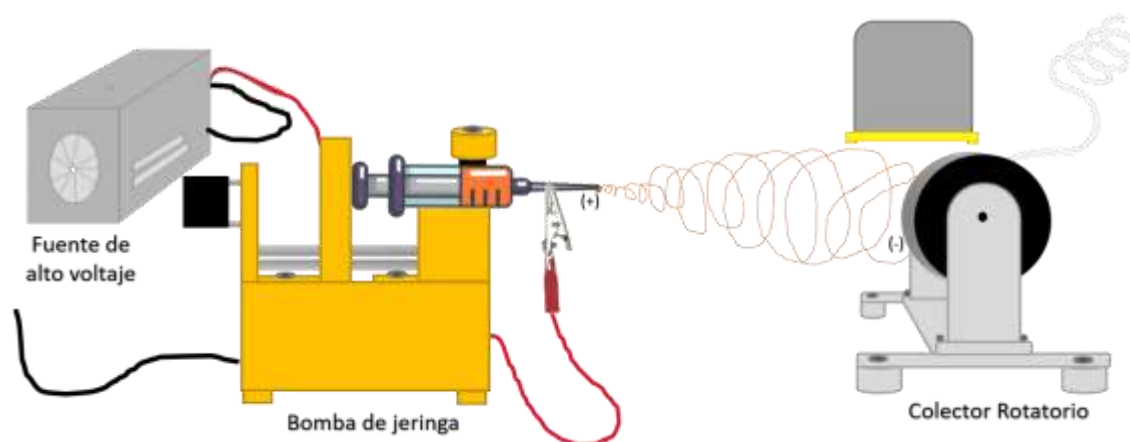


Figura 4. Montaje experimental con colector rotatorio de alta velocidad para la técnica de electrohilado.

El funcionamiento general de la técnica es la aplicación de un alto voltaje a una solución polimérica dentro de la jeringa para inducir cargas eléctricas en el fluido. En el proceso se parte de una gota de solución polimérica encontrada en la punta de la aguja, la cual es estimulada electrostáticamente para romper la tensión superficial debido a la inestabilidad de cargas y para crear el denominado “Cono de Taylor” (observar figura 5) donde la expulsión en chorro de la solución polimérica en su recorrido al electrodo colector evapora el solvente y deja como resultado la formación de fibras.

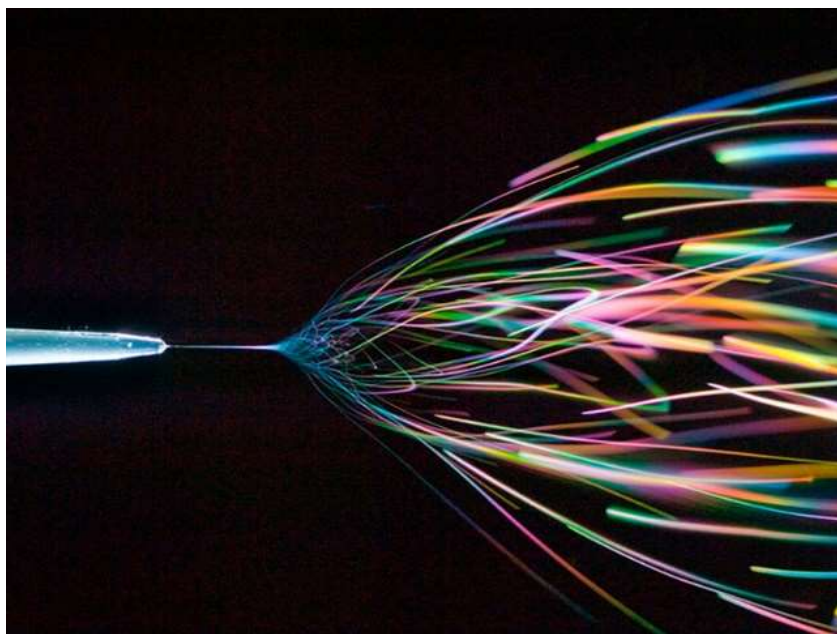


Figura 5. Fotografía premiada por la revista Nature en 2017, muestra el cono de Taylor formado en la técnica de electrohilado para la creación de nanofibras. Tomada por Robert Lamberts /Plant & Food Research.

2.4.2 Parámetros de la técnica

Existe una amplia gama de experimentaciones debido a que la modificación de alguno de los parámetros brinda la posibilidad de protocolos diversos de fabricación para obtener fibras de estructura y propiedades únicas. Esto depende de los materiales que se hilan, las velocidades de evaporación, la miscibilidad del solvente, distancia, etc., como se muestra en el siguiente apartado.

2.4.2.1 Solución polimérica

La solución polimérica es un parámetro muy importante pues nos brindará las principales propiedades de las membranas a obtener y su aplicación. Una ventaja de la técnica de electrohilado es que nos permitirá realizar experimentación para la obtención de fibras de polímeros naturales, polímeros sintéticos o copolímeros. A continuación, se muestra la tabla 4 de la influencia de las propiedades de la solución polimérica en la obtención de nanofibras.

Tabla 4. Tabla de la influencia de las propiedades de la solución polimérica con la obtención de fibras por el método de electrohilado [47–54].

Solución polimérica en la técnica de electrohilado	
Propiedad	Influencia
<i>Viscosidad</i>	<i>Grado de alargamiento y diámetro</i>
<i>Tensión superficial</i>	<i>Formación de gotas a lo largo de la longitud de la fibra</i>
<i>Conductividad</i>	<i>Grado de alargamiento y diámetro. Aumentar transporta más cargas</i>

2.4.2.2 Condiciones de procesamiento

Como pudimos ver en la sección anterior, modificaciones simples en la solución polimérica nos brinda un extenso surtido de resultados, sin embargo, otros aspectos importantes dentro del procesamiento de la técnica para la obtención de nanofibras podemos encontrar diversos factores como el alto voltaje usado, la velocidad de inyección, temperatura, distancia del colector y el diámetro de la aguja, estos parámetros se mencionan en la siguiente tabla (tabla 5).

Tabla 5. Influencia de los factores y condiciones de procesamiento en la obtención de fibras por la técnica de electrohilado [47–54].

Condiciones de procesamiento en la técnica de electrohilado	
Factores	Influencia
<i>Voltaje aplicado</i>	<i>Induce las cargas eléctricas de la solución, conduce a un punto crítico y las fuerzas electrostáticas superan la tensión superficial (cono de Taylor)</i>
<i>Velocidad de alimentación</i>	<i>Mayor velocidad de alimentación es igual a un aumento en los diámetros de las fibras y mayor número de perlas en la estructura</i>
<i>Temperatura de la solución</i>	<i>Evaporación del disolvente y viscosidad de la solución</i>
<i>Tipo de colector</i>	<i>Dirección a las fibras</i>
<i>Distancia del colector</i>	<i>Afecta directamente la intensidad del campo eléctrico</i>
<i>Diámetro de la aguja</i>	<i>Volumen inicial de inyección</i>

2.4.2.3 Parámetros ambientales

Las condiciones ambientales son de especial cuidado para la obtención de fibras con excelente calidad y reproducibilidad de resultados. Los parámetros ambientales más simples como la humedad, la presión o la presencia de gases específicos pueden modificar totalmente los resultados, por ejemplo, podría aumentar la porosidad de las fibras o provocará excesivos problemas en la inyección inicial. En seguida se muestra la tabla 6 donde se especifica la influencia de los parámetros y condiciones ambientales en la obtención de fibras.

Tabla 6. Influencia de los parámetros y condiciones ambientales en la obtención de fibras por la técnica de electrohilado [47–54].

Condiciones ambientales en la técnica de electrohilado	
Parámetro ambiental	Influencia
<i>Humedad</i>	<i>Si es alta existe la posibilidad de condensación de agua en la superficie agregando porosidad</i>
<i>Composición del aire</i>	<i>Dependerá del comportamiento de los gases en campos altamente electrostáticos</i>
<i>Presión</i>	<i>Presión debajo de la presión atmosférica causa un inicio de inyección inestable pues la solución polimérica tendrá una tendencia mayor a salir de la aguja</i>

2.4.3 Aplicaciones de las fibras

La técnica de electrohilado ofrece una larga lista de ventajas en su utilización para la obtención de fibras o membranas nanoestructuradas, debido a la sencillez de la técnica, el control de los parámetros que intervienen, la posibilidad de trabajar con diferentes tipos de materiales, ya sea poliméricos, cerámicos o metales y de embeber moléculas, macromoléculas o nanopartículas en la matriz para la creación de materiales compuestos, ampliando así las áreas de aplicación [50], [52], [55–61].

2.5 Modificación Superficial con plasma

Actualmente, la tecnología del plasma es utilizada en el ámbito del tratamiento mecánico para modificaciones superficiales y representan un proceso vital en diversos sectores industriales como el textil, la microelectrónica, aeroespacial, automovilística y biomédica. Los tratamientos superficiales por plasma pueden ser catalogados en plasmas térmicos o plasmas de alta densidad y plasmas fríos. Los primeros permiten fundir o vaporizar materiales con aplicaciones en metodologías de procesamiento de materiales a altas temperaturas, mientras que, los plasmas fríos generan especies activas los cuales dotan al material tratado con la capacidad de generar reacciones químicas y físicas sobre su superficie a bajas temperaturas [62].

Es usado el plasma en el procesamiento de materiales para limpieza y activación de superficies de un material generando menos contaminación, menos residuos tóxicos, consumiendo menos energía y usándola de forma más eficiente, por lo que, se considera una metodología medioambientalmente amigable.

2.5.1 Fundamentos

El plasma es considerado el cuarto estado de agregación de la materia y es representado como un gas ionizado, considerándolo también un medio activo o un sistema eléctricamente cuasi-neutro pues se encuentra constituido por especies neutras, iones y electrones libres, los cuales les brindan la capacidad de modificar mecánicamente la naturaleza fisicoquímica de una superficie sin afectar las propiedades intrínsecas de un material [62–64].

Los plasmas se pueden crear cuando un grupo de átomos o moléculas ganan suficiente energía y son excitados a mayores estados energéticos, ya sea con radiofrecuencia, microondas o la aplicación de un campo electromagnético fuerte. En el momento en el que la energía cinética molecular excede la energía de ionización, las colisiones separan algunos electrones de los átomos y resulta en una mezcla de iones y electrones [43].

El plasma constituye la materia conocida más abundante del Universo, más del 99%, aun cuando son escasos en la tierra [65]. El plasma se comporta diferente a un gas puesto que, incluye partículas cargadas (como electrones y iones), estas les brindan la capacidad a los átomos de desviarse, atraerse o repelerse por otras cargas, además de que lo vuelve susceptible a campos electromagnéticos externos. La mezcla de cargas en el plasma le confiere un comportamiento colectivo e impredecible, por las fuerzas de largo alcance que existen entre ellas [66]. Es posible encontrar a los plasmas en altísimos valores de presión y temperatura como en los núcleos estelares hasta otras condiciones asombrosamente bajas. Uno de los mayores atractivos es que emiten luz visible, con espectros bien definidos y particulares de cada especie [65-66].

Es posible clasificar a los plasmas según la “temperatura” de sus partículas pesadas (iones y especies neutras). Como primer tipo están los plasmas calientes, estos se encuentran prácticamente ionizados en su totalidad, y sus electrones se encuentran en equilibrio térmico con las partículas pesadas. Un caso extremo son los reactores de fusión nuclear donde es posible alcanzar temperaturas de 10^8 K, lo que permite a los núcleos chocar entre sí, superando las enormes fuerzas repulsivas inter nucleares, y logra su fusión. Este tipo de plasmas pueden producirse a presiones desde 10^{17} Pa, como en algunos núcleos estelares y hasta en 1 Pa en reactores experimentales de fusión [65].

Existen otros plasmas que son llamados térmicos, los cuales tienen electrones y especies pesadas en equilibrio, pero muestran una menor temperatura $\sim 10^3 - 10^4$ K, y grados de ionización intermedios, algunos ejemplos son los relámpagos, a una presión de entre 10^5 y $\sim 10^2$ Pa [65].

Finalmente los plasmas fríos suelen producirse a bajas presiones ($< 10^2$ Pa), y presentan grados de ionización mucho menores ($\sim 10^{-4} - 10^{-6}$). En este tipo de plasmas existe un desequilibrio térmico, puesto que, aunque los electrones suelen alcanzar temperaturas de hasta $\sim 10^5$ K, el resto de las especies masivas (los iones y las especies neutras), que son las

que pueden transmitir el calor a las superficies en contacto con el plasma, se encuentran prácticamente a “temperatura ambiente”, lo que lo vuelve un plasma no térmico [65–66].

En la siguiente figura (figura 6) se muestra una gráfica realizada para la identificación de los diferentes tipos de plasma en relación con la temperatura y la densidad de partículas cargadas [65–66].

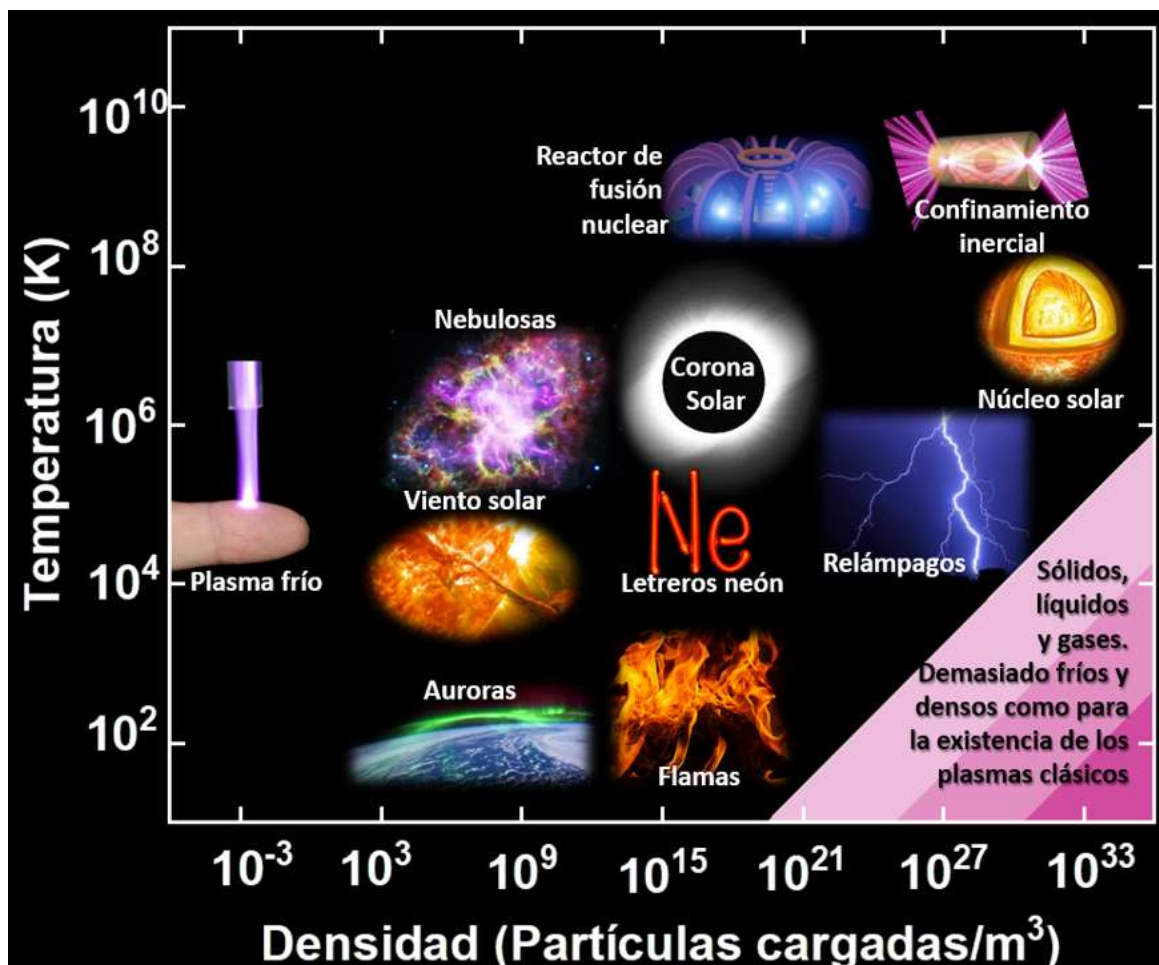


Figura 6. Gráfica de ejemplos de plasma y su relación de Temperatura (K) con Densidad de partículas cargadas por metro cúbico. Imagen replicada de Contemporary Physics Education Project.

2.5.2 Reacciones con las superficies

El uso de la tecnología de plasmas fríos para el campo de modificación de superficies se ha explorado debido a la facilidad con la que es posible funcionalizar materiales mediante la incorporación de grupos funcionales específicos (por ejemplo, $-OH$, $-COOH$, $-NH_2$), para alterar la composición química de la superficie sin afectar sus características generales. Esta activación o funcionalización superficial se provoca, debido a que, partículas cargadas de plasma impactan con mucha energía sobre la superficie a tratar arrancando partículas del sustrato que son incorporadas al plasma, y a su vez, algunas partículas del plasma son depositadas en él generando grupos funcionales polares, modificando la topografía y la energía superficial de la muestra, y con ello, las propiedades de adhesión [43], [62–64], [67].

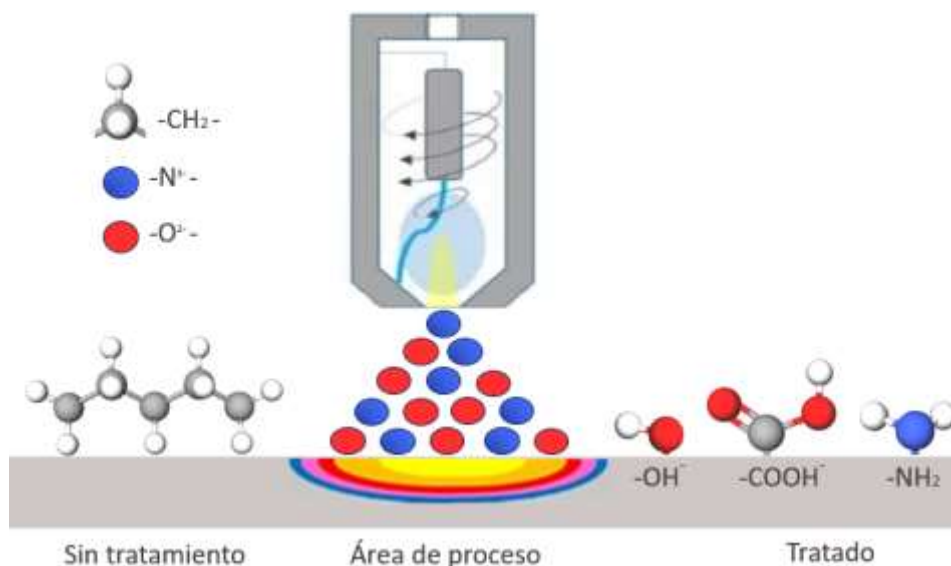


Figura 7. Representación del proceso de modificación superficial con la consideración de los grupos funcionales que se promueven en la superficie posterior al tratamiento superficial con plasma. Obtenido de Mexpolímeros.

La cuantificación de la rugosidad superficial (Ra) y la media cuadrática superficial (RMS) permiten cuantificar la profundidad de erosión promedio en un área de análisis [9], [67]. Gibson, *et al.* [68] mostró que el tratamiento superficial con plasma incrementa la

hidrofilicidad del PHBV moldeado por compresión, debido al incremento de la rugosidad superficial. Can-Herrera en 2017 demostró que el tratamiento con plasma de aire modifica las propiedades superficiales de andamios electrohilados de PCL, cambiándolas de hidrofóbicas a hidrofílicas. Específicamente observó que un incremento en la potencia y el tiempo del tratamiento con plasma de aire, generan un aumento en la energía superficial en los andamios y por ende, de las características de humectación de los mismos; lo que se relacionó con un incremento de los grupos funcionales que contienen oxígeno (grupos polares como hidroxilos y carboxilos) y lo respaldó con caracterizaciones por EDS y XPS [43]. A continuación, se muestra la tabla 7 donde se resaltan las ventajas y las desventajas del uso del plasma para la modificación de superficies.

Tabla 7. Ventajas y desventajas de la modificación superficial por plasma [43].

Ventajas	Desventajas
La modificación está confinada a la capa superficial del material sin afectar las propiedades intrínsecas del material.	Se desconocen las reacciones químicas implicadas, sin embargo, se sugieren rutas.
Especies químicas con alta energía (ionizadas) pueden modificar la superficie de un polímero sin considerar la naturaleza química o reactividad.	No es una reacción selectiva
Es una técnica muy versátil pues cada gas genera diferentes grupos funcionales en la superficie.	
A nivel laboratorio es una técnica uniforme, además de poseer la capacidad de ser un proceso escalable.	
No se requieren disolventes para realizar una modificación, el tiempo de exposición es menor comparado con otros procesos de modificación superficial.	
Es fácilmente aplicable a superficies de cualquier tamaño y geometría.	
El proceso no calienta las muestras, por lo que se pueden tratar materiales con una baja temperatura de fusión o sensibles a la temperatura.	

Considerando el propósito del presente trabajo sobre el incremento de la exposición de las CeO₂NPs con uso del tratamiento superficial con plasma, en la literatura es posible encontrar referentes como la investigación doctoral de España-Sánchez [9], [67] que demuestran por medio de micrografías SEM e imágenes de la topografía por AFM a nanocompuestos de polipropileno con AgNPs y CuNPs antes y después de un tratamiento superficial con plasma de Argón que demuestra aglomerados detectables de los metales en la superficie del polímero y una modificación en la topografía y rugosidad de los nanocompuestos, lo que indica una exfoliación de la superficie que beneficia posterior interacción de las nanopartículas con microorganismos y favorece la actividad antibacterial [9], [67].

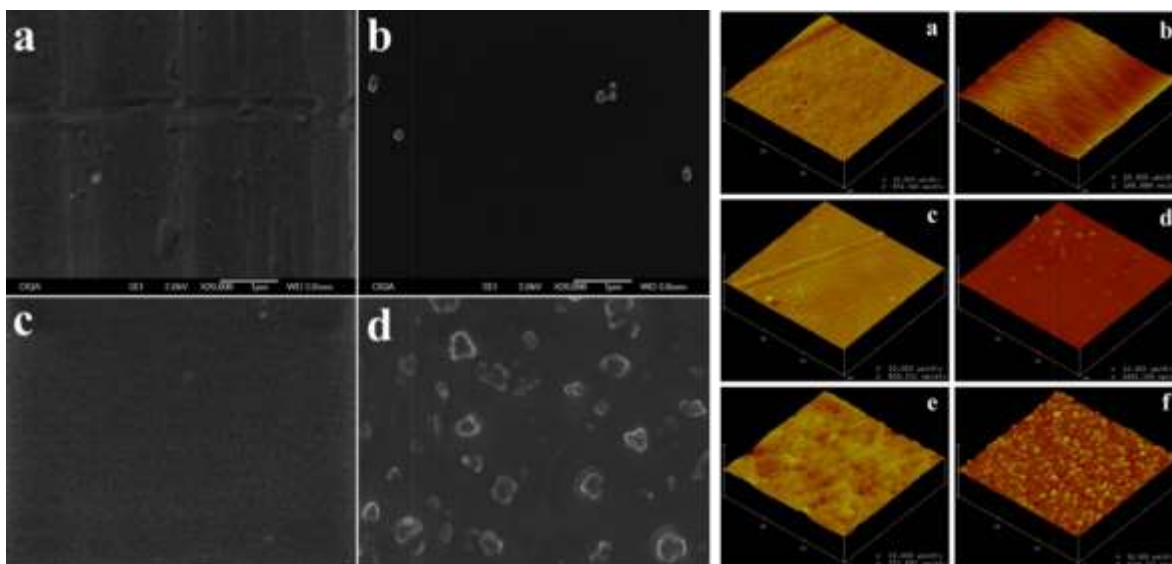


Figura 8. Lado izquierdo, micrografías obtenidas de a) Nanocompuestos de polipropileno + AgNPs 5% sin plasma (SP), b) polipropileno + AgNPs 5% con tratamiento superficial con plasma (TSP), c) Nanocompuestos de polipropileno + CuNPs 5% SP y d) polipropileno + CuNPs 5% TSP. Lado derecho. Imágenes tridimensionales obtenidas de la topografía superficial por medio de AFM de a) polipropileno SP, c) polipropileno + AgNPs 5% SP, e) polipropileno + CuNPs 5% SP y b) Polipropileno TSP, d) polipropileno + AgNPs 5% TSP y f) polipropileno + CuNPs 5% TSP [9]

3 Hipótesis

La fabricación de una membrana formulada a partir de policaprolactona/nanopartículas de óxido de cerio antibacteriano (PCL + CeO₂NPs) mediante electrohilado, favorecerá la formación de filamentos con capacidad antibacteriana al contacto con bacterias suspendidas en medios acuosos. Dicha funcionalidad será mejorada al modificar la membrana nanoestructurada mediante tratamiento por plasma, en donde se activará la superficie del material y se favorecerá la interacción de las nanopartículas con microorganismos. Se espera que dichas membranas eviten la generación de mecanismos de adaptación bacteriana a través de cambios en su comportamiento bactericida, por su eficacia prevalecerá ante la exposición consecutiva de microorganismos. Lo anterior marcará la pauta en el diseño de nanomateriales antimicrobianos funcionales, con aplicación potencial en el tratamiento de aguas contaminadas por microorganismos.

4 Objetivos

4.1 Objetivo General

Fabricar nanocompuestos formulados a partir de nanopartículas de óxido de cerio embebidas en una matriz de PCL mediante la técnica de electrohilado y realizar un tratamiento superficial con plasma para incrementar la actividad antimicrobiana para el desarrollo de membranas para tratamiento de aguas contaminadas con microorganismos.

4.2 Objetivos específicos

- Sintetizar, caracterizar fisicoquímicamente y evaluar la actividad antimicrobiana por el método de suspensión de nanopartículas de óxido de Cerio (CeO_2NPs) obtenidas por vía verde usando el extracto de *Aloe arborescens* y *Olea europea*.
- Fabricar y establecer condiciones de electrohilado (voltaje, distancia, flujo y tiempo de deposición) de membranas de policaprolactona (PCL) con concentraciones de 0.5, 1, 2 y 4% de CeO_2NPs y caracterizarlas.
- Realizar un tratamiento superficial con plasma de aire a la superficie de las membranas electrohiladas de PCL/ CeO_2 durante 15 minutos, para modificar su polaridad superficial y promover la exposición superficial de las NPs en los filamentos.
- Evaluar la actividad antibacteriana (AA) de las membranas (PCL+ CeO_2NPs), en función de la concentración de NPs, el tiempo de contacto y el tratamiento por plasma mediante la norma ASTM E-2149 al contacto con *Staphylococcus aureus*.
- Establecer la DL_{75} (25 % bacterias sobrevivientes) a partir del ensayo de AA y realizar ensayos de exposición consecutiva durante 10 exposiciones de bacterias *S. aureus* en la superficie de los filamentos de PCL + CeO_2 , para determinar cambios en los porcentajes de AA asociados a posibles procesos de adaptación bacteriana.

Estas páginas fueron eliminadas debido a que su contenido es información clasificada como confidencial de acuerdo con el Artículo 113 fracción II de la Ley Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública 2021, y con el Artículo 116 de la Ley General de Transparencia y Acceso a la Información Pública 2021.

6.2.2 Composición química de CeO₂NPs mediante FTIR

A continuación, en la figura 30 se muestran los 2 espectros obtenidos para el análisis de la composición química de las CeO₂NPs por la técnica de FTIR-ATR por el que se analizaron las muestras de 400 – 4000 cm⁻¹ y a continuación se resaltan 5 bandas para cada extracto con la intención de caracterizarlas e identificar señales particulares.

Para los resultados de la caracterización de las CeO₂NPs obtenidas con el extracto de *Aloe arborescens* la banda 612 cm⁻¹ es atribuida a un enlace de estiramiento entre cerio y oxígeno [92]. Las bandas ubicadas en el intervalo 900-1000 cm⁻¹ se atribuyen a la deformación de enlaces carbono – hidrógeno [92]. La banda que se encuentra en 1038 cm⁻¹ se atribuye a una vibración de estiramiento del carbono con oxígeno [93]. La señal a 1398 cm⁻¹ es indicativo de la vibración de estiramiento entre nitrógeno y oxígeno (N = O) que fue producida por una cantidad mínima de remanentes de la sal precursora (nitrato) [94].

Para los resultados del análisis a las CeO₂NPs obtenidas con el extracto de *Olea europaea* se resaltan 5 bandas de transmitancia la primera señal a 716 cm⁻¹ que se atribuye al estiramiento del enlace del cerio con oxígeno. La banda a 869 cm⁻¹ se adjudica al enlace metal oxígeno [95], de manera similar la señal detectada en 1043 cm⁻¹ representa vibraciones en los enlaces de Cerio y oxígeno [94]. La banda en 1330 cm⁻¹ se puede relacionar con el enlace oxígeno – cerio – oxígeno [92] y finalmente la banda a 1514 cm⁻¹ se atribuye a enlaces carbono – hidrógeno [95].

Estos resultados demuestran que es posible que se encuentren remanentes orgánicos en las CeO₂NPs y también permiten corroborar la presencia del Cerio en las partículas como composición de ambos materiales.

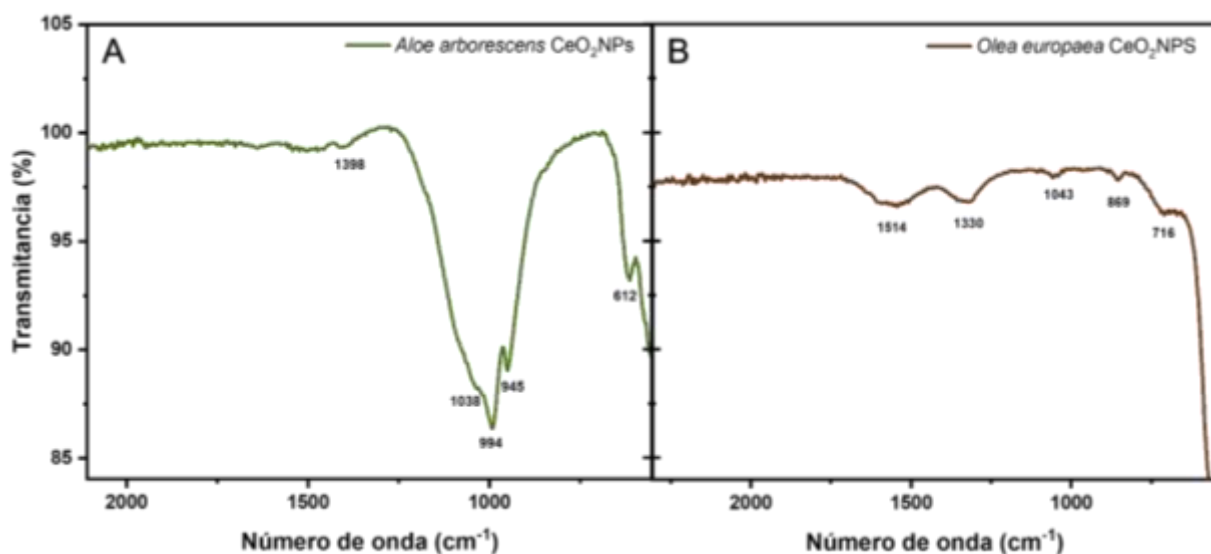


Figura 30. Espectros de IR de las nanopartículas obtenidas por síntesis verde con (A) extracto de *Aloe arborescens* y (B) *Olea europaea*.

A continuación, en la tabla 11 se muestra una tabla con los datos obtenidos de las 5 bandas por cada extracto con el grupo funcional al que es asignado esa señal, datos de la literatura de respaldo y la identificación del extracto en el que se encuentra cada señal específica.

Tabla 10. Tabla de clasificación de Número de onda cm^{-1} , grupos funcionales y muestra.

No. onda (cm^{-1})	Grupo funcional	<i>Aloe arborescens</i>	<i>Olea europaea</i>
612	Ce-O [95]	X	
716	Ce-O [96]		X
869	Enlace Metal – Oxígeno [95]		X
945	C-H [92]	X	
994	C-H [92]	X	
1038	C-O [93]	X	
1043	(Ce-O-Ce) [94]		X
1330	O-Ce-O [92]		X
1398	Agua y CO_2 [97] N=O [94]	X	
1514	CH_2 [95]		X

6.2.3 Tamaño de partícula de CeO₂ NPs mediante DLS y potencial Z

La estabilidad de las nanopartículas generalmente se indica por su potencial zeta, que se define como la diferencia resultante del potencial alrededor de la superficie de las nanopartículas con la asociación de los grupos de carga del sitio opuesto del solvente en la suspensión. Principalmente, cuanto mayor es la repulsión entre las partículas que se van a agregar, mayor es el valor absoluto del potencial zeta (ya sea positivo o negativo), y, por tanto, mayor es la estabilidad del NP. Las partículas con mediciones de potencial Z superiores a $\pm (30)$ mV normalmente se consideran estables [31].

Se determinó que el potencial zeta de las CeO₂NPs obtenidas por síntesis verde con extracto de *Aloe arborescens* y de *Olea europaea* es de -5.07 y -6.97 mV respectivamente, como se muestra en la siguiente tabla (tabla 12). Debido a este bajo valor de potencial zeta, las CeO₂NPs no permanecían estables y dispersas pues se apreciaba la formación de aglomerados que gradualmente formaba precipitados, lo que explicaría los resultados obtenidos por TEM. Y los resultados obtenidos para la medición de tamaño de partícula por DLS, los cuales se muestran a continuación en la figura 31.

Tabla 11. Resultados de las mediciones de potencial Z de las CeO₂NPs obtenidas por el extracto de *Áloe vera* y de *Olea europaea*.

Extracto	Potencial Z (mV)
<i>Aloe arborescens</i>	-5.07
<i>Olea europaea</i>	-6.97

Los resultados de las mediciones de DLS (figura 31) arrojan picos de alta intensidad en 159.6 nm \pm 9.04 nm para las CeO₂NPs obtenidas con el extracto de *Aloe arborescens* y de 73.99 nm \pm 5.35 nm. Esto puede deberse a la aglomeración de las nanopartículas en suspensión durante la medición en medio acuoso.

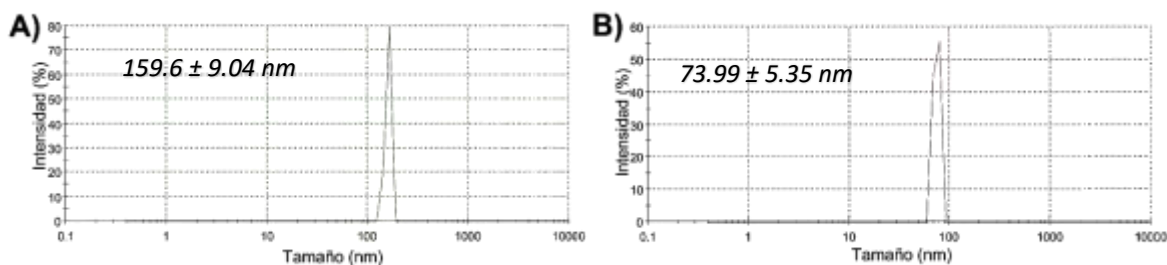


Figura 31. Gráficas de DLS a CeO_2NPs sintetizadas con A) extracto de *Aloe arborescens* y B) *Olea europaea*

6.2.4 Estructura cristalina de CeO_2NPs mediante XRD

El difractograma del análisis de las CeO_2NPs obtenidas a partir de la síntesis verde con extracto de *Aloe arborescens* es mostrado a continuación (figura 32), este nos muestra las características del polvo posterior a un tratamiento térmico en mufla el cuál es detallado en el apartado de metodología experimental, con la intención de comprobar que los planos cristalográficos coinciden con lo reportado en la literatura, por lo que el difractograma se encuentra indexado con la carta cristalográfica JCPDS No.34-0394 para óxido de cerio. Es posible observar 8 picos de difracción en 28.6° , 33.1° , 47.5° , 56.4° , 59.1° , 69.4° , 76.7° y 79.1° , correspondientes a los planos (111), (200), (220), (311), (222), (400), (331) y (420), que coinciden con una estructura FCC de tipo fluorita característica de las CeO_2NPs [27], [30], [34], [36], [98].

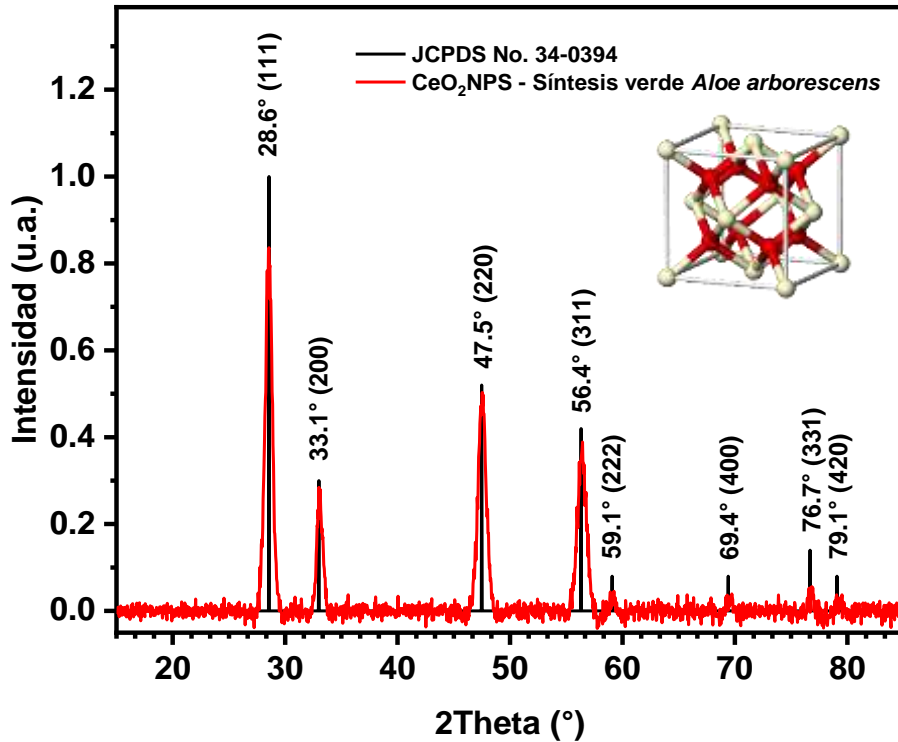


Figura 32. Difractograma obtenido del análisis del producto obtenido a partir de la síntesis verde de CeO₂NPs con extracto de *Aloe arborescens*.

Muthuvel *et al* realizaron síntesis de CeO₂NPs con extracto de *Calotropis procera* siendo los resultados de sus caracterizaciones muy similares a los obtenidos en el presente proyecto para UV-Vis y su banda de absorción y los 8 planos indexados para el difractograma obtenido del análisis de difracción de rayos X de los polvos resultantes de las síntesis.

En este caso, debido a la estructura cristalina propia del óxido de cerio existen muchas referencias que son estupendas aproximaciones con los resultados en 2 Theta y concuerdan totalmente los índices de Miller Maqbool, *et al*. quienes realizaron síntesis verde con extracto de *Olea europaea* [38], Mohamed *et al*. [87] realizaron la síntesis con frutos de *Hyphaene thebaica*, Priya, *et al*. [78] que usaron *Aloe barbadensis* Miller para la síntesis de CeO₂NPs. Kumar, *et al*. [37] usaron *Acalypha indica*

6.2.5 Morfología de CeO₂NPs mediante TEM

Posteriormente, al método de dispersión de nanopartículas asistido por ultrasonido se le realizaron modificaciones ampliando el tiempo de tratamiento y la amplitud de onda, las micrografías obtenidas, permiten hacer un análisis de distribución de tamaños con apoyo del software *ImageJ*, por lo que a continuación, en la figura 33 se muestran dos micrografías con los histograma de tamaño de CeO₂NPs sintetizadas con extracto de *Aloe arborescens*, mostrando, morfología no uniforme, aglomeraciones y distribuciones de tamaño desde 3 a 55 nm.

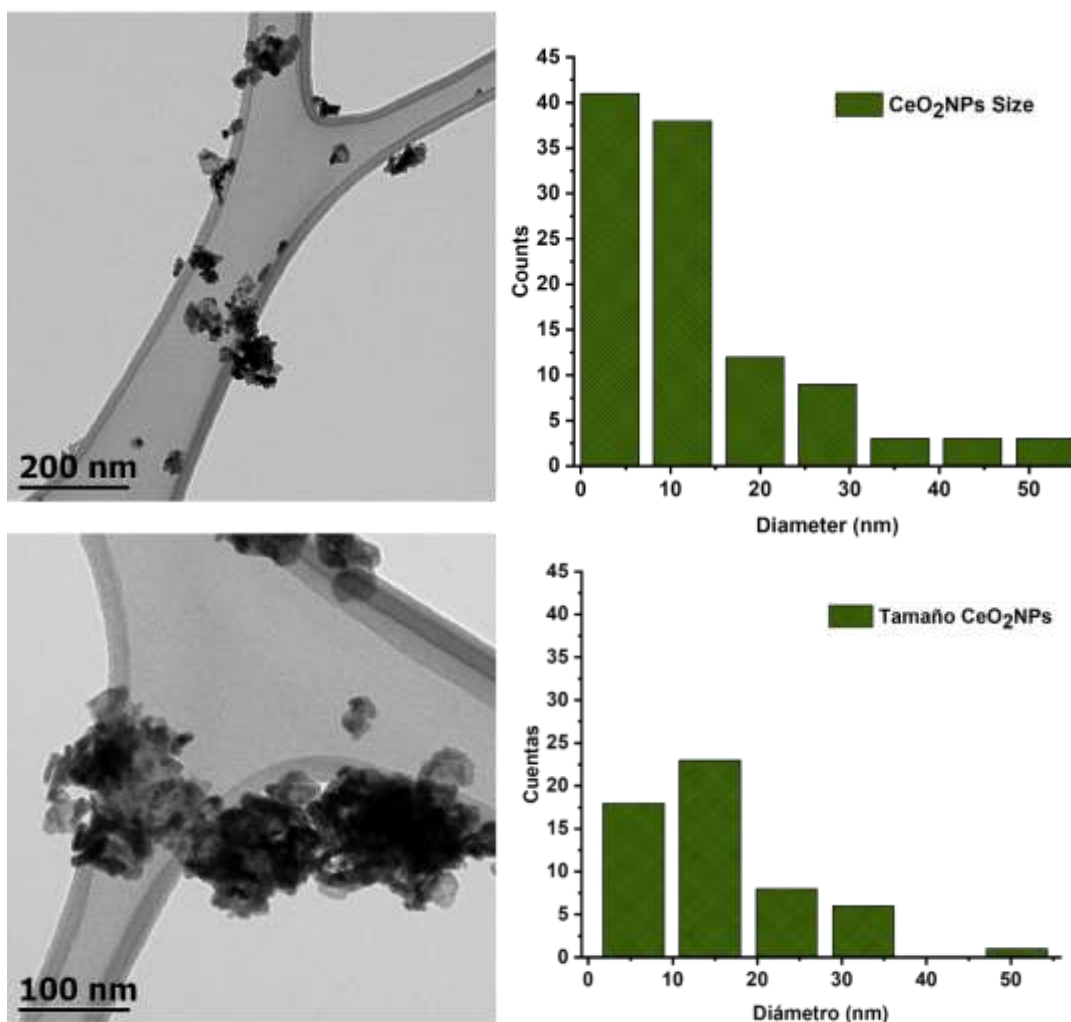


Figura 33. Micrografías SEM de las CeO₂NPs obtenidas por síntesis verde con extracto de *Aloe arborescens*.

Para la síntesis verde con extracto de *Olea europaea* se muestra a continuación en la figura 34 una micrografía con su histograma de distribución de tamaño, con un mayor número de cuentas entre 5 y 6 nm. Es de resaltar la identificación de aglomeración de nanopartículas individuales, menores a lo encontrado en la literatura para la síntesis con este extracto por Maqbool, *et al* en 2016 [38].

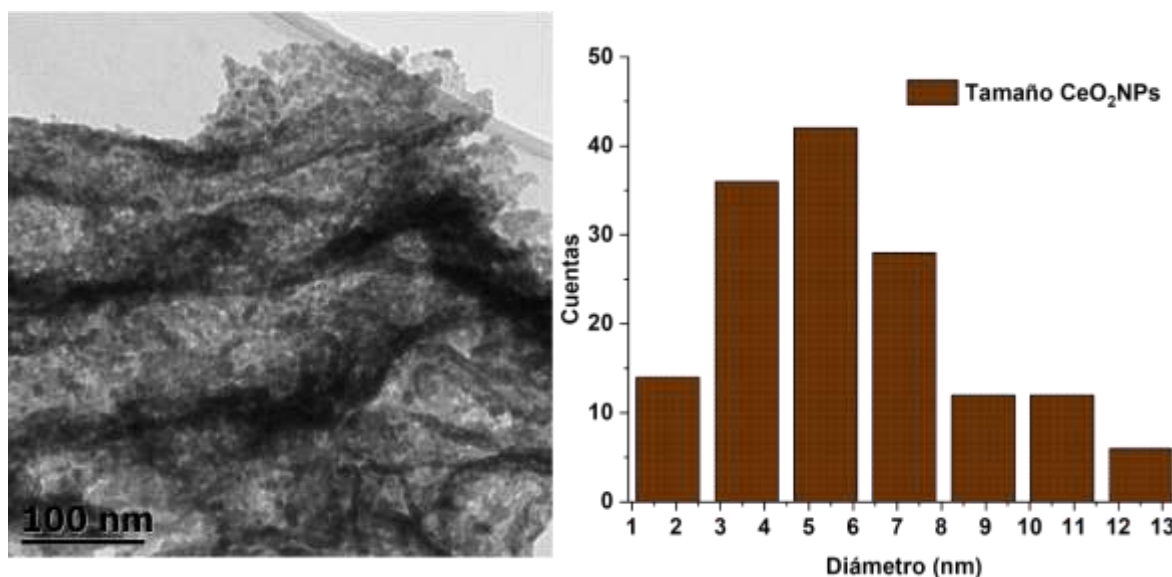


Figura 34. Micrografía TEM de las CeO₂NPs obtenidas con el extracto de *Olea europaea*.

Posteriormente, se realizaron modificaciones en la preparación de la muestra, a la dispersión asistida por ultrasonido se le aumentó la amplitud de onda y se prolongó el tiempo de tratamiento. Así fue posible obtener las siguientes micrografías (figura 35), en las que, aunque, también es posible observar los característicos aglomerados, es posible identificar en las partículas una morfología semiesférica con una distribución de tamaños identificados por el software *ImageJ* desde 3 a 43 nm.

Fereydouni *et al* en el 2019 observó comportamientos muy similares de agregación de CeO₂NPs con un tratamiento térmico a 600 °C, debido a un tamaño de partícula de entre 10 – 30 nm y una carga superficial medida por potencial zeta menor a los ± 30 mV [31], a lo

que se le podría atribuir la tendencia de las partículas a la formación de clústeres al encontrarse suspendidas en medios acuosos.

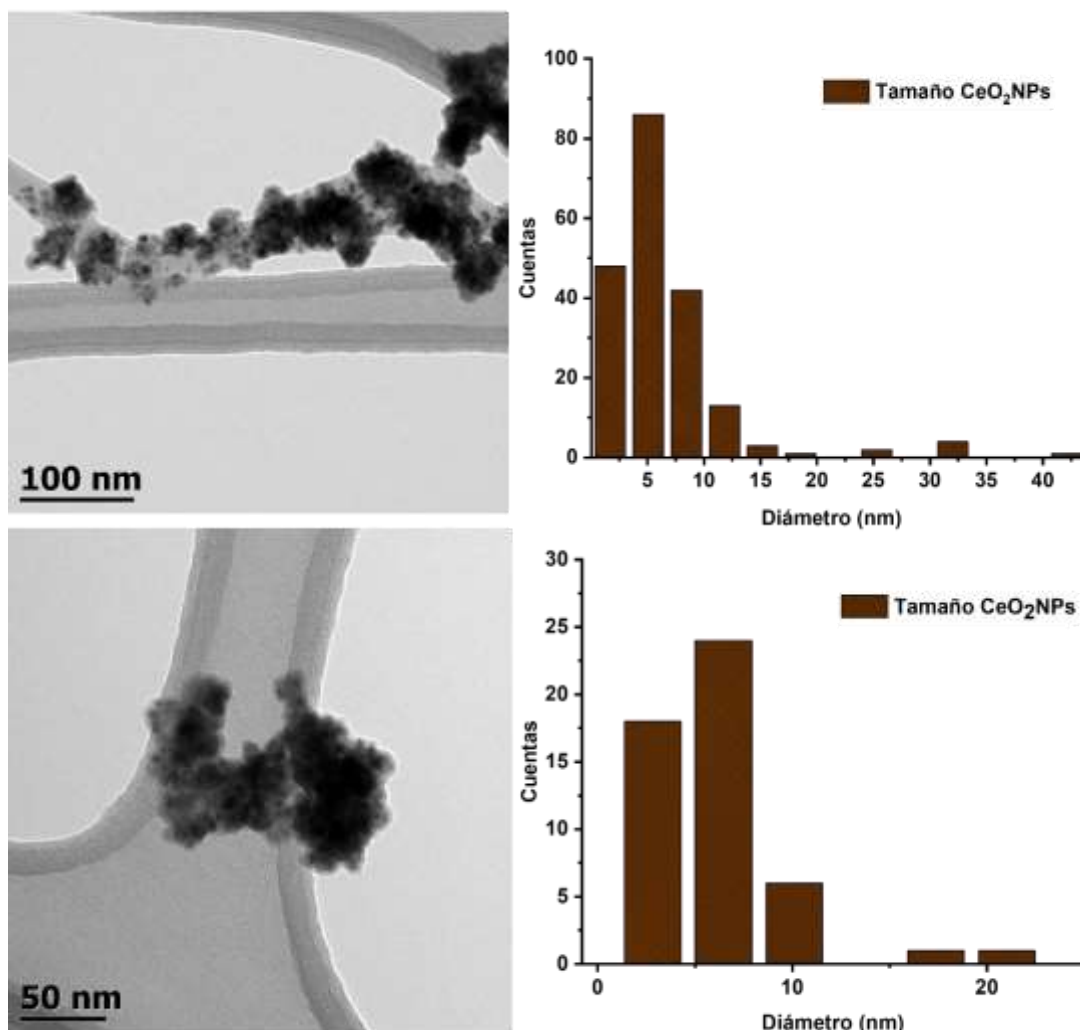


Figura 35. Micrografías TEM obtenidas previas a una modificación en los parámetros del tratamiento de la muestra de las CeO₂NPs sintetizadas con extracto de *Olea europaea*.

De acuerdo con los resultados obtenidos, en función del rendimiento de reacción, tamaño de nanopartículas e identificación de grupos funcionales principales, se eligió a las CeO₂NPs de *Aloe arborescens* como las principales para evaluar el porcentaje de actividad antibacteriana y para su posterior incorporación en la matriz de PCL.

6.2.6 Actividad antibacterial de CeO₂NPs

La actividad experimental se centró en la dinámica de interacción de las CeO₂NPs obtenidas con el extracto de *Aloe arborescens* con la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC #25923), tal como se presenta en la (figura 36).

Se puede apreciar que las CeO₂NPs presentan una actividad únicamente superior al 30% para concentraciones altas desde 400, 800 y 1600 µg/mL en un tiempo de interacción de 10 minutos. Para el tiempo de interacción de 1.5 h, observamos una buena respuesta de inhibición de la bacteria con porcentajes superiores al 60% de actividad antibacterial en todas las concentraciones analizadas (25, 50, 100, 200, 400, 800 y 1600 µg/mL). Sin embargo, los mejores porcentajes de actividad antibacterial los ofrece el tiempo de interacción de 3 horas con porcentajes superiores al 90% de actividad antibacterial en la totalidad de las concentraciones analizadas. Finalmente, el tiempo de interacción de 24 horas ofrece resultados de porcentajes de actividad antibacterial únicamente en las concentraciones menores de 25 y 50 µg/mL siendo de 17 y 30%. Esto puede ser atribuido a la precipitación de las partículas en la suspensión, y que al estar precipitadas se disminuye el contacto con las bacterias, por lo que se limita la interacción.

Estos resultados concuerdan con lo reportado en la literatura sobre la alta efectividad de los mecanismos de las CeO₂NPs para la inhibición del crecimiento y aniquilación de bacterias de tipo Gram positivo [33], [86], [99–101]. Los resultados demuestran una combinación sinérgica entre los mecanismos de interacción de tipo directo e indirecto debido a los resultados previamente analizados de tamaño de partícula y formación de aglomerados por su carga superficial medido por potencial zeta. Si bien el tamaño de partícula y su formación de aglomerados impediría el paso de las partículas al interior de la célula, la interacción directa podría realizarse al adherirse las CeO₂NPs a la membrana de la bacteria por interacción electrostática lo que dañaría la integridad de la membrana y pues de manera simultánea se estarían liberando iones y especies reactivas de oxígeno (ROS)

provocando muerte celular. El mecanismo de interacción indirecto nos puede indicar que las bacterias pueden estar viéndose seriamente afectadas por las modificaciones en el medio ocasionadas por la presencia de las nanopartículas en suspensión con una constante liberación de iones, ROS y otras especies generando estrés en los microorganismos y por lo tanto, posiblemente provocando la muerte celular [33], [86], [99–101].

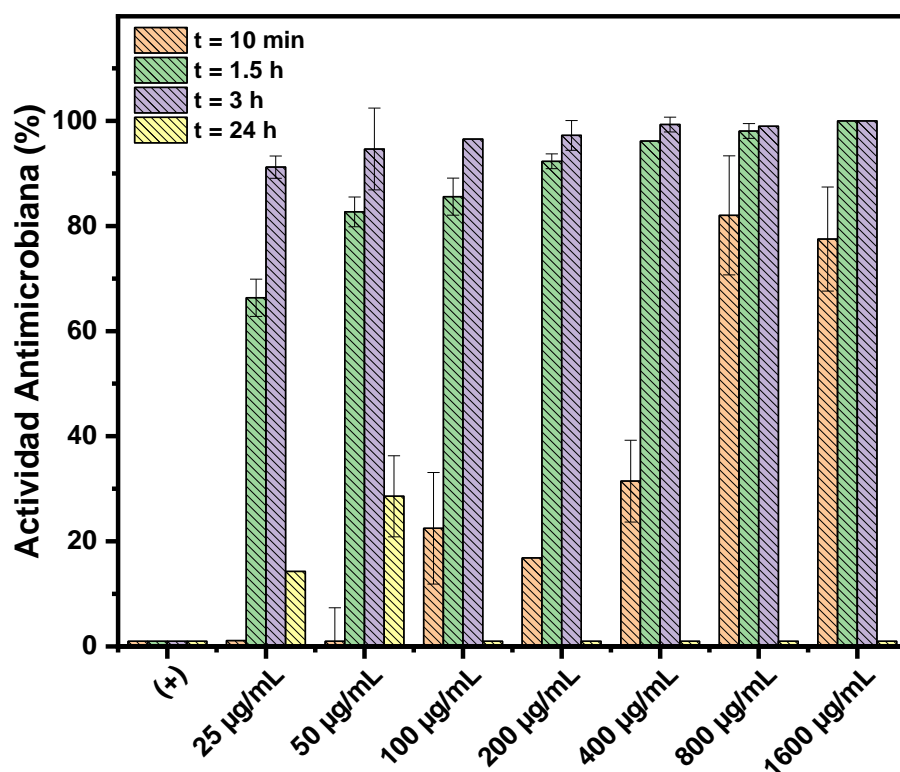


Figura 36. Gráfica de resultados de actividad antibacteriana de las CeO₂NPs en contacto con la bacteria Gram positiva *S. aureus*.

Una representación de la interacción entre las CeO₂NPs y la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus* es presentada a continuación en la figura 37, realizada con la finalidad de representar las posibles especies que son generadas en el medio y de manera directa con la membrana de la bacteria.

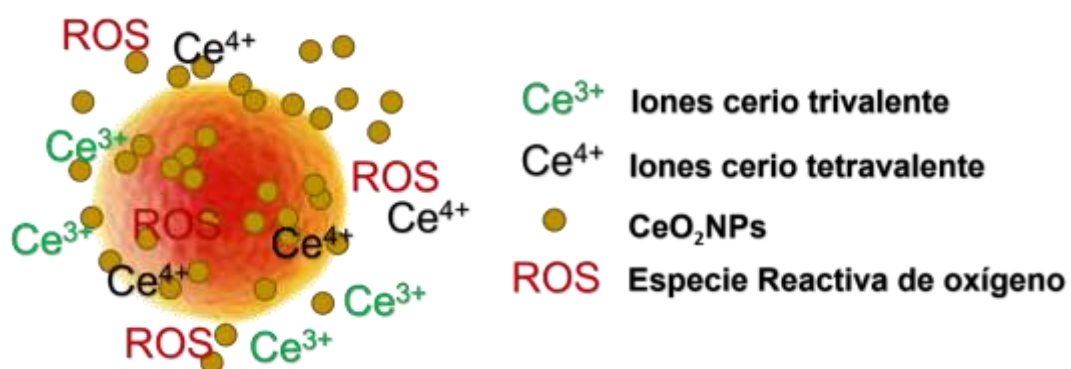


Figura 37. Representación de la interacción de la bacteria *S. aureus* y las CeO_2 NPs, resaltando la generación de iones y especies reactivas de oxígeno. Creación propia.

6.3 Fabricación de filamentos de PCL+CeO₂NPs obtenidas a partir de extracto de *Aloe arborescens*

A partir de la síntesis verde de CeO₂NPs mediante el uso del extracto de *Aloe arborescens*, se procedió a realizar la incorporación de diferentes concentraciones de NPs (0.5, 1, 2 y 4 % en peso) en una matriz de policaprolactona (PCL) al 10 % en peso, disuelta en una mezcla de cloroformo/DMF, en una proporción de 80/20. Los parámetros de electrohilado seleccionados fueron los siguientes (previamente mostrados en la Tabla 13 de la Sección de Métodos:

Tabla 12. Parámetros de operación del equipo de electrohilado

Parámetros de operación de equipo	
Voltaje	18 kV
Flujo	6 µL/h
Rotación	1500 rpm
Tiempo	30 min
Humedad	45%
Distancia	15 cm

La selección de dichos parámetros se estableció en función de la calidad del filamento obtenido, en donde se descartaron las condiciones que no favorecieron la formación de filamentos uniformes (presencia de gotas o grumos), observada de manera general mediante microscopía óptica (figura 38).



Figura 38. Imagen de las fibras obtenidas por la técnica de electrohilado de PCL con CeO₂NPs

Se realizó de manera comparativa, el tratamiento superficial de los filamentos obtenidos con plasma de aire, tomando como referencia las condiciones experimentales previamente reportadas por España-Sánchez [9], en donde se menciona que la erosión superficial por plasma incrementa la exposición superficial de las NPs. Bajo estas condiciones, se realizó la caracterización de morfología de filamentos, topografía y polaridad superficiales comparando el efecto del tratamiento con plasma (TSP) y las fibras sin tratamiento (ST).

Estructura de filamentos por Microscopía Electrónica de Barrido (SEM)

Se realizó la incorporación de CeO₂NPs en la matriz de PCL mediante el proceso de electrohilado y su comparación con el polímero sin carga. Para determinar su estructura, diámetro promedio de filamentos y orientación, se obtuvieron micrografías SEM (Figura 39). Se puede observar que el polímero sin carga (Fig. 39-A) presenta morfología irregular, con un diámetro promedio de 1 μm . Sin embargo, al adicionar 0.5 % en peso de CeO₂NPs (Fig. 39-B), se puede apreciar la formación de filamentos orientados, con un diámetro promedio de 850 nm. Al realizar el tratamiento superficial con plasma, el tamaño de los filamentos disminuye, obteniendo un diámetro promedio de 705 nm.

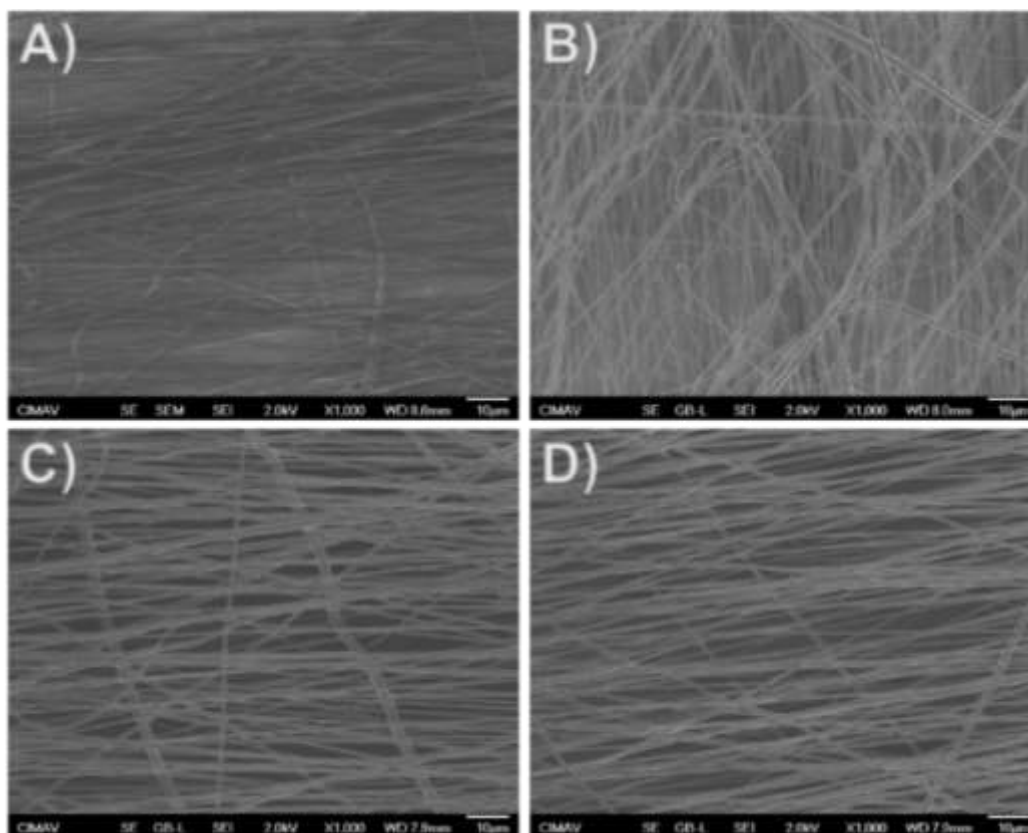


Figura 39. Micrografías de las membranas fabricadas por electrohilado, siendo A) PCL B) PCL con tratamiento superficial con plasma de aire y con la presencia de CeO_2NPs embebidas en su estructura C) la membrana de PCL + 0.5 % CeO_2NPs sin tratamiento y D) PCL + 0.5 % CeO_2NPs con tratamiento superficial con plasma de aire.

A partir de los resultados obtenidos por SEM, es posible identificar que añadiendo las CeO_2NPs al polímero las fibras se obtienen de diámetros más uniformes y fue posible brindarles dirección con mayor facilidad durante su procesamiento.

La figura 40 muestra una micrografía SEM en solitario para la membrana de PCL + 0.5 % CeO_2NPs con tratamiento superficial con plasma. Dicho histograma nos muestra que se obtienen diámetros desde los 200 hasta los 1800 nm, con una mayor cantidad de cuentas para fibras de 500-800 nm

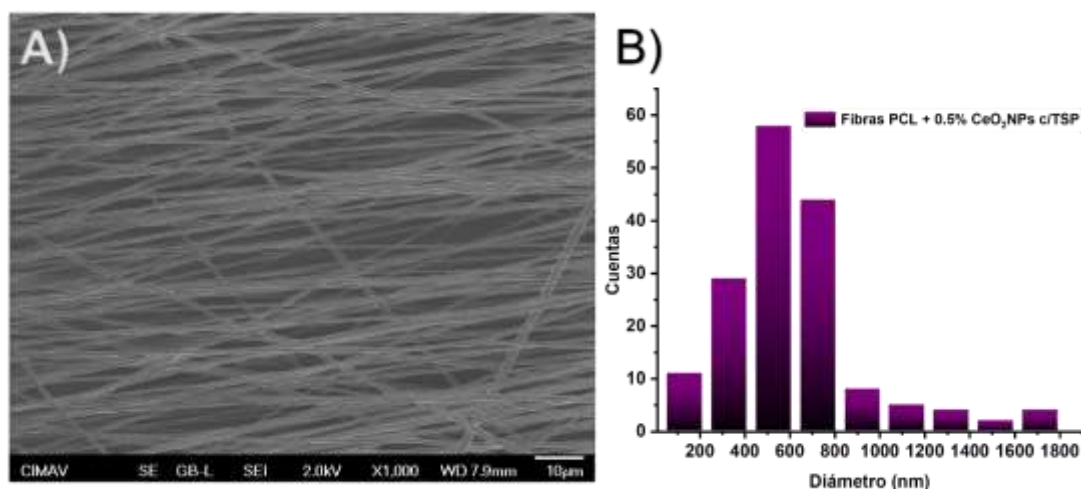


Figura 40. Imagen compuesta con A) Micrografía SEM de la membrana de PCL + 0.5 % CeO₂NPs con tratamiento superficial con plasma de aire y B) histograma de la distribución de tamaños para las fibras fabricadas por electrohilado.

Considerando la medición de los diámetros de las fibras y aunado a la imagen anterior, se muestra en la figura 41 una gráfica comparativa que permite identificar la modificación en los diámetros promedio posterior al tratamiento superficial con plasma de aire obtenidos por el procesamiento con *ImageJ* de las micrografías para las membranas: PCL, PCL + 0.5 % CeO₂NPs y PCL + 2 % CeO₂NPs.

Se aprecia que, al realizar el tratamiento con plasma de aire, donde se busca una erosión superficial con el objetivo de exponer las CeO₂NPs embebidas en la matriz, y así favorecer la interacción con bacterias suspendidas en medios acuosos, se disminuye como resultado el diámetro promedio de las fibras en las membranas. La siguiente gráfica demuestra la tendencia en la disminución del diámetro por efecto del plasma.

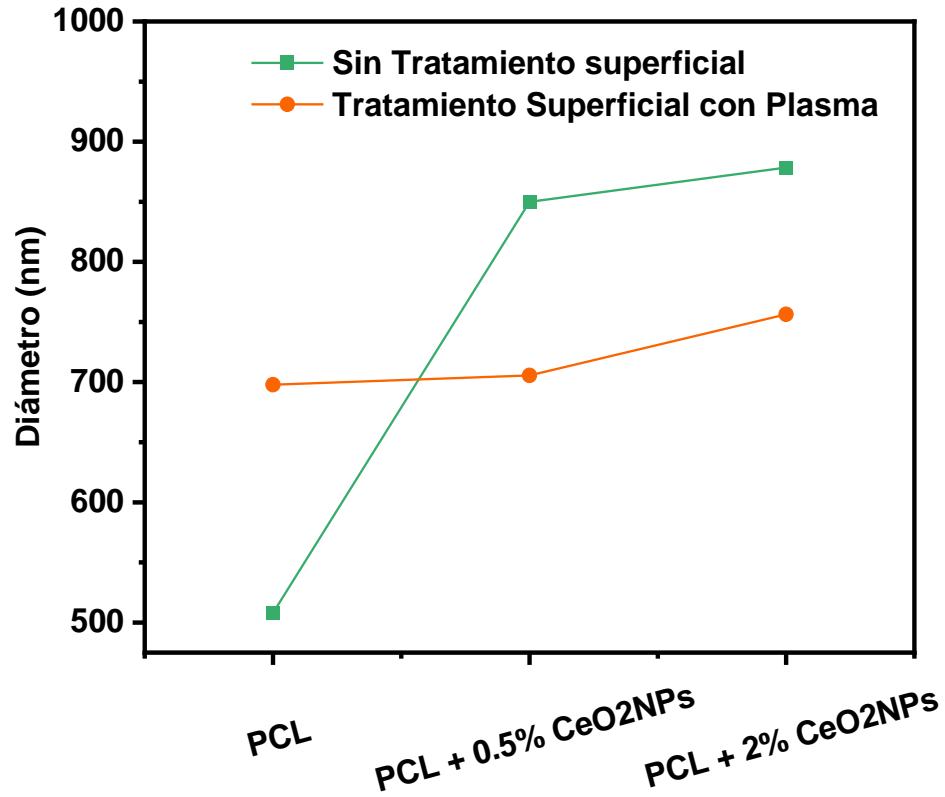


Figura 41. Gráfico de las diferencias entre la distribución de diámetros obtenidos para las membranas de PCL y PCL + CeO₂NPs sin tratamiento y con tratamiento superficial con plasma de aire.

Análisis de topografía superficial de PCL/CeO₂NPs mediante Microscopía de Fuerza Atómica

A continuación, se muestran las imágenes topográficas de las membranas fabricadas por la técnica de electrohilado usando microscopía de fuerza atómica, se busca identificar diferencias topográficas significativas en las membranas posterior al realizar el tratamiento superficial con plasma de aire. En la figura 42 se puede observar un esquema comparativo para las membranas de PCL con los datos obtenidos del procesamiento en 50 x 50 μm de la información superficial. Es posible apreciar que hay modificaciones en la altura máxima detectada, modificándose de 11.91 μm a 6.57 μm posterior al tratamiento con plasma.

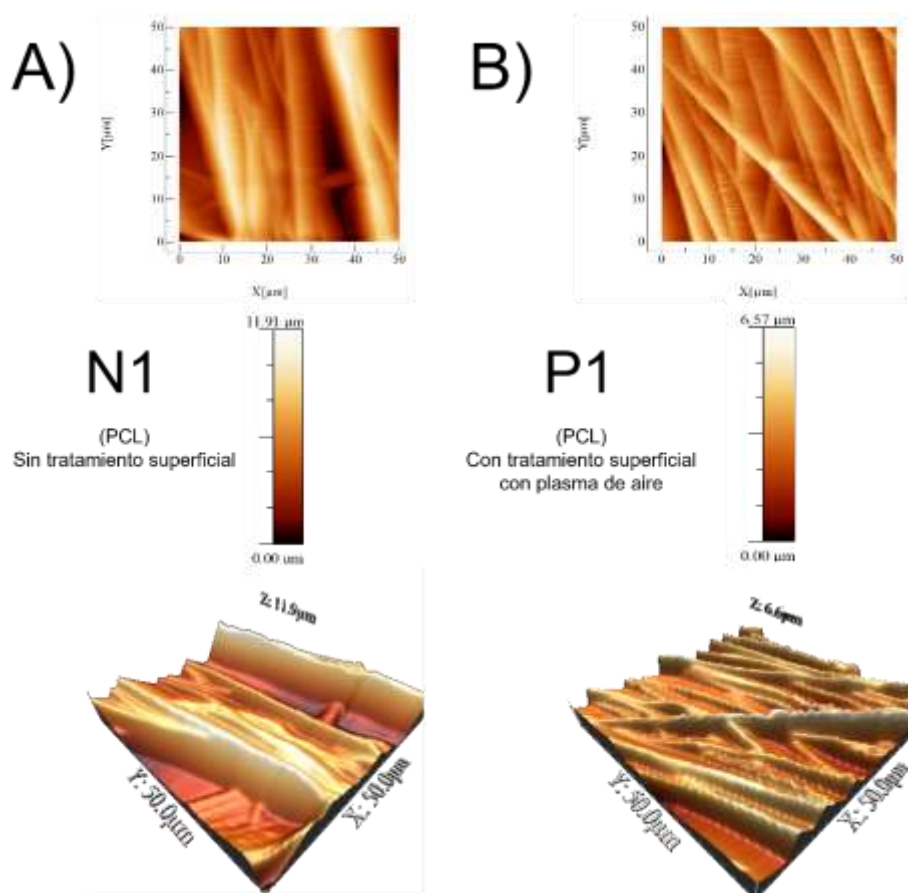


Figura 42. Esquema comparativo de imágenes e información obtenidas de procesamiento de datos del análisis topográfico por AFM de las membranas de PCL A) sin tratamiento y B) con tratamiento superficial con plasma de aire.

Por otro lado, la figura 43, nos muestra un esquema comparativo de los resultados obtenidos del análisis topográfico en $50 \times 50 \mu\text{m}$ de las membranas de PCL con 0.5% de CeO_2NPs antes y después de realizar el tratamiento superficial con plasma de aire. Es posible observar modificaciones en la altura de las membranas de $6.07 \mu\text{m}$ a $5.33 \mu\text{m}$.

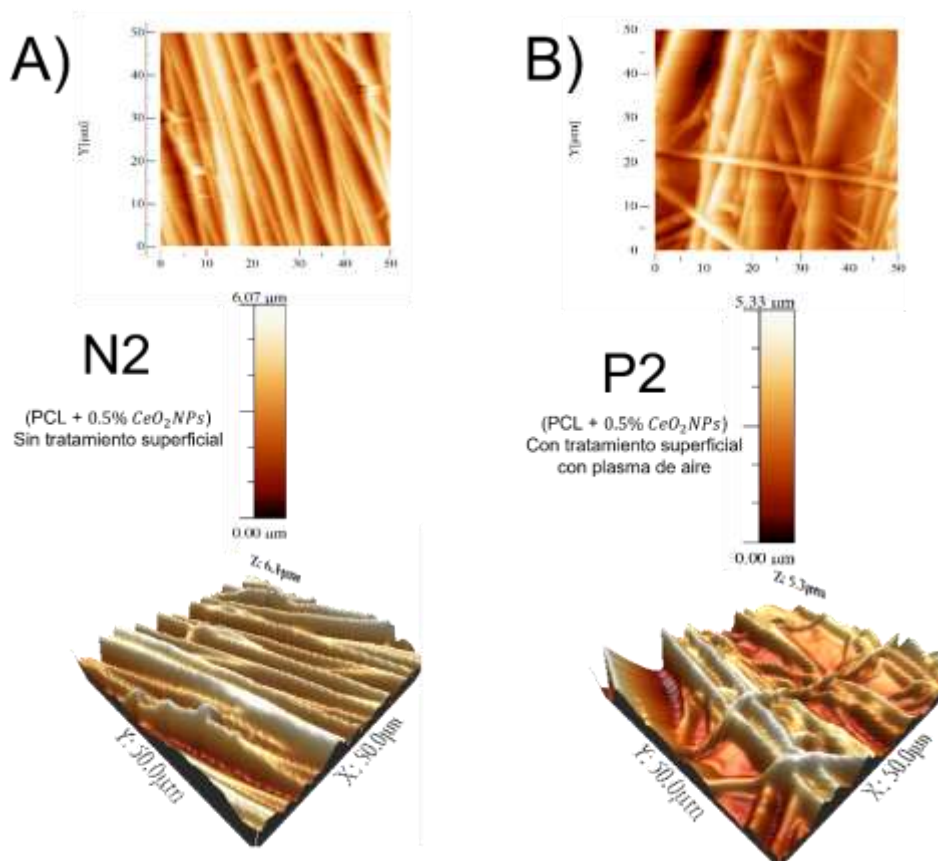


Figura 43. Esquema comparativo de imágenes e información obtenidas de procesamiento de datos del análisis topográfico por AFM de las membranas de PCL + 0.5% CeO_2NPs A) sin tratamiento y B) con tratamiento superficial con plasma de aire.

En la tabla 14 se hace una recopilación y resumen de los datos obtenidos para el promedio (Ra) y la media cuadrática de la rugosidad (RMS) por la técnica de AFM para las membranas. Ra y RMS son ambas representaciones de la rugosidad de la superficie, pero cada una se calcula de manera diferente. Ra se calcula como el promedio de rugosidad de una superficie

midiendo picos y valles microscópicos. El valor eficaz se calcula como el valor cuadrático medio de una superficie midiendo, también, picos y valles microscópicos.

Estos datos nos arrojan diferencias en la disminución de los valores posterior al tratamiento superficial con plasma. Las membranas de PCL pasan de un valor de Ra de $0.8143 \mu\text{m}$ a $0.6573 \mu\text{m}$, mientras que RMS disminuye de $0.9959 \mu\text{m}$ a $0.8253 \mu\text{m}$. Las membranas de PCL con CeO_2NPs modifican su Ra de $2.0766 \mu\text{m}$ a $0.8443 \mu\text{m}$ y su RMS de $2.4657 \mu\text{m}$ a $1.0235 \mu\text{m}$. Estas modificaciones son atribuidas a la capacidad del tratamiento con plasma de modificar la superficie de las membranas.

Tabla 13. Resultados obtenidos de la técnica de AFM para el promedio (Ra) y la media cuadrática de la rugosidad de las membranas analizadas. Antes y después del tratamiento superficial con plasma de aire.

	Sin tratamiento		Tratamiento superficial con plasma	
	Ra	RMS	Ra	RMS
PCL	0.8143	0.9959	0.6573	0.8253
PCL/CeO₂NPs 0.5 %	2.0766	2.4657	0.8443	1.0235

Se han reportado comportamientos similares de modificación de rugosidad por el efecto del plasma al utilizar potencias altas, aunados a tiempos de tratamiento prolongados. De acuerdo a lo reportado por Yildirim *et al.* [102] al efectuar modificaciones en andamios de PCL con plasma de oxígeno a una potencia de 100 W, a tres tiempos (1, 3 y 5 minutos), en los dos primeros tiempos (1 y 3 minutos) la rugosidad superficial incrementó, sin embargo, en los 5 minutos de tratamiento con plasma se produjo una disminución de la rugosidad. Por otro lado, Pappa *et al.* [103] realizaron un tratamiento con plasma de oxígeno a andamios de PCL y reportaron un incremento en la rugosidad usando una potencia de 20 W por 15 minutos, posteriormente y como comparativo, realizaron un tratamiento a 40 W durante 15 minutos y la rugosidad disminuyó. Can-Herrera [43] realizó andamios de PCL por electrohilado tratándolos a una potencia de 30 W por 1, 3 y 5 minutos. En los tres tiempos los valores de rugosidad se encuentran en un mismo intervalo y no presentan cambios notables en su topografía.

De acuerdo con los resultados obtenidos, es probable que la potencia utilizada de 10.5 W y el tiempo de tratamiento impuesto a las membranas nos brinde como resultado un comportamiento similar al de Yildirim *et al.* [102] y Pappa *et al.* [103] en la disminución de la rugosidad. Este comportamiento impactará en la polaridad superficial de los filamentos de PCL + CeO₂NPs al contacto con un medio acuoso.

Determinación del cambio en la polaridad superficial de filamentos de PCL+CeO₂NPs antes y después del tratamiento con plasma mediante ángulo de contacto

A continuación, se muestran los resultados al evaluar el ángulo de contacto de las muestras en comparativa. Considerando que, si la superficie es muy hidrofílica, el ángulo de contacto es pequeño y el agua tenderá a dispersarse por la superficie. En cambio, en una superficie hidrofóbica, el ángulo de contacto es mayor y la gota tiende a tener el menor contacto posible con la superficie. En la figura 44 podemos observar una disminución del ángulo de contacto del agua posterior a realizar el tratamiento superficial con plasma de aire. Estos resultados podrían ser un indicativo de que la superficie se está volviendo hidrófila, esto puede deberse a que durante el tratamiento con plasma se producen una mezcla de especies reactivas que generan grupos funcionales, Can-Herrera [43] en el 2017 reporta una disminución en el ángulo de contacto al exponer a membranas electrohiladas de PCL a plasma de aire con diferentes condiciones de potencia y tiempo.

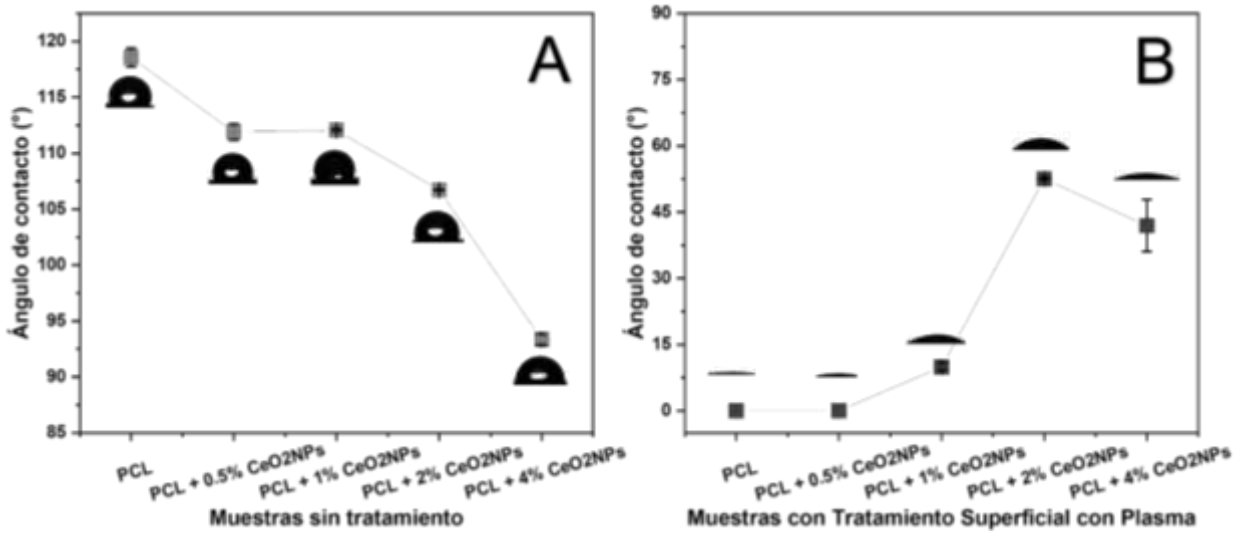


Figura 44. Gráfica de resultados de ángulo de contacto a las membranas fabricadas por la técnica de electrohilado.

Debido a los resultados de la modificación del ángulo de contacto en las membranas de PCL sin cargas nanométricas y con nanopartículas embebidas posterior al tratamiento superficial con plasma de aire, se demuestra que se altera la hidrofiliidad de las mismas sugiriendo que la superficie incrementa la cantidad de grupos hidrofílicos [43], [104]. En la figura 45 es posible apreciar un claro cambio en las propiedades de las membranas.



Figura 45. Esquema de los cambios en la hidrofiliidad de las membranas de PCL + CeO₂NPs

Los resultados obtenidos a partir del ángulo de contacto nos ofrecen información importante acerca de la modificación superficial en las membranas, puesto que, las muestras sin tratamiento superficial con plasma demuestran el comportamiento natural intrínseco de la PCL con características hidrofóbicas, el cual es modificado al realizar el tratamiento superficial con plasma de aire, añadiendo, teóricamente funcionalidades con grupos hidroxilo y carboxilo que permiten una modificación en su hidrofiliidad [102], [104], [105].

6.3.1 Exposición de CeO₂NPs

Las modificaciones superficiales posteriores al tratamiento superficial con plasma de aire se detallan y discuten en este apartado. La siguiente gráfica muestra una disminución en los diámetros promedio obtenidos de la medición de las micrografías para las fibras de PCL con 0.5% de nanopartículas. Y en cuanto a la hidrofiliidad los cambios son notorios. Obteniendo un resultado para el análisis de ángulo de contacto de $111 \pm 0.735^\circ$, una superficie hidrofóbica para las membranas sin tratamiento y un ángulo de 0° para la membrana posterior al tratamiento superficial con plasma de aire.

Con el objetivo de evaluar el efecto del tratamiento superficial con plasma de aire en los filamentos de PCL + CeO₂NPs al 0.5 %, se obtuvieron micrografías SEM obtenidas a 2 kV y de entre 5,000 a 10,000 aumentos con un detector de electrones secundarios, muestran el antes y después del tratamiento superficial con plasma de aire. Se puede observar que los filamentos que no tienen tratamiento muestran CeO₂NPs embebidas en la matriz polimérica, las cuales se encuentran parcialmente aglomeradas (Fig. 47a). Sin embargo, al efectuar el tratamiento con plasma, se incrementa la exposición superficial de NPs, aunando a la disminución del diámetro de filamentos (alrededor de 100 nm), de acuerdo con las mediciones obtenidas en la figura 41. Para determinar cambios en la topografía superficial de los filamentos de PCL + CeO₂NPs al 0.5 % antes y después del tratamiento superficial con plasma, se realizó el análisis de microscopia de fuerza atómica (Figura 47-c).

Se puede apreciar la estructura de filamentos orientados, en donde se destaca que el tratamiento con plasma incrementa la exposición superficial de las CeO_2NPs (Fig. 47-c P2), comparado con los filamentos sin tratamiento (fig. 47-c N2), en donde se observa una superficie parcialmente lisa.

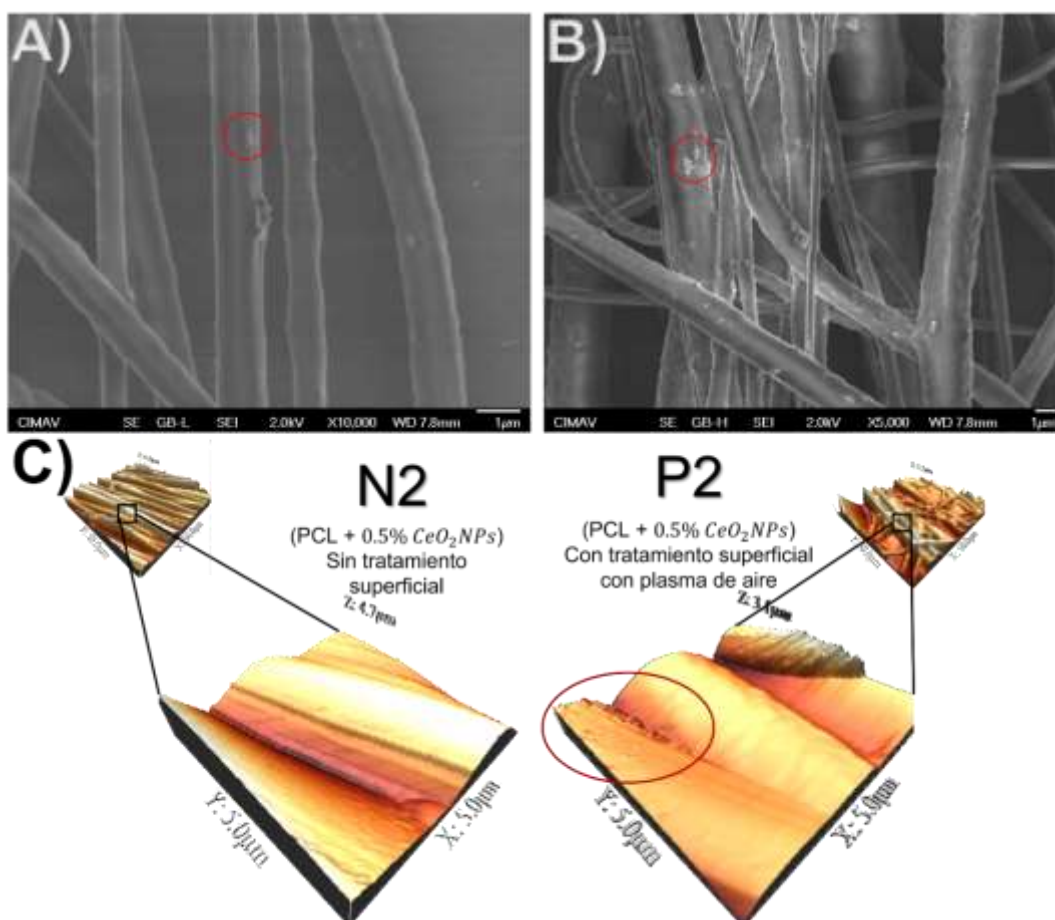


Figura 47. Imagen comparativa para con micrografías de la membrana de PCL + 0.5% CeO_2NPs A) sin tratamiento y B) con tratamiento superficial con plasma de aire. C) Imágenes topográficas a $5 \times 5 \mu m$ por AFM para la identificación de la erosión superficial que permite la exposición de las CeO_2NPs embebidas en la matriz polimérica de PCL.

Finalmente, se realizó el análisis elemental de los filamentos de PCL + CeO₂NPs al 0.5 %, en donde se determinó la presencia de Ce en un porcentaje atómico de 16.8% además de la presencia de C y O, relacionados con la composición de la matriz polimérica. Es importante señalar que en el espectro se aprecia una señal intensa que corresponde al aluminio (Al), la cual se atribuye al sustrato en donde se realizó la deposición de los filamentos, todo esto se aprecia en la figura 48.

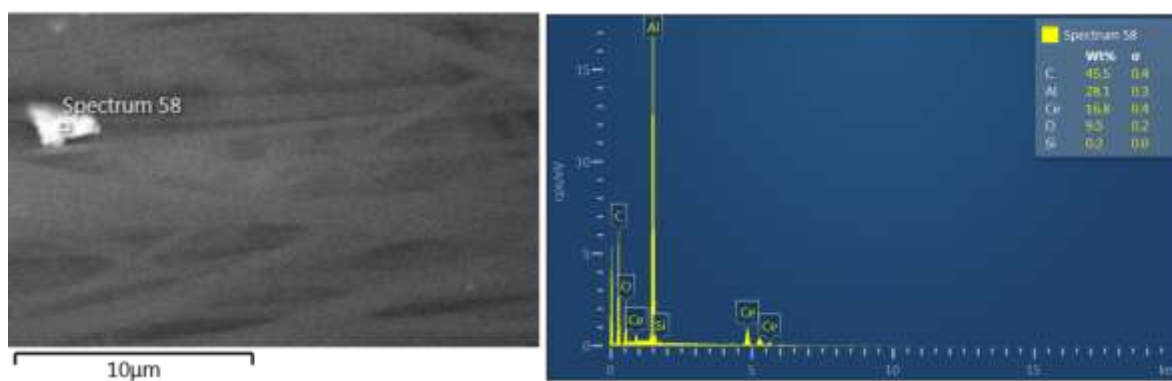


Figura 48. Micrografía y Espectro EDS de las fibras de PCL + CeO₂NPs con identificación de elementos puntual en clúster.

Como referencia de los aglomerados que logran observarse en las fibras por la técnica de SEM nos permite hacer un procesamiento de la imagen con ayuda del software *ImageJ* para identificar la distribución de tamaños de los aglomerados que se observan en las fibras fabricadas por electrohilado. La imagen procesada y su histograma del tamaño de los aglomerados se presentan en la figura 49, resaltando un mayor conteo en partículas de 5 a 100 nm, como indicativo de formación de clústeres. En 2019, Meléndez-Estrada, *et al*, reportaron dispersiones no homogéneas en la obtención de membranas de materiales electrohilados de polímero con nanopartículas (PCL + CeO₂), donde también es posible observar aglomeraciones [106].

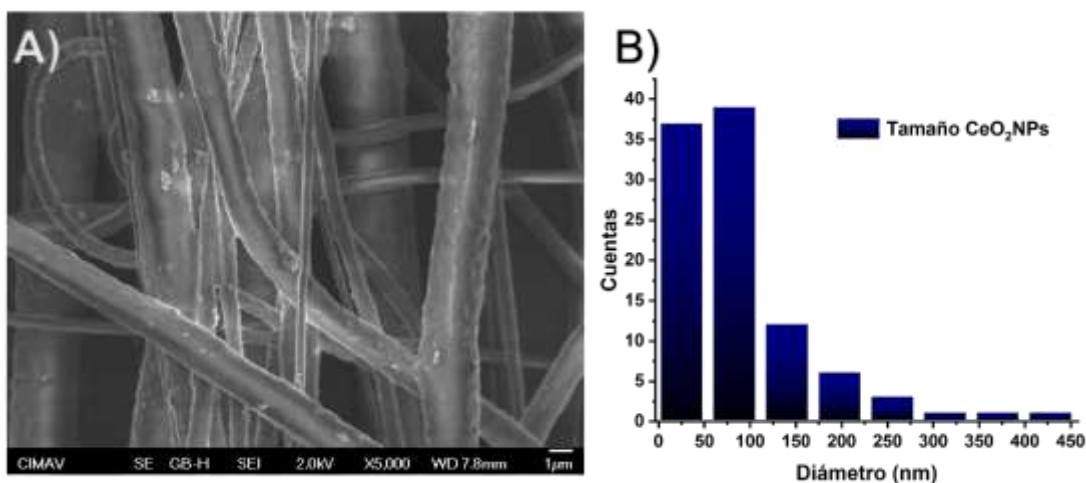


Figura 49. A) Micrografía de la membrana de PCL + 0.5% CeO₂NPs con tratamiento superficial con plasma de aire y B) Histograma de la distribución de tamaños de las CeO₂NPs embebidas en la matriz y expuestas por el tratamiento superficial con plasma de aire.

6.3.2 Actividad antibacterial

Se determinó la actividad antibacteriana de los filamentos de PCL + CeO₂NPs en sus diferentes concentraciones (0.5, 1, 2 y 4%) y el efecto del tratamiento superficial con plasma, mediante la interacción del material bajo condiciones de contacto con la bacteria Gram positiva *Staphylococcus aureus* (ATCC #25923). A continuación, se muestra la gráfica de resultados obtenidos de esta interacción en superficie a 4 tiempos (10 minutos, 1.5, 3, 24 horas) a membranas con diferentes concentraciones de CeO₂NPs y los resultados nos permiten comparar la interacción entre el material sin y con tratamiento superficial con plasma (figura 50).

Esta gráfica nos muestra una recopilación de experimentos donde se evaluó la interacción en superficie a 4 tiempos, siendo estos 10 min ($t = 10 \text{ min}$), 1 hora y media ($t = 1.5 \text{ h}$), tres horas ($t = 3 \text{ h}$) y veinticuatro horas ($t = 24 \text{ h}$), evaluando 11 membranas las cuales varían en concentración de nanopartículas embebidas y el tratamiento superficial con plasma, así como el control utilizado para las evaluaciones, el cual fue polipropileno. Es notorio observar que el comportamiento de la bacteria al interactuar con el material en los tiempos

t = 10 min y t=24 h es similar al observado en su interacción en suspensión, donde el porcentaje de actividad antibacterial registrado es menor, por lo que, de igual manera, esto sirvió para la selección de las membranas a evaluar para resistencia bacteriana. La interacción t = 3 h muestra en las diferentes concentraciones una actividad antibacterial superior al 40%. Y, finalmente, la gráfica nos demuestra que la interacción t = 1.5 h de las bacterias con el material mediante la evaluación en su superficie para las 10 membranas arroja un porcentaje superior al 90% de actividad antibacterial, siendo las membranas con concentraciones más altas de nanopartículas embebidas PCL + 2% y PCL+4% de CeO₂NPs las que nos demuestran experimentalmente hasta un 100% de poder bactericida.

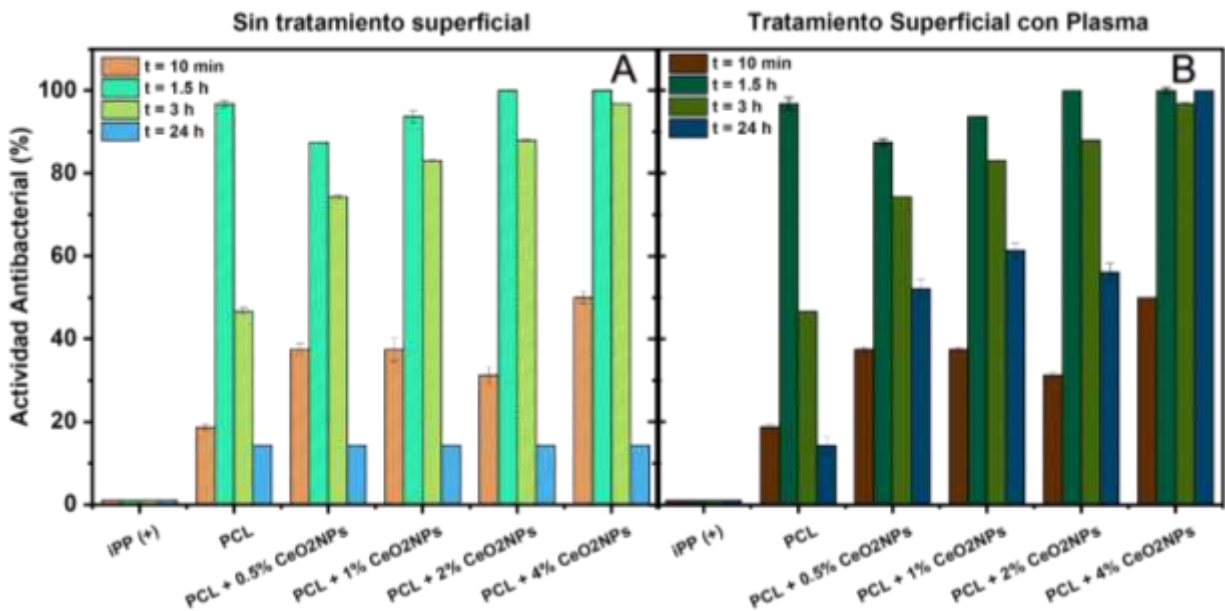


Figura 50. Gráfica de resultados conjuntos del porcentaje de Actividad antibacterial de las membranas de PCL con CeO₂NPs a diferentes concentraciones y su comparativo sin tratamiento (A) y con tratamiento superficial con plasma (B) a 4 tiempos (10 min, 1.5, 3 y 24 horas).

Al evaluar el carácter antimicrobiano de los filamentos de PCL + CeO₂NPs, se aprecia que a tiempos cortos (1.5 h) se obtiene un efecto bactericida cercano al 90 % (Fig. 50), el cual

disminuye en tiempos superiores. Esto se puede asociar a la liberación de iones en etapas tempranas de contacto con microorganismos suspendidos en medio acuoso [107]. A pesar de que en la literatura se menciona que el incremento en la exposición superficial de las NPs incrementa la capacidad bactericida de los materiales [9], [67], en el caso particular del presente trabajo no se apreciaron cambios significativos en la inhibición de *S. aureus* al contacto con los filamentos de PCL + CeO₂NPs, solamente después de 24 h de contacto.

En la literatura, se mencionan diversos reportes del uso de la PCL como matriz polimérica, en donde al añadir NPs le confieren amplia capacidad bactericida. De acuerdo con lo reportado por Asmatulu *et al.* [108], la incorporación de NPs de hidroxiapatita con gentamicina favorece la formación filamentos antimicrobianos, con aplicación potencial como andamios celulares. Por otro lado, Muñoz-Escobar *et al.* [106] reportó que al incorporar NPs de cobre en una matriz de PCL en diferente concentración, es posible generar un nanocompuesto con alta actividad antimicrobiana, la cual se ve reflejada al contacto con bacterias Gram positivas, al comparar el comportamiento microbiológico con bacterias Gram negativas.

Los mecanismos de interacción que se sugieren son de manera directa para las bacterias que estén en contacto directo con el material y que el contacto con las nanopartículas genere la liberación de ROS provocando estrés en las bacterias y posiblemente modificaciones en sus membrana. De igual manera se propone un mecanismo indirecto colaborando sinérgicamente habiendo en el medio iones libres provenientes del material.

Ce³⁺ Iones cerio trivalente
Ce⁴⁺ Iones cerio tetravalente
 ● CeO₂NPs
ROS Especie Reactiva de oxígeno

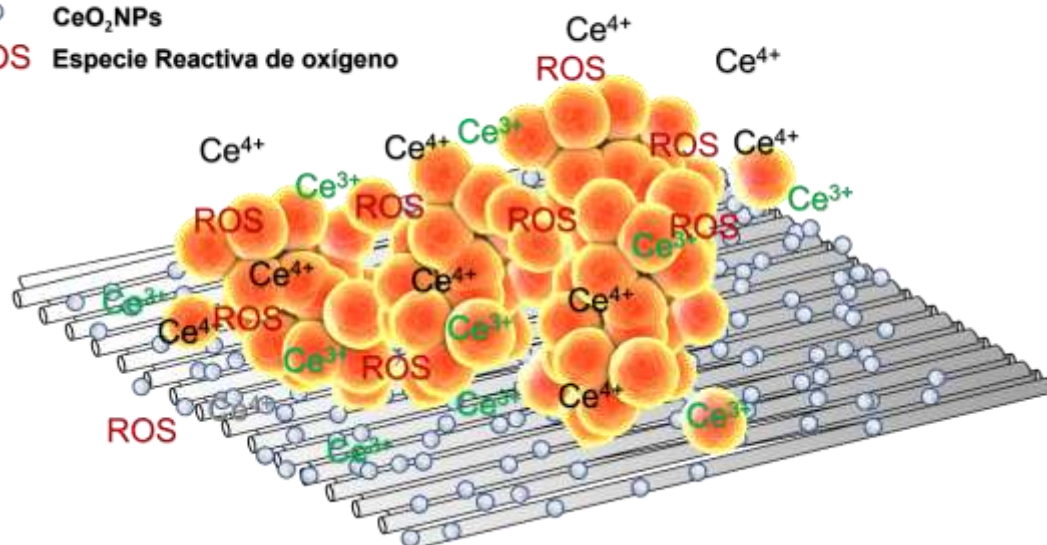


Figura 51. Representación de la interacción entre la bacteria Gram positiva *S. aureus* y las fibras con CeO₂NPs embebidas en su matriz. Se resalta la liberación de iones y de ROS.

Lo anterior indica, que la formulación de PCL con CeO₂NPs que previamente demostraron capacidad bactericida (figura 51), puede favorecer la generación de filamentos nanoestructurados con capacidad bactericida.

6.3.3 Resistencia bacteriana

Recientemente las bacterias que son capaces de generar resistencia a diferentes antibióticos han generado un problema de salud global y aumentado la preocupación en el área médica y de investigación, y es que debido al uso irresponsable de medicamentos ha motivado a las bacterias a generar de manera flexible diferentes mecanismos de respuesta a la farmacocinética de los antibióticos. Es por ello que la investigación de los nanomateriales con propiedades antibacteriales han ganado reciente interés debido a sus especiales características, las cuales incluyen un incremento en el área superficial en tanto menor es el tamaño de partícula, estabilidad, fuerzas de Van der Waals, interacciones hidrofóbicas y atracción electrostática [109]. Sin embargo, se ha generado la pregunta de si las bacterias serían capaces de crear resistencia a las nanopartículas haciendo uso de sus ya desarrollados y analizados mecanismos de resistencia que incluyen repulsión electrostática, expresión de matrices de manera extracelular, mutaciones, adaptación de biopelículas y hormesis [110]–[114].

Hasta el momento en la literatura no es posible encontrar información sobre bacterias resistentes a formulaciones de nanomateriales antimicrobianos a partir de polímero-nanopartículas metálicas, aun no demostrado que a largo plazo los microorganismos generen mecanismos de adaptación asociados con procesos de resistencia.

Esto indica que, bajo las condiciones experimentales realizadas, los filamentos fabricados (PCL + CeO₂NPS) presentan un comportamiento antimicrobiano constante, por lo que pueden ser utilizados como materiales antimicrobianos efectivos, con potencial aplicación como membranas de desinfección de aguas contaminadas con microorganismos.

Para la experimentación realizada con relación a la posibilidad de que la bacteria pueda generar resistencia al material posterior a su interacción recurrente se muestra la siguiente figura (figura 52) en el que se reúnen los datos obtenidos a partir de un diseño de 10

experimentos a las membranas con la menor concentración (0.5 % CeO₂NPs) de nanopartículas sin y con tratamiento superficial con plasma, para un tiempo de interacción en superficie de 3 horas. Esto debido a que experimentalmente nos mostraban porcentajes de actividad antibacteriana menores al 80%, por lo que eso permitiría el tener bacterias sobrevivientes a la interacción con el fin de observar una posible creación de resistencia.

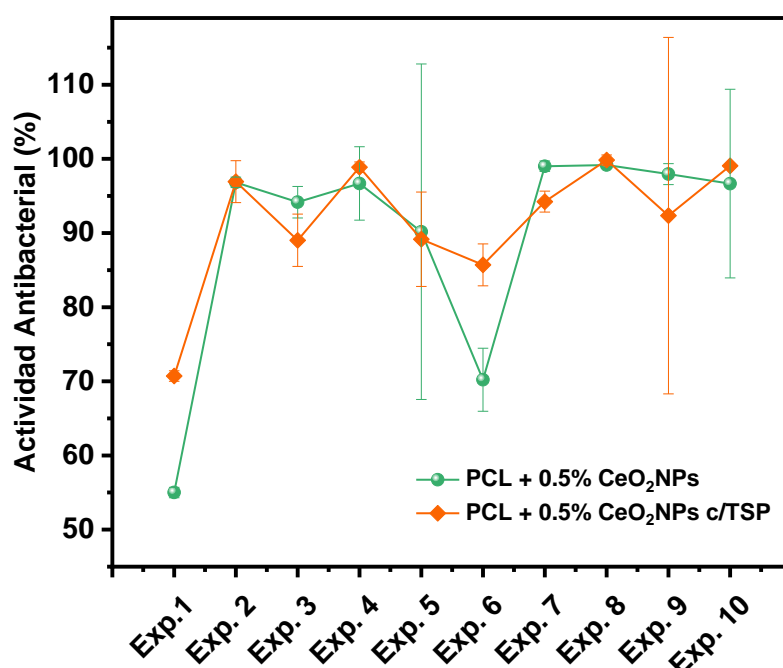


Figura 52. Gráfica de resultados de 10 experimentos de resistencia bacteriana para membranas de PCL + 0.5 % CeO₂NPs Sin plasma y con tratamiento superficial con plasma.

Si bien la siguiente gráfica no nos permite observar el desarrollo de un posible mecanismo de resistencia por parte de la bacteria, dado a que vemos únicamente variaciones leves en cuanto a su sobrevivencia posterior a la interacción en superficie con el material, experimentalmente fue posible observar diferencias en el crecimiento de la bacteria. Por lo que esto permite abrir la posibilidad de analizar a profundidad en caso de haber mutaciones y proponer un diseño con más experimentos.

7 Discusión

El uso de nanopartículas como aditivos en matrices poliméricas, ha favorecido la obtención de materiales multifuncionales, los cuales pueden mejorar su desempeño físico-mecánico, y en particular, conferir características antimicrobianas a nivel de superficie, capaces de inhibir el crecimiento de microorganismos patógenos. Para tal efecto, se realizó la síntesis verde de NPs de CeO_2 a partir del uso de extractos de *Aloe arborescens*, con el objetivo de obtener NPs que no representen toxicidad al contacto con el cuerpo humano, y que a la par sean capaces de ejercer propiedades bactericidas [20]. Tomando en cuenta las condiciones experimentales, es posible obtener CeO_2 NPs con morfología semi esférica, con un diámetro promedio de 5 nm, en donde el extracto de aloe funge como agente reductor y estabilizador para la formación de NPs [85], [101]. De acuerdo con lo reportado en la literatura, las CeO_2 NPs representan un modelo terapéutico innovador capaz de combatir el crecimiento de un amplio rango de microorganismos [37], [100], [115]. El carácter bactericida de las CeO_2 NPs se atribuye a la formación de especies reactivas de oxígeno (ROS), que, al entrar en contacto con microorganismos, tienen la capacidad de generar estrés oxidativo [100], que a corto plazo puede inducir la muerte celular. Se ha reportado que la formulación de nanocompuestos poliméricos con NPs antimicrobianas mediante la técnica de electrohilado, favorece el incremento del área superficial, por lo cual el efecto antimicrobiano puede verse beneficiado [3]. Bajo este criterio, se realizó la fabricación de filamentos de PCL + CeO_2 NPs al 0.5 % por electrohilado y su tratamiento superficial con plasma de aire, en donde se obtuvo una disminución del diámetro de filamentos debido a la presencia de las NPs, además de una disminución promedio de 100 nm del diámetro al ser sometidos al tratamiento con plasma de aire. Este comportamiento sugiere en primera instancia, que la presencia de NPs en la matriz polimérica le confieren mayor estabilidad a la suspensión, favoreciendo la formación de filamentos uniformes [3]. Aunado a ello, el tratamiento superficial con plasma favorece la exposición superficial de las CeO_2 NPs, además de disminuir el diámetro promedio de los filamentos. Este fenómeno es atribuido

a que el aire parcialmente ionizado (plasma) tiene la capacidad de interactuar con la superficie del material, generando procesos de erosión en tiempos cortos (15 min) [43]. El uso del plasma como tratamiento superficial ha demostrado mejora en la polaridad superficial de polímeros con carácter hidrofóbico [104], que pueden incrementar la interacción con microorganismos suspendidos en un medio acuoso, y, por lo tanto, que el efecto antimicrobiano se vea beneficiado [9]. De acuerdo con los resultados obtenidos, el tratamiento con plasma modificó significativamente el carácter hidrofóbico de los filamentos, lo que sugiere que el plasma de aire produce especies reactivas de nitrógeno y oxígeno, capaces de modificar la superficie del material [116]. Al evaluar el carácter antimicrobiano de los filamentos de PCL + CeO₂NPs, se aprecia que a tiempos cortos (1.5 h) se obtiene un efecto bactericida cercano al 90 %, el cual disminuye en tiempos superiores. Esto se puede asociar a la liberación de iones en etapas tempranas de contacto con microorganismos suspendidos en medio acuoso [100], [107]. A pesar de que en la literatura se menciona que el incremento en la exposición superficial de las NPs incrementa la capacidad bactericida de los materiales, en el caso particular del presente trabajo no se apreciaron cambios significativos en la inhibición de *S. aureus* al contacto con los filamentos de PCL + CeO₂NPs, solamente después de 24 h de contacto. Finalmente, cabe señalar que la obtención de filamentos de PCL + CeO₂NPs representan una estrategia efectiva para la obtención de materiales nanoestructurados con potencial aplicación en el área del tratamiento de aguas contaminadas.

8 Conclusiones

Se lograron sintetizar nanopartículas de óxido de cerio por medio de síntesis verde con extracto de *Aloe arborescens* y *Olea europaea*, comprobado por un SPR de 345 nm, 8 picos que concuerdan con los planos cristalográficos reportados en la literatura con la carta JCPDS No. 34-0394, tamaños de partícula de entre 7 a 35 nm, una morfología semiesférica y aglomerados.

Se fabricaron membranas de PCL con CeO₂NPS embebidas por medio de la técnica de electrohilado con diámetros de fibras de entre 200 a 2500 nm. Se comprobó que el tratamiento superficial con plasma de aire modifica la química de la superficie de la membrana cambiando de ser hidrofóbica a hidrofílica. Se observa erosión superficial y exposición de nanopartículas (aglomerados) embebidas con imágenes de SEM, AFM y análisis EDS.

Se reporta actividad antibacterial para las nanopartículas en suspensión con la bacteria gram positiva *Staphylococcus aureus* en tiempos de interacción de 10 min, hora y media, 3 y 24 horas. Y actividad antibacterial de las membranas sin tratamiento y con tratamiento superficial con plasma de aire en tiempos de interacción de 10 min, hora y media, 3 y 24 horas.

Finalmente, los ensayos experimentales para identificar posible generación de resistencia bacteriana a los filamentos fabricados de PCL + 0.5 % CeO₂NPS demuestran estabilidad en el comportamiento antibacterial del material en contacto con bacterias grampositivas *S. aureus*.

9 Trabajo a futuro

Con los resultados obtenidos se proponen como trabajos a futuro:

- Mejorar la limpieza de las nanopartículas para la eliminación de remanentes orgánicos y estabilizarlas para minimizar su aglomeración.
- Ampliar ensayos de actividad antibacterial con otros microorganismos.
- Realizar mejores dispersiones de las nanopartículas en las soluciones de polímero antes de realizar electrohilado para mejorar la distribución de las nanopartículas y asegurar dispersión de las cargas nanométricas en el material.

10 Entregables

Las metodologías y resultados del presente proyecto dieron oportunidad de presentar de manera oral en 1 congreso internacional (International Materials Research Congress 2021), 1 workshop internacional (Workshop Materiales, Nanomateriales y Ambiente (Ecuador 2021). 2 simposios de capítulos estudiantiles de la Sociedad Mexicana de Materiales. (CFATA y CIDETEQ) ganando el primer lugar en póster en el simposio de CIDETEQ.

11 Referencias

- [1] M. E. D. La Peña, J. Ducci, and V. Zamora, "Tratamiento de aguas residuales en México," *Nota Técnica #IDB-TN-521*, 2013. <https://publications.iadb.org/publications/spanish/document/Tratamiento-de-aguas-residuales-en-México.pdf> (accessed Nov. 08, 2021).
- [2] J. D. R. Castañeda-Olvera, G. Foladori, E. Zágayo-Lau, S. León-Silva, and E. Robles-Belmont, "Panorama de la investigación y desarrollo de las nanotecnologías para el tratamiento de agua en México," *Revista Posgrado y Sociedad*, vol. 16, no. 1, pp. 71–88, 2018.
- [3] Z. Ali and R. Ahmad, *Nanotechnology for Water Treatment*, vol. 3. 2020.
- [4] M. P. Ajith, M. Aswathi, E. Priyadarshini, and P. Rajamani, "Recent innovations of nanotechnology in water treatment: A comprehensive review," *Bioresour. Technol.*, vol. 342, no. August, p. 126000, 2021, doi: 10.1016/j.biortech.2021.126000.
- [5] L. Y. Ng, A. W. Mohammad, C. P. Leo, and N. Hilal, "Polymeric membranes incorporated with metal/metal oxide nanoparticles: A comprehensive review," *Desalination*, vol. 308, pp. 15–33, 2013, doi: 10.1016/j.desal.2010.11.033.
- [6] R. Castro-Muñoz, "The strategy of nanomaterials in polymeric membranes for water treatment: Nanocomposite membranes," *Tecnol. y Ciencias del Agua*, vol. 11, no. 1, pp. 410–436, 2020, doi: 10.24850/j-tyca-2020-01-11.
- [7] S. H. Salim, R. H. Al-Anbari, and A. J. Haider, "Polymeric Membrane with Nanomaterial's for Water Purification: A Review," *IOP Conf. Ser. Earth Environ. Sci.*, vol. 779, no. 1, 2021, doi: 10.1088/1755-1315/779/1/012103.
- [8] B. L. España-Sánchez, "Actividad antimicrobiana y mecanismo de acción de nanopartículas de plata y cobre incorporadas en polipropileno," Centro de Investigación en Química Aplicada, 2014.
- [9] B. L. España-Sánchez *et al.*, "Enhanced antibacterial activity of melt processed poly(propylene) Ag and Cu nanocomposites by argon plasma treatment," *Plasma Process. Polym.*, vol. 11, no. 4, pp. 353–365, 2014,

doi: 10.1002/ppap.201300152.

- [10] A. Dhall and W. Self, "Cerium oxide nanoparticles: A brief review of their synthesis methods and biomedical applications," *Antioxidants*, vol. 7, no. 8, pp. 1–13, 2018, doi: 10.3390/antiox7080097.
- [11] M. Nadeem *et al.*, "Green synthesis of cerium oxide nanoparticles (CeO₂NPs) and their antimicrobial applications: A review," *Int. J. Nanomedicine*, vol. 15, pp. 5951–5961, 2020, doi: 10.2147/IJN.S255784.
- [12] Ignacio Salvo Ibañez, "Control and Synthesis of Cerium Oxide Nanoparticles for Medical Applications," 2018.
- [13] L. Orozco, P. Nava, C. Guarneros, and F. Caballero, "Filtración de agua por membranas," *Revista Avance y Perspectiva*, no. 4, May 2019.
- [14] R. M. Ribeiro, R. Bergamasco, M. L. Gimenes, and C. M. O. Müller, "Preparación de membranas para producción de agua potable," *Inf. Tecnol.*, vol. 18, no. 1, pp. 15–22, 2007, doi: 10.4067/s0718-07642007000100004.
- [15] B. Membranas, "Membranas para el tratamiento del agua y sus procesos," 2019. <https://www.aguasresiduales.info/revista/blog/membranas-para-el-tratamiento-del-agua-y-sus-procesos> (accessed Mar. 20, 2020).
- [16] M. Stea, "Óxido de cerio (IV): estructura, propiedades, usos," 2005. <https://www.lifeder.com/oxido-de-cerio-iv/> (accessed Feb. 19, 2020).
- [17] L. F. Arenas Martínez and S. Martínez Montemayor, "El elemento Cerio en la nanotecnología," no. January 2011, 2011, [Online]. Available: <http://www.posgradoeinvestigacion.uadec.mx/CienciaCierta/CC28/3.html>.
- [18] V. Puentes and E. Casals, "La revolución del óxido de cerio," *Rev. Nano Cienc. y Tecnol.*, vol. 1, no. 1, pp. 46–52, 2013.
- [19] "Óxido de Cerio (IV)." http://www.koprino.com.mx/koprino/movil/productos/oxido_Cerio.html (accessed Feb. 04, 2020).

- [20] M. Yadi *et al.*, “Current developments in green synthesis of metallic nanoparticles using plant extracts: a review,” *Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol.*, vol. 46, no. sup3, pp. S336–S343, 2018, doi: 10.1080/21691401.2018.1492931.
- [21] F. Charbgoon, M. Bin Ahmad, and M. Darroudi, “Cerium oxide nanoparticles: Green synthesis and biological applications,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 12, pp. 1401–1413, 2017, doi: 10.2147/IJN.S124855.
- [22] M. Ramachandran, R. Subadevi, and M. Sivakumar, “Role of pH on synthesis and characterization of cerium oxide (CeO₂) nano particles by modified co-precipitation method,” *Vacuum*, vol. 161, no. August 2018, pp. 220–224, 2019, doi: 10.1016/j.vacuum.2018.12.002.
- [23] E. Nourmohammadi *et al.*, “Cytotoxic activity of greener synthesis of cerium oxide nanoparticles using carrageenan towards a WEHI 164 cancer cell line,” *Ceram. Int.*, vol. 44, no. 16, pp. 19570–19575, 2018, doi: 10.1016/j.ceramint.2018.07.201.
- [24] A. Xie, S. Wang, W. Liu, J. Zhang, Y. Yang, and J. Han, “Rapid hydrothermal synthesis of CeO₂ nanoparticles with (2 2 0)-dominated surface and its CO catalytic performance,” *Mater. Res. Bull.*, vol. 62, pp. 148–152, 2015, doi: 10.1016/j.materresbull.2014.11.029.
- [25] T. Tsuzuki and P. G. McCormick, “Mechanochemical synthesis of nanoparticles,” *J. Mater. Sci.*, vol. 39, no. 16–17, pp. 5143–5146, 2004, doi: 10.1023/B:JMISC.0000039199.56155.f9.
- [26] S. Y. Chen, Y. H. Lu, T. W. Huang, D. C. Yan, and C. L. Dong, “Oxygen vacancy dependent magnetism of CeO₂ nanoparticles prepared by thermal decomposition method,” *J. Phys. Chem. C*, vol. 114, no. 46, pp. 19576–19581, 2010, doi: 10.1021/jp1045172.
- [27] L. Yin, Y. Wang, G. Pang, Y. Koltypin, and A. Gedanken, “Sonochemical synthesis of cerium oxide nanoparticles - Effect of additives and quantum size effect,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 246, no. 1, pp. 78–84, 2002, doi: 10.1006/jcis.2001.8047.
- [28] K. A. G. Katsogiannis, G. T. Vladislavljević, and S. Georgiadou, “Porous electrospun polycaprolactone (PCL) fibres by phase separation,” *Eur. Polym. J.*, vol. 69, pp. 284–295, 2015, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2015.01.028.

- [29] Á. P. Sánchez-Cepeda, "Preparación y caracterización de membranas poliméricas electrohiladas de policaprolactona y quitosano para la liberación controlada de clorhidrato de tiamina," *Cienc. En Desarro.*, vol. 7, no. 2, p. 133, 2016, doi: 10.19053/01217488.v7.n2.2016.4818.
- [30] A. Muthuvel, M. Jothibas, V. Mohana, and C. Manoharan, "Green synthesis of cerium oxide nanoparticles using *Calotropis procera* flower extract and their photocatalytic degradation and antibacterial activity," *Inorg. Chem. Commun.*, vol. 119, no. April, p. 108086, 2020, doi: 10.1016/j.inoche.2020.108086.
- [31] N. Fereydouni *et al.*, "Nanoceria: Polyphenol-based green synthesis, mechanism of formation, and evaluation of their cytotoxicity on L929 and HFFF2 cells," *J. Mol. Struct.*, vol. 1186, pp. 23–30, 2019, doi: 10.1016/j.molstruc.2019.03.014.
- [32] S. K. Kannan and M. Sundrarajan, "A green approach for the synthesis of a cerium oxide nanoparticle: Characterization and antibacterial activity," *Int. J. Nanosci.*, vol. 13, no. 3, pp. 1–7, 2014, doi: 10.1142/S0219581X14500185.
- [33] A. Arumugam, C. Karthikeyan, A. S. Haja Hameed, K. Gopinath, S. Gowri, and V. Karthika, "Synthesis of cerium oxide nanoparticles using *Gloriosa superba* L. leaf extract and their structural, optical and antibacterial properties," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 49, pp. 408–415, 2015, doi: 10.1016/j.msec.2015.01.042.
- [34] G. Sharmila, C. Muthukumaran, H. Saraswathi, E. Sangeetha, S. Soundarya, and N. M. Kumar, "Green synthesis, characterization and biological activities of nanoceria," *Ceram. Int.*, vol. 45, no. 9, pp. 12382–12386, 2019, doi: 10.1016/j.ceramint.2019.03.164.
- [35] R. Fernández-Fernández, "Fabricación, recubrimiento y caracterización de nanopartículas de óxido de cerio para tratamiento terapéutico de Tumores," 2017.
- [36] Q. Maqbool *et al.*, "CuO and CeO₂ nanostructures green synthesized using olive leaf extract inhibits the growth of highly virulent multidrug resistant bacteria," *Front. Pharmacol.*, vol. 9, no. SEP, 2018, doi: 10.3389/fphar.2018.00987.
- [37] K. M. Kumar *et al.*, "Green synthesis of Ce³⁺ rich CeO₂ nanoparticles and its antimicrobial studies," *Mater. Lett.*, vol. 214, pp. 15–19, 2018, doi: 10.1016/j.matlet.2017.11.097.

- [38] Q. Maqbool *et al.*, “Antimicrobial potential of green synthesized CeO₂ nanoparticles from *Olea europaea* leaf extract,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 11, pp. 5015–5025, 2016, doi: 10.2147/IJN.S113508.
- [39] M. Zhang, C. Zhang, X. Zhai, F. Luo, Y. Du, and C. Yan, “Antibacterial mechanism and activity of cerium oxide nanoparticles,” *Sci. China Mater.*, no. August, pp. 1–13, 2019, doi: 10.1007/s40843-019-9471-7.
- [40] E. Malikmammadov, T. E. Tanir, A. Kiziltay, V. Hasirci, and N. Hasirci, “PCL and PCL-based materials in biomedical applications,” *J. Biomater. Sci. Polym. Ed.*, vol. 29, no. 7–9, pp. 863–893, 2018, doi: 10.1080/09205063.2017.1394711.
- [41] “PCL | Policaprolactona,” *Mexpolímeros*. <https://www.mexpolimeros.com/pcl.html> (accessed Feb. 14, 2020).
- [42] M. Á. Corres-Ortega, “Mezclas y nanocompuestos de Policaprolactona y resina Fenoxi: Caracterización, morfología y propiedades de transporte.” Universidad del País Vasco, 2012.
- [43] L. A. Can-Herrera, “Modificación superficial de andamios electrohilado de Policaprolactona mediante plasma de aire para su uso potencial en ingeniería de tejidos,” Centro de Investigación Científica de Yucatán, A.C., 2017.
- [44] S. Gray, “A Letter concerning the Electricity of Water, from Mr. Stepehn Gray to Cromwell Mortimer,” 1731.
- [45] J. F. Cooley, “Apparatus for electrically dispersing fluids.” 692,631, 1902.
- [46] M. L. Heilig, “United States Patent Office,” 705,691, 1902.
- [47] J. Fang and T. Lin, “Chapter 3. Electrospun Fibers: Morphologies and Unique Properties,” in *Fundamentals of Electrospinning & Electrospun Nanofibers*, vol. 53, no. 7, 2017, pp. 67–79.
- [48] T. Lin and J. Fang, “Chapter 2. Electrospinning,” in *Fundamentals of Electrospinning & Electrospun Nanofibers*, DEStech Publications, 2017, pp. 31–32.
- [49] T. Lin and J. Fang, “Chapter 1. Introduction to Nanofibers,” in *Fundamentals of Electrospinning & Electrospun Nanofibers*, 2017, pp. 1–23.

- [50] H. Bagheri *et al.*, “11. Electrospun nanofibers,” in *Solid-Phase Extraction*, Elsevier, 2020, pp. 311–339.
- [51] T. Lin and J. Fang, “Chapter 7. Control of Nanofiber Deposition,” in *Electrospinning Fundamentals*, DEStech Publications, 2017, pp. 121–130.
- [52] T. Lin and fang, “Chapter 4. Improvement of Fiber Quality,” in *Fundamentals of Electrospinning & Electrospun Nanofibers*, 2017, pp. 81–88.
- [53] Y. Wan and F. K. Ko, “2. Fundamentals of Polymers,” in *Introduction to Nanofiber Materials*, 2014, pp. 13–43.
- [54] R. Nayak, L. Padhye, and L. Arnold, “Melt-electrospinning of nanofibers,” in *Electrospun Nanofibers*, 2017, pp. 11–39.
- [55] F. K. Ko and Y. Wan, “10. Future opportunities and challenges of electrospinning,” in *Introduction to Nanofiber Materials*, 2014, pp. 239–257.
- [56] F. K. Ko and Y. Wan, “9. Nanocomposite fibers,” in *Introduction to Nanofiber Materials*, Cambridge University, 2014, pp. 191–238.
- [57] F. K. Ko and Y. Wan, “7. Bioactive nanofibers,” in *Introduction to Nanofiber Materials*, 2014, pp. 146–165.
- [58] J. Fang, H. T. Niu, T. Lin, and X. G. Wang, “Chapter 9. Applications of electrospun nanofibers,” in *Fundamentals of Electrospinning & Electrospun Nanofibers*, vol. 1, 2017, pp. 145–211.
- [59] S. Thenmozhi, N. Dharmaraj, K. Kadirvelu, and H. Y. Kim, “Electrospun nanofibers: New generation materials for advanced applications,” *Mater. Sci. Eng. B Solid-State Mater. Adv. Technol.*, vol. 217, pp. 36–48, 2017, doi: 10.1016/j.mseb.2017.01.001.
- [60] R. Khajavi and M. Abbasipour, “Electrospinning as a versatile method for fabricating coreshell, hollow and porous nanofibers,” *Sci. Iran.*, vol. 19, no. 6, pp. 2029–2034, 2012, doi: 10.1016/j.scient.2012.10.037.
- [61] F. K. Ko and Y. Wan, “3. Nanofiber Technology,” in *Introduction to Nanofiber Materials*, 2014, pp. 44–63.
- [62] A. R. González-Elipe, F. J. Gordillo-Vázquez, F. L. Tabarés, and I. Tanarro, “Física de plasmas: Plasmas fríos moleculares. Química de plasmas.,” *Rev. española física*, vol. 27, no. 4, pp. 53–58, 2013.



- [63] N. Encinas-García, “Modificación Superficial de Materiales Poliméricos mediante fuentes de plasma frío,” Universidad Carlos III de Madrid, 2012.
- [64] “Tratamientos superficiales por plasma.” .
- [65] I. Tanarro, “Plasmas fríos moleculares en el Universo y en el laboratorio,” *Rev. española física*, vol. 24, no. 2, pp. 16–19, 2010.
- [66] G. Brenes, “Plasma: ¿qué es y para qué se utiliza?,” *Investig. TEC*, vol. 0, no. 18, pp. 6–9, 2013.
- [67] B. L. España-Sánchez, C. A. Ávila-Orta, and L. F. Padilla-Vaca, “Análisis del efecto antimicrobiano y los procesos de interacción celular involucrados de nanopartículas metálicas incorporadas a nanocompuestos de iPP erosionados con plasma,” 2012.
- [68] J. Gibson, C. Lasorsa, É. B. Hermida, I. De Tecnología, and P. Jorge, “Modificación de la hidrofiliidad del biopolímero PHBV mediante tratamiento superficial con plasma,” *CONAMET - SAM*, 2008.
- [69] K. A. Montenegro Campos, “Evaluación del efecto del extracto fenólico de hojas de olivo (*Olea europaea* L.) var. Sevillana sobre bacterias aerobias mesófilas de la carne de res fresca magra,” Universidad Nacional Jorge Basadre Grohmann-Tacna, 2016.
- [70] E. García Martínez, I. Fernández Segovia, and A. Fuentes López, “Determinación de polifenoles totales por el método de Folin- Ciocalteu,” 2015.
- [71] N. Reales, P. Gómez, C. Salim Rosales, M. Bravo, and E. Gómez, “Actividad antioxidante de extractos hojas de olivo cultivar Coratina, del Valle Central de Catamarca,” *Revista del CIZAS*, vol. 11, no. 1, pp. 18–30, 2010.
- [72] D. Cañada Blanca, “Determinación de la composición química y la capacidad antioxidante de un complemento alimenticio basado en hoja de olivo,” 2019.
- [73] P. A. González-Fuentes, “Obtención de Extractos con Potencial Actividad Antioxidante a Partir de Madera de Poda de Olivo . Tesis para optar al grado de Magíster en Ingeniería Agrícola con CHILLÁN-CHILE,” Universidad de Concepción, 2015.

- [74] M. Faraldos and C. Goberna, *Técnicas de análisis y caracterización de materiales*. Madrid: Consejo Superior de Investigaciones Científicas, 2011.
- [75] E. Tomaszewska *et al.*, “Detection limits of DLS and UV-Vis spectroscopy in characterization of polydisperse nanoparticles colloids,” *J. Nanomater.*, vol. 2013, 2013, doi: 10.1155/2013/313081.
- [76] C. M. Hoo, N. Starostin, P. West, and M. L. Mecartney, “A comparison of atomic force microscopy (AFM) and dynamic light scattering (DLS) methods to characterize nanoparticle size distributions,” *J. Nanoparticle Res.*, vol. 10, no. SUPPL. 1, pp. 89–96, 2008, doi: 10.1007/s11051-008-9435-7.
- [77] D. Chicea, E. Indrea, and C. M. Cretu, “Assesing Fe₃O₄ nanoparticle size by DLS, XRD and AFM,” *J. Optoelectron. Adv. Mater.*, vol. 14, no. 5, pp. 460–466, 2012.
- [78] G. Sai Priya, A. Kanneganti, K. Anil Kumar, K. Venkateswara Rao, and S. Bykkam, “Bio Synthesis of Cerium Oxide Nanoparticles using Aloe Barbadensis Miller Gel,” *Int. J. Sci. Res. Publ.*, vol. 4, no. 6, pp. 1–4, 2014, [Online]. Available: www.ijsrp.org.
- [79] P. Systems, “Caracterización Nanomecánica - Imágenes AFM en líquido,” pp. 1–9, 2021.
- [80] B. Burbidge, “Capítulo 4 - Evaluación de las propiedades fisicoquímicas de los sustratos,” in *Superando las antinomias de la totalidad infinita*, 2016, pp. 87–98.
- [81] S. Miladi and M. Damak, “In vitro antioxydant activities of Aloe vera leaf skin extracts,” *J. la Société Chim. Tunisie*, vol. 10, no. 7, pp. 101–109, 2008, [Online]. Available: https://www.researchgate.net/publication/228489351_In_vitro_antioxidant_activities_of_Aloe_vera_Leaf_skin_extracts?enrichId=rgreq-a2054f561490061673ab53ce6632be08-XXX&enrichSource=Y292ZXJQYWdlOzlyODQ4OTM1MTtBUzoxMDQ3Mzg4ODg2MTc5OTNAMTQwMTk4MzEwNTkwMA==&el.
- [82] S. M. Wabaidur *et al.*, “Total phenolic acids and flavonoid contents determination in yemeni honey of various floral sources: Folin-ciocalteu and spectrophotometric approach,” *Food Sci. Technol.*, vol. 40, no. December, pp. 647–652, 2020, doi: 10.1590/fst.33119.
- [83] P. A. Jiménez-Patiño, “Efecto de la adición de extractos de hojas de olivo o palto en la estabilidad

termooxidativa de aceites de diferente insaturación,” Universidad de Chile, 2010.

- [84] W. Ticona, Aduviri, “Efecto de la harina de olivo (*Olea europea* Var. Sevillana) en el crecimiento y engorde de cuyes (*Cavia porcellus*) en la región Tacna,” Universidad Nacional Jorge Basadre Grohman-Tacna, 2013.
- [85] D. Dutta *et al.*, “Green synthesized cerium oxide nanoparticle: A prospective drug against oxidative harm,” *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 147, pp. 45–53, 2016, doi: 10.1016/j.colsurfb.2016.07.045.
- [86] J. Malleshappa *et al.*, “*Leucas aspera* mediated multifunctional CeO₂ nanoparticles: Structural, photoluminescent, photocatalytic and antibacterial properties,” *Spectrochim. Acta - Part A Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 149, pp. 452–462, 2015, doi: 10.1016/j.saa.2015.04.073.
- [87] H. E. A. Mohamed *et al.*, “Promising antiviral, antimicrobial and therapeutic properties of green nanoceria,” *Nanomedicine*, vol. 15, no. 5, pp. 467–488, 2020, doi: 10.2217/nnm-2019-0368.
- [88] S. Sebastiammal, A. Mariappan, K. Neyvasagam, and A. Lesly Fathima, “*Annona muricata* Inspired Synthesis of CeO₂ Nanoparticles and their Antimicrobial Activity,” *Mater. Today Proc.*, vol. 9, no. April 2018, pp. 627–632, 2019, doi: 10.1016/j.matpr.2018.10.385.
- [89] G. Eka Putri, Y. Rilda, S. Syukri, A. Labanni, and S. Arief, “Highly antimicrobial activity of cerium oxide nanoparticles synthesized using *Moringa oleifera* leaf extract by a rapid green precipitation method,” *J. Mater. Res. Technol.*, vol. 15, pp. 2355–2364, 2021, doi: 10.1016/j.jmrt.2021.09.075.
- [90] D. A. Cruz, M. C. Rodríguez, J. M. López, V. M. Herrera, A. G. Orive, and A. H. Creus, “Nanopartículas Metálicas Y Plasmones De Superficie Una Relación Profunda,” *Av. en Ciencias e Ing.*, vol. 3, no. 2, pp. 67–78, 2012.
- [91] S. Sebastiammal, S. Sonia, J. Henry, and A. Lesly Fathima, “Green synthesis of cerium oxide nanoparticles using aloe vera leaf extract and its optical properties,” *Songklanakarin J. Sci. Technol.*, vol. 43, no. 2, pp. 582–587, 2021, doi: 10.14456/sjst-psu.2021.78.
- [92] Y. Lara-López, “Síntesis y Evaluación de un composito Carbón-TiO₂-CeO₂ para la fotodegradación de fenol,” 2016.
- [93] M. Farahamndjou, M. Zarinkamar, and T. Firoozabadi, “Synthesis of Cerium Oxide (CeO₂) nanoparticles

- using simple CO-precipitation method,” *Rev. Mex. Física*, vol. 62, no. 5, pp. 496–499, 2016.
- [94] A. Miri and M. Sarani, “Biosynthesis, characterization and cytotoxic activity of CeO₂ nanoparticles,” *Ceram. Int.*, vol. 44, no. 11, pp. 12642–12647, 2018, doi: 10.1016/j.ceramint.2018.04.063.
- [95] E. Kumar, P. Selvarajan, and K. Balasubramanian, “Preparation and studies of cerium dioxide (CeO₂) nanoparticles by microwave-assisted solution method,” *Recent Res. Sci. Technol.*, vol. 2, no. 4, pp. 37–41, 2010.
- [96] M. Zarinkamar, M. Farahmandjou, and T. P. Firoozabadi, “One-step synthesis of ceria (CeO₂) nanospheres by a simple wet chemical method,” *J. Ceram. Process. Res.*, vol. 17, no. 3, pp. 166–169, 2016, doi: 10.36410/jcpr.2016.17.3.166.
- [97] A. C. Dodd, A. J. McKinley, M. Saunders, and T. Tsuzuki, “Effect of particle size on the photocatalytic activity of nanoparticulate zinc oxide,” *J. Nanoparticle Res.*, vol. 8, no. 1, pp. 43–51, 2006, doi: 10.1007/s11051-005-5131-z.
- [98] A. Rahdar, M. Aliahmad, M. R. Hajinezhad, and M. Samani, “Xanthan gum-stabilized nano-ceria: Green chemistry based synthesis, characterization, study of biochemical alterations induced by intraperitoneal doses of nanoparticles in rat,” *J. Mol. Struct.*, vol. 1173, pp. 166–172, 2018, doi: 10.1016/j.molstruc.2018.06.092.
- [99] A. S. Karakoti *et al.*, “Nanoceria as antioxidant: Synthesis and biomedical applications,” *Jom*, vol. 60, no. 3, pp. 33–37, 2008, doi: 10.1007/s11837-008-0029-8.
- [100] N. M. Zholobak, V. K. Ivanov, and A. B. Shcherbakov, *Interaction of nanoceria with microorganisms*. Elsevier Inc., 2016.
- [101] M. V. Arasu *et al.*, “Green chemical approach towards the synthesis of CeO₂ doped with seashell and its bacterial applications intermediated with fruit extracts,” *J. Photochem. Photobiol. B Biol.*, vol. 173, no. November 2016, pp. 50–60, 2017, doi: 10.1016/j.jphotobiol.2017.05.032.
- [102] E. D. Yildirim, D. Pappas, S. Güçeri, and W. Sun, “Enhanced cellular functions on polycaprolactone tissue scaffolds by O₂ plasma surface modification,” *Plasma Process. Polym.*, vol. 8, no. 3, pp. 256–267, 2011,

doi: 10.1002/ppap.201000009.

- [103] A. M. Pappa *et al.*, “Oxygen-plasma-modified biomimetic nanofibrous scaffolds for enhanced compatibility of cardiovascular implants,” *Beilstein J. Nanotechnol.*, vol. 6, no. 1, pp. 254–262, 2015, doi: 10.3762/bjnano.6.24.
- [104] A. A. Ivanova *et al.*, “Effect of low-temperature plasma treatment of electrospun polycaprolactone fibrous scaffolds on calcium carbonate mineralisation,” *RSC Adv.*, vol. 8, no. 68, pp. 39106–39114, 2018, doi: 10.1039/c8ra07386d.
- [105] M. P. Prabhakaran, J. Venugopal, C. K. Chan, and S. Ramakrishna, “Surface modified electrospun nanofibrous scaffolds for nerve tissue engineering,” *Nanotechnology*, vol. 19, no. 45, 2008, doi: 10.1088/0957-4484/19/45/455102.
- [106] I. A. Meléndez-Estrada *et al.*, *Obtención de materiales electrohilados polímero-nanopartículas con propiedades bactericidas*, vol. 11, no. 2. 2019, pp. 1789–1794.
- [107] L. Wang, C. Hu, and L. Shao, “The antimicrobial activity of nanoparticles: Present situation and prospects for the future,” *International Journal of Nanomedicine*, vol. 12. 2017, doi: 10.2147/IJN.S121956.
- [108] R. Asmatulu, S. Patrick, M. Ceylan, I. Ahmed, S. Y. Yang, and N. Nuraje, “Antibacterial polycaprolactone/natural hydroxyapatite nanocomposite fibers for bone scaffoldings,” *J. Bionanoscience*, vol. 9, no. 2, pp. 120–126, 2015, doi: 10.1166/jbns.2015.1286.
- [109] M. F. Salas Orozco, N. Niño-Martínez, G. A. Martínez-Castañón, F. T. Méndez, and F. Ruiz, “Molecular mechanisms of bacterial resistance to metal and metal oxide nanoparticles,” *Int. J. Mol. Sci.*, vol. 20, no. 11, 2019, doi: 10.3390/ijms20112808.
- [110] N. C. González-Vargas, C. L. Mendoza-Macías, L. G. Medina-Navarro, R. Rangel-Serrano, and L. F. Padilla-Vaca, “Actividad antibacteriana de nanopartículas metálicas sobre bacterias resistentes a antibióticos convencionales,” *Jóvenes en la ciencia. Rev. Divulg. Científica*, vol. 3, no. 2, pp. 913–917, 2017.
- [111] J. M. V. Makabenta, A. Nabawy, C. H. Li, S. Schmidt-Malan, R. Patel, and V. M. Rotello, “Nanomaterial-based therapeutics for antibiotic-resistant bacterial infections,” *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 19, no. 1, pp.



23–36, 2021, doi: 10.1038/s41579-020-0420-1.

- [112] M. Gužvinec *et al.*, “Peptidomimetic Antibiotics Target Outer-Membrane Biogenesis in *Pseudomonas aeruginosa*,” *Science (80-.)*, vol. v. 327, no. 5968, pp. 1010-1013–2010 v.327 no.5968, 2010, doi: 10.1126/science.1182749.
- [113] Z. Lei and A. karim, “The challenges and applications of nanotechnology against bacterial resistance,” *J. Vet. Pharmacol. Ther.*, vol. 44, no. 3, pp. 281–297, 2021, doi: 10.1111/jvp.12936.
- [114] H. A. Hemeg, “Nanomaterials for alternative antibacterial therapy,” *Int. J. Nanomedicine*, vol. 12, pp. 8211–8225, 2017, doi: 10.2147/IJN.S132163.
- [115] C. dos Santos, I. Passos-Farias, A. Reis Albuquerque, P. M. de Freitas e Silva, G. Medeiros-Costa One, and F. Correia-Sampaio, “Antimicrobial activity of nano cerium oxide (IV) (CeO₂) against *Streptococcus mutans*,” *BMC Proc.*, vol. 8, no. Suppl 4, p. 48, 2014, doi: 10.1186/1753-6561-8-s4-p48.
- [116] T. Jacobs, N. De Geyter, R. Morent, T. Desmet, P. Dubruel, and C. Leys, “Plasma treatment of polycaprolactone at medium pressure,” *Surf. Coatings Technol.*, vol. 205, no. SUPPL. 2, pp. S543–S547, 2011, doi: 10.1016/j.surfcoat.2011.02.012.